

# Türkiye

# PARAZİTOLOJİ Dergisi

Cilt/Volume: 46  
Sayı/Issue: 3  
Eylül/September 2022

E-ISSN 2146-3077

## TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

### Özgün Araştırmalar / Original Investigations

#### Vajinitli olgularda *Trichomonas vaginalis* ve diğer patojenler

*Trichomonas vaginalis* and other pathogens in vaginitis cases  
Vildan Turan Faraşat, İbrahim Cüneyt Balcıoğlu, Pınar Solmaz Hasdemir, Ertaç Gümü; Manisa, Türkiye

#### Rose Bengal Aracılı Sonodinamik Tedavi

Rose Bengal Mediated Sonodynamic Therapy  
Serçin Özlem Çalışkan, Cem Aslan, Ömer Furkan Duran, İlayda Kaya, Hüsne Özen; Uşak, Türkiye

#### *Neospora caninum* in Goats

Keçilerde *Neospora caninum*  
Mübeccel Atege, Mustafa Karatepe, Alparslan Yıldırım; Kastamonu, Niğde, Kayseri, Turkey

#### Evaluation of Intestinal Parasites

İntestinal Parazitlerin Deęertlendirilmesi  
Filiz Demirel, Bedia Dinç; Ankara, Turkey

#### Çocuklarda Hidatik Hastalığı

Hydatid Disease in Children  
Ayşegül Elvan Tüz, Yıldız Ekemen Keleş, Aslıhan Şahin, Gülnihan Üstündağ, Selin Taşar, Eda Karadağ Öncel, Ahu Kara Aksay, Mustafa Onur Öztan, Gökhan Köylüoğlu, Ahmet Ergin Çapar, Dilek Yılmaz Çiftdoğan; İzmir, Türkiye

#### Inflammatory Markers for Cystic Echinococcosis

Kistik Ekinokokkoz için Enflamatuvar Belirteçler  
Serra Österen, İpek Baysal, Türkmen Çiftçi, Emre Ünal, Samiye Yabanoğlu Çiftçi, Ahmet Bülent Doğrul, Devrim Akıncı, Yakut Akyön, Okan Akhan; Ankara, Turkey

#### *Echinococcus granulosus* and Social Factors

*Echinococcus granulosus* ve Sosyal Faktörler  
Turgut Anuk, Hasan Çantay; Kars, Turkey

#### Prevalance and Economic Significance of Hidatidosis

Hidatidozun Prevalansı ve Ekonomisi  
Abdullah Küçükyađlođlu, Uğur Uslu; Konya, Turkey

#### Morphotaxonomy of *Eustrongylides* sp.

*Eustrongylides* sp.'nin Morfotaksonomisi  
Ivy Kundu, Dipak Ranjan Mandal; West Bengal, India

#### Demodex ile Konjonktival Flora İlişkisi

Relation of Demodex and Conjunctival Flora  
Taha Ayyıldız, Muhtalip Çiçek, Fikriye Milletli Sezgi, Mevlüt Yılmaz; Bursa, Kırşehir, Amasya, Ankara, Türkiye



Prof. Dr. M. Ali ÖZCEL Özel Sayısı

## EDİTÖRDEN

Türkiye Parazitoloji Derneği ve Türkiye Parazitoloji Dergisi'nin aynı zamanda Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'nın kurucularından Prof. Dr. M. Ali ÖZCEL'i 14 Haziran 2022 tarihinde 91 yaşında kaybettik.

Hani bazı kişiler hiç gitmeyecekmiş gibi gelir ya insana, işte M. Ali Hocamız da bizim için öyleydi, emekli olduktan sonra bile sürekli yeni bilimsel fikirlerle, mutlaka ders çıkarmamız gereken, yol gösteren mesajların bulunduğu uzun bir konuşmayla sonuçlanan hepimizi bir araya getirdiği toplantılardan artık tamamen mahrum kaldık.

Hocamızla 36 yıldır birlikteydik. Hepimizde emeği çok, sadece bizim anabilim dalımızda eğitim alan değil tüm camiamızdaki arkadaşlarımıza mutlaka bir şekilde dokundu M. Ali Hocamız. Gerçekten sonrasında bizlere de sirayet eden bir bilimsel cesareti ve özgüveni vardı.

Söylediklerinin değerini de bizler yaş aldıkça daha da iyi anladık. Birlikte çalışmanın, disiplinler arası çalışmanın anlamını, yurt dışında edineceğimiz deneyimlerin değerini öğretti bizlere. Otuz yıl önce bize öğrettiği bu kavramlar sonradan bildiğiniz gibi "Tek Sağlık Konsepti" ve çeşitli yurtdışı programları ile ülkemizin politikası haline geldi. Bizler bunları daha akademik hayatımızın başında kazanma şansını yakaladık M. Ali Hocamız sayesinde.

Şimdi de çok ihtiyacımız olan bir şeyi birlik olmayı, bir arada olmayı çalışma ortamı dışında da hiçbir çalışana ayırt etmeden bizleri bir araya getirerek öğretmeye çalıştı. Bize iş dışındaki yaşama ve aileye önem vermemiz gerektiğini anlatmaya çalıştı aslında. Bildiğiniz gibi her şeyi sözle anlatmak gerekmez, davranışlardan da ders almanız gerekir. Hocamız davranışları ile de bize hep örnek olmaya çalıştı. Hocamız tam 590 sayfalık "Hayatım" adlı bir kitap hazırladı emekli olduktan sonra ve bu kitapta sadece hayatını değil ülkemizdeki parazitolojinin de tarihini de yazdı aslında. Kitabın son sayfasında da önemli bir not vardı:

*"Lütfen şunu unutmayın. Bizler Türk olarak biraz daha çalışırsak yapamayacağımız kongre yapamayacağımız biyolojik-genetik ve immünobiyolojik çalışmalar yoktur. Yabancı parazitoloji çalışanlarının bizlerden daha üstün olduklarına inanmıyorum. Onlarda olan denetim, bizde de olabilseydi ve bir konu hakkında ömür boyu çalışabilseydik, inanın bizler çok daha iyisini yapabilirdik ve hala da yapabiliriz. Sizlere güveniyorum ve hayatınızda üstün başarılar diliyorum.*

*Unutmayın, hayat arkası yarın gibi devam ediyor".*

Dergimizin bütün sayılarını emeklilik sonrasında bile tek tek incelerdi. Bu sayımızı da Sayın Hocam; Tıbbi ve veteriner parazitoloji alanlarından 13 özgün araştırma makalesi, 3 olgu sunumu ve 1 derleme olmak üzere 17 makale ile çıkarmaktayız. Parazitoloji bilim alanı bütün bilim alanları içinde küçük bir nokta gibi görünebilir ama bizim için en büyük olan o. Bıraktığınız ve bizler için çok değerli olan emanetleri, aynen bizlere öğrettiğiniz gibi, en iyi şekilde devam ettirmeyi ve daha da ileriye götürmeyi amaçladık.

Rahat uyuyun Sayın Hocam.

Saygılarımla,

**Prof. Dr. Yusuf Özbel**  
**Baş Editör**

## Prof. Dr. Mehmet Ali ÖZCEL

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı emekli öğretim üyesi ve Türkiye Parazitoloji Derneği'nin uzun yıllar başkanlığını yapmış Prof. Dr. Mehmet Ali ÖZCEL hocamızla ilk olarak 1989'da İstanbul'da 6. Ulusal Parazitoloji Kongresi'nde karşılaştım ve tanıştım. Bu kongrede öncelikli olarak muhterem hocamın çok dirayetli liderlik özelliğini fark ettim. Takip eden yıllarda da hocamızın liderliğinin sadece Türkiye'de parazitoloji camiası içerisinde değil bütün dünyada da kabul gördüğünü gözlemledim.

Kıymetli hocamızla birlikte organize ettiğimiz gerek ulusal parazitoloji (uluslararası katılımlı) kongrelerinde ve gerekse uluslararası parazitoloji kongrelerinde hocamın mükemmel bir yöneticiliği yanında çok güçlü iletişimine ve organizatörlüğüne de yakından şahit oldum. Bu platformlar vesilesiyle de kendisinden çok şey öğrendim. Gördüm ki, "Muhteşem Hoca" olmak için; mükemmel insan, mükemmel eş, mükemmel bir bilgi birikimi, alçakgönüllü, herkese saygılı olmak gerektiğini bir kere de ÖZCEL Hocamdan öğrendim.

Bu kongrelerde ÖZCEL Hocamız katılımcıların mükemmel bir bilim insanı nasıl yetiştirildiğine dair her türlü ortamı sağladığını bunun için adeta ekstra gayretler gösterdiğini, yorulmadan, usanmadan büyük bir özveriyle çalıştığını yakinen gözlemledim. Diyebilirim ki, bugün Türkiye'de parazitoloji sahasında yetişmiş hemen herkeste muhterem hocamızın büyük emeği vardır.

Sayın Prof. Dr. Mehmet Ali ÖZCEL Hocamızın liderliğinde düzenlenen ulusal (uluslararası katılımlı) ve uluslararası kongrelerde beşeri ve veteriner parazitoloji sahalarında çok sayıda tematik modern parazitoloji kitapları üretilmiştir. Bu modern parazitoloji kitaplarının hazırlanmasında çok sayıda bilim insanı görev almıştır. Bu sayede Türkiye'de parazitoloji sahasında, hem güncelin yakalaması ve hem de bilgi birikiminin artması sağlanmıştır. Üretilen eserler klasikler arasında yerini almış birer kaynak kitap olarak hem tıp fakültelerinde hem de veteriner fakültelerinde müracaat kitapları olarak kullanılmaktadırlar. Muhteşem hocamızın Başkanlığında parazitoloji kongreleri, adeta bir liderlik okulu gibi yeni nesil liderlerin yetişmesine ortam oluşturmuştur.

Prof. Dr. Mehmet Ali ÖZCEL Hocamız yakaladığı yurt içi ve yurt dışı eğitim imkanlarıyla kendisini dünya standartlarına göre yetiştirmiş ve elde ettiği her türlü bilgi birikimini de güzel ülkemiz Türkiye ve aşık olduğu Yüce Türk Milleti için kullanmıştır. Bu noktada kıymetli hocamızın akademik ve yönetsel faaliyetlerinin yanında Güney Doğu Anadolu Projesi (GAP) bünyesindeki saha çalışmaları, Sağlık Bakanlığı'na danışmanlıkları en öne çıkan çalışma alanlarını oluşturmuştur.

Çok kıymetli hocamızın bir ömür verdiği parazitoloji bilimi, bugün Türkiye'de dünya standartlarını yakalamış durumdadır. Bu gelişmişlikte muhterem hocamızın liderliği ve katkıları büyük olmuştur. Özellikle medikal tıp parazitoloji ile veteriner hekimliği parazitolojisinin bir bütün halinde bu günlere ulaştırılması ve birbirinden beslenerek ve güç alarak tek bir çatı altında yani "Türkiye Parazitoloji Derneği" bünyesinde faaliyetlerini sürdürmesini hem Türkiye'de hem de dünyada "Tek Sağlık Konsepti" için iyi bir örnek ve iyi bir modeli oluşturmuştur. Burada şunu söylemek mümkündür. Prof. Dr. Mehmet Ali ÖZCEL gerçek bir lider olarak derin bir bilgi birikimi ve yüksek öngörüsüyle "Tek Sağlık Konsepti"ne uygun olarak yıllar öncesinde "Türkiye Parazitoloji Derneği"ni kurarak ve Türkiye Parazitoloji Dergisini yayın hayatına geçirerek, kesintisiz seri halinde devam eden Ulusal Parazitoloji Kongrelerini, Dünya Parazitoloji Kongrelerini ve Dünya Leishmania Kongrelerini düzenleyerek "Tek Sağlık Konsepti"nin gelişmesine hem ulusal boyutta hem de uluslararası ölçekte çok önemli katkılar sağlamıştır.

Modern Türkiye Cumhuriyeti'nin kurucusu Ulu Önder Gazi Mustafa Kemal ATATÜRK'ün Cumhuriyet Devrimleri'nin tamamlayıcısı olarak 1933'te başlatmış olduğu "Üniversite Reformu"nun tarihsel doğal sürecine bağlı bir şekilde Prof. Dr. Mehmet Ali ÖZCEL gibi çok sayıda hocamız yetişmiştir. Prof. Dr. Mehmet Ali ÖZCEL Hocamızın üniversite reformuna uygun bir akademik hayat geçirdiğinin canlı şahitleriyiz. Bütün parazitologların uluslararası arenada büyük saygınlıkla kabul görmeleri için çalışmıştır. Allah muhterem hocamızdan razı olsun.

Türkiye'nin kalkınma planları ve stratejik hedeflerine paralel olarak, zaman içinde halkın üniversitelerden beklentileri de değişmiştir. Yeni dönemde, üniversitelerin sadece profesyonel bir meslek için diploma veren kurumlar olmaması gerektiği, üniversitelerin bir diplomadan çok daha farklı beklentilere de cevap verebilmeleri istenmektedir. Bu noktada Üniversitelerden;



- 1- Çağdaş teknolojinin gelişmesine öncülük etmek
- 2- İleri seviyede bilgi üretmek
- 3- Sorunlara alternatif çözümler üretmek
- 4- Üretimde yer almak
- 5- Yenilik ve verimliliği artırmak
- 6- Holistik felsefeye sahip olarak "sağlıklı çevre, sağlıklı hayvan, sağlıklı gıda, sağlıklı ve mutlu insan" bütünselliğini sağlamasında öncü olmaları istenmektedir.

İşte Prof. Dr. Mehmet Ali ÖZCEL Hocamız bir ömrünü hep bunlar için harcamıştır. Prof. Dr. Mehmet Ali ÖZCEL Hocamız emeklilik döneminde tam bu nokta sahadaki avcılarının eğitimini görev edinmiş olması ve "Avcılar İçin El Kitabı" dahi hazırlamış olması tipik bir örnek ve model çalışmadır. Avcılara yerinde eğitimler vermiş ve onların bilmeleri gereken temel bilgileri onlara kazandırmıştır. Öte yandan muhterem hocamız, eşi Güler Hanımla birlikte çok mutlu bir şekilde yaşadıkları Seferihisar'da yöre halkı ile bütünleşmişler ve "Halkın Hocası" olmayı ve onların gönüllerinde çok büyük ve bir o kadar da özel yer etmeyi başarmıştır. Yaşadığı ilçede demokrasinin gelişmesine ve halkın daha iyi yöneticiler tarafından yönetilmesi gerektiğine inanarak seçimlere katılmış ve yerelde demokrasinin gelişmesine ve kökleşmesine azami desteği sağlamıştır. Görüldüğü gibi muhterem hocamız çok yönlü ve komple bir akademisyen olarak bu topluma tüm yönleriyle hizmetini yapmıştır.

Prof. Dr. Mehmet Ali ÖZCEL Hocamız yüksek disiplinli, takım çalışması yapabilen, bilgi birikimli ve özgüvene sahip, alçakgönüllü, eşitlikçi, demokrasiye inanmış ve onu özümsemiş, cesaretle karar alabilen akademisyenlerin yetişmesi için yaş sınırı kabul etmeden bir ömür boyu çalışmıştır. Yetiştirdiği akademisyenlerin de bu inanca ulaşmalarını, geleceği doğru görebilmeleri ve iyi projekte edebilmeleri olarak tarif etmiştir. Ayrıca değişen dünyaya her daim hızla adaptasyon kabiliyeti kazandıran bazı çekirdek değerlere de işaret etmiştir. Hocamızın bu çekirdek değerleri;

- 1- Profesyonel mükemmelliği hedeflemek,
- 2- Gelişmiş ve ileri çevre sağlığı yanında hayvan sağlığı ve insan sağlığı bütünselliğini gözetmek,
- 3- Parlak bir geleceğe odaklanmak ve değerli paydaşlara sahip olmak,
- 4- Akademik mükemmellik için entegre, dürüst ve samimi, sorumluluk sahibi ve hesap verebilir, kolaylaştıran, analiz yapabilen ve yorumlayabilen, savunan, üreten profesyoneller ve "Güvenilir Lider" olarak tarif etmiştir.

Prof. Dr. Mehmet Ali ÖZCEL Hocamızın sağlığında bilimsel çalışmalarıyla ürettiği yüksek ışığın hak dünyasında da bol olduğu benim samimi inancımdır. Muhteşem Hocamız Prof. Dr. Mehmet Ali ÖZCEL'e Allahtan rahmet diliyorum. Türkiye'de parazitoloji camiamıza da hocamızın bizlere gösterdiği yoldan çok çalışarak ve güç birliği yaparak yolumuza devam etmemizin parazitoloji camiasının birliğini daha da kuvvetlendireceğine samimi inancımı belirtmek isterim.

Selam ve saygılarımla,

**Prof. Dr. Abdullah İNCİ**

**Prof. Dr. MEHMET ALİ ÖZCEL HOCAM ve PARAZİTOLOJİ**

Kıymetli saygıdeğer hocam merhum rahmetli Prof. Dr. Mehmet Ali ÖZCEL'in hayatını önce kısaca ana hatları ile özetlemek istiyorum. M. Ali ÖZCEL Hocam 1 Mart 1931 İzmir Karşıyaka doğumludur. İlk, orta ve lise eğitimini Karşıyaka'da; veteriner fakültesini de Ankara'da okumuştur. Bu arada merhum eşi Güler hanımla ilkokulda aynı mahalleden çocukluk arkadaşı ve sonra ilk aşk ve son aşk olarak devam eden serüvenleri, 7 Eylül 1957'de evlilikle sonuçlanmış, aileye 2 erkek (Levent ve Alphan) ve 1 kız evlat katılmıştır. Ne var ki yaşam güzellikleri getirdiği gibi acıları da getiriyor. Kızları Deniz 1980 senesinde 17 yaşında iken rahmetli olmuştur. Şu anda 2 oğlu evli ve her ikisinden de ikişer torunu vardır.

Bendeniz, parazitoloji kürsüsünde doktora yapmak üzere kürsüye geldiğimde M. Ali Hocam ile 1976 yılının Ağustos ayında tanıştım ve aynı yıl Eylül ayında çalışmaya başladım. M. Ali Hocam yeni profesör olmuştu ve sık sık yurt dışı kongrelere giderdi. Parazitoloji anabilim dalı için WHO, T.C. Sağlık Bakanlığı ve Avrupa Birliği destekli için birçok proje yürütmüştür. Chicago'da işletmecilik eğitimi almış, Washington'da "Naval Medical Research Institut" de sıtma için hazırlanan aşının ön çalışmalarına katılmıştır. Şu anda Türkiye'de bulunan parazitoloji anabilim dallarında çalışan birçok parazitolog arkadaşımız Ege Parazitoloji'den ihtisas ve doktora almıştır. Prof. Dr. Abdullah İnci Hocamızın dediği gibi "Muhteşem hocamız" biz parazitologların lideri, akıl hocası, babası, ağabeyi ve dert ortağı olmuştur.

Bu projeleri yürütürken proje ekibini bir ahenk içinde kendisi de çalışmalara katılarak, eğitici ve dost olarak ikisini de aynı anda yürütebilmiştir. Hem başkan hem baba hem ağabey ve dert ortağı idi. Bir sıkıntımız olduğunda bizi dinler ve çözüm bulmaya çalışırdı. Mesai saatlerine uymak için sabah 8.00 akşam 17.00 çalışmamız gerektiğini biliyorduk. Ancak bu M. Ali Hocam için doğru değildi. "Araştırmacının çalışma saati diye bir sınırlama yoktur, çalışma ne zaman biterse mesai de o zaman biter" derdi.

O zamanlar temel tıp bölümleri, kürsü olarak anılırdı. Yüksek Öğretim Kurumu (YÖK) kurulduktan sonra kürsüler Anabilim Dalları oldular. O dönem kürsü başkanımız rahmetli Prof. Dr. Şevket Yaşarol Hocamızdı, fakat birlikte kürsüyü yönetirlerdi, zaman zaman tartışmalar da orta yolu bulurlardı. Ben kürsüye başladığımda Türkiye Parazitoloji Derneği'ni birlikte kurmuşlar, önce Prof. Dr. Şevket Yaşarol Hocam ve daha sonra Prof. Dr. M. Ali Özcel Hocam başkan olmuşlardır.

Hocamız, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'nı da Yaşarol Hocam ile birlikte kurmuşlar. Daha sonra tıbbi biyoloji anabilim dalını kurmuş ve başkanlığını üstlenmiştir. Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü'nün Müdürlüğünü ve Tıp Fakültesi'nde Nükleer Tıp Anabilim Dalı Başkanlığı'nı, ayrıca Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Dekan Yardımcılığı ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı'nı yürütmüştür. Parazitoloji anabilim dalı başkanı iken emeklilik zamanı gelmiş olduğu için bir sene Dekanlık yaptıktan sonra 1998 yılında emekli olmuştur. Fakat emekli olduktan sonra evinde oturmamış, 22 sene haftada en az 3-4 gün anabilim dalına gelerek sabah 9.00 akşam 16.00 aralığında bizlere rehberlik etmeye devam etmiştir. Geldiğinde "arkadaşlar dün akşam uyukum kaçtı, şu konuda bir proje düşündüm, onu planlayalım" veya " saat 16.00 oldu ben gidebilir miyim arkadaşlar" derdi, biz de "Hocam ne demek, nasıl isterseniz" derdik. Emekli olduktan sonra bölümde bir odası vardı ve bunun için çok mutluydu, daha sonra Ürkmez Avcılar Derneği'ni kurmuş ve dernek üyesi avcılara seminerler düzenlemiştir.

Hocamız, Türkiye Parazitoloji Derneği'nde parazitoloji, leishmaniosis ve tropikal hastalıklar ile ilgili ulusal ve uluslararası kongreler düzenlemiş, o kongrelerimizin hazırlanmasında bizleri de ekip olarak görevlendirmiş ve dolayısı ile bu konuda da eğitilmişizdir. Genç arkadaşlarımız bizleri, M. Ali Hocamızla çalışabildiğimiz için şanslı buldular. Evet çok haklılar.

Prof. Dr. M. Ali Özcel Hocamızın Avrupa ve Dünya Parazitoloji Federasyonu'nda aldığı görevler: Avrupa Parazitoloji Federasyonu Yönetim Kurulu Üyesi (1984-1988); Dünya Parazitoloji Federasyonu, 2. Başkanı (1990-1994); Dünya Parazitoloji Federasyonu Başkanı (1994-1998).

Hocam ile tam 44 yıl çalıştım, o kadar çok yazacağım var ki kendisini bence anlatmak mümkün değil, kendisi ile çalışmak ve parazitolojiyi solumak lazım. Bana öğrettikleri için kendisine minnettarım. Allah kendisinden razı olsun hepimizin ama hepimizin yolunu aydınlatığı için. Biz hakkını ödeyemeyiz. Allah rahmet eylesin, hakkını umarım helal etmiştir bizlere. Mekanı cennet olsun ışık ve nurlarla dolsun. Babamdı, ağabeyimdi ve hocaların hocası sevgili hocamdı. Melekler yoldaşınız olsun. Kendimi çok şanslı hissediyorum hocamı tanıdım ve kendisi ile çalışabildim.

Hocamız her yeni yıla girerken, yılbaşı şiiri yazar ve yılbaşı partisinde bize büyük bir zevk ile okurdu. İzninizle şiirini burada sizlerle paylaşmak istiyorum.

Saygı ve Sevgilerimle,

**Prof. Dr. Mucide Ak (Emekli)**





2001 yılı başlıyor,  
Herkez birbirine armağanlar alıyor, Başkandan  
sizlere  
Parazitolojide tüm yetişenlere  
Parazitoloji ile bir yerlere gelenlere  
Diyelim ki dönün eski günlere  
Gelin birbirimize destek olalım,  
Yeni yıla yıla girelim elele  
Yeni bir yıla girerken  
Daha vakit varken  
Sarılın birbirinize  
Kırmayın, üzmeysin,  
Sonra yazık olur sevdiğinizinize  
Gönül zenginliği  
Sevecenlik sizinle olsun,  
Paraya pula aldanmayın,  
İnsanlık içinize dolsun,  
Bu yılbaşında,  
Gelin bir yılbaşı menüsü yapalım,  
İçine de tüm,  
Parazitologları katalım,  
Bizleri sevmeyenleri  
Dışarı atalım,  
Menüye bir tutam anlayış,  
Biraz da incelik katalım,  
Karıştıralım,  
Daha neler gerekli bir bakalım,  
Avuç dolusu hoşgörü,  
Bir de delikli süzgeç,  
İyice eleyip sık dokuyalım,  
Birbirimize bakarken,  
Onu gözlerinden okuyun,  
Menüyü iyice karıştırın,  
Ama sakın taşırmayın,  
Taşmak isteyen duygularınızı da,  
Alın ellerinize saklayın,  
Daha neler eksik ise,  
Hepsini hayallerinizden alın,  
Bir miktar da sevecenlik katın,  
Karabiber tuz yerine,  
Bir dilek tut kendine  
Bu menüyü şarkılarla ısıtın,  
Türkülerle karıştırın,  
Ama sakın kaynatmayın,  
Parazitolojide beklentilerinizi

Boşa atmayın,  
Bu parazitoloji kazanında,  
Tüm parazitoloji ailesi yanınızda,  
Bilgilerinizi boşaltın,  
Bu dostluk kazanında,  
Başarılarınızı da çoğaltın,  
Yeni yıl dileklerinizi,  
Yeni yılda  
Tüm beklentilerinizi  
Yavaş yavaş ekleyin  
Yılbaşı menüsü olmak üzere  
Biraz daha bekleyin,  
Savaşırken başarı yolunda  
Sakın kaybetmeyin  
Bu yılbaşı menüsünü,  
Sevgi marmelatı ile süsleyin  
Üzerine bir miktar,  
Duygu şerbeti ekleyin,  
Gök kuşağından renkler katın,  
Doğan güneşi, yıldızları,  
Karşınıza alın, doyusuya bakın,  
Şimdi Parazitoloji size  
Her zamandan daha yakın  
Bakın.....  
Güneş yerinden doğacak,  
Yeni umutlar, yeni dilekler,  
Sizlerle,  
Fırtınalar koparacak  
Fakat her şeye rağmen sonunda  
Parazitolojide de,  
Bereket yağmurları yağacak,  
Ve sizler yeni başarılarla doğru,  
Koşacak,  
Koşacaksınız,  
Yeni yılınız kutlu,  
Başınız daima dik olsun.

**EGE TIPTA PARAZİTOLOJİ'NİN DOĞUŞU**

Merak ettiniz mi?  
 Nasıl başladı Parazitoloji  
 Ege Tıpta  
 Üniversite 3 yaşında  
 43 yıl önce  
 Parazitoloji bayrağı açıldı  
 Bir sonbahar günü  
 Yaşarol ve Özcel göreve başladı  
 Birlikte çalışalım dediler  
 Bir masa iki sandalye ile  
 Yukarıda bir salonun  
 Köşesinde beklediler  
 Ege Tıp 3.cü sınıf öğrencilerine  
 Parazitoloji anlatın dediler,  
 Pratik yaptırmak da gerekli  
 Hiçbir olanak yoktu ki  
 Bir kitap, birkaç tüp  
 Ve bakır kaplar  
 İki kişi, bir de Dursun efendi  
 Ne yaparlar?  
 Yoktu sermayemiz  
 Birbirimize baktık  
 Nerede kaldı gayretimiz  
 Bir mikroskop  
 Birazda kimyasal madde aldık  
 Pratiklerde hep  
 Doymuş tuzlu suya daldık  
 Parazitolojide bir fidan  
 Dikilmişti ama  
 Yoktu sulayan  
 Yine de Parazitoloji fidanı  
 Yeşermeye başladı  
 Parazitoloji kürsüsü ise  
 Kapıyı araladı  
 Derken Dekanlık bize  
 İki oda bir laboratuvar başışladı  
 Bir de pratik salonumuz vardı  
 Sonra Ünsal ve Okan geldi  
 İlk asistanlarımız  
 Parazitolojide ilk uzmanlarımız  
 Bir macera başlıyordu  
 O günlerde Parazitoloji  
 Bir batıyor  
 Bir çıkıyordu

Yeşeren ağaç bir türlü meyve vermiyordu  
 Gelişen Tıp Fakültesine  
 Parazitler yetmiyordu  
 Ne gerek var parazitlere deniyordu  
 Yaşarol'u bir telaş aldı  
 Parazitoloji yerinde kaldı  
 Özcel geldi dışarıdan  
 Baktılar elimizde neler kaldı  
 Ne verebiliriz dediler, düşündüler  
 Poliklinik laboratuvarını kurdular  
 Daha bir şeyler noksandı  
 Herkes parazitolojiyi  
 Koproloji sandı  
 Seroloji, immünoloji  
 Laboratuvarlarıyla  
 Kendine geliyordu parazitoloji  
 Serolojik tanı başladı  
 Toxoplasmosis, kist hidatik derken  
 Parazitoloji ağacı çiçek açtı  
 Daha neler vardı elimizde  
 Beklentilerimiz, ümitlerimiz  
 Ve de Parazitoloji sevgimiz  
 Yetmiyordu bize, daha derin duygularla  
 Yeni ufuklar vardı gönlümüzde  
 İşte Parazitoloji Derneği  
 Böyle doğdu.  
 1976 yılının bir sonbahar gününde.  
 Kollarını parazitologlara açmış oldu.  
 Parazitolojiyi Tüm Türkiye'ye  
 Ve Üniversitelere yaymak  
 Anadolu insanını  
 Parazit hastalıklarından kurtarmak  
 Hedefi belirlendi  
 Ege Tıpta Parazitologlar  
 Bu hedefe kilitlendi  
 Ege Tıpta Parazitoloji  
 Gelişti  
 Bir ana oldu, üredi  
 Üretken oldu  
 Coştı coştı  
 Daha da ileriye koştu  
 Akdeniz'i geçti  
 Avrupa'ya da gelin dedi, Bakın daha neler oldu  
 Türkiye Parazitoloji ile  
 Avrupa'da Patron oldu



Uluslararası ve ulusal kongreler birbirini izledi  
Parazitoloji esas cevherini  
Dünya kongresine gizledi  
Bir muhteşem kongre  
Yağmurla bereket buldu  
Ege tıpta parazitoloji  
Dünya Parazitolojisine önder oldu  
Parazitologlar açtılar ellerini  
Kucakladılar dünyayı  
Bir dahaki kongrede  
Fethettiler Japonya'yı  
Japonya İmparatoru  
Ufak tefek ama biyolog  
Bu Kongremizde  
İmparator da oldu parazitolog  
Bu macera bitmedi,  
Parazitoloji ise bizlere yetmedi,  
Tropikal hastalıklar vardı sırada  
Kongreler yaptık  
Van'da, Urfa'da  
Bizlere yorulmadınız mı? dediler  
Eski Parazitologlar  
Gençlere el verdiler  
Onlara şunu söylediler:  
Haydi gençler,  
Bizden daha iyi olun.  
43. Kuruluş Yıldönümünüz Kutlu Olsun.





■ **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 Yayinevi 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  
Emre Kurtulmuş

Proje Koordinatörleri/Project Coordinators

Aysel Balta  
Gamze Aksoy  
Gülşah Akın  
Hatice Sever  
Melike Eren  
Özlem Çelik Çekil  
Pınar Akpınar  
Rabia Palazoğlu  
Sümeyye Karadağ

Araştırma&Geliştirme/Research&Development  
Nihan Karamanlı

Dijital Pazarlama Uzmanı/Digital Marketing  
Specialist  
Ümit Topluoğlu

Yayinevi 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: Ağustos / August 2022

E-ISSN: 2146-3077

Üç ayda bir yayımlanan süreli yayındır.  
International scientific journal published quarterly.



**İ. Cüneyt Balcıoğlu**

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

**Songül Delibaş**

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

**Mert Döşkaya**

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

**Özgür Kuru**

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

**Özgür Kurt**

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

**■ Biyoloji/Biology****Hüseyin Çetin**

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

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

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

**Ayşen Gargılı**

Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik  
Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye  
Department of Nursery, 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 Gürler

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

### Abdullah İnci

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

### Adil Allahverdiyev

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

### Ahmet Gökçen

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

### Ahmet Özbilgin

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

### Ahmet Üner

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

### Ali Ahmet Kilimcioğlu

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

### Ali Aydoğdu

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

### A. İhsan Diker

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

### Alparslan Yıldırım

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

### André-Denis G. Wright

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

### Anıl İça

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

### A. Onur Girişgin

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

### Aykut Özkul

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

### Aynur Gülanber

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

### Aysu Değirmenci Döşkaya

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

### Ayşe Caner

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

### Ayşe Çakmak

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

### Ayşegül Taylan Özkan

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

### Ayşegül Ünver

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

### Aytül Önal

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

### Bahadır Gönenc

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



**Bariş Sarı**

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

**Bayram Ali Yukarı**

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

**Bayram Şenlik**

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

**Bekir Keskin**

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

**Bijen Kivçak**

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

**Bilal Dik**

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

**Bilge Karatepe**

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

**Burk A. Dehority**

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

**Cem Ecmel Şaki**

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

**Cem Vuruşaner**

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

**Çağrı Büke**

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

**Chizu Sanjoba**

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

**Çiğdem Banu Çetin**

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

**Çiler Akisü**

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

**Daniela Pilarska Kirilova**

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

**Davut Alptekin**

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

**M. Emin Limoncu**

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

**Derya Dirim Erdoğan**

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

**Emrah Şimşek**

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

**Engin Araz**

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

**Ergün Köroğlu**

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

**Erol Ayaz**

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

**Erol Tokşen**

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

**Esin Güven**

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

**Esmâ Kozan**

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

**Fadile Yıldız Zeyrek**

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

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

#### **Ferda Sevinç**

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

#### **Feride Kırçalı**

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

#### **Feyzullah Güçlü**

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

#### **Funda Doğruman Al**

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

#### **Gönül Dinç**

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

#### **Gökman Zafer Pekmezci**

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

#### **Gülay Vural**

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

#### **Gülnaz Çulha**

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

#### **Gürol Cantürk**

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

#### **Hamdi Öğüt**

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

#### **Hamza Avcioğlu**

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

#### **Handan Çetinkaya**

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

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

#### **Hande Dağcı**

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

#### **Hasan Eren**

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

#### **Hasan Yılmaz**

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

#### **Hatice Çiçek**

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

#### **Hatice Ertabaklar**

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

#### **Hatice Öge**

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

#### **Hayrettin Akkaya**

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

#### **Hüseyin Arıkan**

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

#### **Hüseyin Can**

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

#### **A. İhsan Diker**

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

#### **İhsan Yaşa**

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

#### **İsmet Özel**

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





**İzzet Şahin**

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı,  
Kayseri, Türkiye  
Department of Parasitology, School of Medicine, Erciyes  
University, Kayseri, Turkey

**Jerome Depaquit**

Reims Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Reims, Fransa  
Faculty of Pharmacy, Reims University, Reims, France

**Kader Yıldız**

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

**Kamile Biçek**

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

**Kirami Ölgün**

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

**Kor Yereli**

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

**Kosta Mumcuoğlu**

Hebrew Üniversitesi Hadassah Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve  
Moleküler Genetik Bölümü, Kudüs, İsrail  
Department of Microbiology and Molecular Genetics,  
School of Medicine, Hebrew University, Jerusalem, İsrail

**Kwang-Poo Chang**

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

**Levent Aydın**

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

**Cemal Oğuz**

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

**Fatih Şimşek**

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

**Özkan Arslan**

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

**Mehmet Ziya Alkan**

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

**Mehmet Harman**

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

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

**Mehmet Karakuş**

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

**Mehmet Yaman**

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

**Mehtap Gül Altaş**

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

**Meral Aydenizöz**

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

**Meral Türk**

Denizli Devlet Hastanesi, Parazitoloji Laboratuvarı, Denizli,  
Türkiye  
Denizli State Hospital, Parasitology, Denizli, Turkey

**Metin Atambay**

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

**Metin Korkmaz**

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

**Murat Kara**

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

**Murat Sevgili**

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

**Mustafa Açıç**

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

**Mustafa Demirci**

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

**Mustafa Kaplan**

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

**Mustafa Karatepe**

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



**Mustafa Köse**

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

**Mustafa Necati Muz**

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

**Mustafa Yaman**

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

**Mustafa Yılmaz**

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

**Münir Aktaş**

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

**Naciye Güllüz Şenler**

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

**Nalan Özdal**

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

**Nazif Elaldi**

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

**Nazir Dumanlı**

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

**Nermin 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**

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

**Nurşen Alpagut-Keskin**

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

**Oğuz 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**

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

**Önder Düzlü**

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

**Özgür Kurt**

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

**Özlem Miman**

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

**Özlem Tünger**

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

**Petr Volf**

Charles Üniversitesi Fen Fakültesi, Prag, Çek Cumhuriyeti  
Faculty of Science, Charles University, Prague, Czech  
Republic

**Probir K. Bandyopadhyay**

Kalyani Üniversitesi Zooloji Bölümü, West Bengal, Hindistan  
Department of Zoology, Kalyani University, West Bengal,  
India

**Ramazan Adanır**

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



**Renate Radek**

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

**Bülent Altın**

Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi, Ekoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
Department of Ecology, Faculty of Science and Letters, Hacettepe University, Ankara, Turkey

**Sabri Ünal**

Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi, Kastamonu, Türkiye  
Faculty of Forestry, Kastamonu University, Kastamonu, Turkey

**Salih Gürel**

Samatya Devlet Hastanesi, Dermatoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye  
Clinic of Dermatology, Samatya State Hospital, İstanbul, Turkey

**Sami Şimşek**

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

**Selim S. Çağlar**

Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi, Ekoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
Department of Ecology, Faculty of Science and Letters, Hacettepe University, Ankara, Turkey

**Sema Ertuğ**

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

**Semih Öge**

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

**Semra Özçelik**

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

**Seray Töz**

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

**Serdar Değer**

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

**Serdar Düşen**

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

**Serdar Paşa**

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

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

**Serkan Bakırcı**

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

**Serpil Değerli**

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

**Serpil Nalbantoğlu**

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

**Sibel Ergüven**

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

**Soner Uzun**

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

**Songül Delibaş**

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

**Stefano Cecchini**

Della Basilicata Üniversitesi, Potenza, İtalya  
Della Basilicata University, Potenza, Italy

**Suna Gedikoğlu**

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye  
Department of Infectious Diseases, School of Medicine, Uludağ University, Bursa, Turkey

**Süleyman Aypak**

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

**Süphan Karaytuğ**

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

**Şebnem Üstün**

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

**Şevki Ziya Coşkun**

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

**Şinasi Umur**

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

**Şükran Yağcı Yücel**

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

**Tonay İnceboz**

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

**Tuğrul Dereli**

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
Department of Dermatology, School of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey

**Uğur Uslu**

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

**Ulus Salih Akarca**

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

**Ülgen Z. Ok**

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

**Ümit Çimli Aksoy**

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

**Veli Yılgör Çırak**

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

**Volkan Akyol**

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

**Yaşar Ali Öner**

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

**Yunus Kılıç**

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

**Yüksel Gürüz**

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

**Zafer Karaer**

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

**Gökmen Zafer Pekmezci**

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

**Zati Vatanserver**

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

**Zeynep Sümer**

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

**Zeynep Taş**

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



## HAKKIMIZDA

TARİHÇE  
YAYIN POLİTİKASI  
İNDEKSLENME  
TELİF HAKKI  
DİJİTAL ARŞİVLEME VE KORUMA POLİTİKASI

Hinari  
OARE  
Turkish Medline  
Turkish Citation Index

### Tarihçe

Türkiye Parazitoloji Dergisi (Türkiye Parazitol 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.

İlk olarak 1978 yılında yayınlanmaya başlanan 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 2004'ten beri internet ortamında açık erişimle uluslararası literatüre katkı sunmaktadır.

**Dergi Adı (İngilizce):** Turkish Journal of Parasitology

**Dergi Adı (Türkçe):** Türkiye Parazitoloji Dergisi

**Resmi Kısaltma:** Türkiye Parazitol Derg

**E-ISSN:** 2146-3077

### Yayın Politikası

Gönderim, değerlendirme ve yayın sürecinde yazarlardan herhangi bir ücret talep edilmez. Dergi uygulamaları, etik kurallar, teknik bilgiler ve gerekli formlar derginin web sayfasında belirtilir.

Yazılar, dergi web sitesinde temsil edilen JournalAgent çevrimiçi makale sistemi aracılığıyla gönderilmektedir.

### İndekslenme

PubMed/MEDLINE  
BIOSIS-Zoological Record  
EBSCO Host  
Index Copernicus  
Gale  
ProQuest  
CINAHL  
BIOSIS Previews Biological Abstracts  
CABI  
SCOPUS  
Embase  
J-Gate  
TÜBİTAK ULAKBİM TR Dizin  
DOAJ  
ARDI  
GOALI

### Telif Hakkı

Yayın kararı alındıktan ve kabul edildikten sonra başvurulara "Telif Hakkı Devir Formu" eklenmelidir. Form, derginin makale gönderme ve değerlendirme sitesinden de indirilebilir. Telif Hakkı Devir Formu, katkıda bulunan tüm yazarlar tarafından imzalanmalı ve bu ıslak imzalı belgenin taranmış bir versiyonu gönderilmelidir.

Yazar(lar), makalelerinin yayına kabul edilmesi durumunda, makalelerinin telif haklarını Türkiye Parazitoloji Dergisi'ne devrederler. Telif hakkı, makalenin herhangi bir biçimde (baskı, elektronik ortam veya başka bir biçimde) çoğaltılması ve dağıtılması için münhasır ve sınırsız hakları kapsar; ayrıca tüm diller ve ülkeler için çeviri haklarını da kapsar.

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

Yayınlanan tüm içerikler çevrimiçi ve ücretsiz olarak <https://www.turkiyeparazitolderg.org/> mevcuttur. Derginin içeriği, üçüncü şahısların, orijinal çalışmaya atıfta bulunmak ve ticari amaçlarla kullanmamak şartıyla, içeriği paylaşmasına ve uyarlamasına izin veren Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC-ND) 4.0 Uluslararası Lisansı (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) ile lisanslanmıştır.

### Dijital Arşivleme ve Koruma Politikası

Dijital koruma, uzun vadeli, sürekli erişimi garanti etmek için artık dijital formatlarda mevcut olan bilgilerin alınmasını ve dağıtılmasını sağlayan bir dizi süreç ve aktivitedir. Koruma politikası aşağıdaki eylemleri içerir:

### Web Sitesi

Elektronik içeriğin tamamı (web sitesi, makale vb.) üç farklı kaynaktan saklanmaktadır. Bir sunucudaki içerik çevrimiçidir ve okuyucular tarafından erişilebilir. Aynı içeriğin bir kopyası, diğer iki kaynaktan yedek olarak korunur. Bir sunucu arızalanırsa, diğer kaynaklar çevrimiçi hale getirilebilir ve web sitesinin 24-36 saat içinde kullanıma sunulması beklenir.

### İndeksleme Hizmetleri

Dergimizin indeksleme hizmetleri, makaleler hakkında temel bilgileri depolar. Ayrıca bazı indeksleme servisleri makale ile ilgili metadataları ve makalelerin elektronik versiyonlarını arşivlemektedir. Bu sayede dergilere alternatif olarak makalelerin kopyaları bu sistemler aracılığıyla bilim camiasına sunulmaktadır.

## 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, editöre mektup ve video makale 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 alanlarda eğitim gören lisans ve lisansüstü öğrencilerdir.

Derginin editöryal ve yayın süreçleri ile etik kuralları 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) gibi uluslararası kuruluşların kurallarına uygun olarak şekillenmektedir. Dergimiz, şeffaf olma ilkeleri ve "akademik yayıncılıkta en iyi uygulamalar ilkeleri" (doaj.org/bestpractice) ile uyum içindedir.

Türkiye Parazitoloji Dergisi, **PubMed/MEDLINE, BIOSIS-Zoological Record, EBSCO Host, Index Copernicus, Gale, ProQuest, CINAHL, BIOSIS Previews Biological Abstracts, CABI, SCOPUS, Embase, J-Gate, TÜBİTAK ULAKBİM TR Dizin, DOAJ, ARDI, GOALI, Hinari, OARE, Türk Medline** ve **Türkiye Atıf Dizini** tarafından indekslenmektedir.

**Dergi Adı (İngilizce):** Turkish Journal of Parasitology

**Dergi Adı (Türkçe):** Türkiye Parazitoloji Dergisi

**Resmi Kısaltma:** Türkiye Parazitoloj Derg

**E-ISSN:** 2146-3077

### Açık Erişim Politikası

Bu dergi, araştırmaları kamuya ücretsiz olarak sunmanın daha büyük bir küresel bilgi alışverişini desteklediği ilkesine dayanarak içeriğine anında açık erişim sağlar.

Yazarlar ve telif hakkı sahipleri, Türkiye Parazitoloji Dergisi 'nde yayınlanan makaleler için tüm kullanıcılara ücretsiz olarak erişim sağlar. Makaleler kaynak gösterilmek şartıyla kullanıma açıktır.

Açık Erişim Politikası, Budapeşte Açık Erişim Girişimi'nin (BOAI) kurallarına dayanmaktadır <https://www.budapestopenaccessinitiative.org/read/> (hyperlink), "açık erişim" ile, onun ücretsiz erişilebilirliğini kastedilmektedir. Herhangi bir kullanıcının bu makalelerin tam metinlerini okumasına, indirmesine, kopyalamasına, dağıtmasına, yazdırmasına, aramasına veya bağlantı vermesine, indeksleme için taramasına, yazılıma veri olarak iletmesine veya başka herhangi bir yasal amaç için internetin kendisine erişim elde etmekten ayrılmaz olanlar dışında finansal, yasal veya teknik engeller olmadan kullanmasına izin verir. Çoğaltma ve dağıtım üzerindeki tek kısıtlama ve bu alandaki

telif hakkının tek rolü, yazarlara çalışmalarının bütünlüğü üzerinde kontrol ve uygun şekilde tanınma ve alıntılanma hakkı vermek olmalıdır.

Gönderim, değerlendirme ve yayın sürecinde yazarlardan herhangi bir ücret talep edilmez.

### Creative Commons

Creative Commons lisansı, telif hakkıyla korunan çalışmaların veya çalışmaların ücretsiz dağıtımını sağlayan bir kamu telif hakkı lisansıdır. Yazarlar, çalışmalarını kullanma, paylaşma veya değiştirme hakkını üçüncü şahıslara devretmek için CC lisansını kullanır. Bu dergi, Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) altında lisanslanmıştır ve bu, üçüncü tarafların bu bilgileri orijinal çalışmaya uygun şekilde referans vererek paylaşmasına ve uyarlamasına ticari olmayan amaçlar için izin verir.

### Reklam Politikası

Potansiyel reklam verenler, Yazı İşleri ile iletişime geçmelidir. Reklam görselleri sadece Genel Yayın Yönetmeni'nin onayı ile yayınlanır.

### Materyal Sorumluluk Reddi

Dergide yayınlanan makalelerde yer alan ifadeler veya görüşler editörlerin, yayın kurulunun ve/veya yayıncının görüşlerini yansıtmaz. Editörler, yayın kurulu ve yayıncı bu tür materyaller için herhangi bir sorumluluk veya yükümlülük kabul etmez. Dergide yayınlanan tüm görüşler, makalelerin yazarlarına aittir.

### Yazışma Adresi

**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

### Yayınevi Yazışma Adresi

**Galenos Yayınevi Tic. Ltd. Şti.**

**Adres:** Molla Gürani Mah. Kaçamak Sk. No: 21, 34093 Fındıkzade-İstanbul/Türkiye

**Tel:** +90 212 621 99 25 Faks: +90 212 621 99 27

**E-posta:** info@galenos.com.tr





## YAZARLARA BİLGİ

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, editöre mektup ve video makale 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 karşılması gerekmektedir. ICMJE, yazarların aşağıdaki 4 kriteri karşılmasını önermektedir:

Çalışmanın konseptine/tasarımına; ya da çalışma için verilerin toplanmasına, analiz edilmesine ve yorumlanmasına önemli katkı sağlamış olmak; **VE**

Yazı taslağını hazırlamış ya da önemli fikrinsel içeriğin eleştirel incelemelerini yapmış olmak; **VE**

Yazının yayından önceki son halini gözden geçirmiş ve onaylamış olmak; **VE**

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,



## YAZARLARA BİLGİ

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](http://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, tanısıl 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](http://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](http://www.turkiyeparazitolderg.org) adresinden erişilebilmektedir.

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

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

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

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

### Makale Türleri

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

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

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

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

**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



## YAZARLARA BİLGİ

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 **sırayla** numara verilerek atıf yapılmalıdır.

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

### Kaynaklar

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

**Tablo 1: Makale türleri için kısıtlamalar**

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

## YAZARLARA BİLGİ

**Dergi makalesi:** Blasco V, Colavolpe JC, Antonini F, Zieleskiewicz 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:** Bengisson S, Sothemin BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. *MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sept 6-10; Geneva, Switzerland*. Amsterdam: North-Holland; 1992.p.1561-5.

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

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

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

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

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

## REVİZYONLAR

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

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

## Editöryal Ofis

**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](mailto:yusuf.ozbel@ege.edu.tr) / [yusuf.ozbel@gmail.com](mailto:yusuf.ozbel@gmail.com)

## Yayınevi Yazışma Adresi

**Galenos Yayınevi Tic. Ltd. Şti.**

**Adres:** Molla Gürani Mah. Kaçamak Sk.

**No:** 21, 34093 Fındıkzade-İstanbul-Türkiye

**Tel:** +90 212 621 99 25

**Faks:** +90 212 621 99 27

**E-posta:** [info@galenos.com.tr](mailto:info@galenos.com.tr)



## YAYIN ETİĞİ

### Hakem Değerlendirmesi, Yayın Etiği ve Kötüye Kullanım

#### Hakem Değerlendirmesi

Makalelerin daha önce yayınlanmamış olması ve aynı anda başka bir yere gönderilmemiş olması koşuluyla başvuru kabul edilir; yazarlar, içeriği okuduğunu, onayladığını, tüm yazarların çıkar çatışmalarını beyan ettiğini, çalışmanın etik onaya uygun olduğunu ve uluslararası kabul görmüş etik standartlarda yürütüldüğünü kabul eder. Etik suistimalden şüphelenilmesi durumunda, Yayın Kurulu ilgili uluslararası yayın etiği kurallarına (COPE yönergelerine) uygun olarak hareket edecektir.

Derginin yayın politikaları, Bilim Konseyi Editörleri tarafından önerilen kurallarda belirtildiği gibi yürütülür ve Biyomedikal Dergilere Gönderilen Makaleler için Tekdüzen Gereklilikler: Biyomedikal Yayın için Yazma ve Düzenleme (<http://www.icmje.org/>)'da yansıtılır. Buna göre yazarlar, gözden geçirenler ve editörlerin bu bildirimde yer alan etik davranışa ilişkin en iyi uygulama kılavuzlarına uymaları beklenmektedir.

Gönderilen yazılar çift-kör hakem değerlendirmesine tabi tutulur. Dergide yayımlanacak yazıların seçimine rehberlik eden bilim kurulu, derginin seçilmiş uzmanlarından ve gerekirse ilgili araştırma alanında ulusal ve uluslararası uzmanlardan seçilmiş uzmanlardan oluşur. Tüm yazılar editör, bölüm yardımcı editörleri ve en az üç dahili ve harici uzman hakem tarafından incelenir. Tüm araştırma makaleleri de bir istatistik editörü tarafından yorumlanır.

#### İnsan ve Hayvan Araştırmaları

Deneyisel, klinik, ilaç ve insan çalışmaları için, etik kurul onayı ve çalışma protokolünün uluslararası anlaşmalara uygunluğuna dair bir beyan (World Medical Association Association of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects," Ekim 2013, [www.wma.net](http://www.wma.net)) gereklidir. Deneyisel hayvan çalışmalarında yazarlar, izlenen prosedürlerin hayvan haklarına uygun olduğunu (Laboratuvar Hayvanlarının Bakım ve Kullanım Kılavuzu, [www.nap.edu.catalog/5140.html](http://www.nap.edu.catalog/5140.html)) belirtmeli ve hayvan Etik Kurul Onayı almalıdır. Etik Kurul Onayı belgesi, makale ile birlikte Türkiye Parazitoloji Dergisi'ne gönderilmelidir.

Etik Kurul Onayı ile yukarıda belirtilen uluslararası kılavuzlara uyum ve hastanın aydınlatılmış onamının alındığına dair beyan "Materyal ve Yöntem" bölümünde belirtmeli ve kullanılan veri/medyanın hastanın kimliğini ortaya çıkarabileceği durumlarda vaka raporları gerekmektedir. Yazarlar, kurumlar arasında çıkar çatışması beyanı, herhangi bir mali veya maddi desteğin kabulünün belirtilmesi makale gönderen yazarlar için zorunludur ve bu açıklama makalenin sonunda yer almalıdır. Hakemler, yazarlar veya kurumlar ile aralarında herhangi bir potansiyel çıkar çatışması varsa, bunu rapor etmelidir.

#### İntihal ve Etik Suistimal

Türkiye Parazitoloji Dergisi, tüm makaleleri yayınlanmadan önce "iThenticate" kullanarak intihal taramasına tabi tutar.

Yazarların aşağıda yazılanlar gibi her türlü intihal ve etik suistimalden kaçınmaları önemlidir:

**İntihal:** Başka bir yazarın yayınındaki bir içeriğin tamamını veya bir kısmını kaynak göstermeden yeniden yayınlamak.

**Fabrikasyon (Uydurma):** Var olmayan veri ve bulguları/ sonuçları yayınlamak.

**Çoğaltma:** Bir makalenin farklı dillerde yeniden yayınlanmasını içeren başka bir yayından alınan verileri kullanmak.

**Dilimleme (Salamizasyon):** Bir çalışmanın sonuçlarını bölerek birden fazla yayın oluşturma.

**Veri Manipülasyonu/Yanlışlığı:** Yanlış bir izlenim vermek için araştırma verilerini manipüle etmek veya kasıtlı olarak çarpıtmak.

İntihal, fabrikasyon, çoğaltma, veri manipülasyonu ve dilimleme gibi etik olmayan uygulamaları ve yazarlık hediye etme, uygunsuz teşekkür ve COPE akış şemalarına uygun olmayan referanslar gibi uygulamalarla inceleme sürecini etkilemeye yönelik çabaları onaylamıyoruz.

Gönderilen yazılar ayrıca otomatik yazılım tarafından intihal ve yayın değerlendirmesine tabi tutulur. Yazarlar, çalışma sonuçlarını tamamen veya kısmen özet şeklinde yayınlayıp yayınlamadıklarını bildirmekle yükümlüdür.

### A. YAYINCININ GÖREVLERİ:

#### Etik Olmayan Yayınlama Davranışının Ele Alınması

Yayıncı, iddia edilen veya kanıtlanmış bilimsel suistimal, hileli yayın veya intihal durumlarında, söz konusu makaleyi editörlerle yakın iş birliği içinde değiştirmek için tüm uygun önlemleri alacaktır. Bu, en ciddi durumda, etkilenen çalışmanın bir yanlışlık sonucu yayınlanmasını, ifşa edilmesini veya geri çekilmesini içerir. Yayıncı, editörlerle birlikte, araştırma suistimalinin meydana geldiği makalelerin yayınlanmasını tespit etmek ve önlemek için makul adımları atacak ve hiçbir koşulda bu tür kötüye kullanımın gerçekleşmesine teşvik etmeyecek veya bilerek izin vermeyecektir.

#### Editöryal Özerklik

Türkiye Parazitoloji Dergisi, herhangi birinin veya ticari ortakların etkisi olmaksızın editöryal kararların özerkliğini sağlamayı taahhüt eder.

#### Fikri Mülkiyet ve Telif Hakkı

Türkiye Parazitoloji Dergisi, dergide yayınlanan makalelerin mülkiyetini ve telif haklarını korur ve her makalenin yayınlanmış kaydını tutar. Dergi, yayınlanan her makalenin bütünlüğünü ve şeffaflığını sağlar.

#### Bilimsel Suistimal

Türkiye Parazitoloji Dergisi'nin yayıncısı, hileli yayın veya intihal ile ilgili gerekli tüm önlemleri almaktadır.

### B. EDITÖRLERİN GÖREVLERİ:

#### Yayın Kararı ve Sorumluluğu

Dergi editörü, dergideki her şeyi kontrol altında tutar, okuyucuların ve yazarların ihtiyaçlarını karşılamaya çalışır.

## YAYIN ETİĞİ

Editör ayrıca dergiye gönderilen makalelerin hangilerinin yayınlanması gerektiğine karar vermektan ve hakaret, telif hakkı ihlali ve intihal ile ilgili yasal gerekliliklere tabi politikalar tarafından yönlendirilmekten sorumludur. Editör, yayın kararları verirken hakemlerle tartışabilir. Yayının içeriğinden ve genel kalitesinden editör sorumludur. Editör, adil ve uygun bir hakemlik süreci sağlamalıdır.

### Nesnellik

Dergiye gönderilen makaleler her zaman önyargısız olarak değerlendirilir.

### Gizlilik

Editör, gönderilen bir makaleyle ilgili herhangi bir bilgiyi, editör kadrosu, hakemler ve yayıncı dışında hiç kimseye açıklamamalıdır.

### Çıkar Çatışmaları ve İfşa

Türkiye Parazitoloji Dergisi, yazarlar, hakemler ve editörler gibi taraflar arasında herhangi bir çıkar çatışmasına izin vermez. Gönderilen bir makaledeki yayınlanmamış materyaller, yazarın açık izni olmaksızın hiç kimse tarafından kullanılmamalıdır.

### Yayımlanan Eserlerde Temel Hatalar

Yazarlar, yayımlanan çalışmada önemli hatalar veya yanlışlıklar tespit edilirse, derhal dergi editörlerini veya yayıncısını bilgilendirmek ve makaleyi düzeltmek veya geri çekmek üzere onlarla iletişim sağlamakla yükümlüdür. Editörler veya yayıncı, yayımlanan bir çalışmanın önemli bir hata veya yanlışlık içerdiğini üçüncü bir taraftan öğrenirse, yazarlar makaleyi derhal düzeltmeli, geri çekmeli veya dergi editörlerine makalenin doğruluğuna dair kanıt sağlamalıdır.

## C. HAKEMLERİN GÖREVLERİ:

### Değerlendirme

Hakemler, yazarların kökeni, cinsiyeti, cinsel yönelimi veya politik felsefesini gözetmeksizin yazıları değerlendirir. Hakemler ayrıca değerlendirme sırasında gönderilen yazılar için adil bir kör hakem incelemesi sağlar.

### Gizlilik

Gönderilen makalelerle ilgili tüm bilgiler gizli tutulur. Hakemler, editör tarafından izin verilmedikçe başkalarını tartışmamalıdır.

### Çıkar Çatışmaları ve İfşa

Hakemlerin yazarlar, fon sağlayıcılar, editörler vb. taraflarla ilgili herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

### Editöre Katkı

Hakemler, editöre karar vermede ve makaleyi geliştirmede yardımcı olabilir.

### Nesnellik

Daima objektif bir değerlendirme yapılır. Hakemler görüşlerini uygun destekleyici argümanlarla açıkça ifade eder.

### Kaynakların Onaylanması

Hakemler, yazarların atıfta bulunmadığı ilgili yayınlanmış bir çalışmayı tanımlamalıdır. Hakemler ayrıca, makale ile

kişisel bilgilerine sahip oldukları diğer yayınlanmış makaleler arasındaki önemli benzerlikleri veya örtüşmeleri editörün dikkatine sunarlar.

## D. YAZARLARIN GÖREVLERİ:

### Raporlama Standartları

Gönderilen bir makale orijinal olmalı ve yazarlar, makalenin daha önce herhangi bir dergide yayınlanmamış olmasını sağlamalıdır. Araştırmanın verileri makalede tam anlamıyla sunulmalıdır. Bir makale, başkalarının çalışmayı yeniden kopyalamasına izin vermek için gerekli ayrıntı ve referansları içermelidir.

### Özgünlük

Çalışmalarını dergiye göndermek isteyen yazarlar, çalışmalarının tamamen özgün olduğundan emin olmalıdır. Literatürden alınan kelime ve cümleler uygun şekilde alıntılanmalıdır.

### Çoklu Yayınlar

Yazarlar, aynı çalışmayı başka bir dergide yayınlanmak veya değerlendirilmek üzere göndermemiş olmalıdır. Aynı çalışmanın birden fazla dergiye aynı anda gönderilmesi kabul edilemez ve etik dışı bir davranış olarak nitelendirilir.

### Kaynakların Belirtilmesi

Başkalarının çalışmalarının uygun bir şekilde alıntılanması gerekir. Yazarlar, çalışmayı belirlemede etkili olan yayınlara atıfta bulunmalıdır. Çalışmanın sürecini kapsayan tüm kaynaklar belirtilmelidir.

### Makale Yazarlığı

Bir makalenin yazarlığı, çalışmaya kayda değer bir katkı yapmış olanlarla sınırlı olmalıdır. Başkaları araştırmaya katılmışsa, katkıda bulunanlar olarak listelenmelidir. Yazarlık aynı zamanda bir derginin editörü ile iletişim halinde olan bir sorumlu yazarı da içerir. Sorumlu yazar, tüm uygun ortak yazarların bir makaleye dahil edilmesini sağlamalıdır.

### Çıkar Çatışmaları ve İfşa

Tüm finansal destek kaynakları açıklanmalıdır. Tüm yazarlar, çalışmalarını oluşturma sürecinde (varsa) çıkar çatışmasını ifşa etmelidir. Gönderilen bir çalışma için bireylerden veya kurumlardan alınan mali yardımlar veya diğer destekler, Türkiye Parazitoloji Dergisi Yayın Kurulu'na açıklanmalıdır. ICMJE Potansiyel Çıkar Çatışması Bildirim Formu, olası bir çıkar çatışmasını açıklamak için katkıda bulunan tüm yazarlar tarafından doldurulmalı ve gönderilmelidir. Derginin Yayın Kurulu, editörler, yazarlar veya hakemler arasında olası bir çıkar çatışması durumlarında COPE ve ICMJE yönergeleri kapsamında hareket eder.

Mali veya şahsi fayda sağlayan koşullar, bir çıkar çatışması doğurur. Bu durum, bilimsel sürecin ve yayımlanan makalelerin güvenilirliği, bilimsel çalışmaların planlanması, uygulanması, yazılması, değerlendirilmesi, düzenlenmesi ve yayınlanması sırasında çıkar çatışmalarının objektif olarak ele alınması ile doğrudan ilişkilidir.

Finansal ilişkiler en kolay tespit edilen çıkar çatışmalarıdır ve derginin, yazarların ve bilimin güvenilirliğini zedelemesi kaçınılmazdır. Bu çatışmalara bireysel ilişkiler, akademik





## YAYIN ETİĞİ

rekabet veya entelektüel yaklaşımlar neden olabilir. Yazarlar, çalışmanın tüm verilerine ulaşmalarını veya makalelerini analiz etme, yorumlama, hazırlama ve yayınlama olanaklarını kısıtlayan kâr veya başka bir avantaj elde etme düşüncesiyle sponsorlarla anlaşmalardan mümkün olduğunca kaçınmalıdır. Editörler, çalışmalarını değerlendirirken aralarında ilişki olabilecek kişileri bir araya getirmekten kaçınmalıdır. Makaleler hakkında nihai kararı verecek olan editörlerin, karar verecekleri konulardan hiçbiriyle kişisel, mesleki veya mali bağı olmamalıdır. Yazarlar, makalelerinin bağımsız bir değerlendirme süreci ile etik ilkeler çerçevesinde değerlendirilmesini sağlamak için olası çıkar çatışmalarını yayın kuruluna bildirmelidir.

Editörlerden birinin herhangi bir yazıda yazar olması durumunda editör, makale değerlendirme sürecinden çıkarılır. Herhangi bir çıkar çatışmasını önlemek için makale değerlendirme süreci çift- kör olarak yapılmaktadır. Çift- kör değerlendirme sürecinden dolayı Baş Editör dışında hiçbir yayın kurulu üyesine, uluslararası danışma kurulu üyesine veya hakemlere, makalenin yazarları veya yazarların kurumları hakkında bilgi verilmemektedir.

Yayın ekibimiz tüm bu durumları göz önünde bulundurarak değerlendirme sürecinin tarafsız bir şekilde yürütülmesi için özveriyle çalışmaktadır.

Her yazarın imzalaması gereken Çıkar Çatışması Formu makale gönderimi sırasında yüklenmelidir.



## ABOUT US

### JOURNAL HISTORY

### FREE-OF-CHARGE PUBLICATION

### ABSTRACTING AND INDEXING

### COPYRIGHT

### DIGITAL ARCHIVING AND PRESERVATION POLICY

### Journal History

Turkish Journal of Parasitology (Turkiye Parazitol Derg) is the double-blind peer-reviewed, open access, international publication of Turkish Society for Parasitology since 2004. 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, which was first published in 1978; Since 2004, has been contributing to the international literature with open access on the internet, with articles with high scientific standards published in the form of clinical and experimental research articles, case reports, reviews and letters to the editor on parasitology in the fields of medicine, veterinary and biology.

**English Title:** Turkish Journal of Parasitology

**Turkish title:** Türkiye Parazitoloji Dergisi

**Official abbreviation:** Turkiye Parazitol Derg

**E-ISSN:** 2146-3077

### Free-of-Charge Publication

No fee is charged from the authors during the submission, evaluation and publication process. Journal practices, ethical rules, technical information and necessary forms are specified on the journal's web page.

The manuscripts must be submitted via the JournalAgent online article system, represented on the journal website.

### Abstracting and Indexing

PubMed/MEDLINE

BIOSIS-Zoological Record

EBSCO Host

Index Copernicus

Gale

ProQuest

CINAHL

BIOSIS Previews Biological Abstracts

CABI

SCOPUS

Embase

J-Gate

TÜBİTAK ULAKBİM TR Dizin

DOAJ

ARDI

GOALI

Hinari

### OARE

Turkish Medline

Turkish Citation Index

### Copyright

After the publication decision is made and accepted, the "Copyright Transfer Form" should be attached to the submissions. The form can also be downloaded from the journal's article submission system. The Copyright Transfer Form must be signed by all contributing authors and a scanned version of this wet-signed document must be submitted.

By citing the author and the journal at the same time, without any profit-making motive, and only for educational purposes, the readers can copy the article without the permission of the copyright holder.

Turkish Journal of Parasitology is an open access publication, and the journal's publication model is based on Budapest Open Access Initiative (BOAI) declaration (<https://www.budapestopenaccessinitiative.org/read/>). All published content is available online, free of charge at <https://www.turkiyeparazitolderg.org/>. The journal's content is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC-ND) 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) which permits third parties to share and adapt the content for non-commercial purposes by giving the appropriate credit to the original work.

### Digital Archiving and Preservation Policy

Digital preservation is a set of processes and activities that ensure the retrieval and distribution of information now available in digital formats to guarantee long-term, perpetual access. The preservation policy includes the following measures:

### Website Archiving

All of the electronic content (website, manuscript, etc.) is stored in three different sources. Content on a server is online and accessible to readers. A copy of the same content is preserved as a backup on two other sources. Should a server fail, other resources can be brought online, and the website is expected to be available in 24-36 hours.

### Abstracting/Indexing Services

Our journal's Abstracting/Indexing services store essential information about articles. In addition, some of our journals' Abstracting/Indexing services archive metadata about the article and electronic versions of the articles. In this way, copies of articles are presented to the scientific community through these systems as an alternative to journals.



## AIMS AND SCOPE

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, letters to the editor and video articles 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 Host, Index Copernicus, Gale, ProQuest, CINAHL, BIOSIS Previews Biological Abstracts, CABI, SCOPUS, Embase, J-Gate, TÜBİTAK ULAKBİM TR Dizin, DOAJ, ARDI, GOALI, Hinari, OARE, Turkish Medline and Turkish Citation Index.

**English Title:** Turkish Journal of Parasitology

**Turkish title:** Türkiye Parazitoloji Dergisi

**Official abbreviation:** Türkiye Parazitol Derg

**E-ISSN:** 2146-3077

### 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.

Author (s) and copyright owner (s) grant access to all users for the articles published in the Turkish Journal of Parasitology as free of charge. Articles may be used provided that they are cited.

Open Access Policy is based on rules of Budapest Open Access Initiative (BOAI) <https://www.budapestopenaccessinitiative.org/read/>. 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.

**Turkish Journal of Parasitology not demand any subscription fee, publication fee or similar payment for access to electronic resources.**

### Creative Commons

A Creative Commons license is a public copyright license that provides free distribution of copyrighted works or studies. Authors use the CC license to transfer the right to use, share or modify their work to third parties. This journal is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) which permits third parties to share and adapt the content for non-commercial purposes by giving the appropriate credit to the original work.

Open access is an approach that supports interdisciplinary development and encourages collaboration between different disciplines. Therefore, Turkish Journal of Parasitology contributes to the scientific publishing literature by providing more access to its articles and a more transparent review process.

### Advertisement Policy

Potential advertisers should contact the Editorial Office. Advertisement images are published only upon the Editor-in-Chief's approval.

### Material Disclaimer

Statements or opinions stated in articles published in the journal do not reflect the views of the editors, editorial board and/or publisher; The editors, editorial board and publisher do not accept any responsibility or liability for such materials. All opinions published in the journal belong to the authors.

### Contact

#### Editorial Office

**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](mailto:yusuf.ozbel@ege.edu.tr) / [yusuf.ozbel@gmail.com](mailto:yusuf.ozbel@gmail.com)

#### Publisher Info

##### Galenos Publishing House

**Address:** Molla Gürani Mahallesi Kaçamak Sokak No: 21 34093 Fındıkzade - İstanbul/Turkey

**Phone:** +90 (212) 621 99 25

**Fax:** +90 (212) 621 99 27

**E-mail:** [info@galenos.com.tr](mailto:info@galenos.com.tr)

## INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

### Instructions for Authors

Turkish Journal of Parasitology (Turkiye Parazitolojisi Dergisi) is the double-blind peer-reviewed, open access, international publication organ of the Turkish Society for Parasitology. The journal is a quarterly publication, published in 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, letters to the editor and video articles biological, medical and veterinary parasitology.

The editorial and publication process of the Journal of the Turkish Academy of Dermatology 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.

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 the 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, and 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](http://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, 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 fulfil the authorship criteria recommended by the International Committee of Medical Journal Editors

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

- 1 Substantial contribution to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; AND
- 2 Drafting the work or revising it critically for important intellectual content; AND
- 3 Final approval of the version to be published; AND
- 4 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 on 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,



## INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

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 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 the Turkish Journal of Parasitology, authors accept to assign the copyright of their manuscript to the 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 the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) 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, PRISMA guidelines for systematic reviews and meta-analysis, ARRIVE guidelines and Guide for the Care and Use of Laboratory Animals for experimental animal studies and Helsinki Declaration as revised in 2013 for human research.

Manuscripts can only be submitted through the journal's online manuscript submission and evaluation system, available at <http://turkiyeparazitolderg.org/>. 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 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 did not fulfil 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



## INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

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.

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 a 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 labelled (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 should also 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 the 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 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

**Table 1. Limitations for each manuscript type**

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

**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 primary human 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>.

## 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 cancelled. 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.

## Editorial Office

**Editor in Chief:** Yusuf Özbel, MD, Prof

**Address:** Ege University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, 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](mailto:yusuf.ozbel@ege.edu.tr) / [yusuf.ozbel@gmail.com](mailto:yusuf.ozbel@gmail.com)

## Publisher Info

**Galenos Publishing House**

**Address:** Molla Gürani Mahallesi Kaçamak Sokak  
No: 21 34093 Fındıkzade - İstanbul/Turkey

**Phone:** +90 (212) 621 99 25

**Fax:** +90 (212) 621 99 27

**E-mail:** [info@galenos.com.tr](mailto:info@galenos.com.tr)



## ETHICAL POLICY

### Peer Review, Publication Ethics and Malpractice Statement

#### Peer- Review

Submission is considered on the conditions that papers are previously unpublished and are not offered simultaneously elsewhere; that authors have read and approved the content, and all authors have also declared all competing interests; and that the work complies with the Ethical Approval and has been conducted under internationally accepted ethical standards. If ethical misconduct is suspected, the Editorial Board will act in accordance with the relevant international rules of publication ethics (i.e., COPE guidelines).

Editorial policies of the journal are conducted as stated in the rules recommended by the Council of Science Editors and reflected in the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication (<http://www.icmje.org/>). Accordingly, authors, reviewers, and editors are expected to adhere to the best practice guidelines on ethical behavior contained in this statement.

Submitted manuscripts are subjected to double-blinded peer-review. The scientific board guiding the selection of the papers to be published in the journal consists of elected specialists of the journal and, if necessary, selected from national and international experts in the relevant field of research. All manuscripts are reviewed by the editor, section associate editors and at least three internal and external expert reviewers. All research articles are interpreted by a statistical editor as well.

#### Human and Animal Rights

For the experimental, clinical and drug human studies, approval by ethical committee and a statement on the adherence of the study protocol to the international agreements (World Medical Association Association of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects," amended October 2013, [www.wma.net](http://www.wma.net)) are required. In experimental animal studies, the authors should indicate that the procedures followed were by animal rights (Guide for the care and use of laboratory animals, [www.nap.edu.catalog/5140.html](http://www.nap.edu/catalog/5140.html)), and they should obtain animal ethics committee approval. The Ethics Committee approval document should be submitted to the Turkish Journal of Parasitology together with the manuscript.

The approval of the ethics committee, statement on the adherence to international guidelines mentioned above and that the patient's informed consent is obtained should be indicated in the 'Material and Method' section and is required for case reports whenever data/media used could reveal the identity of the patient. The declaration of the conflict of interest between authors, institutions, acknowledgement of any financial or material support, aid is mandatory for authors submitting a manuscript, and the statement should appear at the end of the manuscript. Reviewers are required to report if any potential conflict of interest exists between the reviewer and authors, institutions.

#### Plagiarism and Ethical Misconduct

This journal uses "iThenticate" to screen all submissions for plagiarism before publication.

It is essential that authors avoid all forms of plagiarism and ethical misconduct as represented below.

**Plagiarism:** To Republish whole or part of a content in another author's publication without attribution.

**Fabrication:** To publish data and findings/results that do not exist.

**Duplication:** Using data from another publication that includes republishing an article in different languages.

**Salamisation:** Creating multiple publications by supernaturally splitting the results of a study.

**Data Manipulation/Falsification:** Manipulating or deliberately distorting research data to give a false impression.

We disapprove of such unethical practices as plagiarism, fabrication, duplication, data manipulation/falsification and salamisation and efforts to influence the review process with such practices as gifting authorship, inappropriate acknowledgements, and references in line with the COPE flowcharts. (hperlink) <https://publicationethics.org/guidance/Flowcharts>

Submitted manuscripts are also subjected to the evaluation of plagiarism, duplicate publication by automatic software. Authors are obliged to acknowledge if they published study results in whole or in part in the form of abstracts.

#### DUTIES OF PUBLISHER:

##### Handling of unethical publishing behaviour

The publisher will take all appropriate measures to modify the article in question, in close cooperation with the editors, in cases of alleged or proven scientific misconduct, fraudulent publication, or plagiarism. This includes the prompt publication of an erratum, disclosure, or retraction of the affected work in the most severe case. Together with the editors, the publisher will take reasonable steps to detect and prevent the publication of articles in which research misconduct occurs and will under no circumstances promote or knowingly allow such abuse to occur.

##### Editorial Autonomy

Turkish Journal of Parasitology is committed to ensuring the autonomy of editorial decisions without influence from anyone or commercial partners.

##### Intellectual Property and Copyright

Turkish Journal of Parasitology protects the property and copyright of the articles published in the journal and maintains each article's published version of the record. The journal provides the integrity and transparency of each published article.

##### Scientific Misconduct

Turkish Journal of Parasitology's publisher always takes all appropriate measures regarding fraudulent publication or plagiarism.



## ETHICAL POLICY

### DUTIES OF EDITORS:

#### Decision on Publication and Responsibility

The editor of the journal keeps under control everything in the journal and strives to meet the needs of readers and authors. The editor is also responsible for deciding which articles submitted to the journal should be published and guided by the policies subjected to legal requirements regarding libel, copyright infringement, and plagiarism. The editor might discuss with reviewers while making publication decisions. The editor is responsible for the contents and overall quality of the publication. Editor ought to provide a fair and appropriate peer-review process.

#### Objectivity

Articles that are submitted to the journal are always evaluated without any prejudice.

#### Confidentiality

The editor must not disclose any information about a submitted article to anyone other than editorial staff, reviewers, and publisher.

#### Conflicts of Interest and Disclosure

Turkish Journal of Parasitology does not allow any conflicts of interest between the parties such as authors, reviewers and editors. Unpublished materials in a submitted article must not be used by anyone without the express written assent of the author.

#### Fundamental Errors in Published Works

Authors are obliged to notify the journal's editors or publisher immediately and to cooperate with them to correct or retract the article if significant errors or inaccuracies are detected in the published work. If the editors or publisher learn from a third party that a published work contains a material error or inaccuracy, the authors must promptly correct or retract the article or provide the journal editors with evidence of the accuracy of the article.

### DUTIES OF REVIEWERS:

#### Evaluation

Reviewers evaluate manuscripts without origin, gender, sexual orientation or political philosophy of the authors. Reviewers also ensure a fair blind peer review of the submitted manuscripts for evaluation.

#### Confidentiality

All the information relative to submitted articles is kept confidential. The reviewers must not be discussed with others except if authorized by the editor.

#### Disclosure and Conflict of Interest

The reviewers have no conflict of interest regarding parties such as authors, funders, editors, etc.

#### Contribution to editor

Reviewers help the editor in making decisions and may also assist the author in improving the manuscript.

#### Objectivity

They always do objective judgment evaluation. The reviewers express their views clearly with appropriate supporting arguments.

#### Acknowledgement of Sources

Reviewers ought to identify a relevant published study that the authors have not cited. Reviewers also call to the editor's attention any substantial similarity or overlap between the manuscript and any other published paper of which they have personal knowledge.

### DUTIES OF AUTHORS:

#### Reporting Standards

A submitted manuscript should be original, and the authors ensure that the manuscript has never been published previously in any journal. Data of the research ought to be represented literally in the article. A manuscript ought to include adequate detail and references to allow others to replicate the study.

#### Originality

The authors who want to submit their study to the journal must ensure that their study is entirely original. The words and sentences getting from the literature should be appropriately cited.

#### Multiple Publications

Authors should not submit the same study for publishing in any other journals. Simultaneous submission of the same study to more than one journal is unacceptable and constitutes unethical behaviour.

#### Acknowledgement of Sources

Convenient acknowledgement of the study of others has to be given. Authors ought to cite publications that have been efficient in determining the study. All of the sources that used the process of the study should be remarked.

#### Authorship of a Paper

Authorship of a paper ought to be limited to those who have made a noteworthy contribution to the study. If others have participated in the research, they should be listed as contributors. Authorship also includes a corresponding author who is in communication with the editor of a journal. The corresponding author should ensure that all appropriate co-authors are included in a paper.

#### Disclosure and Conflicts of Interest

All sources of financial support should be disclosed. All authors ought to disclose a meaningful conflict of interest in the process of forming their study. Any financial grants or other support received for a submitted study from individuals or institutions should be disclosed to the Editorial Board of the Turkish Journal of Parasitology. The ICMJE Potential Conflict of Interest Disclosure Form should be filled in and submitted by all contributing authors to disclose a potential conflict of interest. The journal's Editorial Board determines cases of a potential conflict of interest of the editors, authors, or reviewers within the scope of COPE and ICMJE guidelines.

## ETHICAL POLICY

Conditions that provide financial or personal benefit bring about a conflict of interest. The reliability of the scientific process and the published articles is directly related to the objective consideration of conflicts of interest during the planning, implementation, writing, evaluation, editing, and publication of scientific studies.

Financial relations are the most easily identified conflicts of interest, and it is inevitable that they will undermine the credibility of the journal, the authors, and the science. These conflicts can be caused by individual relations, academic competition, or intellectual approaches. The authors should refrain as much as possible from making agreements with sponsors in the opinion of gaining profit or any other advantage that restrict their ability to access all data of the study or analyze, interpret, prepare, and publish their articles. In order to prevent conflicts of interest, editors should refrain from bringing together those who may have any relationship between them during the evaluation of the studies. The editors, who make the final decision about the articles, should not have any personal, professional or financial ties with any of the issues they are going to decide.

Authors should inform the editorial board concerning potential conflicts of interest to ensure that their articles will be evaluated within the framework of ethical principles through an independent assessment process.

If one of the editors is an author in any manuscript, the editor is excluded from the manuscript evaluation process. In order to prevent any conflict of interest, the article evaluation process is carried out as double-blinded. Because of the double-blinded evaluation process, except for the Editor-in-Chief, none of the editorial board members, international advisory board members, or reviewers is informed about the authors of the manuscript or institutions of the authors.

Our publication team works devotedly to ensuring that the evaluation process is conducted impartially, considering all these situations.

The conflict of interest form that each author has to sign must be uploaded during the manuscript submission.



## İÇİNDEKİLER/CONTENS

## ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / ORIGINAL INVESTIGATIONS

- 167** Vajinit Ön Tanılı Olgularda *Trichomonas vaginalis* Saptanmasında Tanı Yöntemlerin Karşılaştırılması ve Çeşitli Patojenlerle Birlikteliği  
*Comparison of Diagnostic Methods for Detection of Trichomonas vaginalis in Prediagnosed Vaginitis Cases and Its Association with Various Pathogens*  
Vildan Turan Faraşat, İbrahim Cüneyt Balcıoğlu, Pınar Solmaz Hasdemir, Ertaç Gümü; Manisa, Türkiye
- 172** Rose Bengal Kullanılarak Sonodinamik Tedavinin *Leishmania tropica* Promastigotları Üzerindeki Etkisinin *in vitro* Değerlendirmesi  
*In vitro Evaluation of the Effect of Sonodynamic Therapy Using Rose Bengal on Leishmania tropica Promastigotes'*  
Serçin Özlem Çalışkan, Cem Aslan, Ömer Furkan Duran, İlayda Kaya, Hüsne Özen; Uşak, Türkiye
- 180** Seroprevalence of *Neospora caninum* in Goats from Korkuteli District of Antalya  
*Antalya'nın Korkuteli Yöresi Keçilerinde Neospora caninum'un Seroprevalansı*  
Mübeccel Atelge, Mustafa Karatepe, Alparlan Yıldırım; Kastamonu, Niğde, Kayseri, Turkey
- 184** Comparison of Intestinal Parasites in Native and Refugee Patients Admitted to a Territory Hospital in Turkey  
*Türkiye'de Bir Bölge Hastanesine Başvuran Yerli ve Mülteci Hastalarda Görülen Bağırsak Parazitlerinin Karşılaştırılması*  
Filiz Demirel, Bedia Dinç; Ankara, Turkey
- 189** Çocuklarda Tanıdan Tedaviye Hidatik Hastalığı: On Yıllık Tek Merkez Deneyimi  
*Hydatid Disease in Children from Diagnosis to Treatment: A 10-year Single Center Experience*  
Ayşegül Elvan Tüz, Yıldız Ekemen Keleş, Aslıhan Şahin, Gülnihan Üstündağ, Selin Taşar, Eda Karadağ Öncel, Ahu Kara Aksay, Mustafa Onur Öztan, Gökhan Köylüoğlu, Ahmet Ergin Çapar, Dilek Yılmaz Çiftdoğan; İzmir, Türkiye
- 195** Evaluation of Potential Inflammatory Markers for Cystic Echinococcosis: P-selectin and Resistin  
*Kistik Ekinokokkoz için Potansiyel Enflamatuvar Belirteçlerin Değerlendirilmesi: P-selektin ve Resistin*  
Serra Örsten, İpek Baysal, Türkmen Çiftçi, Emre Ünal, Samiye Yabanoğlu Çiftçi, Ahmet Bülent Doğrul, Devrim Akıncı, Yakut Akyön, Okan Akhan; Ankara, Turkey
- 201** Determination of Factors Affecting Human Transmission of *Echinococcus granulosus* Parasite: A Case-control Study, Turkey  
*Ekinokokus granulosus Parazitinin İnsana Bulaşmasını Etkileyen Faktörlerin Belirlenmesi: Türkiye'de Olgu-kontrol Tipinde Bir Araştırma*  
Turgut Anuk, Hasan Çantay; Erzurum, Kars, Turkey
- 207** Prevalence and Economic Significance of Hidatidosis in Cattle Slaughtered at an Abattoir in Konya, Turkey  
*Konya'da Mezbahada Kesilen Siğirilerde Hidatidosis'in Yaygınlığı ve Ekonomik Önemi*  
Abdullah Küçükyağlıoğlu, Uğur Uslu; Konya, Turkey
- 213** Identification of Larval *Eustrongylides* (Nematoda: Dioctophymatoidea) sp. from *Channa punctata* Bloch, 1793 by Morphological and Molecular Techniques  
*Channa punctata Bloch'tan Larva Eustrongylides (Nematoda: Dioctophymatoidea) sp.'nin Morfolojik ve Moleküler Tekniklerle Tanımlanması, 1793*  
Ivy Kundu, Dipak Ranjan Mandal; West Bengal, India
- 219** Oküler *Demodex* Kolonizasyonu ile Konjonktival Flora İlişkisinin Araştırılması  
*Investigation of the Relationship Between Ocular Demodex Colonization and the Conjunctival Flora*  
Taha Ayyıldız, Muttalip Çiçek, Fikriye Milletli Sezgi, Mevlüt Yılmaz; Bursa, Kırşehir, Amasya, Ankara, Türkiye



## İÇİNDEKİLER/CONTENS

- 224** Afyonkarahisar İlinde Bildirilen Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Olgularının Özelliklerinin İncelenmesi  
*Investigation of the Characteristics of Crimean Congo Hemorrhagic Fever Cases Reported in Afyonkarahisar Province*  
Derya Korkmaz, Petek Konya, Neşe Demirtürk; Afyonkarahisar, Türkiye
- 228** Hirudinea (Annelida) Fauna of Some Wetlands in Bingöl Province  
*Bingöl İlindeki Bazı Sulak Alanların Hirudinea (Annelida) Faunası*  
Tuba Elaltunkara, Mustafa Koyun, Nimetullah Korkut, Naim Sağlam; Bingöl, Bilecik, Elazığ, Türkiye
- 235** Bir Eğitim ve Araştırma Hastanesine 2017-2021 Yılları Arasında Başvuran Hastalarda *Toxoplasma* Serolojisinin Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi  
*Retrospective Evaluation of Toxoplasma Serology in Patients Admitted to a Training and Research Hospital Between 2017-2021*  
Özlem Ulusan Bağcı, Fulya Bayındır Bilman, Nurten Baran, Bilal Olcay Peker, Bayram Pektaş, Ayşegül Aksoy Gökmen, Hüseyin Hakan Er, Selçuk Kaya; İzmir, Türkiye

## OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS

- 242** MIS-C ve Visceral Leishmaniasis Birlikteliği: Pandemide Diğer Hastalıkların Kliniği Maskelendi mi?  
*MIS-C and Visceral Leishmaniasis Co-occurrence: Has the Clinic of Other Diseases Masked in the Pandemia?*  
Merve Kılıç Çil, Metin Çil, Songül Uzgelir, Orkun Tolunay, Ümit Çelik; Adana, Türkiye
- 246** Karaciğer ve Akciğer Kistik Ekinokokkoz Nedeni ile Tedavisi Tamamlanan Hastada Spinal Bölgede Görülen Nüks: Nadir Bir Pediyatrik Spinal Kistik Ekinokokkoz Olgusu  
*Recurrence from the Spinal Region of the Patient Whose Treatment Was Completed with Liver and Lung Cystic Echinococcosis: A Rare Pediatric Case of Spinal Cystic Echinococcosis*  
Fatma Kılınç, Ümmühan Çay, Özlem Özgür Gündeşlioğlu, Derya Alabaz, Kadir Oktay, Umur Anıl Pehlivan; Adana, Türkiye
- 249** Kutanöz Leishmaniasis Tanı ve İzolasyonunda NNN Besiyeri Olmadığı Durumda RPMI-1640 Besiyeri Kullanılabilir mi?  
*Could RPMI-1640 Medium be Used in the Diagnosis and Isolation of Cutaneous Leishmaniasis Lacking NNN Medium?*  
İbrahim Çavuş, Tülay Aksoy, Ahmet Yıldırım, Mustafa Turhan Şahin, Ahmet Özbilgin; Manisa, Türkiye

## DERLEME/REVIEW

- 253** *Toxoplasma gondii*'ye Karşı Geliştirilen DNA Aşılarına Genel Bir Bakış  
*An Overview of DNA Vaccines Development Studies Against Toxoplasma gondii*  
Ceren Gül, Tuğba Karakavuk, Muhammet Karakavuk, Hüseyin Can, Aysu Değirmenci Döşkaya, Aytül Gül, Sedef Erkunt Alak, Adnan Yüksel Gürüz, Cemal Ün, Mert Döşkaya; İzmir, Türkiye



# Vajinit Ön Tanılı Olgularda *Trichomonas vaginalis* Saptanmasında Tanı Yöntemlerinin Karşılaştırılması ve Çeşitli Patojenlerle Birlikteliği

*Comparison of Diagnostic Methods for Detection of Trichomonas vaginalis in Prediagnosed Vaginitis Cases and Its Association with Various Pathogens*

✉ Vildan Turan Faraşat<sup>1</sup>, ✉ İbrahim Cüneyt Balcıoğlu<sup>2</sup>, ✉ Pınar Solmaz Hasdemir<sup>3</sup>, ✉ Ertaç Gümüş<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Manisa Şehir Hastanesi, Tıbbi Parazitoloji Kliniği, Manisa, Türkiye

<sup>2</sup>Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

<sup>3</sup>Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

<sup>4</sup>Manisa Şehir Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Manisa, Türkiye

Cite this article as: Turan Faraşat V, Balcıoğlu İC, Solmaz Hasdemir P, Gümüş E. Comparison of Diagnostic Methods for Detection of *Trichomonas vaginalis* in Prediagnosed Vaginitis Cases and Its Association with Various Pathogens. Türkiye Parazitoloj Derg 2022;46(3):167-71.

## ÖZ

**Amaç:** *Trichomonas vaginalis* (*T. vaginalis*) tanısında direkt mikroskopi, boyalı bakı ve kültür yöntemi gibi parazitolojik tanı yöntemleri sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak günümüzde başta DNA tabanlı yöntemler olmak üzere yeni tanı yöntemleri geliştirilmekte ve farklı patojenlerin aynı anda tanınmasına olanak sağlamaktadır. Çalışmamızda, *T. vaginalis* ve beraberinde farklı patojenlerin saptanabildiği multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) tercih edilmesinin klasik yöntemlere alternatif olup olamayacağı ve oluşabilecek patojen birlikteliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Araştırmamızda Manisa Celal Bayar Üniversitesi ve Manisa Şehir Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Poliklinikleri'ne başvuran 100 kadın hastanın rutin muayene sırasında alınan sürüntü örnekleri değerlendirilmiştir. Bu örneklerde direkt mikroskopi, Giemsa boyama ve kültür ile *T. vaginalis* varlığı araştırılmıştır. Gerçek zamanlı multipleks PZR yöntemiyle de *T. vaginalis* yanı sıra diğer olası etkenler de araştırılmıştır.

**Bulgular:** Çalışmamıza dahil olan 100 hasta örneğinden 85'inde (%85) en az bir etken saptanmıştır. *T. vaginalis* pozitifliği, parazitolojik tanı yöntemleri ile örneklerin 6'sında (%6), multipleks PZR ile örneklerin 10'unda (%10) saptanmıştır. Bunun yanı sıra gerçek zamanlı multipleks PZR ile örneklerin 4'ünde (%4) *Chlamydia trachomatis*, 3'ünde (%3) *Neisseria gonorrhoeae*, 68'inde (%68) *Ureaplasma urealyticum/parvum*, 68'inde (%68) *Gardnerella vaginalis* ve 1'inde (%1) Herpes simpleks virüs 1/2 pozitifliği bulunmuştur. Multipleks PZR ile bakılan diğer bir etken olan *Mycoplasma genitalium* ise hiçbir örnekte pozitif bulunmamıştır. *T. vaginalis* için parazitolojik bir test olan kültürün ve multipleks PZR testinin Kappa değeri %59,5 ile orta derece uyum göstermiştir.

**Sonuç:** *T. vaginalis* tanısında mikroskopi ve kültür yöntemlerinin yanı sıra, özgülüğü ve duyarlılığı yüksek olan gerçek zamanlı multipleks PZR yöntemini kullanmanın çoklu enfeksiyonları da saptayarak doğru ve etkin tedaviye katkıda bulunacağı kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Trichomonas vaginalis*, tanı, multipleks PZR

## ABSTRACT

**Objective:** Parasitological diagnostic methods such as direct microscopy, staining examination and culture methods are frequently used in the diagnosis of *Trichomonas vaginalis* (*T. vaginalis*). Though, nowadays, new diagnostic methods, especially DNA-based methods, are developing, enabling the simultaneous recognition of different pathogens. In our study, we evaluated whether the choice of multiplex polymerase chain reaction (PCR), in which *T. vaginalis* and different pathogens can be detected, is an alternative to classical methods and to evaluate the possible coexistence of pathogens.

**Methods:** In our study, swab samples taken during routine examination of 100 female patients who presented to Manisa Celal Bayar University and Manisa City Hospital Outpatient Clinics Obstetrics and Gynecology were evaluated. The presence of *T.*



Geliş Tarihi/Received: 03.01.2022 Kabul Tarihi/Accepted: 14.04.2022

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Vildan Turan Faraşat, Manisa Şehir Hastanesi, Tıbbi Parazitoloji Kliniği, Manisa, Türkiye  
Tel/Phone: +90 506 316 64 42 E-Posta/E-mail: vildanturan45@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-8464-4502

*vaginalis* was investigated in these samples by direct microscopy, Giemsa stain and culture. Besides *T. vaginalis*, other possible agents were also investigated by real-time multiplex PCR method.

**Results:** At least one agent was detected in 85 (85%) of the 100 patient samples included in our study. *T. vaginalis* positivity was detected in 6 (6%) of the samples by parasitological diagnosis methods and in 10 (10%) of the samples by multiplex PCR. Additionally, with real-time multiplex PCR, *Chlamydia trachomatis* in 4 (4%), *Neisseria gonorrhoeae* in 3 (3%), *Ureaplasma urealyticum/parvum* in 68 (68%), *Gardnerella vaginalis* in 68 (68%) and Herpes simplex virus 1/2 in 1 (1%) of the sample positivity was found. *Mycoplasma genitalium*, another agent examined by multiplex PCR, was not found positive in any sample. The Kappa value of the culture that is a parasitological test and multiplex PCR for *T. vaginalis* showed moderate agreement with 59.5%.

**Conclusion:** It has been concluded that using real-time multiplex PCR method, which has high specificity and sensitivity, in addition to microscopy and culture methods in the diagnosis of *T. vaginalis*, could contribute to the correct and effective treatment by detecting multiple infections.

**Keywords:** *Trichomonas vaginalis*, diagnosis, multiplex PCR

## GİRİŞ

*Trichomonas vaginalis* (*T. vaginalis*), yaşam döngüsünde sadece trofozoit formu bulunan ancak kist formu bulunmadığı bilinen tek hücreli bir protozondur (1). Yaşamını tek konağı olan insanda, alt genitöüriner sistemde sürdüren bu parazitin, ortalama uzunluğu 8-30 µm ortalama genişliği ise 5-10 µm'dir (1). Cinsel yolla bulaşan non-viral etkenler arasında sık görülen *T. vaginalis*, Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre 15-49 yaş kadın ve erkeklerde 2016 yılında 156 milyon yeni olgu bildirilmiştir (2). *Trichomonas vaginalis*'in neden olduğu hastalık tablosu olan trichomoniasis, sarımsı yeşil köpüklü akıntı, kaşıntı, ağrılı cinsel ilişki, disüri, noktasal hemorajik lezyonların görüldüğü "çilek serviks" ile karakterizedir. Ancak çalışmalar klinik özelliklerin trichomoniasis tanısında tek başına kullanılması durumunda, enfekte kadınların %88'inin teşhis edilmeyeceğini ve enfekte olmayan kadınların %29'unun yanlış bir şekilde *T. vaginalis* enfeksiyonlu olarak belirtileceğini göstermiştir (3,4). Uygun şekilde tedavi edilmediği takdirde trichomoniasisin, servisit, endometrit, pelvik enflamatuvar hastalık, erken membran rüptürü, çeşitli etkenlerin bulaş riskinde artış ile ilişkisi bulunmuştur (5-7). Bu nedenle klinik tanının yanı sıra çeşitli laboratuvar yöntemleri ile tanı desteklenmelidir.

*Trichomonas vaginalis* tanısında inceleme materyali kadınlarda vajinal akıntıdır. Karakteristik trofozoit yapıları lam-lamel arasında direkt mikroskopik inceleme ile görülebileceği gibi Giemsa ve Papanicolaou gibi boyalı yaymalarda da saptanabilir. *In vitro* besiyerlerinde üretilebilen *T. vaginalis* için sıklıkla cystein pepton liver maltose ve trypticase yeast extract (TYM) besiyerleri kullanılmaktadır. Tanı hassasiyetini artırmak amacıyla günümüzde *T. vaginalis* enfeksiyonunun saptanmasında polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) testleri kullanılmaktadır (1,8). Çalışmamızda *T. vaginalis*'in tanısında direkt mikroskopi, Giemsa boyama ve kültür yöntemleri (TYM besiyeri) ile özgüllüğü ve duyarlılığı yüksek gerçek zamanlı multipleks PZR yönteminin katkısı ve etkinliğinin değerlendirilmesi, ayrıca vajinite neden olabilecek diğer etkenlerin de aynı PZR yöntemi ile eş zamanlı olarak taranması amaçlanmıştır.

## YÖNTEMLER

Bu çalışma, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirilmiştir (tarih: 10.07.2019 ve karar no: 20.478.486-35).

### Hastalar ve Örnekler

Çalışmamızda, Ceylal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum (KHD) Polikliniği ile Manisa Şehir Hastanesi KHD polikliniğine başvuran, vajinal kokulu-kokusuz akıntı, vajinal kaşıntı, vajinal ağrı-yanma semptomlarından en

az birine sahip, çalışmaya katılmayı kabul ederek onam formu dolduran 100 hastadan rutin muayene esnasında iki adet sürüntü örneği elde edilmiştir. Sürüntü örneklerinden bir tanesi ile TYM besiyerine ekim yapılmış, diğer örnek ile direkt bakı, boyalı bakı ve multipleks PZR yöntemleri çalışılmıştır.

### Direkt Mikroskopik İnceleme ve Giemsa Boyama

Hastadan steril eküvyonla alınan akıntı örneği, direkt olarak lam üzerine yayıldıktan sonra bir damla serum fizyolojik ile sulandırılıp lamel kapatılarak değerlendirilmiştir. Değerlendirme için ışık mikroskopunda 40X büyütme kullanılarak hareketli *T. vaginalis* trofozoitleri araştırılmıştır.

Hastadan steril eküvyonla alınan akıntı örneği, direkt olarak lam üzerine yayılıp kurutulduktan sonra metil alkol ile 2-3 dakika tespit edilmiş ve kurutulmuştur. Giemsa (5 mL distile su + 5 damla Giemsa stok solüsyonu) ile boyanmıştır. Yarım saat boyama sonunda, normal çeşme suyu altında yıkanmış ve kurutularak değerlendirilmiştir. Kamçılı, dalgalı zarı ve aksostili ile tipik *T. vaginalis* trofozoitleri araştırılmıştır.

### TYM Besiyeri ile Kültür

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarı'nda usulüne uygun olarak hazırlanan TYM besiyerleri KHD polikliniklerinde +4 °C'de saklanmıştır. Çalışma kriterlerini sağlayan hastaların örnekleri günlük olarak her iki hastaneden toplanmış ve 37 °C'de inkübe edilen örneklerin 7 gün boyunca üreme takipleri yapılmıştır (8).

### Gerçek Zamanlı Multipleks PZR İşlemi ve Değerlendirme

Gerçek zamanlı multipleks PZR çalışması için gerekli RNA izolasyonu işlemi "QIAamp RNA Blood Mini Kit" (Qiagen, Germany) kullanılarak yapılmıştır. Örnekler çalışma yapılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir (9).

Gerçek zamanlı multipleks PZR için "Fast Track Diagnostic STD 9 RUO" kiti kullanılmıştır. Kit içerisinde iki primer prob miksi: Birincisinde *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*), *Mycoplasma genitalium* (*M. genitalium*), *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*), internal kontrol ve pozitif kontrol; ikincisinde ise *T. vaginalis*, *Gardnerella vaginalis* (*G. vaginalis*), *Ureaplasma urealyticum/parvum* (*U. parvum/urealyticum*), Herpes simpleks virüs 1/2 (HSV1/2) ve pozitif kontrol yer almıştır (10).

Çalışmamızda her bir örnek için 15 µL master miks; 1,5 µL primer prob miks + 1 µL enzim + 12,5 µL buffer olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan 15 µL master miks içerisine 10 µL pozitif kontrol, negatif kontrol ve hasta izolasyon örneği eklenecek şekilde gerçekleştirilmiştir. Çalışma prosedürü; 50 °C 15 dakika, 94 °C 1 dakika başlangıçtan sonra 40 döngü 94 °C 8 saniye, 60 °C 1 dakikalık olacak şekilde programlanmıştır.

## İstatistiksel Analiz

Testler arasındaki uyumu belirlemede veriler SPSS 21.0 (SPSS Inc, Chicago Amerika Birleşik Devletleri) programına kaydedilmiştir. Değerlendirmeler bu programa göre yapılmıştır. Kültür-multipleks PZR arasındaki tutarlılık (uyum) için Cohen'in kappa testi analizi yapılmıştır.

## BULGULAR

Çalışmamızın örnek toplama, direkt mikroskopik bakı, Giemsa boyama yöntemi, TYM besiyerinde kültür işlemleri Ekim 2019-Mart 2020 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız bir yıl olarak planlanmış ve bu süre içerisinde tamamlanmıştır. Çalışmamıza Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi KHD Polikliniği'nden 31, Manisa Şehir Hastanesi KHD Polikliniği'nden 69 hasta dahil edilmiştir. Bu hasta gurubunda en küçük yaş 20, en büyük yaş 72 olup hastaların yaş ortalaması 38,5 medyan yaşı ise 37 bulunmuştur. Bazı hastaların vajinal akıntı, kaşıntı, yanma-ağrı şikayetlerinin yanı sıra adet düzensizliği, disüri, genital siğilyara, disparoni, enürezis gibi ek şikayetleri olduğu belirlenmiştir. Örnekleri alınan 100 hastanın, 6'sında (%6) direkt mikroskopik bakı, Giemsa boyama yöntemi ile *T. vaginalis* saptanmış ve TYM besiyerlerinde üreme olmuştur. Aynı hasta örneklerinde pozitiflik saptanması nedeniyle parazitolojik tanı yöntemleri olarak tek grupta toplanmıştır. Gerçek zamanlı multipleks PZR test ile 100 hastanın 10'unda (%10) *T. vaginalis* açısından pozitiflik saptanmıştır (Tablo 1).

Çalışmamızın istatistiği SPSS 21.0 programında hesaplanmıştır. Kappa değeri 0,595 olarak bulunmuştur. Çalışmamız orta düzeyde uyuma kappa değerine sahip olmasına rağmen iyi düzeyde uyuma sınırına oldukça yakın olduğu görülmüştür.

Gerçek zamanlı multipleks PZR ile pozitif olduğu saptanan 5 (%50) *T. vaginalis* pozitif örneğinin direkt mikroskopik bakı, Giemsa boyalı bakı ve TYM kültür yöntemleri ile pozitif olan örnekler olduğu görülmüştür. Parazitolojik yöntemlerin pozitif saptadığı 1 (1/6) (%16,6) örneğin gerçek zamanlı multipleks PZR ile tüm etkenler için negatif olduğu görülmüştür. Gerçek zamanlı multipleks PZR ile *T. vaginalis* pozitifliği saptanan 10 örnekten 5'i (%50) ise parazitolojik yöntemlerle negatif bulunmuştur (Tablo 1). Multipleks PCR ile *T. vaginalis* pozitif saptanan hastaların yaş ilişkisi ise Tablo 2'de verilmiştir.

## Gerçek Zamanlı Multipleks PZR'da Çoklu Etken Saptama

Çalışmamıza dahil edilen 100 hasta örneğinin 15'i gerçek zamanlı multipleks PZR yöntemi ile hiçbir etkenle pozitif sonuç vermemiştir. Yirmi sekiz örnekte tek, 47 örnekte iki, 8 örnekte üç, 2 örnekte ise dört etken ile pozitiflik saptanmıştır. Çalışmamızda %28 oranında tekli etken, %57 oranında çoklu etken bulunmuştur (Tablo 3).

## TARTIŞMA

Vajinit tablosunun oluşmasında, cinsel yolla bulaşan birçok etken veya flora ortamının değişmesine bağlı olarak fırsatçı patojen

**Tablo 1. *T. vaginalis* saptanması için kullanılan parazitolojik tanı yöntemleri ve multipleks PZR'nin karşılaştırılması**

		Multipleks PZR**		Toplam n
		Negatif n (%)	Pozitif n (%)	
Parazitolojik tanı*	Negatif	89 (94,6)* (98,8)**	5 (5,3)* (50)**	94
	Pozitif	1 (16,6)* (11,1)**	5 (83,3)* (50)**	6
	Toplam	90	10	100

\*Parazitolojik tanı (TYM besiyeri ile kültür); \*\*Multipleks PZR SPSS 21.0 Cohen'in kappa değeri %59,5, PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

**Tablo 2. Multipleks PZR ile saptanan etkenler**

Yaş aralığı	Ng	Mg	Ct	HSV1/2	Uu/p	Tv	Gv
20-24	-	-	-	-	7 (%10,3)	2 (%20)	6 (%8,8)
25-29	-	-	1 (%25)	-	8 (%11,7)	1 (%10)	6 (%8,8)
30-34	1 (%33,3)	-	-	1(%100)	15 (%22,0)	-	14 (%20,6)
35-39	-	-	1 (%25)	-	15 (%22,0)	2 (%20)	16 (%23,5)
40-44	1 (%33,3)	-	-	-	5 (%7,3)	2 (%20)	6 (%8,8)
45-49	-	-	1 (%25)	-	6 (%8,8)	2 (%20)	6 (%8,8)
50-54	-	-	-	-	6 (%8,8)	-	7 (%10,3)
55-59	1 (%33,3)	-	1 (%25)	-	5 (%7,3)	-	5 (%7,3)
60-64	-	-	-	-	1 (%1,5)	1 (%10)	2 (%2,9)
65-69	-	-	-	-	-	-	-
70-72	-	-	-	-	-	-	-
Toplam	3 (%100)	0	4 (%100)	1 (%100)	68 (%100)	10 (%100)	68 (%100)

Ng: *Neisseria gonorrhoeae*, Mg: *Mycoplasma genitalium*, Ct: *Chlamydia trachomatis*, HSV: Herpes simpleks virüs, Uu/p: *Ureaplasma urealyticum/parvum*, Tv: *Trichomonas vaginalis*, Gv: *Gardnerella vaginalis*, PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu



**Tablo 3.** Multipleks PZR ile tekli, ikili, üçlü, dördü etken değerlendirilmesi

Tek etken	Sayı	İkili etken	Sayı	Üçlü etken	Sayı	Dördü etken	Sayı
Ng	0	Ct-Uu/p	1	Tv-Uu/p-Gv	6	Ng-Tv-Uu/p-Gv	1
Mg	0	HSV-Uu/p	1	Ng-Uu/p-Gv	1	Ng-Ct-Uu/p-Gv	1
Ct	1	Tv-Gv	1	Ct-Uu/p-Gv	1		
HSV1/2	0	Uu/p-Gv	44				
Uu/p	12						
Tv	2						
Gv	13						
Toplam	28		47		8		2

Ng: *Neisseria gonorrhoeae*, Mg: *Mycoplasma genitalium*, Ct: *Chlamydia trachomatis*, HSV: Herpes simpleks virüs, Uu/p: *Ureaplasma urealyticum/parvum*, Tv: *Trichomonas vaginalis*, Gv: *Gardnerella vaginalis*, PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

mikroorganizmalar rol oynamaktadır. Çalışmamızda parazitolojik metodlarla 6 (%6), multipleks yöntemiyle 10 (%10) örnekte *T. vaginalis* pozitifliği saptanmıştır (Tablo 1). Dogan ve Gitmez (9) çalışmalarında direkt mikroskopik bakı yöntemi ile %6,9 Giemsa boyama yöntemi ile %6,7 kültür yöntemi ile %7,6 ve gerçek zamanlı PZR ile *T. vaginalis* pozitifliğini %8,6 olarak bildirmiştir. Yazısız ve ark. (10) 2020 yılında yaptıkları çalışmada multipleks PZR kullanarak *T. vaginalis* sıklığını %1,9 olarak saptamışlardır.

Çalışmamızda parazitolojik yöntemlerden biri olan kültür ile multipleks PZR yönteminin arasındaki karşılaştırmada Cohen'in kappası değeri 0,595 bulunmuştur. Bu çalışmada elde edilen kappası değeri orta düzeyde uyum göstermesine rağmen iyi düzeyde uyuma sınırına oldukça yakın olduğu görülmüştür. Mayta ve ark. (11) farklı merkez ve kliniklerden alınan vajinal sürüntüler ile yaptıkları çalışmada kültür yöntemini ve konvansiyonel PZR yöntemini karşılaştırmışlar, kappası değerlerini 0,714 ile 1,000 arasında saptamışlardır. Yine bu çalışmada vajinal örneklerde kültür yöntemi ile karşılaştırıldığında PZR testinin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %100 ve %98 olarak bulunmuştur. Pillay ve ark. (12) çalışmasında vajinal yıkama sıvısında klasik PZR ile duyarlılık ve özgüllük %100 bulunurken gerçek zamanlı PZR ile duyarlılığı %100 özgüllüğü ise %82,9 olarak saptamışlardır.

*Trichomonas vaginalis* pozitifliği, 23-63 arasındaki yaşlarda saptanmıştır (Tablo 2). Pozitif saptanan hastaların ortalama yaşı 37,9 medyan yaşı ise 39'dur. Belirli bir yaş grubunda sıklığın artmadığı görülmüştür. Dogan ve Gitmez (9) yaptıkları çalışmada *T. vaginalis* oranının %22,9 ile 45-49 yaş aralığında en yüksek olduğunu, İngiltere surveyans ağı çalışmasında da *T. vaginalis* öyküsü bulunan kadınların 45-64 yaş aralıklarındaki oranlarının daha yüksek olduğunu ifade etmişlerdir (13).

Çalışmamızda *C. trachomatis*, 4 (%4), *N. gonorrhoeae* ise 3 (%3) örnekte saptanmıştır (Tablo 2). Nateghi Rostami ve ark. (14) multipleks PZR çalışmalarında *C. trachomatis*'i %11,67 *N. gonorrhoeae*'yi ise %5,67 oranlarında saptamışlardır. Çalışmamızda *Mycoplasma genitalium* saptanmazken, Leli ve ark. (15) multipleks PZR çalışmasında 1,761 kadından alınan örneklerde *M. genitalium*'un %0,5 oranında saptadıklarını bildirmişlerdir.

*Ureaplasma urealyticum/parvum*, çalışmamızda multipleks PCR ile %68 (n=68) olarak bulunmuştur. Ancak Kokkayil ve Dhawan (16) *U. parvum/urealyticum* için, kolonizasyon oranı %40-80 olan fırsatçı patojen olabileceğinden bahsetmişlerdir. Janulaitiene ve ark. (17) çalışmalarında, *G. vaginalis*'in, çalışmaya dahil edilen kadınların %87'sinde bakteriyel vajinoz tablosu bulunmadığı halde singlepleks PZR ile saptandığı bildirilmiştir.

Groves (18) çalışmasında dünya çapında 400 milyon insan Herpes simpleks virüs 2'nin oluşturduğu genital herpessten

etkilendiğinden ve Herpes simpleks virüs 1'in genital herpesdeki rolünün arttığından bahsetmiştir. Aktif lezyon varlığında PZR testlerinin yüksek duyarlılık ve özgüllüklere sahip olması nedeni ile tercih edildiğini vurgulamıştır. Çalışmamızda HSV 1/2, örneklerden sadece 1 (%1) tanesinde saptanmıştır.

Çalışmamızda çoklu etken kombinasyonları da değerlendirilmiştir (Tablo 3). Kim (19) 2013 yılında yaptığı multipleks PZR çalışmasında 1,523 hastadan alınan 1,618 örneğe göre tek başına *C. trachomatis* %14,2, *U. urealyticum* %12,7, *M. genitalium* %2,8, *T. vaginalis* %1,7, *N. gonorrhoeae* %0,9 oranında bulunmuştur. Ayrıca, *T. vaginalis/U. urealyticum* birlikteliği %1,5; *T. vaginalis/C. trachomatis* birlikteliği %0,4; *M. genitalium/C. trachomatis* birlikteliği %1,1; *C. trachomatis/U. urealyticum* birlikteliği %0,9; *N. gonorrhoeae/C. trachomatis* birlikteliği %0,6; *M. genitalium/U. urealyticum* birlikteliği de %0,4 saptanmıştır. Aynı çalışmada *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis*, *U. urealyticum* üçlü birlikteliği %0,4; *M. genitalium*, *C. trachomatis*, *U. urealyticum* üçlü birlikteliği %0,2 oranında olduğu bildirilmiştir (19).

Çalışmamızda, gerçek zamanlı multipleks PZR test ile *T. vaginalis* ile *G. vaginalis*, *N. gonorrhoeae*, *U. urealyticum/parvum* kombinasyonlarında tekli etken %20, ikili etken %10, üçlü etken %60 ve dördü etken %10 olarak saptanmıştır (Tablo 3). Goo ve ark. (20) *T. vaginalis* ile *U. urealyticum/M. hominis/N. gonorrhoeae/C. trachomatis* kombinasyonunun değerlendirildiği çalışmalarında tekli *T. vaginalis* enfeksiyonunun %8,3 ikili *T. vaginalis* enfeksiyonunun %33,3 üçlü *T. vaginalis* enfeksiyonunun %58,4 olduğunu saptamışlardır.

## SONUÇ

Çalışmamız sonucunda *T. vaginalis* tanısında kullanılan direkt bakı ve Giemsa boyama ve kültür yöntemlerinin yanı sıra özgüllüğü ve duyarlılığı yüksek olan PZR yöntemlerinin eklenmesinin tanıyı kolaylaştıracağı ve çoklu etkene bağlı vajinit tablosunda doğru ve etkin tedavinin belirlenmesinde multipleks PZR yöntemlerinin kullanılmasının klinisyenlere yardımcı olacağı kanısına varılmıştır.

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarımızdaki destekleri için Prof. Dr. Ahmet Özbilgin ve Bio. İbrahim Çavuş'a teşekkür ederiz.

## \*Etik

**Etik Kurul Onayı:** Bu çalışma, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu'nun onayı ile



gerçekleştirilmiştir (tarih: 10.07.2019 ve karar no: 20.478.486-35).

**Hasta Onayı:** Alınmıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulunda olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

**\*Yazarlık Katkıları**

**Veri Toplama veya İşleme:** V.T.F., İ.C.B., P.S.H., E.G., Analiz veya Yorumlama: V.T.F., İ.C.B., P.S.H., E.G., Literatür Arama: V.T.F., İ.C.B., Yazan: V.T.F.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Bu çalışma; Manisa Celal Bayar Üniversitesi Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü BAP 2020/027 numaralı proje ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- Miman Ö, Saygı G. Temel Tıbbi Parazitoloji. İstanbul Tıp Kitabevleri; 2018;p.69-71.
- Rowley J, Vander Hoorn S, Korenromp E, Low N, Unemo M, Abu-Raddad LJ, et al. Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016. Bull World Health Organ 2019; 97: 548-62.
- Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, Garber G. Clinical and microbiological aspects of vaginitis. Clin Microbiol Rev 1998; 11: 300-17.
- Fouts AC, Kraus SJ. Trichomonas vaginalis: Reevaluation of its clinical presentation and laboratory diagnosis. J Infect Dis 1980; 141: 137-43.
- Silver BJ, Guy RJ, Kaldor JM, Jamil MS, Rumbold AR. Trichomonas vaginalis as a cause of perinatal morbidity: A systematic review and Meta-analysis. Sex Transm Dis 2014; 41: 369-76.
- Moodley P, Connolly C, Sturm AW. Interrelationships among human immunodeficiency virus type 1 infection, bacterial vaginosis, trichomoniasis, and the presence of yeasts. J Infect Dis 2002; 185: 69-73.
- Zhang ZF, Begg CB. Is Trichomonas vaginalis a cause of cervical neoplasia? results from a combined analysis of 24 studies. Int J Epidemiol 1994; 23: 682-90.
- Korkmaz M, Ok ÜZ, editörler. Parazitolojide Laboratuvar. Türkiye Parazitoloji Derneği. META Basım. Bornova: İzmir; 2011.
- Dogan N, Gitmez F. Investigation of Trichomonas Vaginalis Frequency by Different Methods in Women in Eskisehir province and Evaluation of its Relation with Various Social Variables. Osmangazi Journal of Medicine 2019; 41: 46-57.
- Yazısız H, Koyuncu Özyurt Ö, Öztürk Eryiğit F, Özhak B, Öngüt G, Özekinci M. Evaluation of Microscopic Examination, Culture and Polymerase Chain Reaction Tests in the Diagnosis of Trichomonas vaginalis Infection. Mikrobiyoloji Bul 2020; 54: 135-43.
- Mayta H, Gilman RH, Calderon MM, Gottlieb A, Soto G, Tuero I, et al. 18S ribosomal DNA-based PCR for diagnosis of Trichomonas vaginalis. J Clin Microbiol 2000; 38: 2683-7.
- Pillay A, Radebe F, Fehler G, Htun Y, Ballard RC. Comparison of a TaqMan-based real-time polymerase chain reaction with conventional tests for the detection of Trichomonas vaginalis. Sex Transm Infect 2007; 83: 126-9.
- Field N, Clifton S, Alexander S, Ison CA, Khanom R, Saunders P, et al. Trichomonas vaginalis infection is uncommon in the British general population: Implications for clinical testing and public health screening. Sex Transm Infect 2018; 94: 226-9.
- Nateghi Rostami M, Hossein Rashidi B, Aghsaghloo F, Habibi A. A multiplex assay of Trichomonas vaginalis, Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae infections in genital specimens. J Infect Dev Ctries 2017; 11: 833-9.
- Leli C, Mencacci A, Latino MA, Clerici P, Rassu M, Perito S, et al. Prevalence of cervical colonization by Ureaplasma parvum, Ureaplasma urealyticum, Mycoplasma hominis and Mycoplasma genitalium in childbearing age women by a commercially available multiplex real-time PCR: An Italian observational multicentre study. J Microbiol Immunol Infect 2018; 51: 220-5.
- Kokkayıl P, Dhawan B. Ureaplasma: Current perspectives. Indian Journal of Medical Microbiology 2015; 33: 205-14.
- Janulaitiene M, Paliulyte V, Grinceviciene S, Zakareviciene J, Vladisaukiene A, Marcinkute A, et al. Prevalence and distribution of Gardnerella vaginalis subgroups in women with and without bacterial vaginosis. BMC Infect Dis 2017; 17: 394.
- Groves MJ. Genital Herpes: A Review. Am Fam Physician 2016; 93: 928-34.
- Kim JK. Epidemiological trends of sexually transmitted infections among women in cheonan, south korea, 2006-2012. J Microbiol Biotechnol 2013; 23: 1484-90.
- Goo YK, Shin WS, Yang HW, Joo SY, Song SM, Ryu JS, et al. Prevalence of Trichomonas vaginalis in women visiting 2 obstetrics and gynecology clinics in Daegu, South Korea. Korean J Parasitol 2016; 54: 75-80.

# Rose Bengal Kullanılarak Sonodinamik Tedavinin *Leishmania tropica* Promastigotları Üzerindeki Etkisinin *in vitro* Değerlendirmesi

## *In vitro* Evaluation of the Effect of Sonodynamic Therapy Using Rose Bengal on *Leishmania tropica* Promastigotes'

① Serçin Özlem Çalışkan<sup>1</sup>, ② Cem Aslan<sup>2</sup>, ③ Ömer Furkan Duran<sup>2</sup>, ④ İlayda Kaya<sup>2</sup>, ⑤ Hüsne Özen<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uşak Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Uşak, Türkiye

<sup>2</sup>Uşak Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğrencisi, Uşak, Türkiye

Cite this article as: Çalışkan SÖ, Aslan C, Duran ÖF, Kaya İ, Özen H. *In vitro* Evaluation of the Effect of Sonodynamic Therapy Using Rose Bengal on *Leishmania tropica* Promastigotes'. Türkiye Parazitoloj Derg 2022;46(3):172-9.

### ÖZ

**Amaç:** Leishmaniasis tedavisinde yan etkisi az olan standart bir tedavi şeması bulunmaması sebebiyle yeni tedavi seçeneklerine ihtiyaç duyulmaktadır. Sonodinamik tedavi (SDT) de bu seçeneklerden biri olmaya adaydır. SDT, düşük yoğunluklu ultrason ve bir sonosensitif ajanın eş zamanlı kombinasyonu ile moleküler oksijen varlığında hücrelerde reaktif oksijen türlerinin üretilmesine dayanan bir tedavi yöntemidir. Sonosensitizer, ultrason ve moleküler oksijen bireysel olarak toksik değildir, ancak bu bileşenler bir araya getirildiklerinde sitotoksik reaktif oksijen türleri oluşturur. Bu çalışmada rose bengal (RB) aracılı SDT'nin *Leishmania tropica* (*L. tropica*) promastigotlarına etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** SDT, RB'nin farklı konsantrasyonları (20, 40 ve 80 µM) ve 1 MHz frekansta 1, 1,5 ve 2 W/cm<sup>2</sup> yoğunluklu 10, 20 ve 30 dakika boyunca ultrases kullanılarak gerçekleştirilmiştir. On sekiz saatlik inkübasyondan sonra, *L. tropica* promastigotlarının proliferasyonu XTT testi ile, morfolojileri ise Giemsa boyama ile belirlenmiştir.

**Bulgular:** Tek başına uygulanan farklı RB konsantrasyonları ile inkübasyon *L. tropica* promastigotlarında etki göstermemiştir. *L. tropica* promastigotlarının tek başına ultrases uygulama süresi 10 dakika olarak tespit edilmiştir. Ultrases uygulama yoğunluğu 2 W/cm<sup>2</sup>'de daha etkili sonuçlar vermiştir. RB (80 µM) ile birlikte 10 dakika boyunca 1 MHz frekansta 2 W/cm<sup>2</sup>'de yoğunlukta ultrasese maruz kaldıktan sonra, promastigotların sayısının, kontrol grubunununkinden düşük olduğu belirlenmiştir. Morfolojik olarak ise parazitin yuvarlak, şişmiş çekirdeği ayırt edilemeyecek atipik formları gözlenmekle birlikte tipik dar hücre gövdesi formları da tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Bu sonuçlar *L. tropica* üzerinde RB aracılı SDT'nin aday bir tedavi yaklaşımı olabileceğini göstermiştir. Bu yaklaşım hem yüzeysel hem de derin yerleşimli lezyonlar için kullanılabilme potansiyeline sahiptir. Bu çalışma, *L. tropica* promastigotları üzerinde RB aracılı SDT'nin biyofiziksel mekanizmalarını, ultrasese maruz kalma stratejilerini, güvenilirliğini ve klinik çeviri yolundaki zorlukları vurgulamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Leishmania tropica*, rose bengal, sonodinamik tedavi

### ABSTRACT

**Objective:** There is a need for new treatment options for treating Leishmaniasis, since there is no standard treatment scheme with few side effects. Sonodynamic therapy (SDT) is also a candidate to be one of these options. SDT is a treatment method based on the simultaneous combination of low-intensity ultrasound and a sonosensitizer, and the generation of reactive oxygen species in cells in the presence of molecular oxygen. Sonosensitizer, ultrasound, and molecular oxygen individually, these components are not toxic, but when combined form cytotoxic reactive oxygen species. In this study, we evaluated the effect of rose bengal (RB)-mediated SDT on *Leishmania tropica* (*L. tropica*) promastigotes.

**Methods:** SDT was performed using different concentrations of RB (20, 40, and 80 µM) and ultrasound at a frequency of 1 MHz with an intensity of 1, 1.5, and 2 W/cm<sup>2</sup> for 10, 20, and 30 min.

**Results:** Incubation with different RB concentrations applied alone had no effect on *L. tropica* promastigotes. Ultrasound application time for *L. tropica* promastigotes alone was determined as 10 min. Ultrasound application intensity showed more significant results at 2 W/cm<sup>2</sup>. It was determined that the number of promastigotes was lower than that of the control group after 10 min of exposure to ultrasound at 2 W/cm<sup>2</sup> at 1 MHz frequency for 10 min with RB (80 µM). Morphologically, round, swollen, atypical forms of the parasite with indistinguishable nuclei are observed, but typical narrow cell body forms have also been detected.



Geliş Tarihi/Received: 08.02.2022 Kabul Tarihi/Accepted: 24.06.2022

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Serçin Özlem Çalışkan, Uşak Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Uşak, Türkiye  
Tel/Phone: +90 536 859 12 22 E-Posta/E-mail: srn.ozlem@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0001-8464-5487

**Conclusion:** These results showed that RB-mediated SDT on *L. tropica* could be a candidate treatment approach. This approach can be used for both superficial and deeply located lesions. This study emphasized the biophysical mechanisms, ultrasound exposure strategies, reliability and difficulties in the clinical practice of RB-mediated SDT on *L. tropica* promastigotes

**Keywords:** *Leishmania tropica*, rose bengal, sonodynamic therapy

## GİRİŞ

Leishmaniasis, parazitik faktörler ve konakçının immün yanıtı arasındaki etkileşime bağlı olarak visceral, mukozal ve kutanöz olmak üzere üç ana klinik durum içeren vektör kaynaklı protozoan bir hastalıktır (1). Hastalığa dünyanın birçok coğrafi bölgesinde bulunan 20'den fazla *Leishmania* türü neden olmaktadır (2,3). Kutanöz leishmaniasis (KL) ise çeşitli deri lezyonları ile karakterize önemli bir halk sağlığı sorunudur. Çeşitli yerel ve küresel faktörlerin etkisiyle tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de artan bir eğilim göstermiştir (4,5). KL tedavisinde, lezyonun yeri, sayısı, şiddeti, leishmania türü ve kişinin immün durumuna bağlı olarak, topikal tedavi, sistemik ilaç tedavisi, intralezyoner tedavi yöntemlerinden biri ya da birkaçı birlikte uygulanmaktadır (6). Ülkemizde tedavide ilk tercih edilen ilaç meglumin antimonat bileşikleridir. Fakat meglumin antimonata karşı direncin arttığı çalışmalarda bildirilmiştir. Ayrıca yan etkileri bulunan amfoterisin B, yan etkileri düşük ancak maliyeti pahalı olan lipozomal amfoterisin B ve gebelerde teratojenik etkiler gösterdiği bilinen miltefosinde tedavide kullanılan diğer ilaçlardandır (7,8).

Günümüzde uygulanan tedavi yöntemleri kişinin klinik tablosuna, immün sistemine, etken olan *Leishmania* türüne bağlı olarak değişmektedir. Leishmaniasis tedavisinde halen yan etkisi standart bir tedavi şeması bulunmamaktadır. Alternatif tedavi arayışları devam etmekte ve bu nedenle, ışık ve ultrason gibi fiziksel mekanizmalara dayalı alternatif anti-leishmanial tedaviler araştırılmaktadır.

Fotodinamik tedavi (FDT), apoptoz veya nekroz ile hücre ölümünü hedefleyen serbest oksijen radikalleri üretmek için ışık ve moleküler oksijen varlığında aktive olan bir fotosensitizer kullanan alternatif bir tedavi yöntemidir. Ayrıca FDT'nin KL üzerinde yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır (9-11). Sonodinamik tedavi (SDT) de FDT'den türetilmiş bir tedavi yöntemidir. FDT'ye benzer şekilde, SDT hedef dokuları toksik olmayan bir sonosensitizer ve düşük yoğunluklu ultrasona maruz bırakmayı içeren güncel bir terapötik yaklaşımdır (12).

SDT'nin biyolojik etkileri ısı, mekanik etkiler ve akustik kavitasyon olmak üzere üç farklı mekanizmadan biriyle ilişkilidir. Kavitasyon ultrasesin doku sıvısında ilerlemesi sırasında meydana gelen basınç değişimlerinden kaynaklanan mikrobaloncuqları tarif etmektedir (13). Bu etkiler ultrasonun yoğunluğuna ve frekansına bağlıdır. Yüksek yoğunluklu sonikasyon ısı üretimine yol açarken düşük frekanslı tedavi kavitasyona neden olur. Biyolojik dokuların ultrasona maruz kalması sonucunda, hücrelerde hem yapısal hem de fonksiyonel değişiklikler meydana gelebilmektedir (14).

SDT'nin mekanizması ile ilgili araştırmacılar farklı düşüncelere sahiptir. Bir grup SDT'nin biyolojik etkilerinin, I. termal etkiler: Ultrason enerjisinin emilmesi ve dağıtılması; II. hücre zarı geçirgenliği değişiklikleri veya hücre zarı yırtılması (değişen akustik basınca tepki olarak önceden var olan gaz kütlelerinin salınımları veya mikro baloncuqların büyüüp, kritik bir boyuta ulaştıktan sonra şiddetli bir şekilde patlamasından kaynaklanan kesme kuvvetleri nedeniyle uygulamalar arasında hücre zarı bozulması ve büyük moleküllerin zar ötesi taşınmasına izin veren

sonoforez) ve III. serbest radikal oluşumu (çöken kavitasyon mikro-baloncuqların içinde bulunan moleküllerin pirolizi ile serbest radikallerin oluşumu) olduğunu düşünmektedir (15). Başka bir grup ise sonodinamik etkiyi moleküllerin sonoluminesans ile elektronik olarak uyarılmasıyla (yani harici aydınlatma uygulaması olmaksızın), ultrason enerjisi ile üretilen sıvılarda akustik kavitasyon sırasında üretilen ışık parlamaları ile açıklar. Sonoluminesans, sitotoksik singlet oksijen oluşumuyla sonuçlanan fotokimyasal süreçleri başlatır (13,16,17).

Sonosensitizerler, bleomisin, adriamisin, amfoterisin B, mitomisin C, daunomisin, diazikuon ve 5-florourasil gibi yaygın olarak kullanılan anti-kanser ilaçları ve hematoporfirin, fotofrin, mezoporfirin, çinko (II)-ftalosiyenin, protoporfirin, ATX-70 [7,12-bis(1-desiloksietil)-Ga (III)-3,8,13,17-tetrametil-porfirin-2,18-dipropionil diaspartik asit], feoforbida ve rose bengal (RB) gibi birkaç fotosensitizeri içerir (18-24). RB, ksanten türevi bir ışığa duyarlılaştırıcıdır ve görünür ışığa maruz kalma ile yaklaşık %100'lük bir kuantum verimiyle singlet oksijen ürettiği bilinmektedir (25). Ayrıca, RB'nin 514 nm'de ışıkta plazma zarı hasarını ve ayrıca ultrason ile aktive edildiğinde *in vitro* hücre hasarını indüklemektedir (26,27). Çok sayıda ciddi çalışma kanser hücrelerinin SDT'sine adanmıştır ve bildiğimiz kadarıyla bu teknik, leishmaniasis tedavisi için uygulanmamıştır. RB, SDT için sonosensitizer olarak yüksek potansiyele sahip olmasına rağmen anti-leishmanial etkisi henüz gösterilmemiştir.

Bu çalışmada RB aracılı SDT'nin *Leishmania tropica* (*L. tropica*) promastigotlarına etkisi sitotoksik ve morfolojik açıdan gösterilmesinin yanında ultrases uygulama optimizasyonunun yapılması amaçlanmıştır.

## YÖNTEMLER

### Parazitin Elde Edilmesi ve Üretilmesi

*L. tropica* promastigotları Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Hatice Ertağlar'ın koleksiyonundan temin edilmiştir. Promastigotlar kullanılıncaya kadar sıvı azotta saklanmıştır. Promastigotlar sıvı azottan alınıp hızlı bir şekilde çözdürüldükten sonra %10 FCS içeren RPMI-1640 besiyerinde kültüre alınmıştır. Ekim yapılan flasklar 26 °C'lik etüvde inkübe edilmiştir.

### RB'nin Stok Solüsyonlarının Hazırlanması

RB stok sulu solüsyonu (Sigma-Aldrich, ABD) 320 µM konsantrasyonlarında PBS içinde hazırlanmış ve 0,22 µm'lik filtreden geçirilmiştir. Stok 320 µM RB solüsyonu RPMI 1640 hücre kültürü solüsyonu ile ½ seri dilüsyon olacak şekilde hazırlandı. Parazitler dilüsyonlar oluşturulduktan sonra kuyucuklara 1x10<sup>7</sup> hücre olacak şekilde inoküle edilmiştir ve 80, 40, 20 µM'lik RB konsantrasyonları oluşturulmuştur.

### Deney Grupları

**Grup 1:** Kontrol grubu RB ya da ultrases uygulanmamıştır.

**Grup 2:** 1x10<sup>7</sup> promastigot/mL olan parazit örnekleri 20 40 ve 80 µM dozlarda bir saat boyunca karanlıkta 26 °C'de RB'ye maruz bırakılmış ve ultrases uygulanmamıştır.

**Grup 3:**  $1 \times 10^7$  promastigot/mL olan parazit örnekleri 20 40 ve 80  $\mu\text{M}$  dozlarda bir saat boyunca karanlıkta 26 °C'de RB'ye maruz bırakılmış ve daha sonra serbest RB ortamdan uzaklaştırılıp, örnekler 1 MHz frekansta 1, 1,5, 2  $\text{W}/\text{cm}^2$  yoğunlukta örnekler 2 cm mesafeden 10-20-30 dk boyunca ultrases uygulanmıştır.

**Grup 4:**  $1 \times 10^7$  promastigot/mL olan parazit örnekleri 1 MHz frekansta 1, 1,5, 2  $\text{W}/\text{cm}^2$  yoğunlukta örnekler 2 cm mesafeden 10-20-30 dk boyunca ultrases uygulanmıştır.

### Sonodinamik Tedavinin *in vitro* Etkinliğinin Belirlenmesi

RB aracılı SDT için deneysel kurulum Şekil 1'de gösterilmiştir.  $1 \times 10^7$  olan *L. tropica* promastigotları hücre proliferasyonunu belirlemek için değişik dozlarda 1 saat boyunca RB'ye maruz bırakıldıktan sonra örnekler 1500 devirde 5 dakika boyunca santrifüjlenip, dipte kalan çökelti PBS ile 3 kez yıkanmış ve RB uzaklaştırılarak üzerine PBS eklenmiştir. Hücreler 15 mL'lik falconlara aktarılacak suyun içerisinde 1 MHz frekansta 2 cm mesafeden 1, 1,5, 2  $\text{W}/\text{cm}^2$  yoğunlukta ultrasese maruz bırakılmıştır. Bütün ultrases uygulamaları sırasında ultrasesin termal etkisi gözlemlenmiş ve sıcaklık artışı izlenmiştir. Ultrases uygulamasından sonra örnekler taze besiyeri eklenmiş, 18 saat boyunca 26 °C'de inkübe edilmiştir.

### XTT [2,3,-bis(2-metoksi-4-nitro-5-sülfenil)-2H-tetrazolium-5- kaboksanilit tuzu] Testi

XTT yöntemi kullanılarak RB, RB aracılı SDT ve ultrasesin sitotoksik etkisi değerlendirilmiştir. Örnekler 96'lık mikrotiplerde XTT solüsyonu kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile değerlendirilmiştir. Hücre canlılığı yüzdesi,

$$\% \text{Hücre Canlılığı} = \frac{(\text{Örneğin OD değeri} - \text{Blank})}{(\text{Kontrol OD değeri} - \text{Blank})} \times 100$$

formülüne göre hesaplanmıştır.

### Giemsa Boyama

Kontrol, ultrases kontrol, RB ve RB aracılı SDT grupları için üçer preparat hazırlanmıştır. Her bir gruptan bir miktar parazit örneği alınıp lam üzerine yayılıp kuruması beklenmiş, kuruyan hücelere metanol damlatılmıştır. Preparatların üzerine bire bir oranında hazırlanan boya damlatılıp 20 dakika boyunca beklenmiş ve ışık mikroskopunda hücre morfolojileri incelenmiştir.

### İstatistiksel Analiz

Tüm deneyler, üçlü kuyucuklar da en az üç kez tekrarlanmıştır. Tüm veriler, SPSS 25.0 programı kullanılarak analiz edilmiş ve veri analizi için tek yönlü ANOVA varyans analizi ve ardından Tukey post-hoc testi kullanılmıştır. P-değeri 0,05'ten küçük çıkan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

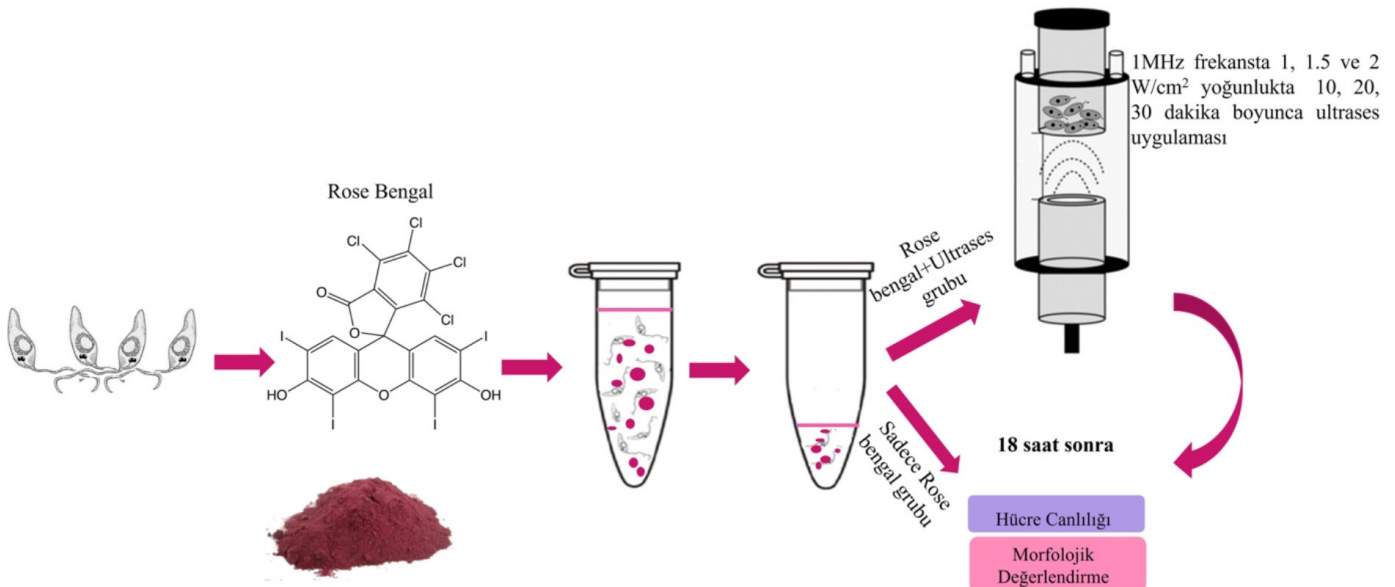
## BULGULAR

### Farklı Konsantrasyonlarda Tek Başına RB Uygulamasının *L. tropica* Promastigotlarının Proliferasyonuna Etkisi

SDT uygulamasına geçmeden önce *L. tropica* promastigotlarında tek başına RB'nin farklı konsantrasyonlardaki etkisine bakılmıştır. Bunun amacı tek başına RB uygulaması ile *L. tropica* promastigotlarının etkilenmemesidir. Rose bengal'in 20  $\mu\text{M}$  konsantrasyon uygulamasında kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunamamıştır ( $p=0,152$ ). Diğer konsantrasyonlar 40  $\mu\text{M}$  ve 80  $\mu\text{M}$  RB uygulaması sonrası hücre canlılığında kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalma olsa da RB uygulanan tüm gruplarda hücre canlılığı %85'in altına düşmemiştir ( $p=0,001$ ;  $p=0,008$ ). Tek başına RB uygulamasının *L. tropica* promastigotlarına etkisi saptanamamıştır (Şekil 2A).

### Ultrases Uygulama Süresinin *L. tropica* Promastigotlarına Etkisi

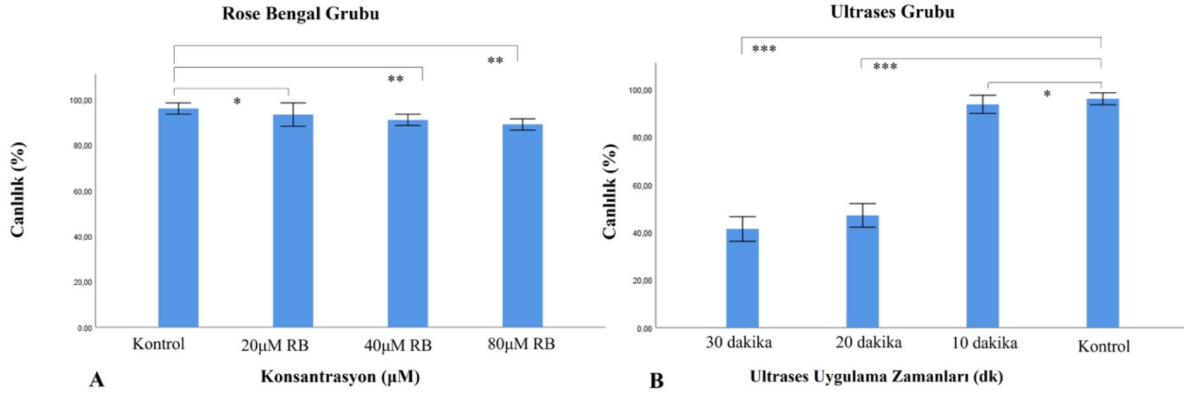
SDT uygulamasına geçmeden önce belirlenmesi gereken bir diğer basamak ise sadece ultrases uygulaması ile *L.*



**Şekil 1.** Rose bengal aracılı SDT için deneysel kurulum

SDT: Sonodinamik tedavi





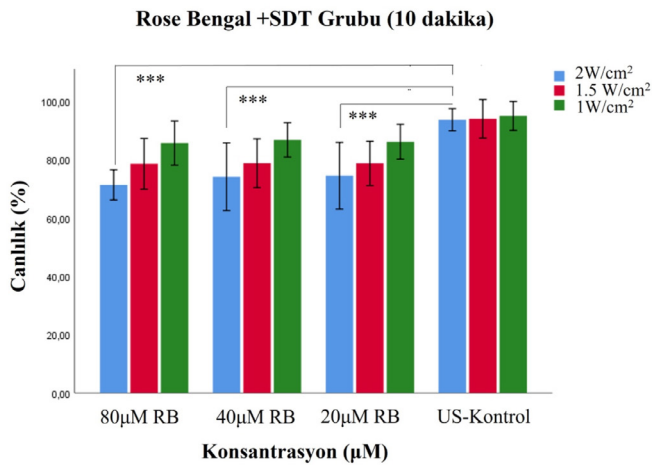
**Şekil 2. A)** Sadece RB uygulanan *L. tropica* promastigotlarının % canlılık dağılımı. **B)** *L. tropica* promastigotlarının farklı sürelerde ultrases optimizasyonu (\*\* $p < 0,001$ , \* $p < 0,01$ ,  $p > 0,05$ , hata çubukları %95 güven aralığı)

RB: Rose bengal

*tropica* promastigotlarının etkilenmemesidir. Yani ultrases uygulamasının herhangi bir toksik etkisi olmaması gerekmektedir. Daha önce literatürde *L. tropica* promastigotlarına SDT uygulama çalışmaları olmadığından sadece ultrases uygulamasının *L. tropica* promastigotlarına etkisinin belirlenmesi için süre denemeleri yapılmıştır. Ultrases optimizasyonu için  $2 \text{ W/cm}^2$  yoğunluğunda 10, 20 ve 30 dk boyunca parazitlere ultrases uygulanmıştır. Süre ne kadar artar ise ultrasesin termal etkisinin ortaya çıktığı gözlemlenmiştir. Özellikle 30 ve 20 dk ultrases uygulamalarının hücre canlılığını sırasıyla %41,3 ve %47'ye düşürdüğü tespit edilmiştir. 10 dk uygulamasında ise hücre canlılığı %93,6 olduğundan ve tek başına ultrases uygulamasının *L. tropica* promastigotlarını etkilememesi üzerine tüm çalışmaya 10 dk ile devam edilmiştir (Şekil 2B).

### RB Aracılı SDT Uygulamasının Farklı Konsantrasyonlarının *L. tropica* Promastigotları Proliferasiyonuna Etkisi

Farklı konsantrasyonlarda (80 µM 40 µM 20 µM) RB ve farklı yoğunluklarda ( $2 \text{ W/cm}^2$ ,  $1,5 \text{ W/cm}^2$ ,  $1 \text{ W/cm}^2$ ) 10 dakika ultrases uygulamasının 18 saatlik inkübasyon sonuçlarına göre



**Şekil 3.** On dakika boyunca RB + SDT uygulamasının farklı konsantrasyonlarının ve farklı yoğunluklarının XTT sonuçları (\*\* $p < 0,001$ , hata çubukları %95 güven aralığı)

RB: Rose bengal, SDT: Sonodinamik tedavi

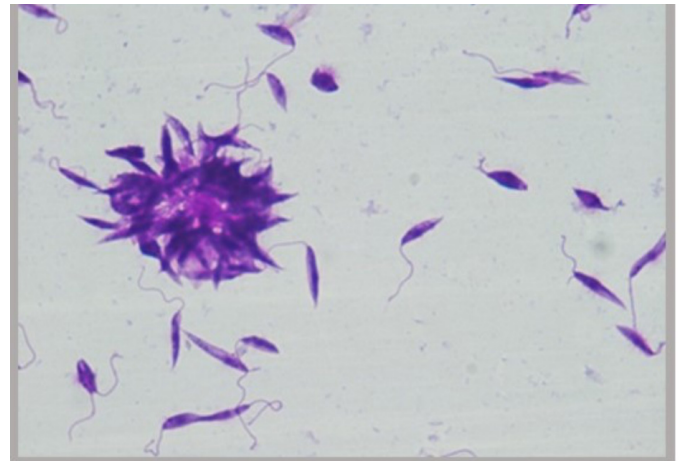
80 µM 40 µM 20 µM RB ile  $2 \text{ W/cm}^2$  yoğunluklu ultrases birlikte uygulanmasının ultrases-kontrol grubundaki hücre sayısına göre istatistiksel olarak anlamlı azaldığı tespit edilmiştir ( $p < 0,001$ ). 80 µM RB ardından 1 MHz frekansta  $2 \text{ W/cm}^2$  yoğunlukta ultrases uygulama sonrası *L. tropica* promastigot canlılığı %71,3'e düşmüştür. 80 40 ve 20 µM RB ardından 1 MHz frekansta  $1,5 \text{ W/cm}^2$  yoğunluklu ultrases uygulama sonrası hücre canlılığı sırasıyla %78,5 %78,7 %79 olarak belirlenmiştir.  $1 \text{ W/cm}^2$  yoğunluklu ultrases uygulamasının *L. tropica* promastigot canlılığı 80 40 ve 20 µM konsantrasyonda sırasıyla %85,6 %86,1 ve %86,7 bulunmuştur. Ultrases kontrol grubunda  $2 \text{ W/cm}^2$   $1,5 \text{ W/cm}^2$   $1 \text{ W/cm}^2$  yoğunluklu uygulama sonrası ise canlılık sırasıyla; %93,6 %94 ve %94,8 olarak tespit edilmiştir (Şekil 3).

### Hüresel Morfolojik Değerlendirme Bulgular

#### Giemsa boyama bulguları

Giemsa boyama sonuçlarına göre RB ya da ultrases uygulanmamış kontrol grubundaki parazitlerde tek çekirdek, kamçı, kinetoplast ve dar hücre gövdesi ile tipik morfolojik özellikler tespit edilmiştir (Şekil 4).

Sadece ultrases uygulamasının *L. tropica* promastigotları üzerinde Giemsa boyama sonuçlarına göre, uygulama süresinin artması



**Şekil 4.** Kontrol grubu. Herhangi bir sonosensitif ajan veya ultrases uygulanmamıştır



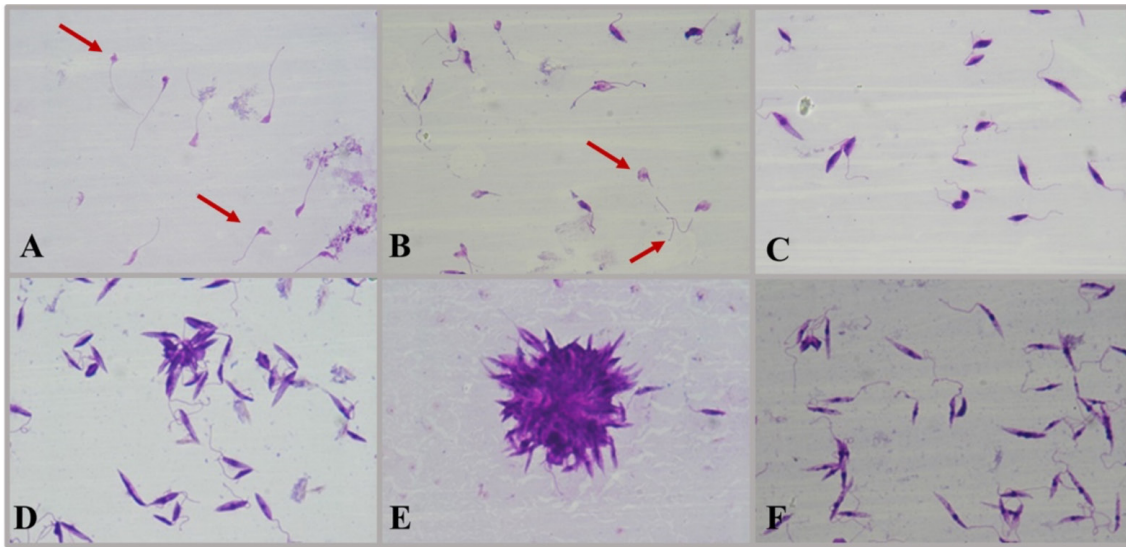
parazitler üzerinde morfolojik olarak etkilere yol açmıştır. Ultrases süresinin 20 ve 30 dk uygulanmasıyla parazitlerin çekirdeklerinin ve kinetoplastlarının birbirinden ayırt edilemedikleri parazitlerin tipik formundan uzaklaştıkları kamçıları kaybettikleri gözlemlenmiştir (Şekil 5A, B). Bu da XTT sonuçları ile uyumluluk göstermiştir. Ultrases süresinin 10 dk uygulanmasının ise parazitleri morfolojik olarak etkilemediği gözlemlenmiştir. Parazitlerde tek çekirdek, kamçı, kinetoplast ve dar hücre gövdesi ile tipik morfolojik özellikler görülmüştür (Şekil 5C). Sadece 80, 40 ve 20  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarında RB uygulamasında da parazitlerin tek çekirdek, kamçı, kinetoplast ve dar hücre gövdesi ile tipik morfolojik özellikleri koruduğu gözlemlenmiştir. Parazitler üzerinde tek başına RB uygulamasının hem XTT hem de morfolojik sonuçlara göre bir etkisine rastlanmamıştır (Şekil 5D-F).

Giemsa ve XTT sonuçlarına göre sadece ultrases uygulama süresi *L. tropica* promastigotlarının etkilenmediği süre olan 10 dakika olarak belirlenmiştir. Farklı RB konsantrasyonları ve farklı ultrases yoğunlukları arasında morfolojik olarak farklar gözlemlenmiştir. RB'nin 80  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda, 2  $\text{W}/\text{cm}^2$  yoğunlukta, 10 dk boyunca ultrases uygulamasının parazitlerde çoğunlukla yuvarlak, şişmiş, çekirdeği ayırt edilemeyecek atipik formları gözlenmekle birlikte tipik dar hücre gövdesi formları da tespit edilmiştir (Şekil 6A). RB'nin 40  $\mu\text{M}$  ve 20  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda, 2  $\text{W}/\text{cm}^2$  yoğunlukta, 10 dk ultrases uygulamasında ise herhangi bir morfolojik değişikliğe rastlanmamıştır. Kontrol grubu hücreleri ile uyumlu morfoloji göstermişlerdir (Şekil 6B, C). RB'nin 80, 40 ve 20  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarında, 1,5  $\text{W}/\text{cm}^2$  yoğunlukta 10 dk ultrases uygulamasından sonra parazitlerin kontrol grubundaki gibi tipik morfolojik özelliklerini koruduğu gözlemlenmiştir. Gruplar arasında morfolojik olarak farklılık gözlenmemiştir (Şekil 6D-F). RB'nin 80, 40 ve 20  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarında, 1  $\text{W}/\text{cm}^2$  yoğunlukta 10 dk ultrases uygulamasında da herhangi bir atipik parazit morfolojisine rastlanmamıştır. Kontrol grubundaki gibi tek çekirdek, kamçı, kinetoplast ve dar hücre gövdesi tipik morfolojik özellikler tespit edilmiştir (Şekil 6G, I).

## TARTIŞMA

Leishmaniasis tedavisinde uygulanan yöntemler *Leishmania* türüne göre farklılık göstermektedir. Her *Leishmania* türü kendine özgü biyokimyasal ve moleküler özelliklere sahiptir. Bu hastalık grubunun tedavisinde kullanılacak, daha önce denenmemiş, yeni ilaçların geliştirilmesi, bitki ekstraktları ve bitkisel kaynaklı anti-leishmanial etken maddelerin araştırılmasının önemli olduğunu vurgulayan araştırmalar bulunmaktadır. Özbilgin ve ark.'nın (28) 2014 yılında Türkiye'nin belirli bölgelerinden topladıkları bitki ekstraktları ile yaptıkları bir çalışmada *Eryngium thorifolium* ve *Centaurea calolepis* ekstraktlarının *L. tropica* üzerinde hem *in vitro* hem de *in vivo* etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Kıvçak ve ark.'nın (29) yaptıkları bir çalışmada *Arbutus unedo* L'nin yapraklarından elde edilen etanol, su ve n-hekzan özlerinin *L. tropica* promastigotlarına karşı *in vitro* test edilmiş ve *A. unedo* yapraklarının etanol ekstresinin diğer ekstraktlardan daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Limoncu ve ark. (30) *L. tropica* üzerine moksifloksasin ve linezolid ile kaspofunginin, potansiyel anti-leishmanial etkilerinin *in vitro* olarak araştırmışlardır. Moksifloksasin ile ilgili başarılı sonuçlar bildirmişlerdir. Görüldüğü üzere alternatif tedavi arayışları her geçen gün artmaktadır. SDT de ucuz ve toksik olmaması, kolay uygulanabilirliği ile Leishmaniasis'e aday olabilecek alternatif tedavi yöntemlerinden biridir.

RB, yeşil ışıkla birlikte kullanımının yanı sıra ultrases ile de kombine olarak tıp alanında uygulanmaktadır. Umemura ve ark. (27) RB gibi bazı ajanların, geri dönüşü olmayan hücre hasarına neden olabilen, nekroz veya apoptozu indüklemek için hücrelerin membran yapısını ve fonksiyonel özelliklerini değiştirebilen gaz kabarcıklarının oluşumu ve salınımı olarak tanımlanan ultrasonik kavitasyonu indükleyebildiğini bulmuştur. Bu nedenle, derin tümör hücreleri üzerinde ultrases ile aktive edilmiş RB'nin sonodinamik etkisini araştırmışlardır. Işığa duyarlılaştırıcılardan olan hematoporfirinler ve ksanten boyalarının, ultrasesin anti-tümör etkisini artırabildiğini ve tümörlerin tedavisine için yeni bir modalite yani SDT'yi önerdiklerini bildirmişlerdir (27). Ayrıca, Sugita ve ark.'nın (31) yaptığı bir çalışmada sarkom hücreleri



**Şekil 5.** *L. tropica* promastigotları üzerine sadece ultrases ve sadece RB uygulaması. **A)** 30 dk ultrases grubu, **B)** 20 dk ultrases grubu, **C)** 10 dk ultrases grubu, **D)** 80  $\mu\text{M}$  RB grubu, **E)** 40  $\mu\text{M}$  RB grubu, **F)** 20  $\mu\text{M}$  RB grubu

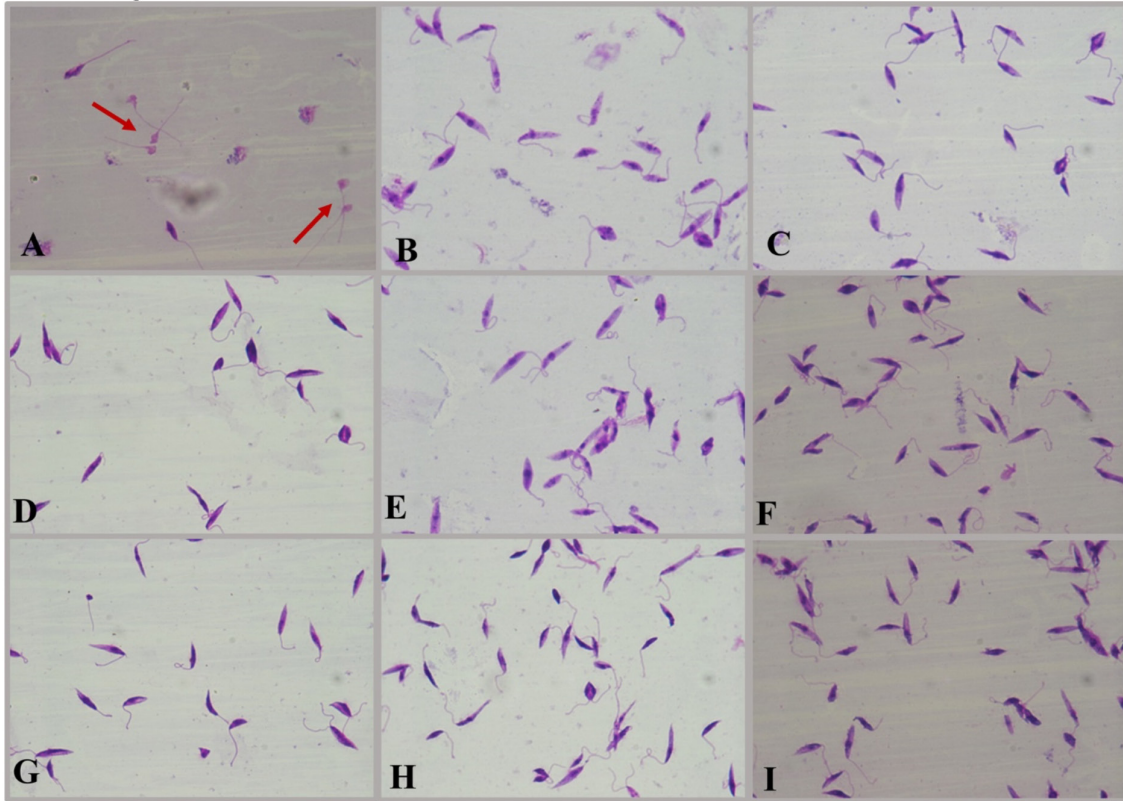
RB: Rose bengal

üzerine RB'nin ultrases ile birlikte uygulanması, sadece ultrases uygulanan hücreler ile karşılaştırıldığında, RB ve türevleri aracılı ultrasesin sarkom 180 hücrelerinde artan *in vitro* hücre hasarını indüklediği gösterilmiştir

SDT üzerine rapor edilen çalışmaların çoğu kanser tedavisine odaklanmıştır (13,32,33). Bununla birlikte 2009 yılında SDT'nin antibakteriyel etkinliğe sahip olabileceği hipotezi ortaya atılmıştır (34). Sonodinamik tedavinin *in vitro* antibakteriyel etki için ilk kullanımı 2011 yılında Liu ve ark. (35) tarafından *Escherichia coli* (*E. coli*) üzerinde gösterilmiştir. Sonosensitizer özelliğe sahip bir antibiyotik olan florokinolon ve 40 kHz ultrasesin *E. coli* üzerine birlikte uygulanmasının, ilacın kendisinden daha iyi bir terapötik aktivite gösterdiği bildirilmiştir (35). Pourhajbagher ve ark.'nın (36) *S. mutans* üzerinde Kurkumin aracılı SDT'nin etkisini inceledikleri çalışmada 1 MHz 1,56 W/cm<sup>2</sup> yoğunluklu 1 dk ultrases uygulamasının bakteri canlılığında azalma meydana getirdiğini bildirmişlerdir. Bunun yanında, Zhang ve ark.'nın (37) *Porphyromonas gingivalis* üzerinde HMME aracılı SDT'yi araştırdıkları çalışmada, 40 g/mL sonosensitizer uygulamasının ardından 10 dakika 1 MHz 3 W/cm<sup>2</sup> yoğunluklu ultrases uygulamasının ROS üretiminde artışa neden olduğu, bakteri sayısında ise azalma meydana geldiğini göstermişlerdir. Li ve ark. (38) bir antibiyotik olan levofloksasini bir nano partikülle konjuge ederek *Mycobacterium smegmatis* ve *E.coli* üzerinde yaptıkları SDT çalışmasında 0,67 W/cm<sup>2</sup> yoğunlukta ve 42 kHz frekansta ultrason uyarımının bakteriyel enfeksiyonu *in vitro* ve *in vivo* olarak etkili bir şekilde ortadan kaldırdığını bildirilmiştir.

Şimdiye kadar yapılan antibakteriyel SDT çalışmalarının çoğu *in vitro* ve *in vivo* olarak bakterilerin öldürülmesi ile ilgiliyken, SDT ile mantar ve mayaların inaktivasyonu hakkında sadece iki çalışma rapor edilmiştir (39,40). Ayrıca virüsler üzerinde henüz SDT çalışmaları bulunmamaktadır.

Literatürde leishmaniasis üzerine SDT çalışmaları bulunmadığından paraziter organizmaya en yakın olan bakteri hücresinde yapılan ultrases çalışmaları referans alınarak ultrases optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Nakonechny ve ark.'nın (41) RB'nin *E. coli* ve *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) üzerindeki sonodinamik etkisini inceledikleri çalışmada *E. coli* üzerine 15 µM RB, 1-2 saat boyunca 28 kHz frekansta ve 0,5 W/cm<sup>2</sup> yoğunluklu ultrases uygulamasının ardından, bakterilerin kontrole kıyasla inhibe olduğunu bildirmişlerdir. *S. aureus*'ların ise SDT'ye *E. coli*'den daha duyarlı olduğunu ve 5 µM RB aracılı ultrasesin kontrole kıyasla azaldığını göstermişlerdir (41). Alves ve ark. (40) *Candida albicans* üzerinde RB aracılı ultrases (1 MHz frekansta, 2,5 W/cm<sup>2</sup> yoğunlukta, 5 dakika) uygulaması ile bakterilerin proliferasyonunu önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir. Costley ve ark. (42) RB aracılı SDT'nin etkinliğini daha da artırmak için RB'yi antimikrobiyal peptit ile konjuge etmişlerdir. Konjugat ile tedavi ve ardından 1 MHz frekansta, 3 W/cm<sup>2</sup> yoğunlukta, 10 dakika ultrases uygulaması ile sırasıyla *S. aureus* ve *P. aeruginosa* planktonik kültürlerinin sayısında azalma ile sonuçlandığını bildirmişlerdir. Çalışmanın *in vivo* sonuçları ise, farelerde konjugatla tedavi edilen *P. aeruginosa* ile enfekte olmuş yaraların ultrason uygulaması ile önemli bir



**Şekil 6.** Rose bengal aracılı SDT uygulaması. **A)** 80 µM RB + 2 W/cm<sup>2</sup> ultrases uygulaması, **B)** 40 µM RB + 2 W/cm<sup>2</sup> ultrases uygulaması, **C)** 20 µM RB + 2 W/cm<sup>2</sup> ultrases uygulaması, **D)** 80 µM RB + 1,5 W/cm<sup>2</sup> ultrases uygulaması, **E)** 40 µM RB + 1,5 W/cm<sup>2</sup> ultrases uygulaması, **F)** 20 µM RB + 1,5 W/cm<sup>2</sup> ultrases uygulaması, **G)** 80 µM RB + 1 W/cm<sup>2</sup> ultrases uygulaması, **H)** 40 µM RB + 1 W/cm<sup>2</sup> ultrases uygulaması, **I)** 20 µM RB + 1 W/cm<sup>2</sup> ultrases uygulaması

RB: Rose bengal, SDT: Sonodinamik tedavi



bakteriyel eradikasyona neden olduğunu göstermiştir (42). Bu çalışmada ise yaptığımız optimizasyon denemeleri sonucunda 10 dk boyunca 1 MHz frekansta, 1,5 ve 2 W/cm<sup>2</sup> yoğunluklu sadece ultrases uygulamasının *L. tropica* promastigotları üzerinde termal veya sitotoksik etki göstermediği tespit edilmiştir. *L. tropica* promastigotları için sitotoksik olmayan ultrases uygulama zamanı 10 dk olarak belirlenmiştir. Parazitler üzerine tek başına 80 40 20 µM RB uygulamasının sitotoksik etkiye yol açmadığı, 80 µM RB ile 2 W/cm<sup>2</sup> yoğunluklu ultrases birlikte kullanıldığında kontrol grubuna göre hücre sayısında azalma meydana geldiği gözlemlenmiştir. Morfolojik olarak da bu grupta atipik özellikli parazit formlarına rastlanmıştır.

Ultrases, sonosensitizer ve oksijen dahil olmak üzere üç temel bileşen, birlikte sonodinamik "öldürme etkisi" işleminin sonucunu etkiler. Bunların her biri farklı derecelerde düzenlenebilir, ultrases genellikle kontrol edilmesi en kolay ve oksijenin belirlenmesi en zor olan parametredir. Bu arada, sonosensitizer, tedavinin etkinliğini, seçiciliğini ve güvenliğini artırabileceğinden, sonodinamik stratejinin başarısını en üst düzeye çıkarmada çok önemli bir rol oynar (43). Güç, frekans, yoğunluk ve ultrason basıncı gibi SDT ile ilgili parametreler için tek tip bir standardizasyon geliştirilmelidir. Bu sorunların çözümü, SDT'de klinik dönüşümü hızlandıracaktır. Akustik parametrenin belirlenmesi ultrasesin dozu, sonosensitizerin etkinliği ve lezyonun pozisyonu ile ilgili olduğu çalışmalarda bildirilmiştir (44).

SDT terapötik açıdan faydalı bir strateji olarak büyük bir potansiyele sahip görünmektedir. Ancak incelenen antibakteriyel SDT çalışmaları kendi arasında farklılık gösterdiğinden, verilerin karşılaştırılmasını ve rasyonelleştirilmesini belirsiz kılmaktadır. Aynı zamanda, ultrases dozunda standardizasyon eksikliği ve SDT'nin mekanizmalarının kurulmasını sınırlandırmaktadır. SDT de yer alan baskın mekanizmalar muhtemelen ultrases parametrelerine, biyolojik sisteme ve sonosensitizerlerin fizikokimyasal özelliklerine bağlıdır. Ayrıca, frekans ve enerji gibi optimal parametreleri belirlemek ve optimum SDT stratejisini oluşturmak için aynı koşullar altında çok sayıda deney yapılmalıdır. Bu sınırlamalara ek olarak, mevcut sonosensitizerler, düşük özgüllük, hızlı agregasyon ve potansiyel toksisite nedeniyle SDT'nin etkinliğini sınırlar. Mükemmel hedef özgüllüğü ve biyoyumluluğu olan yeni nano-sonosensitizerler geliştirmek için önemli çabalar sarf edilmesine rağmen, normal dokular üzerindeki yan etkiler, karmaşık hazırlama yaklaşımları ve hedef bölgede optimal olmayan birikim dahil olmak üzere çeşitli zorlukların ele alınması gerekmektedir. Bu nedenle odak noktası, gelişmiş hedef özgüllüğü, biyoyumluluk, biyogüvenlik ve terapötik etkinliğe sahip sonosensitizerler geliştirmektir. Ayrıca bu çalışmanın bir diğer sınırlaması ise *L. tropica* promastigotlarına karşı RB aracılı SDT'nin *in vitro* tabanlı bir tasarım olmasıdır. Bu analizlerden elde edilen sonuçlar bazı sınırlamalar ışığında değerlendirilmelidir. Sınırlamalar, hücre içi amastigotların veya deneysel hayvan modellerinin olmamasıyla ilgilidir. Ancak, çalışmamızın bazı güçlü yönleri de vardır. Ultrases uygulama optimizasyonu ile literatüre önemli bir katkı sağlanacaktır. Parazitler üzerine yapılan RB aracılı SDT ile ilgili çalışmalar değerli bilgiler sunmaktadır.

## SONUÇ

*L. tropica* promastigotları üzerinde RB aracılı SDT'nin mekanizmaları ve güvenilirliğini keşfetmek, RB'nin tüm özelliklerini ve avantajlarını kullanmak için daha fazla

araştırmaya ihtiyaç olduğuna inanıyoruz. Çeşitli alanlarda elde edilen umut verici sonuçlar ve RB aracılı SDT'nin sunduğu ilginç bakış açıları nedeniyle, gelecekte RB aracılı SDT'nin biyomedikal uygulamalarda kullanımına odaklanacak daha fazla çalışma olacağını öngörüyoruz.

## \*Etik

**Etik Kurul Onayı:** *In vitro* ortamda parazit hücreleri ile çalışıldığından dolayı etik kurul onayına gerek duyulmadı.

**Hasta Onayı:** İhtiyaç duyulmamıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulunda olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

## \*Yazarlık Katkıları

Konsept: S.Ö.Ç., C.A., Ö.F.D., İ.K., H.Ö., Dizayn: S.Ö.Ç., C.A., Ö.F.D., Veri Toplama veya İşleme: S.Ö.Ç., C.A., İ.K., H.Ö., Analiz veya Yorumlama: S.Ö.Ç., C.A., Literatür Arama: S.Ö.Ç., C.A., Ö.F.D., İ.K., H.Ö., Yazan: S.Ö.Ç., C.A.

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

**Finansal Destek:** TÜBİTAK 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri'nden maddi, Prof. Dr. Hatice Ertabaklar'dan ise materyal destek alınmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Copeland NK, Aronson NE. Leishmaniasis: treatment updates and clinical practice guidelines review. *Curr Opin Infect Dis* 2015; 28: 426-37.
2. Aronson N, Herwaldt BL, Libman M, Pearson R, Lopez-Velez R, Weina P, et al. Diagnosis and treatment of leishmaniasis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH). *Am J Trop Med Hyg* 2017; 96: 24-45.
3. David CV, Craft N. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Dermatol Ther* 2009; 22: 491-502.
4. WHO. Leishmaniasis in high-burden countries: an epidemiological update based on data reported in 2014. *Wkly Epidemiol Rec* 2016; 91: 287-96.
5. WHO. Control of the leishmaniases. *World Health Organ Tech Rep Ser* 2010; 949: xii-xiii, 1-186.
6. Hepburn NC. Cutaneous leishmaniasis. *Clin Exp Dermatol* 2000; 25: 363-70.
7. Özbilgin A, Çavuş İ, Yıldırım A, Kaya T, Ertabaklar H. Evaluation of *In vitro* and *In vivo* Drug Efficacy Over *Leishmania tropica*: A Pilot Study. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2018; 42: 11-9.
8. Berman J. Current treatment approaches to leishmaniasis. *Curr Opin Infect Dis* 2003; 16: 397-401.
9. Navasconi TR, VND Reis, Freitas CF, De Souza Pereira PC, Caetano W, Hioka N, et al. Photodynamic Therapy With Bengal Rose and Derivatives Against *Leishmania amazonensis*. *J Lasers Med Sci* 2017; 8: 46-50.
10. Sharma R, Viana SM, Ng DKP, Kolli BK, Chang KP, de Oliveira CI. Photodynamic inactivation of *Leishmania braziliensis* doubly sensitized with uroporphyrin and diamino-phthalocyanine activates effector functions of macrophages *in vitro*. *Sci Rep* 2020; 10: 17065.
11. Caliskan-Ozlem S, Ertabaklar H, Bilgin MD, Ertug S. Evaluation of photodynamic therapy against *Leishmania tropica* promastigotes using different photosensitizers. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2022; 38: 354-64.
12. Roy J, Pandey V, Gupta I, Shekhar H. Antibacterial Sonodynamic Therapy: Current Status and Future Perspectives. *ACS Biomater Sci Eng* 2021; 7: 5326-38.
13. Rosenthal I, Sostaric JZ, Riesz P. Sonodynamic therapy-a review of the synergistic effects of drugs and ultrasound. *Ultrason Sonochem* 2004; 11: 349-63.
14. Yu T, Wang Z, Mason TJ. A review of research into the uses of low level ultrasound in cancer therapy. *Ultrason Sonochem* 2004; 11: 95-103.

15. Mišík V, Riesz P. Free radical intermediates in sonodynamic therapy. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 899: 335-48.
16. Yumita N, Sasaki K, Umemura SI, Yukawa A, Nishigaki R. Sonodynamically induced antitumor effect of galliumporphyrin complex by focused ultrasound on experimental kidney tumor. *Cancer Lett* 1997; 112: 79-86.
17. Yumita N, Nishigaki R, Umemura K, Umemura S. Synergistic effect of ultrasound and hematoporphyrin on sarcoma 180. *Jpn J Cancer Res* 1990; 81: 304-8.
18. Wan GY, Liu Y, Chen BW, Liu YY, Wang YS, Zhang N. Recent advances of sonodynamic therapy in cancer treatment. *Cancer Biol Med* 2016, 13: 325-38.
19. Kashef N, Huang YY, Hamblin MR. Advances in Antimicrobial Photodynamic Inactivation at the Nanoscale. *Nanophotonics* 2017; 6: 853-79.
20. Chen H, Zhou X, Gao Y, Zheng B, Tang F, Huang J. Recent Progress in Development of New Sonosensitizers for Sonodynamic Cancer Therapy. *Drug Discov Today* 2014; 19: 502-9.
21. Xing X, Zhao S, Xu T, Huang L, Zhang Y, Lan M, et al. Advances and Perspectives in Organic Sonosensitizers for Sonodynamic Therapy. *Coord Chem Rev* 2021; 445: 214087.
22. Wang Z, Dabrosin C, Yin X, Fuster MM, Arreola A, Rathmell WK, et al. Broad Targeting of Angiogenesis for Cancer Prevention and Therapy. *Semin Cancer Biol* 2015; 35(Suppl): 224-43.
23. Liang S, Deng X, Ma P, Cheng Z, Lin J. Recent Advances in Nanomaterial-Assisted Combinational Sonodynamic Cancer Therapy. *Adv Mater* 2020; 32: 2003214.
24. Pang X, Li D, Zhu J, Cheng J, Liu G. Beyond Antibiotics: Photo/Sonodynamic Approaches for Bacterial Theranostics. *Nanomicro Lett* 2020; 12: 144.
25. Gandin E, Lion Y, Van de Vorst A. Quantum yield of singlet oxygen production by xanthene derivatives. *Photochem Photobiol* 1983; 37: 271-8.
26. Kochevar IE, Bouvier J, Lynch M, Lin C. Influence of dye and protein location on photosensitization of the plasma membrane. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1196: 172-80.
27. Umemura S, Yumita N, Umemura K, Nishigaki R. Sonodynamically induced effect of rose bengal on isolated sarcoma 180 cells. *Cancer Chemother Pharmacol* 1999; 43: 389-93.
28. Ozbilgin, A, Durmuskahya C, Kayalar H, Ertabaklar H, Gunduz C, Ural IO, et al. Antileishmanial Activity of Selected Turkish Medicinal Plants. *Trop J Pharm Res* 2014; 13: 2047-55.
29. Kivçak B, Mert T, Ertabaklar H, Balcıoğlu IC, Ozensoy Töz S. In vitro activity of *Arbutus unedo* against *Leishmania tropica* promastigotes. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2009; 33: 114-5.
30. Limoncu ME, Eriç B, Gürpınar T, Özbilgin A, Balcıoğlu IC, Hoşgör-Limoncu M. Investigation of in vitro antileishmanial activity of moxifloxacin, linezolid and caspofungin on *Leishmania tropica* promastigotes. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2013; 37: 1-3.
31. Sugita N, Iwase Y, Yumita N, Ikeda T, Umemura SI. Sonodynamically induced cell damage using rose bengal derivative. *Anticancer Res* 2010; 30: 3361-6.
32. Liu X, Zhao K, Cao J, Qi X, Wu L, Shen S. Ultrasound responsive self-assembled micelles loaded with hypocrellin for cancer sonodynamic therapy. *Int J Pharm* 2021; 608: 121052.
33. Yue W, Chen L, Yu L, Zhou B, Yin H, Ren W, et al. Checkpoint blockade and nanosonosensitizer-augmented noninvasive sonodynamic therapy combination reduces tumour growth and metastases in mice. *Nat Commun* 2019; 10: 2025.
34. Ma X, Pan H, Wu G, Yang Z, Yi J. Ultrasound may be exploited for the treatment of microbial diseases. *Med Hypotheses* 2009; 73: 18-9.
35. Liu B, Wang DJ, Liu BM, Wang X, He LL, Wang J, et al. The Influence of Ultrasound on the Fluoroquinolones Antibacterial Activity. *Ultrason Sonochem* 2011; 18: 1052-6.
36. Pourhajibagher M, Esboei BR, Hodjat M, Bahador A. Sonodynamic excitation of nanomicelle curcumin for eradication of streptococcus mutans under sonodynamic antimicrobial chemotherapy: enhanced anticaries activity of nanomicelle curcumin. *Photodiagn Photodyn Ther* 2020; 30: 101780.
37. Zhang Y, Zhang H, Zhuang D, Bi L, Hu Z, Cao W. Hematoporphyrin monomethyl ether mediated sonodynamic antimicrobial chemotherapy on *porphyromonas gingivalis* in vitro. *Microb Pathog* 2020; 144: 104192.
38. Li G, Li J, Hou Y, Xie S, Xu J, Yang M, et al. Levofloxacin-Loaded Nanosonosensitizer as a Highly Efficient Therapy for *Bacillus Calmette-Guérin* Infections Based on Bacteria-Specific Labeling and Sonotheranostic Strategy. *Int J Nanomedicine* 2021; 16: 6553-73.
39. Yang M, Xie S, Adhikari VP, Dong YU, Du Y, Li D. The synergistic fungicidal effect of low-frequency and low-intensity ultrasound with amphotericin B-loaded nanoparticles on *C. albicans* in vitro, *Int J Pharm* 2018; 542: 232-41.
40. Alves F, Pavarina AC, Mima EGDO, McHale AP, Callan JF. Antimicrobial sonodynamic and photodynamic therapies against *Candida albicans*. *Biofouling* 2018; 34: 357-67.
41. Nakonechny F, Nisnevitch M, Nitzan Y, Nisnevitch. Sonodynamic excitation of rose bengal for eradication of gram-positive and gram-negative bacteria. *BioMed Res Int* 2013; 2013: 684930.
42. Costley D, Nesbitt H, Ternan N, Dooley J, Huang Y, Hamblin MR, et al. Sonodynamic inactivation of gram-positive and gram-negative bacteria using a rose bengal-antimicrobial peptide conjugate, *Int J Antimicrob Agents* 2017; 49: 31-6.
43. Fan L, Muhammad AI, Ismail BB, Liu D. Sonodynamic antimicrobial chemotherapy: An emerging alternative strategy for microbial inactivation. *Ultrason Sonochem* 2021; 75: 105591.
44. Gong Z, Dai Z. Design and Challenges of Sonodynamic Therapy System for Cancer Theranostics: From Equipment to Sensitizers. *Adv Sci (Weinh)* 2021; 8: 2002178.

# Seroprevalence of *Neospora caninum* in Goats from Korkuteli District of Antalya

## Antalya'nın Korkuteli Yöresi Keçilerinde *Neospora caninum*'ün Seroprevalansı

✉ Mübeccel Atelge<sup>1</sup>, ✉ Mustafa Karatepe<sup>2</sup>, ✉ Alparslan Yıldırım<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Kastamonu University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology, Kastamonu, Turkey

<sup>2</sup>Niğde Ömer Halisdemir University Faculty of Arts and Sciences, Department of Biotechnology, Niğde, Turkey

<sup>3</sup>Erciyes University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology, Kayseri, Turkey

Cite this article as: Atelge M, Karatepe M, Yıldırım A. Seroprevalence of *Neospora caninum* in Goats from Korkuteli District of Antalya. Türkiye Parazitoloj Derg 2022;46(3):180-3.

### ABSTRACT

**Objective:** this study aimed to determine the seroprevalence of *Neospora caninum* in goats from the Korkuteli district of Antalya.

**Methods:** During the study, sera samples were obtained from 184 female goats and analyzed for the presence of antibodies against *N. caninum* using a commercial ELISA kit.

**Results:** Seroprevalence of *N. caninum* was determined as 4.89%. Seropositivity of *N. caninum* in goats was not statistically significant ( $p>0.05$ ) in terms of study centers, age groups, and abort situation.

**Conclusion:** This study reports the first data on the presence and seroprevalence of *N. caninum* in the goats in the region.

**Keywords:** *Neospora caninum*, goat, seroprevalence, ELISA

### ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmada, Antalya'nın Korkuteli ilçesindeki keçilerde *Neospora caninum* seroprevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır. **Yöntemler:** Çalışma süresince 184 dişi keçiden serum örnekleri elde edilmiş ve ticari bir ELISA kiti kullanılarak *N. caninum*'a karşı antikorların varlığı araştırılmıştır.

**Bulgular:** *N. caninum*'ün seroprevalansı %4,89 olarak belirlenmiştir. Keçilerde *N. caninum* seropozitifliği, çalışma merkezleri ile yaş grupları ve abort durumuna göre istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ( $p>0,05$ ).

**Sonuç:** Bu çalışma bölgedeki keçilerde *N. caninum* varlığı ve seroprevalansına ilişkin ilk verileri ortaya çıkarmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Neospora caninum*, keçi, seroprevalans, ELISA

### INTRODUCTION

*Neospora caninum* is an obligate intracellular coccidian parasite and the causative agent of neosporosis, with a wide host range and a heteroxenous life cycle (1,2). Dogs are both the intermediate and definitive host for *N. caninum* (3). This parasite was first discovered in a dog with encephalomyelitis and myositis in 1984 in Norway (4). Until 1988, *N. caninum* was known as *Toxoplasma gondii* due to structural similarities, and since then, it has been described as a new genus and species (2,3,5). The life cycle of *N. caninum* is characterized by 3 infective stages: Tachyzoites, tissue cysts, and oocysts (6).

Neosporosis has emerged as a serious disease in dogs and cattle widespread worldwide. At the same

time, the presence of clinical neosporosis has been observed in goats and sheep (3). While neosporosis causes muscle diseases, paralysis, and death in dogs, it causes abortions and deaths in sheep, cattle, and goats (3,7,8). Goats are economically important animals in rural areas in many countries. There has been an epidemiological knowledge gap about the seroprevalence of *N. caninum* in goats in Turkey. Several research on *N. caninum* infections in Turkey was largely conducted in dogs and cattle. Limited surveys on goats reported various seroprevalence rates in different regions of Turkey (9-14). For contributing to the epidemiological data of *N. caninum* in goats in Turkey, we aimed to evaluate the seroprevalence of *N. caninum* from goats in different regions Korkuteli district, Antalya.



Received/Geliş Tarihi: 11.11.2021 Accepted/ Kabul Tarihi: 09.05.2022

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Mübeccel Atelge, Kastamonu University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology, Kastamonu, Turkey

Phone/Tel: +90 554 422 90 04 E-mail/E-Posta: matelge@kastamonu.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0003-3019-7038



## METHODS

### Study Area

A total of 6 different centers (Dereköy, Çaykenarı, İmecik, Yazır, Leylek ve Akkyar) located in Korkuteli district of Antalya (37°-3' N and 30°-11' E) were included in the survey. This district is known to have an annual average temperature of 13 °C and an annual average rainfall of 466 mm. The average air temperature in the district is generally recorded as -5 °C in winters and 25 °C in summers.

### Animals and Blood Collection

A total of 184 female goats with 1-7 years of age were randomly selected between February to July 2014. 10 mL whole blood sample from vena jugularis of goats was taken into sterile vacuum tubes, and abortion status of goats was recorded. Serum samples were obtained from the blood in the laboratory and stored at -20 °C until analysis.

### Serological Analysis

Antibodies against *N. caninum* in collected sera were screened using a commercial c-ELISA kit (IDEXX, Switzerland AG Stationsstrasse 12 3097 Liebefeld-Bern, Switzerland), according to the manufacturer's instructions. The OD values in the wells of microplates were measured at 450 nm wavelength using an ELISA reader (microtiter plate reader, MR-96A), and the calculations were done using the formula included in the IDEXX kit procedure.

### Statistical Analysis

A chi-square test was performed by SPSS (Statistical Program for Social Science) for Windows 15.0 Statistical Package Program, to statistically evaluate seropositivity of goats according to age groups, study centers, and abortion status.

## RESULTS

Specific antibodies to *N. caninum* were detected in a total of 9 (4.89%) of 184 goats, and seropositivities of different centers were given in Table 1. The highest prevalence value was determined in goats sampled from İmecik with 11.53% prevalence, whereas there was no seropositivity in goats in Çaykenarı, Yazır, and Leylek regions (Table 1). The seropositivity of *N. caninum* was not statistically significant in terms of study centers ( $p>0.05$ ).

The seropositivity among different age groups is shown in Table 2. The highest seroprevalence was in the five years of age group. However, the difference among age groups was not statistically significant ( $p>0.05$ ).

The seropositivity of goats with and without abortion is given in Table 3. Correspondingly, 3 (8.10%) out of 37 goats and 6 (4.08%) out of 147 goats were seropositive in the abort and without abort groups, respectively. The difference in the seroprevalence of *N. caninum* between the goats with abortion and without abortion groups was not statistically significant ( $p>0.05$ ).

## DISCUSSION

Serological techniques such as ELISA, NAT, IFAT, and DAT, and molecular methods are commonly used to diagnose neosporosis due to non-specific and insufficient clinical symptoms of the disease. ELISA and IFAT are frequently used methods in the serological diagnosis of neosporosis (2,15). There have been a couple of studies on the presence and prevalence of *N. caninum* in goats in the world. The seroprevalence of 3.3% to 15.0% in Brazil (7,16,17), 5.7% in Southern Jordan (18), 9% in Poland (19), 6% in the Czech Republic (8), 2.3% in Romania (20), 6.9% in Greece (21), 12.0% in Argentina (22), and 5.6% in Iraq (23) were reported by several researchers. Furthermore, Andrade Gda et al. (24), indicated a herd level seroprevalence of *N. caninum* as 75.2% in Brazil. The studies on the seroprevalence of neosporosis in goats in Turkey are limited. Sevgili et al. (9) reported 4.7% and 5.2% seroprevalence in Bristle and Aleppo goats in Şanlıurfa. Cayvaz and Karatepe (10) indicated 25.9% seroprevalence in goats in Niğde region. Seroprevalences of 10.2% in goats, 13.8% in Bristle goats, and 2.4% in Saanen goats were reported from Elazığ, Kırşehir, and Erzurum provinces, respectively (12). Utuk and Eski (13) indicated seroprevalence of 6.52 % and 23.91% in Shami and Kilis goats in Kilis. They also reported individual and flock base seroprevalence of *N. caninum* as 8.9% and 66.6% in goats in Adana (14). Özdamar et al. (11) determined seroprevalence of 8.69% in goats in Ordu. In the current study, we determined a mean *N. caninum* seroprevalence of 4.89% in goats in Korkuteli region of Antalya, which places in the range of the rates reported from different regions of Turkey. The seroprevalence detected in our study also shows similarities to the rates reported from Brazil (7), Romania (20), South Jordan (18), Czech Republic (8), Greece (21), and Iraq (23). The variation in the seroprevalence of *N. caninum* in different regions could be influenced by several factors such as breeds, breeding and feeding conditions, sample size, climatic and environmental conditions, and diagnostic methods.

In the evaluation of neosporosis over the age groups of goats, we determined that the seroprevalence of *N. caninum* was not affected by age. Similar findings were reported by Sevgili et al. (9), Utuk and Eski (14), and Özdamar et al. (11). However, age dependent seroprevalence of *N. caninum* in goats was also indicated by Cayvaz and Karatepe (10), Utuk et al. (12), and Ghattof and

**Table 1. Seropositivity of *N. caninum* according to the study centers**

Study centers	Months	No of examined goat	No of seropositive	Seroprevalence (%)	$\chi^2$	p
Dereköy	February	30	2	6.66	9.233	0.100
Çaykenarı	March	30	0	0.00		
İmecik	April	26	3	11.53		
Yazır	May	30	0	0.00		
Leylek	June	27	0	0.00		
Akkyar	July	41	4	9.75		
<b>Total</b>		184	9	4.89		

**Table 2. Seropositivity of *N. caninum* according to the age groups**

Age groups	No of examined	No of seropositive	Positive (%)	$\chi^2$	p
1-2	19	0	0.00	1.444	0.837
3	41	2	4.87		
4	46	2	4.34		
5	28	2	7.14		
6-7	50	3	6.00		

**Table 3. Seropositivity in aborting and non-aborting goats**

	No of animal	No of seropositive animal	Positive (%)	$\chi^2$	p
<b>Aborting</b>	37	3	8.10	1.030	0.388
<b>Non-aborting</b>	147	6	4.08		

Faraj (23) who reported higher infection rates in older age groups. Higher prevalence in older animals could attribute to the horizontal transmission by ingestion of *N. caninum* sporulated oocysts (7). There was no statistically significant difference between the seropositivity in the aborted and non-aborted goats in the present study. This finding is consistent with the published reports regarding the seroprevalence of *N. caninum* associated with the abortion status of goats (10,11,14,23). Although our study and the above mentioned investigations did not indicate a direct association between the parasite and abortion in goats, *N. caninum* should not be ignored among the possible causes of abortion cases (5).

## CONCLUSION

Our results indicate that goats in the Korkuteli region of Antalya were infected with *N. caninum* with a mean seroprevalence of 4.8%. In spite of the veterinary and economic importance of this protozoan parasite, there are few published reports, in the world, concerning the main effect of *N. caninum* to goat health. Further comprehensive studies using molecular and serological diagnostic tools with large scale samplings are needed to explore the true effect and risk factors associated with *N. caninum* in goats.

### \* Ethics

**Ethics Committee Approval:** This study was approved by the Erciyes University Local Ethics Committee for Animal Experiments (date: 09.10.2013, no: 12/122).

**Informed Consent:** Patient consent is not required for this study.

**Peer-review:** Internally and externally peer-reviewed.

### \* Authorship Contributions

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

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

**Financial Disclosure:** The work was funded by Niğde University Scientific Research Projects Unit as a master thesis project with the code FEB 2013/31-YÜLTEP.

## REFERENCES

- Dubey JP. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet Parasitol* 1999; 84: 349-67.
- Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 323-67.
- Dubey JP. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol* 2003; 41: 1-16.
- Bjerkås I, Mohn SE, Presthus J. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z Parasitenk* 1984; 70: 271-4.
- Dubey JP, Schares G. Neosporosis in animals-the last five years. *Vet Parasitol* 2011; 180: 90-108.
- Dubey JP, Buxton D, Wouda W. Pathogenesis of bovine neosporosis. *J Comp Pathol* 2006; 134: 267-89.
- Figliuolo LPC, Rodrigues AAR, Viana RB, Aguiar DM, Kasai N, Gennari SM. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goat from São Paulo State, Brazil. *Small Rumin Res* 2004; 55: 29-32.
- Bartova E, Sedlak K. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in goats in the Czech Republic. *Vet Med* 2012; 57: 111-4.
- Sevgili M, Çimtay İ, Keskin O. Şanlıurfa yöresindeki keçilerde *Neospora caninum* enfeksiyonunun seroprevalansı. *Turkiye Parazit Derg* 2003; 27: 249-51.
- Cayvaz M, Karatepe M. Niğde Yöresi Keçilerinde *Neospora caninum*'un Seroprevalansı. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2011; 17: 935-9.
- Özdamar D, Karatepe B, Yıldırım A. Investigation of anti-*Neospora caninum* Antibodies in Goats in Mesudiye District of Ordu using ELISA. *Kocatepe Vet J* 2021; 14: 1-6.
- Utuk AE, Simsek S, Piskin FC, Balkaya I. Detection of *Neospora caninum* IgG antibodies in goats in Elazığ, Erzurum and Kırşehir provinces of Turkey. *Isr J Vet Med* 2011; 66: 157-60.
- Utuk AE, Eski F. Detection of Anti-*Neospora caninum* Antibodies in a Goat Flock in Kilis Province of Turkey. *Inter J Vet Sci* 2017; 6: 114-7.
- Utuk AE, Eski F. Investigation of anti-*Neospora caninum* antibodies and disease-related risk factors in goats. *Med Weter* 2019; 75: 678-83.
- Khan A, Shaik JS, Sikorski P, Dubey JP, Grigg ME. Neosporosis: an overview of its molecular epidemiology and pathogenesis. *Engineering* 2020; 6: 10-9.
- Faria EB, Gennari SM, Pena HFJ, Athayde ACR, Silva MLCR, Azevedo SS. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State, Northeast region of Brazil. *Vet Parasitol* 2007; 149: 126-9.
- Uzeda RS, Pinheiro AM, Fernandez SY, Ayres MCC, Gondim LFP, Almeida MAO. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy goats from Bahia, Brazil. *Small Rumin Res* 2007; 70: 257-9.
- Al-Majali AM, Jawasreh KI, Talafha HA Talafha AQ. Neosporosis in Sheep and Different Breeds of Goats from Southern Jordan: Prevalence and Risk Factors Analysis. *Am J Anim Vet Sci* 2008; 3: 47-52.

19. Czopowicz M, Kaba J, Szalu´s-Jordanow O, Nowicki M, Witkowski L, Frymus T. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goats in Poland. *Vet Parasitol* 2011; 178: 339-41.
20. Iovu A, Gyorko A, Mircean V, Gavrea R, Cozma V. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dairy goats from Romania *Vet Parasitol* 2012; 186: 470-4.
21. Anastasia D, Elias P, Nikolaos PN, Charilaos K, Nektarios G. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* seroprevalence in dairy sheep and goats mixed stock farming. *Vet Parasitol* 2013; 198: 387-90.
22. Unzaga JMU, Moréa G, Bacigalupe D, Rambeud M, Pardini L, Dellarupe A, et al. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goat abortions from Argentina. *Parasitol Int* 2014; 63: 865-7.
23. Ghattof HH, Faraj AA. Seroprevalence of *Neospora caninum* in goats in Wasit province Iraq. *Int J Curr Microbiol Appl Sci* 2015; 4: 182-91.
24. Andrade Gda S, Bruhn FR, Rocha CM, de Sá Guimarães A, Gouveia AM, Guimarães AM. Seroprevalence for *Neospora caninum* in goats of Minas Gerais state, Brazil. *Res Vet Sci* 2013; 94: 584-6.

# Comparison of Intestinal Parasites in Native and Refugee Patients Admitted to a Territory Hospital in Turkey

*Türkiye’de Bir Bölge Hastanesine Başvuran Yerli ve Mülteci Hastalarda Görülen Bağırsak Parazitlerinin Karşılaştırılması*

✉ Filiz Demirel, ✉ Bedia Dinç

University of Health Sciences Turkey, Ankara Training and Research Hospital, Clinic of Medical Microbiology, Ankara, Turkey

Cite this article as: Demirel F, Dinç B. Comparison of Intestinal Parasites in Native and Refugee Patients Admitted to a Territory Hospital in Turkey. Türkiye Parazit Derg 2022;46(3):184-8.

## ABSTRACT

**Objective:** This study aimed to evaluate the distribution of intestinal parasites in refugee and native patients who applied to a territory hospital in Turkey.

**Methods:** A total of 17911 patients who were admitted to our hospital between January 2018 and January 2019 were evaluated retrospectively in terms of intestinal parasites. The patients’ stool samples were investigated for the existence of intestinal parasites by direct wet mount preparation, formalin ether concentration technique and cellophane tape method. The data obtained were compared between patient groups according to the examination method.

**Results:** The overall prevalence of *E. vermicularis* in refugee children was found twice higher than that in native patients and the most common symptom was abdominal pain in these patients. Intestinal parasite detection rates were significantly higher in the stool concentration method than in the direct wet mount examination. Cutaneous complaints and protein energy malnutrition/growth retardation were the most common clinical conditions besides gastrointestinal symptoms in patients with intestinal parasitosis.

**Conclusion:** In our study, the prevalence of *Blastocystis* sp. in refugees was found to be higher than in the normal population. Intestinal parasitic infections should be investigated with proper diagnostic methods especially in children with PEM/GR and cutaneous symptoms in addition to gastrointestinal problems.

**Keywords:** Parasite, refugee, *Blastocystis*, *Dientamoeba fragilis*

## ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, Türkiye’de bir bölge hastanesine başvuran yerli ve mülteci hastalarda saptanmış olan intestinal parazitlerin dağılımını değerlendirmektir.

**Yöntem:** Ocak 2018-Ocak 2019 tarihleri arasında hastanemize başvuran toplam 17911 hasta intestinal parazitler yönünden retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Hastaların dışkı örnekleri direkt mikroskopik inceleme ve formalin eter konsantrasyon yöntemi sonrası mikroskopik inceleme ile intestinal parazit varlığı açısından, selofan bant örnekleri ise *Enterobius vermicularis* varlığı açısından incelenmiştir. Elde edilen veriler inceleme yöntemi ve hasta gruplarına göre karşılaştırılmıştır.

**Bulgular:** *E. vermicularis* prevalansı mülteci çocuklarda yerli hastalara kıyasla iki kat daha fazla bulunmuştur. Bu hastalarda en fazla görülen semptom karın ağrısıdır. Intestinal parazit saptanma oranları konsantrasyon yöntemi sonrası mikroskopik inceleme ile anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Intestinal parazit saptanan hastalarda gastrointestinal semptomların yanı sıra en sık kutanöz şikayetler ve protein enerji malnutrisyonu/büyüme gelişme geriliği görülmüştür.

**Sonuç:** Çalışmamızda *Blastocystis* sp. prevalansı mülteci hastalarda normal popülasyona oranla daha yüksek bulunmuştur. Intestinal parazit enfeksiyonlar gastrointestinal şikayetleri olan hastaların yanı sıra özellikle kutanöz semptomları olan kişilerde ve büyüme gelişme geriliği olan çocuklarda uygun inceleme yöntemleri kullanılarak araştırılmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Parazit, göçmen, *Blastocystis*, *Dientamoeba fragilis*



Received/Geliş Tarihi: 08.09.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 14.01.2022

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Filiz Demirel, University of Health Sciences Turkey, Ankara Training and Research Hospital, Clinic of Medical Microbiology, Ankara, Turkey

Phone/Tel: +90 505 457 67 12 E-mail/E-Posta: dr.filiz.demirel@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-3513-8347



## INTRODUCTION

Intestinal parasites have been associated with humans since ancient times and this relationship has been influenced by global changes in the human socio-cultural evolution throughout the history (1). At the present time, intestinal parasitic infections, caused by intestinal helminths and protozoan parasites, continue to be an important global health problem especially in developing countries. In developed countries, protozoan parasites are more common rather than intestinal helminths (2). Low socio-economic status, poor sanitation and crowded living conditions increase the risk of parasitic infections (3).

Intestinal parasitic infections can cause morbidity and mortality particularly in children living in rural areas. These infections may lead to lost ability to attend school or work, malnutrition, anemia, retardation of growth, impairment of cognitive skills and neurodevelopment in young children (4,5). Additionally, immunocompromised patients are more likely to acquire infection and develop severe and disseminated disease with intestinal parasitic infections (6).

Intestinal parasitic infections are also an important public health issue in refugees because of low socio-economic level, insufficient hygiene, living in crowd and poor sanitary conditions (7,8). In recent years, the number of refugees has considerably been increased due to social, political or economic factors. It has been reported that refugees may play a role in incidence of parasitic diseases in industrialized countries (9).

In the last few years, there has been a significant increase in the number of refugees and refugees residing in Turkey. Ankara Training and Research Hospital is a health facility that serves mostly both native and refugee patients with low socio-economic status, in the capital city of Turkey, Ankara. Due to the patient profile, higher rates of intestinal parasitic infections were expected.

The aim of this study was to perform a retrospective analysis of the presence of intestinal parasites in refugee and native patients who applied to a territory hospital in the capital city of Turkey.

## METHODS

### Ethical Approval

Protocol of the study was reviewed and approved by Keçiören Training and Research Hospital Non-Interventional Ethics Board/Committee (decision number: 2012-KAEK-15/1816, date: 13.02.2019).

### Patients

A total of 17911 patients who were admitted to University of Health Sciences Turkey, Ankara Training and Research Hospital, Turkey and who were asked for parasitic examination by the clinicians during the period of 2018-2019 were evaluated retrospectively. Data on demographic and clinical parameters were obtained from the laboratory information management system. Only one sample was included in the study for each patient.

A total of 911, 14,509 and 2.491 patients examined by the cellophane tape method, direct microscopic examination and stool concentration method, respectively, were evaluated. Among all of the patients, 8,748 (48.8%) were female, 9,163 (51.2%) male and 1,121 (6.3%) were refugee and 16,790 (93.7%) native.

## Sample Collection and Laboratory Analyses

Fresh stool samples collected from the patients were transferred to the laboratory within 30-60 minutes for direct microscopic examination (wet mount preparation). After macroscopic examination, stool samples were examined by saline/iodine method by laboratory technicians (10). Stool concentration method were performed by using a commercial concentrator tube (Parasep® Fecal Parasite Concentrators, Apacor, USA) and microscopic examination was done with the sediments of each centrifuged sample by saline/iodine method by a parasitologist (11). *Entamoeba* spp., *Dientamoeba fragilis*, etc. suspected samples were stained with Wheatley's trichrome stain (12). Cellophane tape method was used to detect *Enterobius vermicularis* eggs (13). All tests were performed in parasitology section of department of medical microbiology.

## Statistical Analysis

Statistical analyses were performed by using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS.26, IBM SPSS Statistics for Windows, Version 26.0, IBM Corp., Armonk, NY, USA). Categorical variables were summarized as counts and percentages. Descriptive statistics (Pearson chi-square test) were used to evaluate statistically significant difference between groups. Statistical significance was defined as  $p < 0.05$  (14).

## RESULTS

Out of 17,911 patients evaluated in the study, one or more intestinal parasites were detected in 640 (3.6%) patients of which 302 (47.2%) were female, 338 (52.8%) were male ( $p > 0.05$ ). Among the patients intestinal parasite detected, 131 (20.5%) were  $< 6$ , 415 (64.8%) were 6-18, 94 (14.7%) were  $\geq 19$  years of age ( $p < 0.05$ ).

Of 16,790 native patients, one or more intestinal parasites detected in 526 (3.1%), of 1,121 refugee patients intestinal parasites detected in 114 (10.2%). Intestinal parasite positivity was significantly higher in refugee patient group ( $p < 0.05$ ). The most common protozoan was *Blastocystis* sp., the most common helminth was *E. vermicularis* detected in both native and refugee patients. Distribution of parasite detection rates in native and refugee population were given in Table 1.

*E. vermicularis* positivity of native and refugee patients were 8% and 16.7%, respectively, by cellophane tape method. The positivity rate of *E. vermicularis* in refugee patients was twice as high as in the native patients, and this difference was found statistically significant ( $p < 0.05$ ).

Intestinal parasite positivity rates according to the stool examination methods were given in Table 2. Intestinal parasites were detected in 0.6% and 19.1% of the all patients by direct wet mount examination and stool concentration method, respectively. Intestinal parasite positivity with stool concentration method was significantly higher ( $p < 0.05$ ).

The most remarkable symptoms/diagnoses in patients with intestinal parasites were protein/energy malnutrition (PEM)/growth retardation (GR), urticaria/dermatitis, gastritis/duodenitis, anemia, abdominal pain and gastroenteritis (Table 3). Intestinal parasite detection rates in both native and refugee patients according to the months were given in Figure 1 ( $p > 0.05$ ).



**Table 1.** Intestinal parasite detection rates according to the demographic characteristics of the patients

Parasite	Native patients n=16,790		Refugee patients n=1.121	
	n	%	n	%
<i>Blastocystis</i> sp.	301	1.8	70	6.2
<i>G. intestinalis</i>	73	0.4	22	2.0
<i>D. fragilis</i>	54	0.3	6	0.5
<i>Blastocystis</i> sp.+ <i>D. fragilis</i>	11	0.06	0	0
<i>Blastocystis</i> sp.+ <i>G. intestinalis</i>	2	0.01	3	0.3
<i>Entamoeba</i> spp.	12	0.07	2	0.2
<i>H. nana</i>	4	0.02	0	0
<i>Taenia</i> spp.	1	0.01	0	0
<i>E. vermicularis</i>	68	0.4	11	1.0
<b>Total</b>	<b>526</b>	<b>3.1</b>	<b>114</b>	<b>10.2</b>

## DISCUSSION

Migration of populations may have an important role in the spread and change of the prevalence of infectious diseases (15). Immigrant and refugee populations have an increased risk for infectious diseases because of poor living conditions (16). Intestinal parasitic infections are also associated with human migratory activities (17).

In the last few years, there has been an increase in migration activity especially from Middle East to Turkey. However, little is known about the presence of intestinal parasites among these refugees. Therefore, in this cross sectional study, it is aimed to determine the prevalence of intestinal parasites among both refugee and native patients, in a one year of period.

The prevalence of intestinal parasites in Turkey varies according to the methods used in the studies and the region where the study was conducted. In a study conducted in Mardin, intestinal parasites were observed in 27.6% of the stool samples examined (18). In a study conducted in Van, one or more intestinal parasites were detected in 34.1% of the patients (19). In two separate studies conducted in İstanbul, the prevalence of intestinal parasites was found to be 4% and 5%, respectively (20,21). In a study conducted in İzmir, intestinal parasites were detected in 6% of the patients (22). In a previous study conducted in Ankara, intestinal parasites were found in 4.2% of the stool samples (23). In our study, total intestinal parasite positivity was found to be 3.7% similar to the studies performed in the western part of

**Table 3.** Most common symptom/diagnoses in patients

Symptom/ diagnoses	Parasite (+) n (%)	Parasite (-) n (%)	Total (n=17,911)
Gastroenteritis/colitis	72 (0.8%)	8.558 (99.2%)	8.630
Abdominal pain	103 (5.1%)	1.935 (94.9%)	2.038
PEM/GR	69 (17.6%)	323 (82.4%)	392
Urticaria/dermatitis	59 (14.3%)	353 (85.7%)	412
Anemia	25 (6.4%)	367 (93.6%)	392
Gastritis/duodenitis	43 (10.9%)	352 (89.1%)	395

PEM: Protein/energy malnutrition, GR: Growth retardation

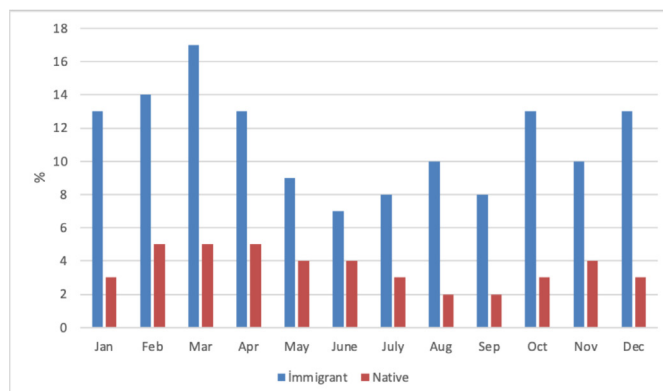
**Table 2.** Intestinal parasite positivity according to the examination method

Parasite	Direct microscopic examination n=14,509		Stool concentration method n=2.491	
	n	%	n	%
<i>Blastocystis</i> sp.	16	0.1	355	14.3
<i>G. intestinalis</i>	61	0.4	34	1.4
<i>D. fragilis</i>	2	0.01	58	2.3
<i>Blastocystis</i> sp.+ <i>D. fragilis</i>	0	0	11	0.4
<i>Blastocystis</i> sp.+ <i>G. intestinalis</i>	0	0	5	0.2
<i>Entamoeba</i> spp.	3	0.02	11	0.4
<i>H. nana</i>	2	0.01	2	0.1
<i>Taenia</i> spp.	1	0.01	0	0
<b>Total</b>	<b>85</b>	<b>0.6%</b>	<b>476</b>	<b>19.1%</b>

our country. The high difference of intestinal parasite detection rates between the eastern and western regions of our country is thought to be related to the socio-cultural level.

In the current study, overall intestinal parasite positivity was significantly higher in refugee patient group. In particular, the prevalence of *E. vermicularis* in refugee children was found two times higher than in native patients. While *E. vermicularis* was more prevalent in school-age children, it was also common in children under the age of six in refugees. This might be associated with higher household contamination in refugee families. In the studies conducted with refugee children, *E. vermicularis* prevalence were found 1.2% in Italy and 25.2% in Thailand (24,25). It has been reported that parasitic infections among refugee children have a high prevalence supporting the current study. Especially helminth infections transmitted via eggs contaminate the environment and spread the infection to other children (25).

In the current study, the overall prevalence of intestinal parasites detected via stool concentration method were significantly higher than direct wet mount preparation. Direct wet mount preparation is the most commonly used method for the examination of fresh stool samples. However, this method has poor performance in detection of intestinal parasites because of low sensitivity and

**Figure 1.** Intestinal parasite positivity according to the months in native and refugee patients

need for experienced microscopist (26). Additionally, single direct wet mount examination has low sensitivity for diagnoses of parasitic infections. Detection of intestinal parasites can be increased by using concentration techniques (27). In our study, concentrated stool samples were examined by an experienced parasitologist, which may be the reason of high detection rates.

The most prevalent protozoa detected in both native and refugee patients were *Blastocystis* sp., *D. fragilis* and *G. intestinalis*. *Blastocystis* is a protozoan parasite commonly seen in human, but the pathogenesis is still controversial (28). In recent years, some metagenomic studies put forward that *Blastocystis* sp. may be a member of normal microbiota (29). In Turkey, *Blastocystis* sp. is reported as the most common intestinal parasite with the prevalence rate of 0.5-37.9% (30). *D. fragilis* is a neglected gastrointestinal flagellate protozoon. It is little known about the pathogenicity and clinical importance of this parasite. It has been reported that *D. fragilis* is the most prevalent protozoan parasite after *Blastocystis* sp. and as common as *G. intestinalis* worldwide (31). In the study of Sarzhanov et al. (30) in Turkey, the prevalence of *Blastocystis* sp. and *D. fragilis* was found 16.7% and 11.9%, respectively, by qPCR. In another study conducted by Aykur et al. (32) in Turkey, *D. fragilis* prevalence was found 12.04% by real time-polymerase chain reaction. These studies demonstrate that the molecular methods are needed in accurately detecting of *Blastocystis* sp. and *D. fragilis* in stool samples.

In the current study, the most remarkable symptoms/diagnoses in patients with intestinal parasites were PEM/GR and urticaria/dermatitis. PEM is an important health problem in developing countries, leading to GR and decreased physical and mental development in children (33). In our study, PEM was remarkably high especially in refugee children with intestinal parasitosis. It has been reported that refugees may harbour intestinal pathogens without any gastrointestinal problems (34). Therefore, intestinal parasites should be investigated in patients with extraintestinal manifestations such as GR and urticaria, in addition to gastrointestinal symptoms such as abdominal pain and diarrhea.

### Study Limitations

The current study has some limitations, primarily due to nature of the retrospective study. The prevalence of the parasites may be underestimated because of single-day examination of samples. For an ideal parasitological examination, at least three samples taken periodically should be examined. Prevalence of sporozoan parasites such as *Cryptosporidium* sp., *Cyclospora cayatanensis* and *Cystoisospora belli* was not determined since modified acid fast staining method could not be performed routinely.

There is limited data about the presence of neglected parasitic diseases among refugee/refugee population in Turkey. Our results indicate the rate of intestinal parasites in refugee patients is significantly higher and this is probably associated with low socio-economic status, poor hygiene and crowded living conditions.

### CONCLUSION

When the concentration method is compared with the direct wet mount preparation, it is cost effective in terms of correct and early diagnose of intestinal parasitic infections. Especially children with gastrointestinal problems, PEM/GR and cutaneous symptoms should be examined properly in case of parasitic infections.

### \*Ethics

**Ethics Committee Approval:** Protocol of the study was reviewed and approved by Keçiören Training and Research Hospital Non-Interventional Ethics Board/Committee (decision number: 2012-KAEK-15/1816, date: 13.02.2019).

**Informed Consent:** Retrospective study.

**Peer-review:** Internally and externally peer-reviewed.

### \*Authorship Contributions

Concept: F.D., B.D., Design: F.D., B.D., Data Collection or Processing: F.D., Analysis or Interpretation: F.D., B.D., Literature Search: F.D., Writing: F.D., B.D.

**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

- Alum A, Rubino JR, Ijaz MK. The global war against intestinal parasites--should we use a holistic approach? *Int J Infect Dis* 2010; 14: e732-8.
- Haque R. Human intestinal parasites. *J Health Popul Nutr* 2007; 25: 387-91.
- Rajeswari B, Sinniah B, Hussein H. Socio-economic factors associated with intestinal parasites among children living in Gombak, Malaysia. *Asia Pac J Public Health* 1994; 7: 21-5.
- Olopade BO, Idowu CO, Oyelese AO, Aboderin Ao. Intestinal Parasites, Nutritional Status and Cognitive Function among Primary School Pupils in Ile-Ife, Osun State, Nigeria. *Afr J Infect Dis* 2018; 12: 21-8.
- Ostan I, Kilimcioglu AA, Girginkardeşler N, Ozyurt BC, Limoncu ME, Ok UZ. Health inequities: lower socio-economic conditions and higher incidences of intestinal parasites. *BMC Public Health* 2007; 7: 342.
- Stark D, Barratt JL, van Hal S, Marriott D, Harkness J, Ellis JT. Clinical significance of enteric protozoa in the immunosuppressed human population. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22: 634-50.
- Varkey P, Jerath AU, Bagniewski S, Lesnick T. Intestinal parasitic infection among new refugees to Minnesota, 1996-2001. *Travel Med Infect Dis* 2007; 5: 223-9.
- El-Sherbini GT, Abosdera MM. Risk factors associated with intestinal parasitic infections among children. *J Egypt Soc Parasitol* 2013; 43: 287-94.
- Abu-Madi MA, Behnke JM, Boughattas S, Al-Thani A, Doiphode SH. A decade of intestinal protozoan epidemiology among settled refugees in Qatar. *BMC Infect Dis* 2016; 16: 370.
- Mengist HM, Demeke G, Zewdie O, Belew A. Diagnostic performance of direct wet mount microscopy in detecting intestinal helminths among pregnant women attending ante-natal care (ANC) in East Wollega, Oromia, Ethiopia. *BMC Res Notes* 2018; 11: 276.
- Zeeshan M, Zafar A, Saeed Z, Irfan S, Sobani ZA, Shakoor S, et al. Use of "Parasep filter fecal concentrator tubes" for the detection of intestinal parasites in stool samples under routine conditions. *Indian J Pathol Microbiol* 2011; 54: 121-3.
- Wheatley Trichrome Staining. Available from: URL: <https://microbenotes.com/wheatley-trichrome-staining/> (accessed: 14.01.2021)
- Truscott J, Abebe A, Donkers K, Segers D. Recognizing common parasitic infestations. *JAAPA* 2017; 30: 1-6.
- IBM Corp. Released 2019. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 26.0. Armonk, NY: IBM Corp; 2019.
- Barnett ED, Walker PF. Role of refugees and migrants in emerging infectious diseases. *Med Clin North Am* 2008; 92: 1447-58, xi-xii.
- Eiset AH, Wejse C. Review of infectious diseases in refugees and asylum seekers-current status and going forward. *Public Health Rev* 2017; 38: 22.

17. Steverding D. The spreading of parasites by human migratory activities. *Virulence* 2020; 11: 1177-91.
18. Yula E, Deveci Ö, İnci M, Tekin A. Intestinal parasites and report of etiological analysis in a state hospital. *J Clin Exp Invest* 2011; 2: 74-9.
19. Taş Cengiz Z, Yılmaz H, Beyhan YE, Çiçek M. A Comprehensive Retrospective Study: Intestinal Parasites in Human in Van Province. *Turkiye Parazit Derg* 2019; 43: 70-3.
20. Köksal F, Başlantı I, Samasti M. A retrospective evaluation of the prevalence of intestinal parasites in Istanbul, Turkey. *Turkiye Parazit Derg* 2010; 34: 166-71.
21. Kırkoyun Uysal H, Akgül Ö, Purisa S, Öner YA. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi'nde 25 Yıllık İntestinal Parazit Prevalansı: Retrospektif Bir Çalışma. *Turkiye Parazit Derg* 2014; 38: 97-101.
22. Ergüden Gürbüz C, Gülmez A, Özkoç S, İnceboz T, Miman Ö, Aksoy Ü, et al. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2011-2018 Yılları Arasında Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. *Turkiye Parazit Derg* 2020; 44: 83-7.
23. Gülmez D, Sarıbaş Z, Akyön Y, Ergüven S. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı 2003-2012 Yılları Sonuçları: 10 Yıllık Değerlendirme. *Turkiye Parazit Derg* 2013; 37: 97-101.
24. Manganelli L, Berrilli F, Di Cave D, Ercoli L, Capelli G, Otranto D, et al. Intestinal parasite infections in refugee children in the city of Rome, related risk factors and possible impact on nutritional status. *Parasit Vectors* 2012; 5: 265.
25. Sagnuankiat S, Wanichsuwan M, Bhunnachet E, Jungarat N, Panraksa K, Komalamisra C, et al. Health Status of Refugee Children and Environmental Survey of Child Daycare Centers in Samut Sakhon Province, Thailand. *J Immigr Minor Health* 2016; 18: 21-7.
26. Estevez EG, Levine JA. Examination of preserved stool specimens for parasites: lack of value of the direct wet mount. *J Clin Microbiol* 1985; 22: 666-7.
27. Amin HA, Ali SA, Evaluation of Different Techniques of Stool Examination for Intestinal Parasitic Infections in Sulaimani City - Iraq. *Int J Curr Microbiol App Sci* 2015; 4: 991-6.
28. Piubelli C, Soleymannpoor H, Giorli G, Formenti F, Buonfrate D, Bisoffi Z, et al. *Blastocystis* prevalence and subtypes in native and refugee patients in a referral centre for parasitic infections in Italy. *PLoS One* 2019; 14: e0210171.
29. Yason JA, Liang YR, Png CW, Zhang Y, Tan KSW. Interactions between a pathogenic *Blastocystis* subtype and gut microbiota: in vitro and in vivo studies. *Microbiome* 2019; 7: 30.
30. Sarzhanov F, Dogruman-Al F, Santin M, Maloney JG, Gureser AS, Karasartova D, et al. Investigation of neglected protists *Blastocystis* sp. and *Dientamoeba fragilis* in immunocompetent and immunodeficient diarrheal patients using both conventional and molecular methods. *PLoS Negl Trop Dis* 2021; 15: e0009779.
31. Garcia LS. *Dientamoeba fragilis*, One of the Neglected Intestinal Protozoa. *J Clin Microbiol* 2016; 54: 2243-50.
32. Aykur M, Cahskan Kurt C, Dirim Erdogan D, Biray Avcı C, Vardar R, Aydemir S, et al. Investigation of *Dientamoeba fragilis* Prevalence and Evaluation of Sociodemographic and Clinical Features in Patients with Gastrointestinal Symptoms. *Acta Parasitol* 2019; 64: 162-70.
33. Kar BR, Rao SL, Chandramouli BA. Cognitive development in children with chronic protein energy malnutrition. *Behav Brain Funct* 2008; 31.
34. van Lieshout L, Verweij JJ. Newer diagnostic approaches to intestinal protozoa. *Curr Opin Infect Dis* 2010; 23: 488-93.

# Çocuklarda Tanıdan Tedaviye Hidatik Hastalığı: On Yıllık Tek Merkez Deneyimi

## Hydatid Disease in Children from Diagnosis to Treatment: A 10-year Single Center Experience

İD Ayşegül Elvan Tüz<sup>1</sup>, İD Yıldız Ekemen Keleş<sup>1</sup>, İD Aslıhan Şahin<sup>1</sup>, İD Gülnihan Üstündağ<sup>1</sup>, İD Selin Taşar<sup>1</sup>,  
İD Eda Karadağ Öncel<sup>1</sup>, İD Ahu Kara Aksay<sup>1</sup>, İD Mustafa Onur Öztan<sup>2</sup>, İD Gökhan Köylüoğlu<sup>2</sup>,  
İD Ahmet Ergin Çapar<sup>3</sup>, İD Dilek Yılmaz Çiftdoğan<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Cerrahi Kliniği, İzmir, Türkiye

<sup>3</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Radyoloji Kliniği, İzmir, Türkiye

<sup>4</sup>İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Cite this article as: Tüz AE, Ekemen Keleş Y, Şahin A, Üstündağ G, Taşar S, Karadağ Öncel E, Kara Aksay A, Öztan MO, Köylüoğlu G, Çapar AE, Yılmaz Çiftdoğan D. Hydatid Disease in Children from Diagnosis to Treatment: A 10-year Single Center Experience. Türkiye Parazitoloj Derg 2022;46(3):189-94.

### ÖZ

**Amaç:** Hidatik hastalığı, *Echinococcus granulosus*'un neden olduğu parazitik bir zoonozdur ve Türkiye'de endemiktir. Klinik bulgular çeşitlidir ve anatomik yerleşimle ilişkilidir. Bu raporda, çocuklarda hidatik hastalığının tanı, tedavi ve izlemine 10 yıllık deneyimimizle paylaşmayı amaçladık.

**Yöntemler:** Hidatik hastalığı tanılı 57 çocuk olgu, hastane kayıtlarından geriye dönük olarak incelendi. Tanı, klinik, serolojik ve radyolojik bulgulara dayandırıldı. Tedavi yanıtı klinik, radyolojik ve serolojik bulgularla değerlendirildi.

**Bulgular:** Toplam 57 olgunun erkek/kız oranı 2.4:1 ve yaş ortalamaları 113,6±45,9 ay idi. En sık görülen başvuru yakınması karın ağrısıydı (%42,1). Olguların 22'sinin (%38,6) eozinofili mevcutken; indirekt hemagglütinasyon test pozitifliği 27 olguda (%47,4) saptandı. Olguların 18'inde (%31,6) çoklu organ tutulumu vardı. Çoklu organ tutulumu olanlarda, kistlerin batın yerleşimli olma olasılığı daha yüksek bulundu (p=0,005). Tedavi amacıyla cerrahi girişim uygulanan 50 olgudan (%87,7), 45'inin (%78,9) açık cerrahi, 5'inin (%8,8) perkütan aspirasyon, enjeksiyon ve reaspirasyon yöntemi ile opere olduğu saptandı. Konservatif tedavide Albendazol verilen 52 (%91,2) olgu mevcuttu ve tedavi süreleri ortalama 15,5±17,2 aydı. Kist rüptürü gelişen 10 olgu (%17,5) mevcuttu ve semptom süreleri, kist rüptürü gelişmeyen olgulara göre daha kısaydı (p=0,017). Dispne görülen ve ağızdan kaya suyu gelen olgularda kist rüptürü olma olasılığı daha yüksek bulundu (sırasıyla p=0,001, p=0,005). İzlemde beş olguda (%8,8) nöks geliştiği görüldü.

**Tartışma:** Hastalığın endemik olduğu bölgelerde kişisel alışkanlık ve sağlık eğitiminden oluşan önleme ve kontrol programlarına rağmen, hidatik hastalığının aktif geçişi çocuklarda görülmekte ve önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Endemik bölgelerde şüpheli radyolojik ve klinik bulgular varlığında hidatik hastalığı mutlaka akla getirilmelidir. Tanı ve tedavi prosedürleri oluşması adına, kontrollü klinik çalışmalarla ihtiyaç duyulmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Hidatik hastalığı, çocuk, tanı, tedavi, izlem

### ABSTRACT

**Objective:** Hydatid disease caused by *Echinococcus granulosus* is a parasitic zoonosis and is endemic in Turkey. Clinical manifestations vary and are related to the anatomical location. In this report, we shared the diagnosis, treatment and follow-up of hydatid disease in children with a 10-year experience.

**Methods:** A total of fifty-seven children diagnosed with hydatid disease were analyzed retrospectively from hospital records. Diagnosis was based on clinical, serological and radiological findings. Treatment response was evaluated with clinical, radiological and serological findings.

**Results:** The male/female ratio of 57 cases was 2.4:1 and the mean age was 113.6±45.9 months. The most common presenting complaint was abdominal pain (42.1%). While 22 (38.6%) of the cases had eosinophilia; indirect hemagglutination test positivity was detected in 27 cases (47.4%). Multiple organ involvement was present in 18 cases (31.6%). In patients with multiple organ



Geliş Tarihi/Received: 10.03.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 03.01.2022

**Yazar Adresi/Address for Correspondence:** Ayşegül Elvan Tüz, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği, İzmir, Türkiye

**Tel/Phone:** +90 232 469 69 69 **E-Posta/E-mail:** aysegulelvan@hotmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-2822-612X



involvement, the possibility of cysts being located in the abdomen was higher ( $p=0.005$ ). Of the 50 cases (87.7%), 45 (78.9%) were operated with open surgery and 5 (8.8%) with percutaneous aspiration-injection-reaspiration method for treatment. There were 52 (91.2%) patients who were given albendazole in conservative treatment and the mean duration of treatment was  $15.5\pm 17.2$  months. There were 10 cases (17.5%) who developed cyst rupture and the symptom duration was shorter than the cases without cyst rupture ( $p=0.017$ ). Cyst rupture was more common in cases with dyspnea and fluid discharge from the mouth called rock water ( $p=0.001$ ,  $p=0.005$ , respectively). Recurrence was observed in five cases (8.8%) during follow-up.

**Conclusion:** In areas where the disease is endemic, despite prevention and control programs consisting of personal habits and health education, active transmission of hydatid disease is seen in children and continues to be an important public health problem. Hydatid disease should definitely be considered in the presence of suspicious radiological and clinical findings in endemic areas. Controlled clinical studies are required for diagnosis and treatment procedures.

**Keywords:** Hydatid disease, child, diagnosis, treatment, follow-up

## GİRİŞ

Hidatik hastalığı, *Echinococcus* türlerinin etken olduğu zoonotik bir hastalıktır. *Echinococcus granulosus* için kesin konakçı köpekler, kurtlar ve tilkilerdir. İnsanlar, bu döngüde tesadüfi ara konakçılardır. Enfeksiyon, parazit yumurtaları ile kontamine olmuş yiyecek, su veya toprağın yenmesi veya konakçı hayvanlarla doğrudan temas edilmesi yoluyla meydana gelir. Canlı parazit yumurtaları, insan bağırsağında onkosferler oluşturur ve mukozaya nüfuz ederek hematojen yolla diğer organlara yayılır (1).

*E. granulosus* kaynaklı hidatik hastalığı, Güney ve Orta Amerika, Orta Doğu ve Doğu Akdeniz, bazı Sahra altı Afrika ülkeleri, Batı Çin ve eski Sovyetler Birliği'nde önemli bir halk sağlığı sorunudur (2). Türkiye endemik bölgeler arasındadır ve ne yazık ki, endemik bölgelerin tamamında sistematik popülasyon araştırmaları bulunmamaktadır. En yüksek prevalans, %8,7 ile Moğol ve Kazak çoban toplulukları arasında görülmüştür (3).

Çocukluk çağında edinilen çoğu karaciğer ve akciğer kisti, kistlerin yavaş büyümesi nedeni ile yetişkin dönemde semptomatik hale gelir ve teşhis edilir. Merkezi sinir sisteminde (MSS) bulunan kistler, küçükken bile klinik semptomlara neden olabileceğinden, çocukluk çağında daha sıklıkla bulgu verir. Hidatik hastalığında klinik bulgular kistin yeri, boyutu ve durumuna göre değişir. Karaciğer tutulumunda, sağ üst kadranda ağrısı, bulantı ve kusma; akciğer tutulumunda öksürük, göğüs ağrısı, nefes darlığı ve hemoptizi; MSS tutulumunda nöbet, kafa içi basınç artışı bulguları, parestezi ve paralizi sıklıkla görülen semptomlardır. Karaciğer ve akciğer dışı organ tutulumları alışılmadık bir durum olup, önemli morbidite ve mortalite nedeni olabilmektedir (4).

Tanıda, seroloji ve görüntüleme yöntemlerinin kombinasyonundan yararlanılır. Serolojide en sık kullanılan yöntemler ELISA ve indirekt hemaglutinasyon (İHA) testidir. Seroloji, birincil tanı ve tedavi sonrası takip için faydalıdır (5). Görüntüleme ise, ultrasonografi uygulaması kolay ve nispeten ucuz olduğu için en yaygın kullanılan yöntemdir. Bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntülemesi, tedaviye rehberlik etmesi adına, daha fazla anatomik ayrıntıya ihtiyaç duyulduğunda yararlı olabilir (6).

Hidatik hastalığının tedavi seçenekleri arasında, cerrahi, perkütan tedavi, medikal tedavi ve klinik izlem yer alır (7). Cerrahi, komplike kistlerin tedavisi için tercih edilen yöntemdir. Perkütan aspirasyon, enjeksiyon ve reaspirasyon (PAIR) ise, daha az invaziv olup hem tanısal hem de terapötik bir prosedür olabilir. Albendazol, hidatik hastalığının tedavisinde birincil antiparazitik ajandır (8). Tedavinin başarısını değerlendirmek güçtür; çünkü enfeksiyonun doğal seyri oldukça değişken olabilir. Hidatik hastalığı tedaviden yıllar sonra bile tekrarlayabilir. İzlem için optimal yaklaşım belirsizdir ve hasta özellikleri ile mevcut kaynaklara göre kişiselleştirilmelidir. Nüksün değerlendirilmesi için genellikle beş yıla kadar takip tercih edilir (9).

Bu çalışmada, Türkiye'nin endemik bölge olması nedeniyle önemli sağlık problemlerinden biri olan hidatik hastalığında, son 10 yıllık deneyimlerimizi, literatür ışığında tartışmayı amaçladık.

## YÖNTEMLER

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde, Ocak 2010 ile Aralık 2020 tarihleri arasında hidatik hastalığı tanısı alan 57 çocuk olgu çalışmaya dahil edildi. Hastane sisteminden geriye dönük olarak, olguların tanı anındaki yaşları, cinsiyetleri, yaşadıkları yerler (kırsal/kentsel/sığınmacı), hayvan temas öyküsü, diğer aile bireylerinde kist hidatik varlığı, semptomları, tutulan organları, kist boyutları ve özellikleri kaydedildi.

Laboratuvar bulgularında, eozinofili varlığı diferansiyel sayımda en az %6 olarak kabul edildi. Serumda *E. granulosus* antikorlarının tespiti için sağlanan İHA yöntemi ticari kit (Fumouze, France) test prosedürüne uygun olacak şekilde, 1/320 değerler üzerindeki değerler pozitif kabul edildi.

Kist evrelemesi Gharbi sınıflamasına göre yapıldı. Bu sınıflamada, tip I pür kistik yapı; tip II membran ayrışması içeren kistik oluşum; tip III multipl septa ve kız vezikülleri içeren kist; tip IV yüksek internal eko, hiperekoik heterojen solid kitle görünümü; tip V kalsifiye kalın duvarlı kist görünümü içermekteydi (10).

Hastalara uygulanan medikal tedaviler ve süreleri, PAİR uygulanan veya açık cerrahi uygulanan hastaların ortalama hastanede kalış ve takip süreleri kaydedildi. Tedavi komplikasyonları ile uzun dönem izlemede olgularda nüks gelişip gelişmediği incelendi.

Bu çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu tarafından Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak onaylanmıştır (karar numarası: 2021/02-49). Çalışmaya katılan her katılımcıya çalışma hakkında detaylı bilgi verildi ve bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldı.

## İstatistiksel Analiz

İstatistiksel veriler IBM SPSS for Windows 25.0 sürümü (Chicago, IL) ile analiz edildi. Sayısal değişkenler için değerler, normallik dağılımına bağlı olarak medyan (minimum-maksimum) veya ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verildi. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak sunuldu. Normal dağılımı sağlayan sürekli değişkenler Student's t-testi kullanılarak karşılaştırıldı. Normal dağılım sağlanmadığında Mann-Whitney U test kullanıldı. Kategorik değişkenler ki-kare testi kullanılarak karşılaştırıldı. P-değeri  $<0,05$  olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

### Hidatik Hastalığının Genel Özellikleri

Hastanemizde, son 10 yılda izlenen, hidatik hastalığı tanımlı 57 olguda erkek/kız oranı 2.4:1'di, yaş ortalamaları  $113,6\pm 45,9$  aydı.



Epidemiyolojik veriler incelendiğinde, 9 olgunun (%15,8) kırsal bölgede yaşadığı, 12 olgunun (%21,1) ise sığınmacı olarak Türkiye'ye göç ettiği öğrenildi. Olguların dördünde (%7) kedi veya köpek, ikisinde (%3,5) büyükbaş hayvan teması vardı. Hane içinde, diğer aile bireylerinde hidatik hastalığı tanısı alan dört olgu (%7) saptandı. Klinik veriler ışığında, 49 olgunun (%86) semptomatik olduğu; en sık başvuru yakınmasının karın ağrısı (24/57, %42,1) olduğu, bunu sırasıyla öksürük (11/57, %19,3), bulantı ve kusma (10/57, %17,5), ateş (9/57, %15,8) ve dispnenin (8/57, %14) izlediği görüldü. Laboratuvar parametreleri incelendiğinde, ortalama beyaz küre sayısı  $12.035 \pm 5.034/\text{mm}^3$ , sedimentasyon hızı  $34,8 \pm 28,2$  mm/saat, total immünoglobulin E (IgE) düzeyinin ortancası 203,5 (15-9500) IU/mL idi, mutlak eozinofil sayısı ortanca  $400 \text{ mm}^3$  (0-8300) idi. Olguların 22'sinin (%38,6) eozinofilisi mevcuttu. İHA test pozitifliği 27 olguda (%47,4) saptandı. Hidatik hastalığı, organ tutulumları açısından irdelendiğinde; 18 olgunun (%31,6) çoklu organ tutulumu vardı. Karaciğer yerleşimi olan 43 (%75,4), akciğer yerleşimi olan 22 (%38,6), MSS yerleşimi olan altı olgu (%10,5) mevcuttu. Olguların kist yerleşim bölgeleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Kist boyutlarına bakıldığında, en büyük kistin ortalama boyu  $6,4 \pm 2,9$  cm iken, ortanca genişliği 6 (1,1-16) cm saptandı. Kistler evrelemesine göre, 30 olgunun (%52,6) tip 1, 8 olgunun (%14) tip 2, 15 olgunun (%26,3) tip 3, ikişer olgunun (%3,5) ise tip 4 ve 5 sınıflarına dahil olduğu görüldü (Tablo 2). Tedavi amacıyla cerrahi girişim uygulanan 50 olgunun (%87,7); 45'ine (%78,9) açık cerrahi, 5'ine (%8,8) PAİR yöntemi uygulanmıştı. Bu olguların 47'sine (%82,4) cerrahi girişim esnasında skolosidal ajan verilmişti. Operasyon sonrası 12 olguda (%21,1) komplikasyon gelişti; ikişer olguda (%3,5) safra fistülü ve pnömotoraks, bir olguda (%1,8) karaciğer apsisi, bir olguda (%1,8) peritonit, PAİR yapılan birer olguda (%1,8) ise peritonit, sepsis ve anafilaksi saptandı. Konservatif tedavide 52 (%91,2) olguya albendazol verilmişti ve tedavi süreleri

ortalama  $15,5 \pm 17,2$  aydı. On olguda (%17,5) kistin rüptüre olduğu görüldü. Rüptür gelişimi yedi olguda (%12,3) spontan, iki olguda (%3,5) travma sonrası, bir olguda (%1,8) ise operasyon esnasında meydana gelmişti. Olguların 53'ünün (%93) hastane yatış öyküsü mevcuttu. Bu olguların ortanca hastanede kalış süreleri 10 (1-70) gün idi. İzlemde beş olguda (%8,8) nüks geliştiği görüldü ve nüks gelişme zamanı ortalama  $17 \pm 11,1$  ay idi. Olguların klinik izlem süreleri ortanca 30 (2-96) aydı.

### Tekli ve Çoklu Organ Tutulumları Arasındaki Klinik Özellikler

Çoklu organ tutulumu erkeklerde daha sık saptandı ( $p=0,036$ ). Çoklu organ tutulumu olan olgularda, dispne görülme olasılığı daha fazla iken; tekli organ tutulumu olanlarda karın ağrısı daha fazlaydı (sırasıyla;  $p=0,003$ ,  $p=0,008$ ). Laboratuvar parametreleri incelendiğinde, beyaz küre sayısının tekli organ tutulumu olan olgularda daha düşük olduğu görüldü ( $p=0,026$ ). Çoklu organ tutulumu olan olgularda kistlerin batın yerleşimli olma olasılığı daha yüksekti ve olguların izlem süreleri daha uzundu (sırasıyla;  $p=0,005$ ,  $p=0,015$ ). Bu grupta olgular, epidemiyolojik özellikler, laboratuvar verileri, tedavi yöntemleri ve hastane yatışları açısından karşılaştırıldığında, değişkenler gruplar arasında benzerdi (Tablo 3).

### Nüks Gelişen ve Gelişmeyen Olgular Arasındaki Klinik Özellikler

Nüks gelişen ( $n=5$ , %8,8) ve gelişmeyen olguların cinsiyet, yaş, epidemiyolojik özellikler, tedavi yöntemleri ve hastane yatışlarının benzer olduğu saptanırken, splenomegali nüks gelişen olgularda daha sıkı ( $p=0,006$ ). Nüks gelişen olguların %80'inde eozinofili mevcuttu. Çalışmamızda bir olguda anafilaksi görüldü ve bu olgunun izleminde nüks geliştiği saptandı.

### Kist Rüptürü Gelişen ve Gelişmeyen Olgular Arasındaki Klinik Özellikler

Kist rüptürü gelişen olgularda ( $n=10$ , %17,5), erkek cinsiyet daha sıkı ( $p=0,023$ ). Dispnesi olan ve ağızdan kaya suyu gelen olgularda kist rüptürü sıklığı daha yüksekti (sırasıyla;  $p=0,001$ ,  $p=0,005$ ). Kist rüptürü gelişen olgularda semptom süresi, kist rüptürü gelişmeyen olgulara göre istatistiksel anlamlı olarak daha kısaydı ( $p=0,017$ ).

## TARTIŞMA

Son yıllarda dünya çapında, hidatik hastalığı insidansı ve yaygınlığı, hastalık kontrol programları sayesinde önemli ölçüde azalmıştır (11). Buna rağmen, gelişmekte olan ülkelerde, özellikle kırsal alanlarda hidatik hastalığı halen yaygın bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Endemik bölgelerden biri olan Türkiye'de yaptığımız bu çalışma ile, hidatik hastalığını

**Tablo 1.** Hidatik hastalığında kist yerleşim bölgeleri

Organ	Bölge	Sayı (n)	Yüzde (%)
<b>Karaciğer</b>			
	Sağ lob	30	52,6
	Sol lob	8	14
	Sağ ve sol lob	5	8,8
<b>Akciğer</b>			
	Sağ üst lob	4	7
	Sağ orta lob	2	3,5
	Sağ alt lob	4	7
	Sol üst lob	4	7
	Sol alt lob	8	14
<b>Merkezi sinir sistemi</b>			
	Serebrum	3	5,3
	Posterior fossa	2	3,5
	Spinal	1	1,8
<b>Kalp</b>			
	Septum	1	1,8
Kas		2	3,6
Dalak		1	1,8
Retroperitoneal bölge		1	1,8

**Tablo 2.** Hidatik hastalığında Gharbi sınıflaması

Kist evre	Sayı (n)	Yüzde (%)
1	30	52,6
2	8	14
3	15	26,3
4	2	3,5
5	2	3,5

**Tablo 3.** Hidatik hastalığında tekli ve çoklu organ tutulumları arasındaki klinik özellikler

	<b>Tekli organ tutulumu (n=39)</b>	<b>Çoklu organ tutulumu (n=18)</b>	<b>p</b>
<b>Cinsiyet*</b>			<b>0,036</b>
Erkek	24 (61,5)	16 (88,9)	
Kız	15 (38,5)	2 (11,1)	
<b>Yaş (ay)**</b>	117,8±45,7	104,6±46,6	0,317
<b>Semptom*</b>			
Ateş	4 (10,3)	5 (27,8)	0,076
Öksürük	5 (12,8)	6 (33,3)	0,054
Hemoptizi	2 (5,1)	2 (11,1)	0,360
Dispne	2 (5,1)	6 (33,3)	<b>0,003</b>
Göğüs ağrısı	2 (5,1)	1 (5,6)	0,677
Karın ağrısı	21 (53,8)	3 (16,7)	<b>0,008</b>
Bulantı/kusma	8 (20,5)	2 (11,1)	0,412
Epigastriumda şişlik	2 (5,1)	2 (11,1)	0,360
<b>Laboratuvar bulguları</b>			
Total WBC (10 <sup>3</sup> /uL)**	10,856±4039	14,588±6076	<b>0,026</b>
Eozinofil yüzdesi**	7,2±9,3	13,8±18	0,156
Mutlak eozinofil sayısı***	300 (0-4200)	750 (14-8300)	0,050
Sedimentasyon (mm/saat)**	36±25,6	33±33,1	0,813
Total Ig E (IU/mL)**	87,1 (15-1290)	523,5 (43,9-9500)	0,051
<b>Kist lokalizasyonu*</b>			0,005
Batın	26 (66,7)	18 (100)	
Diğer	13 (33,3)	0 (0)	
<b>Kist özellikleri</b>			
Kist boyu**	6,6±3,1	6,1±2,5	0,557
Kist genişliği***	5,3 (4-6,5)	3 (1,5-10)	0,966
Albendazol tedavisi*	32 (82,1)	14 (77,8)	0,285
Albendazol tedavi süresi (ay)**	10,3±9,5	20,7±21,8	0,184
<b>Cerrahi yöntem*</b>			0,560
Açık cerrahi	30 (76,9)	15 (83,3)	
PAİR	3 (7,7)	2 (11,1)	
<b>Hastane yatışı*</b>	35 (89,7)	18 (100)	0,208
<b>Hastane yatış süresi (gün)**</b>	9 (1-70)	11 (6-22)	0,504
<b>Kist rüptürü*</b>	6 (15,4)	4 (22,2)	0,528
<b>Nüks gelişimi*</b>	3 (7,7)	2 (11,1)	0,509
<b>Nüks gelişme zamanı (ay)**</b>	20,3±14,3	12±0	0,491
<b>İzlem süresi (ay)**</b>	30 (2-69)	44 (4-96)	<b>0,015</b>
WBC: Beyaz küre sayısı, Ig E: İmmünoglobulin E, PAİR: Perkütan aspirasyon, enjeksiyon ve reaspirasyon *n, % **ortalama ± standart sapma ***ortanca (minimum-maksimum)			

tüm yönlerini ele almayı ve hidatik hastalığının tanı ve tedavi protokollerindeki eksiklikleri vurgulamayı amaçladık.

Çalışmamızda olguların yaklaşık üçte ikisinin erkek olduğu dikkati çekmiştir. Bu bulgu İran, Fas ve Çin'den bildirilen yayınlarla benzerlik göstermektedir (12-14). Enfeksiyon kaynaklarına maruziyeti artıran davranışsal etkinlikler ve alışkanlıklar, bu cinsiyet farklılığının nedeni olabilir diye düşünülmüştür.

Çalışmamızda en sık başvuru şikayeti karın ağrısıdır, bunu öksürük, bulantı-kusma, ateş ve dispne takip etmektedir. İran'dan bildirilen hepatik hidatik hastalığı olan 100 pediyatrik olgunun incelendiği çalışmada, sık görülen başvuru yakınmaları; karında şişlik (%50) ve ateş (%12) olarak bildirilmiştir (15). Aynı merkezde, 72 pediyatrik pulmoner hidatik hastalığı olan olgunun incelendiği başka bir çalışmada ise, öksürük (%32), göğüs ağrısı (%13) ve hemoptizi (%12) en sık görülen başvuru yakınmaları olarak bildirilmiştir (16). Çalışmamızda, hidatik hastalığı olan olguların tüm organ tutulumları aynı çalışmada incelendiğinden, farklı sistemlere ait semptomlar birbirine yakın sıklıkta bulunmuştur. En sık hepatik hidatik hastalığı varlığı nedeniyle en sık başvuru şikayetinin de karın ağrısı olduğu düşünülmüştür.

Literatürde, olguların %20-34'ünde eozinofili bildirilmiş ve kistten içerik sızıntısı ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (17). Eozinofili, özellikle komplike kistlerde önemli bir laboratuvar bulgusudur (18). Çalışmamızda ise olguların yaklaşık üçte birinde eozinofili saptanmıştır. Nüks gelişen hastaların %80'inde eozinofili varlığı da bir diğer dikkat çekici bulgudur. Bilindiği kadarıyla, literatürde nüks gelişen hastalarda bu denli yüksek eozinofili oranı bildirilmemiştir.

Hidatik hastalığın teşhisi esas olarak görüntüleme sonuçlarına dayanmaktadır; ancak epidemiyolojik veriler, klinik bulgular ve serolojik testler de tanıyı doğrulamada yardımcı olmaktadır. Bu kombinasyonlar hidatik hastalığın tanısında yüksek bir tespit oranı sağlamaktadır (19). Serolojik test pozitifliği tanıyı desteklemekle birlikte negatif olması hastalığı dışlamamaktadır. Raporumuzda, olguların yaklaşık yarısında İHA testi negatifken diğer tanısal yöntemlerle birlikte tanı konulmuştur. Bu nedenle, klinik şüphe varlığında olgular hem serolojik yöntemler hem de görüntüleme sonuçları ile birlikte değerlendirilmelidir.

Çalışmamızda, çocuklarda hidatik hastalığının en sık karaciğer sağ lob (%52,6) yerleşimli olduğunu gözlemlenmiştir. İran merkezli benzer bir çalışmada bu oran %42,1 saptanmıştır (20). Tunuslu çocuklarda, hidatik hastalığı üzerine yapılan bir araştırmada ise, kistlerin en yaygın olduğu bölge akciğer (%61,8); ikinci yaygın olduğu bölge karaciğer (%34,8) olarak bildirilmiştir (21). Farklı ülkelerden farklı sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda en sık yerleşim bölgesini söylemek zordur. Ancak parazitinin vücuda ilk giriş yolunun gastrointestinal sistem olduğu düşünülürse, portal ven aracılığıyla öncelikle karaciğer tutulumunun gerçekleşmesi, karaciğerin en çok etkilenen organ olabileceğini düşündürmektedir (22). Literatürde, birçok çalışmada en sık tutulan üçüncü organın dalak olduğu bildirilmiştir (23). Çalışmamızda, karaciğer ve akciğer tutulumunu takiben üçüncü sırada MSS tutulumu (%10,5) varken; dalak tutulumu olan sadece bir olguya (%1,8) rastlanmıştır. Diğer nadir tutulumlara bakıldığında, yumuşak doku hidatik hastalığı, olgularda %1 ila %4 arasındaki sıklıkta bildirilmiştir. Hidatik kistlerin büyümesi için kas kitlesi uygun olmasa da, üst ve alt ekstremitelerin proksimal kısımları, artmış vaskülarite nedeniyle etkilenebilmektedir (24). Literatürdeki orana benzer olarak, çalışmamızda kas tutulumu olan iki olgu (%3,6) saptanmıştır. Kardiyak hidatik kistlerin

görülme sıklıkları nadir olup, tüm hidatik hastalığı olgularının sadece %0,2-2'sini oluşturmaktadır ve tedavi edilmezse yüksek mortaliteye neden olmaktadır (25). Raporumuzda, hidatik hastalığı olgularımızın sadece birinde (%1,8) kalp septumunda hidatik kist tespit edilmiştir ve erken dönemde opere edilerek, olası ciddi sonuçların önüne geçilmiştir.

Hidatik hastalığında çoklu organ tutulum insidansının, parazitin genotipine ve coğrafi bölgeye göre %10-15 aralığında bir değişim gösterdiği bildirilmiştir (26). Ancak çalışmamızda, belirtilenden daha yüksek oranda olgunun (%31,6) çoklu organ tutulumu olduğu dikkati çekmiştir. Buna göre, endemik bölgelerde vücudun herhangi bir yerinde hidatik kist saptandığında, diğer organ taramaları da titizlikle yapılmalıdır.

Hidatik hastalığının tedavisinde kullanılan cerrahi prosedürlerin, medikal tedavinin ve klinik izlemin, karşılaştırmalı olarak analiz edildiği randomize kontrollü çalışmalar olmaması nedeniyle, hangi yaklaşımın daha üstün olduğu belirsizliğini korumaktadır (19). Çalışmamızda, cerrahi geçiren olguların %90'ının açık cerrahi yöntem ile opere olduğunu, yalnızca %10 olguda PAİR yöntemi kullanıldığı saptanmıştır. Açık cerrahi yöntem ile opere olan olguların %20'sinde operasyon sonrası komplikasyon gelişmişken, bu oran PAİR yöntemi uygulanan olgularda %60'a yükselmiştir. Buna bağlı olarak, daha az invaziv bir yöntem olan PAİR uygulamasının, yüksek oranda komplikasyon riskine de neden olabileceği akılda tutulmalı, olgular özelinde tedavi yöntemine karar verilmelidir.

Konservatif tedavide albendazol tercih edilmektedir. Geçmişte ara verilerek kullanılan bu tedavinin, aralıksız üç ila altı ay kullanılabilmesi bildirilmiştir. Akciğer tutulumunda, tedavi süresi kistin tipine göre iki yıla kadar uzayabilmektedir (27). Çalışmamızda olguların tamamına yakınının albendazol tedavisi aldığı ve ortalama tedavi sürelerinin yaklaşık 15 ay olduğu görülmektedir. Literatürde çocuklarda tedavi endikasyonu, süresi ve ilaç güvenilirliği ile ilgili az sayıda çalışma mevcuttur. 2019 yılında yayınlanan Yunanistan merkezli bir çalışmada, 39 yıl boyunca hidatik hastalığı olan çocuk olgular, demografik, çoklu organ tutulumları, tanı ve tedavi yöntemleri açısından analiz edilmiş ve çocuklarda tedavi yaklaşımı için bir algoritma oluşturulmuştur. Buna algoritmada, operasyondan bir ila dört hafta önce albendazol tedavisi verilmesi; 10 cm'den küçük komplike olmayan kistlerde kistektomi sonrası hastaların uzun süreli takibi ve operasyon sonrası bir ila üç ay daha medikal tedaviye devam edilmesi önerilmiştir. Komplike olmayan 10 cm'den büyük kistlerde kistektomi ve kapitonaj; herhangi bir boyuttaki komplike kist varlığında segmentektomi veya lobektomi sonrası hastaların uzun süre takip edilmesi; inaktif veya kalsifiye kist görülen olguların görüntüleme yöntemleri ile izlemi önerilmiştir (28).

Kendiliğinden ya da travma sonucu gelişen kist rüptürü, kist içeriğinin vücut boşluklarına veya dolaşıma dağılması sonucu anafilaktik reaksiyona neden olabilir (29). Çalışmamızda 10 olguda (%17,5) kist rüptürü gelişmiş olup, hiçbirinde anafilaktik reaksiyon gözlenmemiştir. Farklı olarak, kist rüptürü gelişen olgularımızda ağızdan kaya suyu gelme şikayetinin yanı sıra dispne de anlamlı bulunmuştur ve bu olguların başvuruya kadar geçen semptom sürelerinin daha kısa olduğu saptanmıştır. Buna bağlı olarak, akut gelişen semptom varlığında kist rüptürünün akılda tutulması önemlidir.

İzlemede, olguların %8,8'inde nüks gelişmiştir. Nüks riski nedeni ile olgular, ilk iki yıl içinde üç ila altı ayda bir; sonrasında da yılda

bir kez olmak üzere beş yıl boyunca takip edilmelidirler. Serolojik testler tek başına nüks veya rezidüel hastalığı ayırt edemediğinden, olguların takibinde serolojik testlerin görüntüleme yöntemleriyle kombine edilmesi önerilmektedir (30). Bizim nüks gelişen olgularımızda tanı, görüntüleme yöntemleri ile konulmuştur.

## SONUÇ

Hidatik hastalığı gelişmekte olan ülkelerde yaygın olarak görülmektedir. Klinik şüphe varlığında, olgular serolojik ve görüntüleme yöntemleri ile incelenmeli ve hidatik hastalığı saptandığında, eşlik edebilecek organ taramaları yapılmalıdır. Cerrahi ya da medikal tedavi uygulanıp, klinik izlemede alınan olgularda ise nüks açısından uyanık olunmalıdır.

Ülkemizde endemik olarak görülen hidatik hastalığı ile ilgili, önemli ilerlemeler sağlanmış olmasına rağmen, hastalığın tanı ve tedavisindeki belirsizlikler devam etmektedir. Farklı terapötik yaklaşımların karşılaştırıldığı kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu amaçla yapılan çalışmalarla standardize edilmiş tanı ve tedavi prosedürleri oluşturulmalıdır.

### \*Etik

**Etik Kurul Onayı:** Bu çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu tarafından Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak onaylanmıştır (karar numarası: 2021/02-49).

**Hasta Onayı:** Çalışmaya katılan her katılımcıya çalışma hakkında detaylı bilgi verildi ve bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldı.

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

### \*Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: M.O.Ö., G.K., A.E.Ç., Konsept: E.K.Ö., D.Y.Ç., Dizayn: E.K.Ö., D.Y.Ç., Veri Toplama veya İşleme: A.E.T., Y.E.K., A.Ş., G.Ü., S.T., Analiz veya Yorumlama: E.K.Ö., A.K.A., D.Y.Ç., Literatür Arama: A.E.T., Y.E.K., A.Ş., G.Ü., S.T., Yazan: A.E.T.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Eckert J, Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17: 107-35.
2. Moro P, Schantz PM. Cystic echinococcosis in the Americas. *Parasitol Int* 2006; 55(Suppl): S181-6.
3. Wang GZ, Feng XH, Chu XD, Erxiding, Amina, Zhou JX, et al. Epidemiological study on human echinococcosis in Hobukesar Mongolian autonomous county of Xinjiang. *Chin J Endem* 2009; 28: 214-7.
4. Frider B, Larrieu E, Odriozola M. Long-term outcome of asymptomatic liver hydatidosis. *J Hepatol* 1999; 30: 228-31.
5. Riganò R, Profumo E, Ioppolo S, Notargiacomo S, Ortona E, Teggi A, et al. Immunological markers indicating the effectiveness of pharmacological treatment in human hydatid disease. *Clin Exp Immunol* 1995; 102: 281-5.
6. von Sinner WN, Rifai A, te Strake L, Sieck J. Magnetic resonance imaging of thoracic hydatid disease. Correlation with clinical findings, radiography, ultrasonography, CT and pathology. *Acta Radiol* 1990; 31: 59-62.
7. Stojković M, Weber TF, Junghans T. Clinical management of cystic echinococcosis: state of the art and perspectives. *Curr Opin Infect Dis* 2018; 31: 383-92.

8. Smego RAJ, Bhatti S, Khaliq AA, Beg MA. Percutaneous aspiration-injection-reaspiration drainage plus albendazole or mebendazole for hepatic cystic echinococcosis: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 1073-83.
9. Golemanov B, Grigorov N, Mitova R, Genov J, Vuchev D, Tamarozzi F, et al. Efficacy and safety of PAIR for cystic echinococcosis: experience on a large series of patients from Bulgaria. *Am J Trop Med Hyg* 2011; 84: 48-51.
10. Gharbi HA, Hassine W, Brauner MW, Dupuch K. Ultrasound examination of the hydatid liver. *Radiology* 1981; 139: 459-63.
11. Tünger Ö. [Epidemiology of cystic echinococcosis in the world]. *Turkiye Parazitol Derg* 2013; 37: 47-52.
12. Amahmid O, El Guamri Y, Zenjari K, Bouhout S, Ait Moh M, Boraam F, et al. The pattern of cystic echinococcosis in children in an endemic area in Morocco. *J Parasit Dis* 2019; 43: 209-14.
13. Fahimzad A, Karimi A, Tabatabae SR, Armin S, Ghanaei RM, Fallah F, et al. Overview of hydatid disease in Iranian children. *Arch Pediatr Infect Dis* 2015; 3: 1-5.
14. Wang Q, Qiu JM, Schantz P, He JG, Ito A, Liu FJ. Investigation of risk factors for development of human hydatidosis among households raising livestock in Tibetan areas of western Sichuan province. *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zh* 2001; 19: 93-6.
15. Mirshemirani A, Khaleghnejad A, Kouranloo J, Sadeghian N, Rouzrokh M, Hasas-Yeganeh S. Liver Hydatid Cyst in Children (A 14-year Review). *Iran J Pediatr* 2011; 21: 385-9.
16. Mirshemirani AR. Surgical treatment of pulmonary hydatid cyst in 72 children. *Tanaffos* 2009; 8: 56-61.
17. Halezeroglu S, Okur E, Tanyü MO. Surgical management for hydatid disease. *Thorac Surg Clin* 2012; 22: 375-85.
18. Sen P, Demirdal T, Nemli SA. Evaluation of clinical, diagnostic and treatment aspects in hydatid disease: analysis of an 8-year experience. *Afr Health Sci* 2019; 19: 2431-8.
19. McManus DP, Gray DJ, Zhang W, Yang Y. Diagnosis, treatment, and management of echinococcosis. *BMJ* 2012; 344: e3866.
20. Sanaei Dashti A, Kadivar MR, Alborzi A, Sadeghi E, Pouladfar GR, Bagherian N, et al. Analysis of hospital records of children with hydatid cyst in south of Iran. *J Parasit Dis* 2017; 41: 1044-8.
21. M'rad S, Oudni-M'rad M, Boubaker G, Bouazzi L, Gorcii M, Nouri A, et al. [Retrospective study of the distribution and the fertility of hydatid cysts in the child in Tunisia]. *Pathol Biol (Paris)* 2012; 60: 166-9.
22. Saidi Sİ. Karaciğer kist hidatigi. In: Sayek İ editör. *Temel Cerrahi*. 2. Baskı. Güneş Kitabevi; 1996:1239-45.
23. Gun E, Etit D, Buyuktalanci DO, Cakalagaoglu F. Unusual locations of hydatid disease: A 10-year experience from a tertiary reference center in Western Turkey. *Ann Diagn Pathol* 2017; 29: 37-40.
24. Gougoulas NE, Varitimidis SE, Bargiotas KA, Dovas TN, Karydakis G, Dailiana ZH. Skeletal muscle hydatid cysts presenting as soft tissue masses. *Hippokratia* 2010; 14: 126-30.
25. Yekeler I, Koçak H, Aydın NE, Başoğlu A, Okur A, Şenocak H. Akciğerlerde bilateral ve sağ ventrikül ön duvarında lokalize bir kardiyak hidatik kist olgusu. *Torak Kalp Damar Cerrahisi* 1993; 41: 261-3.
26. Schneider R, Gollackner B, Schindl M, Tucek G, Auer H. Echinococcus canadensis G7 (pig strain): an underestimated cause of cystic echinococcosis in Austria. *Am J Trop Med Hyg* 2010; 82: 871-4.
27. Hemphill A, Stadelmann B, Rufener R, Spiliotis M, Boubaker G, Müller J, et al. Treatment of echinococcosis: albendazole and mebendazole--what else? *Parasite* 2014; 21: 70.
28. Petropoulos AS, Chatzoulis GA. Echinococcus Granulosus in Childhood: A Retrospective Study of 187 Cases and Newer Data. *Clin Pediatr (Phila)* 2019; 58: 864-88.
29. Sanei B, Hashemi SM, Mahmoudieh M. Anaphylactic shock caused by nonruptured hydatid cyst of the liver. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 2243-5.
30. Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review. *Int J Infect Dis* 2009; 13: 125-33.



# Evaluation of Potential Inflammatory Markers for Cystic Echinococcosis: P-selectin and Resistin

*Kistik Ekinokokkoz için Potansiyel Enflamatuvar Belirteçlerin Değerlendirilmesi: P-selektin ve Resistin*

İ Serra Örsten<sup>1</sup>, İ İpek Baysal<sup>1</sup>, İ Türkmen Çiftçi<sup>2</sup>, İ Emre Ünal<sup>2</sup>, İ Samiye Yabanoglu Çiftçi<sup>3</sup>, İ Ahmet Bülent Doğrul<sup>4</sup>, İ Devrim Akıncı<sup>2</sup>, İ Yakut Akyön<sup>5</sup>, İ Okan Akhan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe University Vocational School of Health Services, Ankara, Turkey

<sup>2</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Radiology, Ankara, Turkey

<sup>3</sup>Hacettepe University Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Ankara, Turkey

<sup>4</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Ankara, Turkey

<sup>5</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey

Cite this article as: Örsten S, Baysal İ, Çiftçi T, Ünal E, Yabanoglu Çiftçi S, Doğrul AB, Akıncı D, Akyön Y, Akhan O. Evaluation of Potential Inflammatory Markers for Cystic Echinococcosis: P-selectin and Resistin. Türkiye Parazitoloj Derg 2022;46(3):195-200.

## ABSTRACT

**Objective:** Cystic echinococcosis (CE) is one of the most common zoonotic diseases worldwide. Diagnosis of CE is predominantly based on imaging techniques and serological tests are used in cases of non-characteristic imaging findings as diagnostic reference. However, serological test results cannot be completely reliable as they are affected by multi-factors. P-selectin and resistin are inflammatory markers that are altered during the acute stages of infection. In this purpose, inflammatory markers as P-selectin and resistin have been investigated for a potential diagnostic reference for CE diagnosis.

**Methods:** A total of 60 patients who were diagnosed with CE and twenty-five healthy individuals were included in this study. Blood samples were obtained from all participants. Obtained sera were evaluated using the P-selectin and resistin ELISA kits for protein levels. Additionally, the relative expression of SELP (P-selectin) and RETN (resistin) genes were determined using the comparative CT ( $\Delta\Delta CT$ ) method between groups as CE patients with active and inactive cysts, CE patients and healthy controls.

**Results:** SELP (13.9-fold change,  $p < 0.05$ ) and RETN (8.1-fold change,  $p < 0.05$ ) were differentially expressed in CE patients compared in the control group. Whereas resistin protein levels were significantly higher in CE patients than the healthy controls ( $p < 0.001$ ), the difference in P-selectin protein levels was not significant ( $p > 0.05$ ). There was no difference between active and inactive CE patients in terms of P-selectin and resistin in gene and protein levels ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** Although there was no difference between the active and inactive CE patients, the good differentiation between the healthy controls and the CE patients suggested that resistin is a potential inflammatory diagnostic reference

**Keywords:** Cystic echinococcosis, resistin, P-selectin, inflammatory marker, hydatid cyst

## ÖZ

**Amaç:** Kistik ekinokokkoz (KE) tüm dünyada en sık görülen zoonotik enfeksiyonlardan biridir. KE tanısı çoğunlukla görüntüleme tekniklerine dayanmakta, karakteristik olmayan görüntüleme bulgularının olduğu durumlarda tanıya yardımcı olarak serolojik testler kullanılmaktadır. Ancak serolojik test sonuçları, birçok faktörden etkilendiği için tam anlamıyla güvenilir olamamaktadır. P-selektin ve resistin, enfeksiyonun akut evrelerinde değişen enflamatuvar belirteçler olarak bilinmektedir. Bu amaçla, KE teşhisi için potansiyel bir tanı referansı olarak P-selektin ve resistin gibi enflamatuvar belirteçler araştırılmıştır.

**Yöntemler:** Bu çalışmaya KE tanısı almış toplam 60 hasta ve 25 sağlıklı birey dahil edilmiş vetüm katılımcılardan kan örnekleri alınmıştır. Elde edilen serum, protein seviyeleri açısından P-selektin ve resistin ELISA kitleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca SELP (P-selektin) ve RETN (resistin) genlerinin göreceli ekspresyonu, aktif ve inaktif kisti olan KE hastaları ve sağlıklı kontroller arasında karşılaştırmalı CT ( $\Delta\Delta CT$ ) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

**Bulgular:** SELP (13,9 kat,  $p < 0,05$ ) ve RETN'de (8,1 kat,  $p < 0,05$ ), kontrol grubuna kıyasla KE hastalarında farklı ekspresyon seviyeleri tespit edilmiştir. KE hastalarında resistin protein seviyeleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek iken ( $p < 0,001$ ), P-selektin protein seviyeleri arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Aktif ve inaktif KE hastalarının P-selektin ve resistin açısından gen ve protein seviyesinde arasında fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).



Received/Geliş Tarihi: 29.11.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 10.02.2022

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Serra Örsten, Hacettepe University Vocational School of Health Services, Ankara, Turkey  
Phone/Tel: +90 535 856 34 36 E-mail/E-Posta: serra.orsten@hacettepe.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0002-9216-5413



**Sonuç:** Sonuç olarak, aktif ve inaktif KE hastalarının enflamatuvar belirteçlerinin gen ve protein seviyesinde arasında fark bulunmamasına rağmen, sağlıklı kontroller ve KE hastaları arasındaki ayrımın iyi olması nedeniyle, resistinin potansiyel enflamatuvar tanı referansı olabileceği gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Kistik ekinokokkoz, resistin, P-selektin, enflamatuvar belirteçler, kist hidatik

## INTRODUCTION

Cystic Echinococcosis (CE) is one of the neglected diseases that affects around one million people worldwide. The causative agent of CE is larval form of *Echinococcus granulosus* sensu lato (s.l.) (1). The infection always begins asymptotically and clinical symptoms can vary from mild to severe. Although the liver is the most commonly affected organ for CE, it can be involved in every organ (2,3). Non-invasive imaging techniques especially ultrasonography (US) are the main tool for the diagnosis of CE. According to the World Health Organization- Informal Working Group on Echinococcosis (WHO-IWGE) classification, three clinical group have been identified as active (CE1 and CE2), transitional (CE3a/CE3b) and inactive (CE4 and CE5) (4). Until recently, surgery has been considered the only definitive therapy for liver CE, but new anthelmintic drugs and percutaneous interventional methods have extended the range of CE treatment. Even though there are a lot of options for treatment of CE, according to WHO-IWGE, the stage-specific approach should be implemented (2,3,5,6). For diagnosis, serological tests are used as supportive, however, the results can be deceptive due to variable sensitivity and specificity values (7). In addition, serodiagnosis can remain positive for years even after successful treatment (8). Therefore, serodiagnosis is not suitable to use for screening and confirm the presence of active infection.

Inflammatory markers can be used as biomarkers of active infection particularly for asymptomatic diseases (9). During inflammation, P-selectin (CD62P) is known as a mediator of leukocyte recruitment (10). P-selectins have a critical role in the parasite-induced (parasites of *Schistosoma* genus) progression of chronic liver disease (9). Resistin is a member of the resistin-like molecule (RELM) family of cysteine-rich secreted proteins that are present in humans (resistin and RELMb) and mice (11). Resistin is showed hormone-like activity at the beginning of inflammatory processes (12,13). Certain murine RELM proteins (RELMA and RELMb) are influenced by helminth infection (14). This study aims to determine protein and gene levels of P-selectin and resistin and to evaluate the potential of these inflammatory markers to be a diagnostic reference in the serum of CE patients.

## METHODS

### Ethical Considerations

The research protocol followed ethical guidelines of the Declaration of Helsinki. An informed consent that explained the purposes, benefits, and risks of the study was signed by the participants. This study was evaluated and accepted by the Hacettepe University Institutional Ethical Committee (no: 2020/16-72).

### Sample Collection

A total 60 patients who were diagnosed with CE aged between 18-90 years after abdomen US examination were included in this study. All CE cysts were classified using the WHO-IWGE classification. In addition, twenty-five healthy individuals were

included in this study after the US examination. Blood samples were taken from patients at the first diagnosis.

### Serological Tests

All the collected sera were stored at -80 °C until study. The obtained serum samples were evaluated using the commercial serological test [Human P-selectin ELISA Kit (BT LAB, China) and Human Resistin ELISA Kit (BT LAB, China)] according to the manufacturer's instruction. All tests were performed in a same session.

### RNA Extraction, cDNA Synthesis and Real-time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

Total RNA extraction was performed from serum of the patients and healthy controls using RNA Extracol (EURx, Poland) following the manufacturer's instructions. The RNA was quantified by FLUOstar Omega Microplate Reader (BMG LABTECH, Germany) using LVis plate. For cDNA synthesis, smART First Strand cDNA Synthesis kit (EURx, Poland) was used according to manufacturer's recommendations.

Expression levels of *SELP* (P-selectin) and *RETN* (resistin) genes were determined in the serum of CE patients and healthy controls. The primers for *SELP* and *RETN* genes were selected according to previous studies (15,16). RT-PCR were performed using SYBR Green Master Mix (A.B.T., Turkey) and primers at 200 nM final concentration with ViiA™ 7 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific). The relative expression of *SELP* and *RETN* genes were determined using comparative CT ( $\Delta\Delta CT$ ) method between CE patients and healthy controls. For normalization, *GAPDH* gene was used.

### Statistical Analysis

GraphPad Prism 8.4.3 software was used for the statistical analyses. The results were interpreted with Mann-Whitney U test. The p-value under 0.05 was accepted as statistical significance.

## RESULTS

### Characteristics of Patients

Majority of the patients were female (63.3%, 38/60). The age range of the patients was between 18-85 years, and the mean age was 39.3. According to the WHO-IWGE classification system, 24 out of 80 CE cysts were identified as CE1, 14 as CE2, 3 as CE3a, 6 as CE3b, 28 as CE4 and 5 as CE5 respectively. Most of the patients had a single cyst (47/60, 78.3%), the rest harbored multiple CE cysts. No patient had a different type of hydatid cysts together. The average cyst diameter was recorded as 7.2 cm. The great majority of the CE cysts were involved in the liver (72/80, 90%), and also other organ involvements [spleen (2/80, 2.5%), kidney (3/80, 3.75%), bone (2/80, 2.5%) and intramuscular (1/80, 1.25%)] were recorded. All the patient's characteristics are presented in Table 1.

### Expression Levels of *SELP* and *RETN* Genes

Comparative analysis was performed between 25 healthy control and 60 CE patients for the expression levels of *SELP* and *RETN*

**Table 1.** Characteristics of patients

Cyst type	Gender	Age	Cyst number	Cyst location	Cyst diameter (cm)
CE1	Female	18	1	Liver	5-10
CE1	Male	18	1	Liver	5-10
CE1	Female	49	1	Liver	5-10
CE1	Male	19	1	Liver	5-10
CE1	Male	32	1	Liver	<5
CE1	Female	39	1	Liver	>10
CE1	Male	21	1	Liver	<5
CE1	Female	24	1	Liver	5-10
CE1	Female	46	1	Liver	5-10
CE1	Female	25	1	Liver	>10
CE1	Male	21	Multipl	Liver	>10
CE1	Male	64	1	Liver	5-10
CE1	Male	61	1	Kidney	<5
CE1	Female	37	1	Liver	5-10
CE1	Female	21	1	Liver	>10
CE1	Male	18	1	Liver	>10
CE1	Male	82	1	Kidney	>10
CE1	Female	85	1	Liver	>10
CE1	Male	56	Multipl	Liver	>10
CE2	Male	41	1	Muscle	5-10
CE2	Female	54	1	Liver	>10
CE2	Male	54	1	Liver	5-10
CE2	Female	33	1	Liver	>10
CE2	Female	48	1	Bone	>10
CE2	Female	30	1	Liver	5-10
CE2	Female	39	Multipl	Liver	<5
CE2	Male	42	1	Liver	5-10
CE2	Male	46	1	Liver	<5
CE2	Female	31	1	Liver	>10
CE2	Male	17	1	Liver	5-10
CE3a	Female	35	1	Liver	5-10
CE3a	Male	26	1	Liver	5-10
CE3a	Female	26	1	Liver	<5
CE3b	Male	30	1	Liver	5-10
CE3b	Female	41	1	Liver	5-10
CE3b	Male	26	1	Kidney	5-10
CE3b	Female	18	Multipl	Liver	>10
CE3b	Female	60	1	Bone	<5
CE4	Female	22	1	Liver	5-10
CE4	Female	19	Multipl	Liver	<5
CE4	Female	78	1	Liver	5-10
CE4	Female	41	Multipl	Liver	<5
CE4	Female	32	1	Liver	5-10
CE4	Female	31	1	Liver	<5
CE4	Female	32	Multipl	Spleen	<5

**Table 1.** Continued

Cyst type	Gender	Age	Cyst number	Cyst location	Cyst diameter (cm)
CE4	Female	41	1	Liver	<5
CE4	Male	64	1	Liver	5-10
CE4	Female	33	Multipl	Liver	5-10
CE4	Female	41	1	Liver	5-10
CE4	Male	31	Multipl	Liver	5-10
CE4	Female	52	1	Liver	>10
CE4	Female	39	1	Liver	5-10
CE4	Female	30	Multipl	Liver	<5
CE4	Female	53	Multipl	Liver	5-10
CE4	Female	30	1	Liver	<5
CE4	Female	49	Multipl	Liver	5-10
CE5	Female	60	1	Liver	<5
CE5	Female	44	1	Liver	5-10
CE5	Male	44	Multipl	Liver	<5
CE5	Male	63	1	Liver	<5

genes using RT-PCR. *SELP* (13.9-fold change,  $p < 0.05$ ) and *RETN* (8.1-fold change,  $p < 0.05$ ) were differentially expressed in CE patients compared to control group (Figure 1). Additionally, *SELP* and *RETN* gene expressions were compared in patients with active (38/60) and inactive (22/60) cysts and there was no significant difference (Figure 2).

**Levels of Protein Concentration**

The levels of P-selectin and Resistin for CE patients and healthy controls were detected using ELISA and presented in Figure 3. Whereas resistin levels were significantly higher in CE patients than the healthy controls ( $p < 0.001$ ), the difference in P-selectin levels was not significant ( $p > 0.05$ ).

**DISCUSSION**

According to the WHO data, more than one million people are living with CE and alveolar echinococcosis (AE) worldwide at any one time and incidence data of human CE does not reflect real prevalence value due to the asymptomatic nature of the infection (17). According to the data of the Ministry of Health, while the morbidity rate was reported as 0.57 per 100,000 in 2008, it was reported as 2.25 in 2019 in Turkey (18). The most valuable epidemiological data for CE are obtained with active surveillance methods and screening using USG, unfortunately, these are both labor-intensive and costly. Hence, there is a need for new molecules that can be supportive markers for diagnosis.

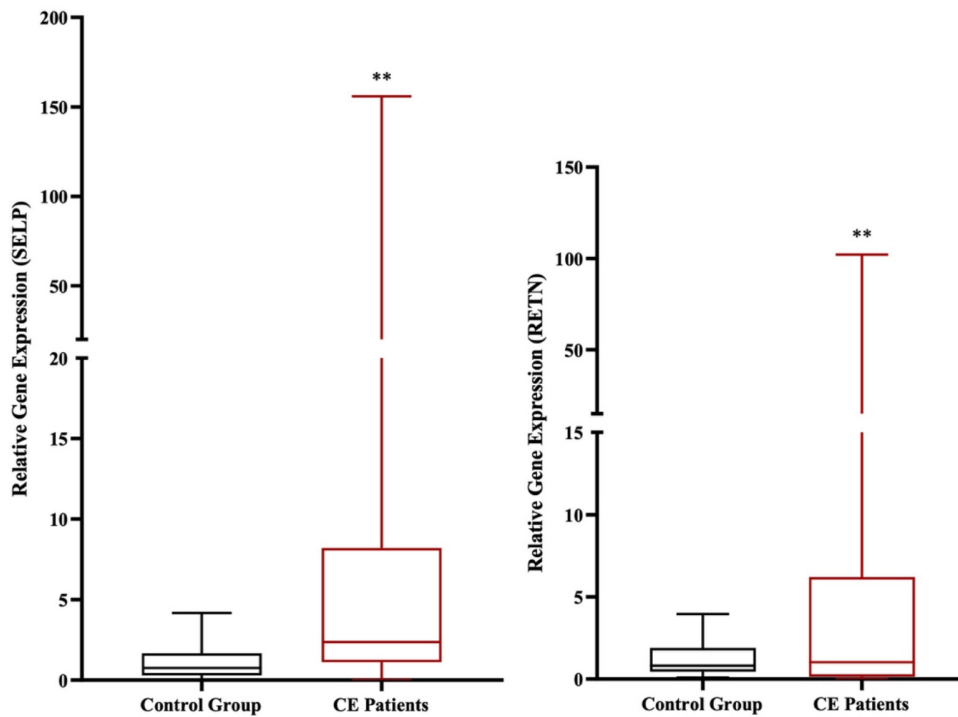
Inflammatory markers have been studied in various diseases including helminth infections. Until now, several *ex vivo* studies on CE have demonstrated that the association between cytokine levels and disease progression (19,20). According to a previous report, compared to healthy individuals, levels of Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), Interleukin-12 (IL-12), IL-16, IL-18, IL-4, IL-5, IL-10, and IL-13 were found to be higher in the serum of CE patients (21). Among the inflammatory markers, P-selectin and resistin has been evaluated in some parasitic infections (9). However,

there is lack of data on their role in CE. In this study, P-selectin and resistin expression were investigated at both gene and protein levels in CE patients compared with healthy controls.

P-selectin (CD62P) is among the immune system components and can play a role as a mediator in leukocyte recruitment during inflammation (22). Besides, P-selectin is an adhesion molecule that migrates to the surface of endothelial cells and platelets under inflammatory stimuli (23). Platelets are among the immune system components and can play a role as mediator cells in inflammation via potent pro-inflammatory substances

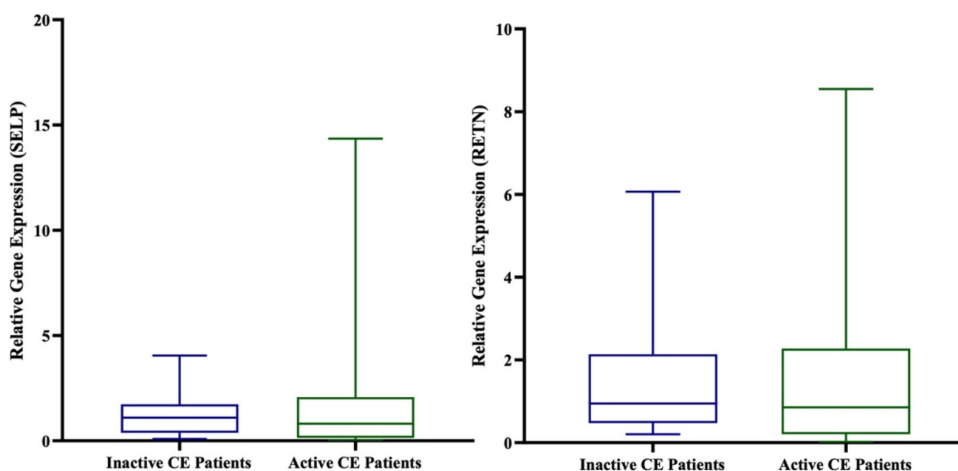
(24,25). Platelets are involved in the protection against helminths as potent effector cells (26). A previous report showed that CD62P expression was significantly upregulated in CE patients compared to the control group, suggesting the presence of platelet activation during CE infection (27).

In this study, we have confirmed that SELP gene expression (13.9-fold change,  $p < 0.05$ ) were found to be significantly up-regulated in the CE patients compared to healthy controls. In other studies, it is reported that the correlation between gene expression measured at the mRNA level and the corresponding protein level



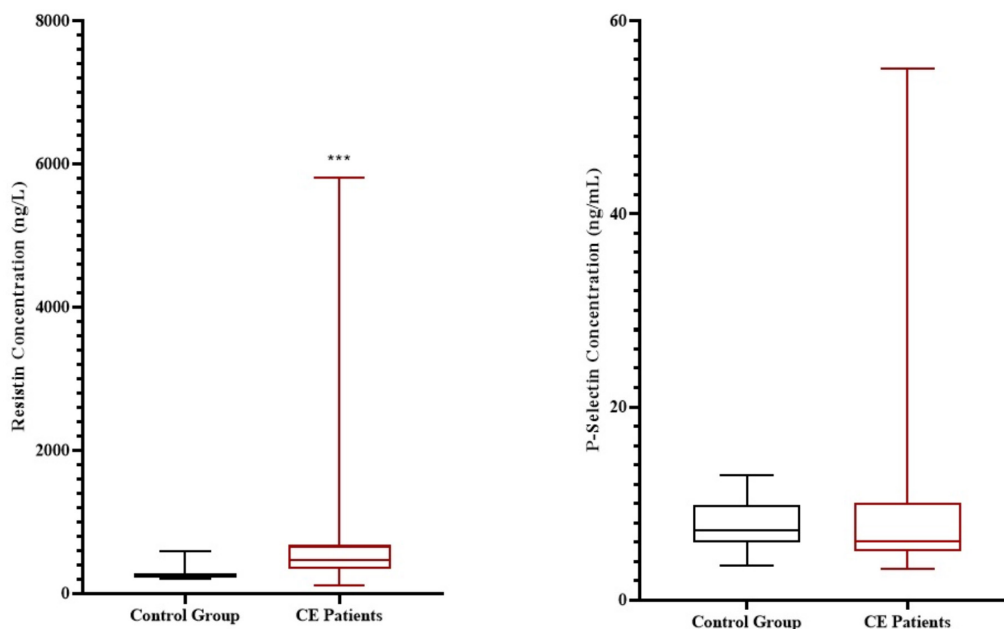
**Figure 1.** Relative gene expressions between CE patients and healthy control group. Relative *SELP* gene expression (13.9-fold change,  $p < 0.05$ ), relative *RETN* gene expression (8.1-fold change,  $p < 0.05$ )

CE: Cystic echinococcosis



**Figure 2.** Relative gene expressions between active and inactive CE patients, relative *SELP* gene expression ( $p > 0.05$ ), relative *RETN* gene expression ( $p > 0.05$ )

CE: Cystic echinococcosis



**Figure 3.** The levels of resistin concentration for CE patients and healthy controls ( $p < 0.05$ ), the levels of P-selectin concentration for CE patients and healthy controls ( $p > 0.05$ )

CE: Cystic echinococcosis

is generally weak (28-30). Thus, protein levels of P-selectin were also investigated to observe the correlation between the mRNA expressions and protein levels. However, there was no statistically significant difference in protein levels of P-selectin between CE patients and healthy controls.

On the other hand, biological effects of human resistin have been investigated in helminth and viral infections though its exact function in humans is still unclear. Based on previous studies, plasma resistin levels were up-regulated in both chronic filarial nematode infection and soil-transmitted helminth infection (14). In addition, it was found to be correlated with increased parasite burden and elevated levels of inflammatory cytokines  $TNF\alpha$ , CCL2 and IL-6 (31). According to our results, compared to healthy controls relative RETN expression was significantly higher in CE patients. Besides, protein levels of resistin were significantly elevated in CE patients, as well. Previous reports indicated that resistin expression was increased in macrophages from patients with filarial infection following exposure to parasite antigen (32,33). In addition, a lot of studies have demonstrated that lipopolysaccharide (component of Gram-negative bacteria) can influence resistin expression *in vivo* and *in vitro*. However, accumulating data has shown that resistin expression is a part of innate immune response to various helminth infection. Hence, resistin may play different roles in two types of immune responses as type 1 inflammatory process triggered by bacterial components and Th2 based immune response induced by helminths (14).

We have also performed the comparison of P-selectin and resistin expression levels in patients with active and inactive cysts and found no difference between the two groups of CE patients. Although there was no difference between the active and inactive patients, the good differentiation between the healthy controls and the CE patients suggested that they may be potential inflammatory diagnostic references.

## CONCLUSION

P-selectin and resistin serum levels have been comparatively evaluated between CE patients and healthy controls for the first time. In addition, the present study has demonstrated that resistin is a potential inflammatory marker for CE diagnosis. More investigations characterizing the infection on the inflammatory pathways should be conducted, especially for the asymptomatic people with poor access to healthcare groups.

### \*Ethics

**Ethics Committee Approval:** The research protocol followed ethical guidelines of the Declaration of Helsinki. This study was evaluated and accepted by the Hacettepe University Institutional Ethical Committee (no: 2020/16-72).

**Informed Consent:** Informed consent that explained the purposes, benefits, and risks of the study was signed by the participants.

**Peer-review:** Internally and externally peer-reviewed.

### \*Authorship Contributions

Surgical and Medical Practices: T.Ç., E.Ü., A.B.D., D.A., O.A., Concept: S.Ö., T.Ç., E.Ü., A.B.D., D.A., Y.A., O.A., Design: S.Ö., S.Y.Ç., Y.A., O.A., Data Collection or Processing: S.Ö., İ.B., Analysis or Interpretation: S.Ö., İ.B., S.Y.Ç., Literature Search: S.Ö., İ.B., Writing: S.Ö., İ.B., S.Y.Ç., Y.A., O.A.

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

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

## REFERENCES

1. Tamarozzi F, Akhan O, Cretu CM, Vutova K, Akinci D, Chipeva R, et al. Prevalence of abdominal cystic echinococcosis in rural Bulgaria, Romania,



- and Turkey: a cross-sectional, ultrasound-based, population study from the HERACLES project. *Lancet Infect Dis* 2018; 18: 769-78.
2. Akhan O, Ozmen MN, Dinçer A, Sayek I, Göçmen A. Liver hydatid disease: long-term results of percutaneous treatment. *Radiology* 1996; 198: 259-64.
  3. Brunetti E, Kern P, Vuitton DA. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta Trop* 2010; 114: 1-16.
  4. Brunetti E, Tamarozzi F, Macpherson C, Filice C, Piontek MS, Kabaalioglu A, et al. Ultrasound and Cystic Echinococcosis. *Ultrasound Int Open* 2018; 4: E70-8.
  5. Akhan O, Erdoğan E, Ciftci TT, Unal E, Karaağaoğlu E, Akinci D. Comparison of the Long-Term Results of Puncture, Aspiration, Injection and Re-aspiration (PAIR) and Catheterization Techniques for the Percutaneous Treatment of CE1 and CE3a Liver Hydatid Cysts: A Prospective Randomized Trial. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2020; 43: 1034-40.
  6. Akhan O, Salik AE, Ciftci T, Akinci D, Islim F, Akpınar B. Comparison of Long-Term Results of Percutaneous Treatment Techniques for Hepatic Cystic Echinococcosis Types 2 and 3b. *AJR Am J Roentgenol* 2017; 208: 878-84.
  7. Menezes da Silva A. Hydatid cyst of the liver-criteria for the selection of appropriate treatment. *Acta Trop* 2003; 85: 237-42.
  8. 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.
  9. Chimponda TN, Mushayi C, Osakunor DNM, Vengesai A, Enwono E, Amanfo S, et al. Elevation of C-reactive protein, P-selectin and Resistin as potential inflammatory biomarkers of urogenital Schistosomiasis exposure in preschool children. *BMC Infect Dis* 2019; 19: 1071.
  10. Kamel MM, Fouad SA, Basyoni MM. P selectins and immunological profiles in HCV and *Schistosoma mansoni* induced chronic liver disease. *BMC Gastroenterol* 2014; 14: 132.
  11. Yang RZ, Huang Q, Xu A, McLenithan JC, Eisen JA, Shuldiner AR, et al. Comparative studies of resistin expression and phylogenomics in human and mouse. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 310: 927-35.
  12. Patel SD, Rajala MW, Rossetti L, Scherer PE, Shapiro L. Disulfide-dependent multimeric assembly of resistin family hormones. *Science* 2004; 304: 1154-8.
  13. Holcomb IN, Kabakoff RC, Chan B, Baker TW, Gurney A, Henzel W, et al. FIZZ1, a novel cysteine-rich secreted protein associated with pulmonary inflammation, defines a new gene family. *EMBO J* 2000; 19: 4046-55.
  14. Jang JC, Chen G, Wang SH, Barnes MA, Chung JI, Camberis M, et al. Macrophage-derived human resistin is induced in multiple helminth infections and promotes inflammatory monocytes and increased parasite burden. *PLoS Pathog* 2015; 11: e1004579.
  15. Janke J, Engeli S, Gorzelniak K, Luft FC, Sharma AM. Resistin gene expression in human adipocytes is not related to insulin resistance. *Obes Res* 2002; 10: 1-5.
  16. Gillies PJ, Richardson NA, Walshe J, Stephenson SA, Dawson RA, Harkin DG. Demonstration of P-selectin expression and potential function in human corneal epithelial cells. *Exp Eye Res* 2018; 176: 196-206.
  17. Ok ÜZ, Kilimcioğlu AA, Özkol M. [Cystic Echinococcosis in Humans in Turkey]. *Mikrobiyol Bul* 2020; 54: 510-22.
  18. Topluoglu S. Current Situation Report of Cystic Echinococcosis in Turkey. *Turk Hij Den Biyol Derg* 2020; 77: 1-52.
  19. Riganò R, Profumo E, Ioppolo S, Notargiacomo S, Teggi A, Siracusano A. Serum cytokine detection in the clinical follow up of patients with cystic echinococcosis. *Clin Exp Immunol* 1999; 115: 503-7.
  20. Bayraktar MR, Mehmet N, Durmaz R. Th1 and Th2 inducing cytokines in Cystic echinococcosis. *Turkiye Parazitoloj Derg* 2005; 29: 167-70.
  21. Mezioug D, Touil-Boukoffa C. [Cytokine profile in human hydatidosis: possible role in the immunosurveillance of patients infected with *Echinococcus granulosus*]. *Parasite* 2009; 16: 57-64.
  22. Ley K. The role of selectins in inflammation and disease. *Trends Mol Med* 2003; 9: 263-8.
  23. Perkins LA, Anderson CJ, Novelli EM. Targeting P-Selectin Adhesion Molecule in Molecular Imaging: P-Selectin Expression as a Valuable Imaging Biomarker of Inflammation in Cardiovascular Disease. *J Nucl Med* 2019; 60: 1691-7.
  24. Klinger MH. Platelets and inflammation. *Anat Embryol* 1997; 196: 1-11.
  25. Küçükbayrak A, Oz G, Fındık G, Karaoğlanoğlu N, Kaya S, Taştepe I, et al. Evaluation of platelet parameters in patients with pulmonary hydatid cyst. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2010; 2: e2010006.
  26. Bout D, Joseph M, Pontet M, Vorng H, Deslée D, Capron A. Rat resistance to schistosomiasis: platelet-mediated cytotoxicity induced by C-reactive protein. *Science* 1986; 231: 153-6.
  27. Matowicka-Karna J, Kemonia H, Dymicka-Piekarska V, Butkiewicz A. Activation of blood platelets in echinococcosis--CD62P and CD63 expression. *Parasitol Res* 2006; 98: 214-7.
  28. Gry M, Rimini R, Strömberg S, Asplund A, Pontén F, Uhlén M, et al. Correlations between RNA and protein expression profiles in 23 human cell lines. *BMC Genomics* 2009; 10: 365.
  29. Maier T, Güell M, Serrano L. Correlation of mRNA and protein in complex biological samples. *FEBS Letters* 2009; 583: 3966-73.
  30. Chen G, Gharib TG, Huang CC, Taylor JM, Misek DE, Kardias SL, et al. Discordant protein and mRNA expression in lung adenocarcinomas. *Mol Cell Proteomics* 2002; 1: 304-13.
  31. Pine GM, Batugedara HM, Nair MG. Here, there and everywhere: Resistin-like molecules in infection, inflammation, and metabolic disorders. *Cytokine* 2018; 110: 442-51.
  32. Babu S, Kumaraswami V, Nutman TB. Alternatively activated and immunoregulatory monocytes in human filarial infections. *J Infect Dis* 2009; 199: 1827-37.
  33. Semnani RT, Mahapatra L, Moore V, Sanprasert V, Nutman TB. Functional and phenotypic characteristics of alternative activation induced in human monocytes by interleukin-4 or the parasitic nematode *Brugia malayi*. *Infect Immun* 2011; 79: 3957-65.

# Determination of Factors Affecting Human Transmission of *Echinococcus granulosus* Parasite: A Case-control Study, Turkey

*Echinococcus granulosus* Parazitinin İnsana Bulaşmasını Etkileyen Faktörlerin Belirlenmesi: Türkiye’de Olgu-kontrol Tipinde Bir Araştırma

✉ Turgut Anuk<sup>1</sup>, ✉ Hasan Çantay<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Health Sciences, Erzurum Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Erzurum, Turkey

<sup>2</sup>Kafkas University Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Kars, Turkey

Cite this article as: Anuk T, Çantay H. Determination of Factors Affecting Human Transmission of *Echinococcus granulosus* Parasite: A Case-control Study, Turkey. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2022;46(3):201-6.

## ABSTRACT

**Objective:** Through this study we aimed to determine the risk factors affecting the transmission of *Echinococcus granulosus* to humans.

**Methods:** This case-control study included a study group comprising of 107 people who underwent surgery for hydatid cyst and a control group comprising of 107 people. Place of living, age, and sex were taken as matching factors. A chi-square analysis was used for paired comparisons in the study. The variables that were significantly related in paired comparisons were included in the logistic regression analysis.

**Results:** Hydatid cyst disease was seen 3.661 [confidence interval (CI) =1.650-8.123] times more often in individuals with an education period of 11 years or less compared to those with 12 years or above, 3.427 (CI=1.470-7.991) times more in those with a toilet outside the house compared to those with a toilet inside the house, and 5.540 (CI=2.088-14.697) times more in individuals who took a shower 8 times a month or less compared to those who take a shower 9 times or more.

**Conclusion:** Individuals with a low level of education and who do not pay attention to environmental and personal hygiene are at risk for hydatid cyst disease.

**Keywords:** *Echinococcus granulosus*, hydatid cyst, education level, bath, potable water

## ÖZ

**Amaç:** Araştırmada; *Echinococcus granulosus*'un insanlara bulaşmasını etkileyen risk faktörlerini belirlemek amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Olgu-kontrol tipinde bir araştırmadır. Olgu grubu kist hidatik cerrahi operasyonu geçiren 107 kişi, kontrol grubu da 107 kişi olarak alınmıştır. Eşleştirme faktörleri olarak yerleşim yeri, yaş, cinsiyet alınmıştır. Araştırmada ikili karşılaştırmalarda ki-kare analizi kullanıldı. İkili karşılaştırmalarda anlamlı çıkan değişkenler lojistik regresyon analizine alındı.

**Bulgular:** Kist hidatik hastalığı eğitim süresi 12 yıl ve üzeri olanlara göre 11 yıl ve altı olanlarda 3,661 [güven aralığı (GA)=1,650-8,123] kat, tuvaleti evin içinde olanlara göre evin dışında olanlarda 3,427 (GA=1,470-7,991) kat, aylık banyo sayısı 9 ve üzeri olan kişilere göre 8 ve altı olan kişilerde 5,540 (GA=2,088-14,697) kat daha fazla bulunmuştur.

**Sonuç:** Eğitim düzeyi düşük olanlar, çevresel ve kişisel hijyene dikkat etmeyen kişiler kist hidatik hastalığı için risk grubudur.

**Anahtar Kelimeler:** *Echinococcus granulosus*, kist hidatik, eğitim düzeyi, banyo, kullanma suyu

## INTRODUCTION

Cystic echinococcosis is a zoonotic disease, especially in animals, that causes significant public health problems (1,2) and serious economic losses in Turkey (1-3). Although it most commonly causes disease in the liver and lungs, it can also rarely cause disease in organs, such as eyes, bones, kidney, heart, and brain (4-6).

Cystic echinococcosis is commonly known as “cyst disease” among people in Turkey. The causative agent of the disease is a parasite called *Echinococcus granulosus* (1). The main sources of the parasite are meat-eating animals, such as wolves, foxes, and especially dogs. The parasite thrives in the small intestine of dogs and is transmitted to humans via eggs discarded through dog feces (7,8).



Received/Geliş Tarihi: 19.12.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 01.06.2022

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Turgut Anuk, University of Health Sciences, Erzurum Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Erzurum, Turkey

Phone/Tel: +90 532 697 44 98 E-mail/E-Posta: turgutanuk@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-8903-9993

The factors contributing to the transmission of the parasite are occupation, hobbies, living conditions, and education and socio-economic level of the people. The biggest risk group consists of people who are engaged in animal husbandry, such as sheep, goats, and cows who have contact with infected dogs that are not been treated for parasites (8,9).

This study aims to determine the risk factors related to demographic, economic, place of living, and hygiene characteristics that affect the transmission of *Echinococcus granulosus* to humans.

## METHODS

### Identification of the Region Where the Research Was Conducted

The region where the research was conducted is adjacent to Iran, Georgia, Nakhichevan, and Armenia. The primary occupation of the people of this region is agriculture and animal husbandry. The socio-economic development of this region is below the average of that of Turkey. Illiterate people comprise 11.7% of the total population of the region and those who have never finished school constitute 13.5% (10).

The region is below the average of Turkey in terms of the number of health personnel per thousand people. The mortality rate of the region is above the average of Turkey with 11.2 per thousand infant deaths and 24.5 per hundred thousand maternal deaths, respectively (The averages of Turkey are 6.8 per thousand infant deaths and 14.6 per hundred thousand maternal deaths, respectively) (11).

**Type of study:** Case-control.

**Study group:** The study group comprised of 107 patients with hydatid cyst who were treated in the general surgery clinic between 2012 and 2020.

**Control group:** The control group comprised of 107 individuals with approximately the same age and sex, who resided in the same settlement (village, town, neighborhood, main street, street, etc.).

**Selection of the control group:** Individuals of the same sex, who lived in the same residential area as that of the case group, the same age or with  $\pm 3$  years age difference were included. We ensured that the control group included individuals who lived at least two houses adjacent to the house of the case group individual. The control group individuals were first evaluated with an indirect hemagglutination test (IHA). Two people with positive IHA tests were not included in the study. Instead of these people, two different people living in the same settlement were taken.

We reached out to 81.3% (87) individuals of the case group and 95.3% (107) of the control group. The most important reasons for being unable to reach out to people were as follows: Migration (8 people), death (1 person), refusing to participate in the study (9 people), and unable to reach the person (7 people).

**Matching factors:** Place of living, age, and sex.

**Preparation of data collection form:** The data collection form of the research was prepared using the Turkey Demographic and Health Survey, the Turkey Zoonotic Diseases Action Plan and the website of the General Directorate of Zoonotic Diseases (1,2,12) of the Ministry of Health, General Directorate of Public Health. The data collection form included questions regarding demographic information and place of living of the individuals of the case and control groups.

**Data collection:** Written and verbal consent was obtained from the individuals before collection of data. The data were collected using face-to-face interview technique with people who agreed to participate in the study.

**Definitions related to the variables:** The number of baths per month was taken according to the median value.

**Obtaining study permissions:** Approval for the study was obtained from the Ethics Committee of the Kafkas University Faculty of Medicine, with the decision no: 80576354-050-99/02 and date: 09.03.2021 and written informed consent was obtained from all patients.

### Statistical Analysis

SPSS version 20 for Windows was used for data analysis. Chi-square analysis was used in paired comparisons in the study. The variables that were significantly related in paired comparisons were included in the logistic regression analysis.

## RESULTS

Among the socio-demographic and socio-economic variables, no statistically significant difference was found between the case and control groups in terms of place of living, sex, age, family type, number of people living at home, field of work, and total income of the household ( $p=0.830$ ;  $p=0.763$ , respectively;  $p=0.746$ ;  $p=0.190$ ;  $p=0.154$ ,  $p=0.682$ ,  $p=0.659$ ), while a statistically significant difference was found between the case and control groups in terms of duration of education of the individuals ( $p=0.020$ ) (Table 1).

Considering variables with regard to place of living, while there was no statistically significant difference between the case and control groups ( $p=0.136$ ;  $p=0.283$ ) in terms of whether the toilet used is inside or outside the house, the toilet is connected to sewage or open/closed pit ( $p=0.136$ ;  $p=0.283$ ), the potable water is in the house or in the garden, there was a statistically significant difference between the case and control groups in terms of number of people per room ( $p=0.030$ ;  $p=0.006$ ) (Table 2).

Table 3 shows the distribution of hygiene characteristics according to the case and control groups. Accordingly, a statistically significant difference was found between the case and control groups in terms of the number of baths the person takes during a month, the number of hand washing per day, and the use of gloves ( $p=0.002$ ;  $p=0.002$ ;  $p=0.004$ , respectively).

In the study, no statistically significant difference was found between the case and control groups in terms of animal care characteristics, such as presence of a dog belonging to the family, taking care of the dog, veterinary care of the dog, giving parasitic drugs to the dog, animal butchering and feeding offal to dogs ( $p=0.776$ ;  $0.092$ ;  $p=0.314$ ;  $p=0.055$ ;  $p=0.523$ ;  $p=0.877$ ) (Table 4).

Table 5 shows the results of the logistic regression analysis. On evaluation of the table, hydatid cyst transmission is 3.661 [confidence interval (CI)=1.650-8.123] times more often in those with an education period of 11 years or less compared to those with 12 years or above, 3.427 (CI=1.470-7.991) times more in those with a toilet outside the house compared to those with a toilet inside the house, and 5.540 (CI=2.088-14.697) times more in individuals who take a shower 8 times a month or less compared to those who take a shower 9 times or more.

## DISCUSSION

More than 60.0% of the pathogens that infect humans are animal-borne zoonotic animal diseases and more than 75.0% of the new emerging infectious diseases are zoonotic (13). The World Health Organization shows Echinococcosis in the “neglected tropical diseases” group (14). Echinococcosis is one of the most overlooked public health problems in Turkey (15). Through this study, we aimed to determine the factors effective in catching hydatid cyst disease.

In the study, *Echinococcus granulosus* infection is 3.661 (CI=1.650-8.123) times more in individuals with education duration of 11 years or less than those with 12 years or more. In a meta-analysis, it was shown that the prevalence of hydatid cyst is higher in patients with low education level (16). In a study conducted with

milk producers in the region where the study was conducted, it was shown that people with a high level of education have more knowledge about echinococcosis and protection from parasites (17). The probable cause of this situation is thought to be health literacy. Health literacy is defined as having the knowledge, motivation, and competence to access, understand, evaluate, and use health information (18). In a study, it was shown that people with low education levels also have inadequate health literacy (19).

Hydatid cyst develops 3.427 (CI=1.470-7.991) times more in those who have potable water in the garden compared to inside the house. In a meta-analysis, it was stated that using water other than mains water increased the risk of hydatid cyst contagion by 1.8 times (20). In a case-control study conducted in Jordan, it was emphasized that even if the water comes from a tubular

**Table 1.** Distribution of socio-demographic characteristics by case and control groups

Socio-demographic and socio-economic characteristics		Case group	Control group	X <sup>2</sup>	p
		n (%)*	n (%)*		
Place of living	Rural	66 (75.9)	76 (74.5)	0.046	0.830
	Urban	21 (24.1)	26 (25.5)		
Sex	Female	45 (51.7)	55 (53.9)	0.091	0.763
	Male	42 (48.3)	47 (46.1)		
Age	29<	43 (49.4)	48 (47.1)	0.105	0.746
	30≥	44 (50.6)	54 (52.9)		
Family type	Extended	26 (29.9)	22 (21.6)	1.714	0.190
	Nuclear	61 (70.1)	80 (78.4)		
Number of people living in the house	≤4	32 (36.8)	48 (47.1)	2.031	0.154
	≥5	55 (63.2)	54 (52.9)		
Education time	≤11	48 (54.0)	39 (38.2)	4.719	<b>0.020</b>
	≥12	39 (46.0)	63 (61.8)		
Field of work	Agriculture/animal	76 (87.4)	87 (85.3)	0.168	0.682
	Outside of agriculture	11 (12.6)	15 (14.7)		
Income of the household	Insufficient	39 (44.8)	49 (48.0)	0.195	0.659
	Sufficient	48 (55.2)	53 (52.0)		
<b>Total</b>		<b>87 (100.0)</b>	<b>102 (100.0)</b>		

\* Column percentage

**Table 2.** Distribution of habitat characteristics by case and control groups

Characteristics of place of living		Case group	Control group	X <sup>2</sup>	p
		n (%)*	n (%)*		
Toilet	Outside the house	71 (81.6)	91 (89.2)	2.219	0.136
	Inside the house	16 (18.4)	11 (10.8)		
Toilet drain	Sewage	73 (83.9)	91 (89.2)	1.152	0.283
	Open/closed pit	14 (16.1)	11 (10.8)		
Potable water	In the garden	25 (28.7)	16 (11.8)	4.707	<b>0.030</b>
	Inside the house	62 (71.3)	86 (84.3)		
Number of individuals per room	≥3	69 (79.3)	62 (60.8)	7.576	<b>0.006</b>
	<3	18 (20.7)	40 (39.2)		
<b>Total*</b>		<b>87 (100.0)</b>	<b>102 (100.0)</b>		

\* Column percentage



**Table 3.** Distribution of hygiene characteristics by case and control groups

Hygiene characteristics		Case group	Control group	X <sup>2</sup>	p
		n (%)*	n (%)*		
Number of baths per month	8≤	63 (72.0)	51 (50.0)	9.855	<b>0.002</b>
	9≥	24 (27.6)	51 (50.0)		
Hand washing per day	5≤	70 (80.5)	61 (59.8)	9.418	<b>0.002</b>
	6≥	17 (19.5)	41 (40.2)		
Glove	Not using	75 (86.2)	70 (68.6)	8.124	<b>0.004</b>
	Using	12 (13.8)	32 (31.4)		
<b>Total*</b>		<b>87 (100.0)</b>	<b>102 (100.0)</b>		

\* Column percentage

**Table 4.** Distribution of animal care characteristics by case and control groups

Animal care and animal contact		Case group	Control group	X <sup>2</sup>	p
		n (%)*	n (%)*		
Family dog	Yes	73 (83.9)	84 (82.4)	0.081	0.776
	No	14 (16.1)	18 (17.6)		
Dog care	Yes	63 (72.4)	62 (60.8)	2.835	0.092
	No	24 (27.6)	40 (39.2)		
Veterinary care of the dog	Yes	13 (14.9)	21 (20.6)	1.014	0.314
	No	74 (85.1)	81 (79.4)		
Dog parasite medicine	Given	9 (10.3)	21 (20.6)	3.689	0.055
	Not given	78 (89.7)	81 (79.4)		
Animal butchery	Yes	80 (92.0)	91 (89.2)	0.409	0.523
	No	7 (8.0)	11 (10.8)		
Feeding offal to dogs	Yes	77 (88.5)	91 (89.2)	0.024	0.877
	No	10 (11.5)	11 (10.8)		
<b>Total*</b>		<b>87 (100.0)</b>	<b>102 (100.0)</b>		

\* Column percentage

**Table 5.** Logistic regression analysis results table

Independent variables	B	S.E.	Wald	Odds ratio	95% CI (smallest-largest value)*
Duration of education (years)	≤11	1.298	0.407	10.183	3.661
	≥12				1 (Reference)
Potable water	In the garden	1.232	0.432	8.129	3.427
	Inside the house				1 (Reference)
Number of baths per month	≤8	1.712	0.498	11.824	5.540
	≥9				1 (Reference)

\* Smallest-largest value, CI: Confidence interval

system, if it is unprotected, it is an important risk factor (odds ratio: 13.22 CI: 2.91-83.7) in contagion of hydatid cysts (21). The main livelihood of the region where the study was conducted is animal husbandry and agriculture (10). As it is known, dogs, which are the main source of hydatid cyst, are an integral part of animal husbandry (approximately 8 out of 10 families have dogs as seen in Table 2). In addition, it is very difficult to say that there is sufficient water for pastures and fields in the region, as in the whole of Turkey (22). As a result, animals, dogs, and water are vital for the region.

A significant portion of the regions' population, especially those living in rural areas, uses potable water in the garden in order to use water more efficiently. They build a small pond right in front of the water source in the garden to meet the water needs of large and small cattle. They build a fruit and vegetable garden 10-20 meters away from the pond, where the pond water can flow through easily. Both the water pond and the fruit and vegetable gardens are also used by dogs. This water infected with the feces of animals and dogs, also flows into the fruit and vegetable gardens. Thus, especially vegetables that grow close to the ground

and fruits that fall on the ground are infected with the parasite. Considering that it is very difficult to clean fruits and vegetables that fall on the ground in the current living conditions, according to hygienic rules, people who eat these fruits and vegetables can also be infected with “parasites” (observations of researchers). In a study conducted on hydatid cysts in Iran, it was determined that only 6.7% of the participants washed vegetables according to hygienic washing principles (23).

In the study, personal hygiene was questioned in terms of number of daily hand washing, use of gloves in animal and/or agricultural occupations, and number of baths taken per month. While all three variables were found to be statistically significant in paired analyzes, only the number of baths taken per month was determined as a risk factor in logistic regression analysis. Accordingly, hydatid cyst disease is 5.540 (CI=2.088-14.697) times more in people who take 8 and less baths per month than those who take 9 and more baths per month. One of the most important problems of the region where the research was conducted is that it is the coldest region of Turkey. For example, in the year 2020, the temperature of 268 days was below 15 °C (24). “Animal excrement” (manure) is still used as a fuel for heating most households in the region, especially in rural areas. In majority of these households, a heating stove is installed in the largest room and people spend most of their time in the heated room. As a result of this, all parts of the house are not heated homogeneously. Therefore, less number of people take baths, especially in winter. In summer, there is no constant hot water, so heating water for a bath also creates a problem in terms of insufficient time left after work. As a result, body surfaces that come into contact with the parasite cannot be adequately cleaned and the person may eventually become infected (observations of researchers). In the region where the study was conducted, in a study on pediculosis in children, it was reported that the number of children who took bath 3 times a week was very low (25).

### Study Limitations

The strength of this study is that it is the first case-control study conducted in Turkey where there are only a limited number of similar studies in the literature. However, the inclusion of only cases that underwent surgical treatment as a control group in the study is considered as a limitation.

### CONCLUSION

Among the people with low education level, the use of potable water in common areas with animals and insufficient personal body hygiene are important risk factors for hydatid cyst disease. In this context, periodic national level training programs should be organized against zoonotic diseases in general and hydatid disease in particular.

### \*Ethics

**Ethics Committee Approval:** Approval for the study was obtained from the Ethics Committee of the Kafkas University Faculty of Medicine, with the decision no: 80576354-050-99/02 and date: 09.03.2021.

**Informed Consent:** Written informed consent was obtained from all patients.

**Peer-review:** Internally and externally peer-reviewed.

### \*Authorship Contributions

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

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

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

### REFERENCES

1. Turkey Ministry of Health [Internet]. Kist Hidatik (Kistik Ekinokokkoz). (cited 2021 May 5). Available from: URL: <https://www.saglik.gov.tr/TR,4076/kist-hidatik-kistik-ekinokokkoz.html>
2. Turkey Ministry of Health [Internet]. Türkiye Zoonotik Hastalıklar eylem Planı (2019-2023). (cited 2021 May 5). Available from: URL: <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/zoonotikvektorel-haberler/t%C3%BCrkiye-zoonotik-hastal%C4%B1klar-eylem-plan%C4%B1-2019-2023.html>
3. Wilson CS, Jenkins DJ, Brookes VJ, Barnes TS, Budke CM. Assessment of the direct economic losses associated with hydatid disease (*Echinococcus granulosus sensu stricto*) in beef cattle slaughtered at an Australian abattoir. *Prev Vet Med* 2020; 176: 104900.
4. Bzikha R, Bouhrouh A, Messouak M. Cardiac hydatid cyst disease in a young patient. *Cirugia Cardiovascular*. 2021; 28: 290-2.
5. Benhayoune O, Makhchoune M, Jehri A, Haouas MY, Naja A, Lakhdar A. Cerebral hydatid cyst during pregnancy: A case report. *Ann Med Surg (Lond)* 2021; 63: 102161.
6. Parajuli P, Pradhan MM, Chapagain S, Luitel BR, Chalise PR, Sharma UK. Isolated renal hydatid cyst: A rare case report. *Urol Case Rep* 2021; 35: 101525.
7. World Health Organization [Internet]. Echinococcosis. (cited 2021 May 5). Available from: URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/echinococcosis>
8. Wilson CS, Jenkins DJ, Barnes TS, Brookes VJ. Australian beef producers' knowledge and attitudes relating to hydatid disease are associated with their control practices. *Prev Vet Med* 2020; 182: 105078.
9. Fu MH, Wang X, Han S, Guan YY, Bergquist R, Wu WP. Advances in research on echinococcosis epidemiology in China. *Acta Trop* 2021; 219: 105921.
10. Toy S. TRA1 NUTS II Regional Development Plan (2014-2023); Planning Process and Content. *Planlama* 2015; 25: 171-88.
11. Turkey Ministry of Health [Internet]. Health statistics yearbook (2018). (cited 2021 May 5). Available from: URL: <https://dosyasb.saglik.gov.tr/Eklenti/36164,siy2018en2pdf.pdf?0>
12. Ankara Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü [Internet]. Türkiye nüfus ve sağlık araştırması (2018). (cited 2021 May 5). Available from: URL: [http://www.sck.gov.tr/wp-content/uploads/2020/08/TNSA2018\\_ana\\_Rapor.pdf](http://www.sck.gov.tr/wp-content/uploads/2020/08/TNSA2018_ana_Rapor.pdf)
13. Dahal R, Kahn L. Zoonotic diseases and one health approach. *Epidemiology* 2014; e115.
14. World Health Organization [Internet]. Control of neglected tropical diseases. (cited 2021 May 5). Available from: URL: <https://www.who.int/teams/control-of-neglected-tropical-diseases/overview>
15. Ok ÜZ, Kilimcioglu AA, Özkol M. [Cystic Echinococcosis in Humans in Turkey]. *Mikrobiyol Bul* 2020; 54: 510-22.
16. Gholami S, Tanzifi A, Sharif M, Daryani A, Rahimi MT, Mirshafiee S, et al. Demographic aspects of human hydatidosis in Iranian general population based on serology: A systematic review and meta-analysis. *Vet World* 2018; 11: 1385-96.
17. Demir P, Tasci GT, Mor N, Ayvazoglu C, Tazegul R. Süt sığırcılık işletme sahiplerinin kistik ekinokokkozis e ilişkin bilgi düzeyleri: Kars ili örneği. *F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg* 2014; 28: 61-4.

18. Sørensen K, Van den Broucke S, Fullam J, Doyle G, Pelikan J, Slonska Z, et al. Health literacy and public health: a systematic review and integration of definitions and models. *BMC Public Health* 2012; 12: 80.
19. Von Wagner C, Knight K, Steptoe A, Wardle J. Functional health literacy and health-promoting behaviour in a national sample of British adults. *J Epidemiol Community Health* 2007; 61: 1086-90.
20. Conraths FJ, Probst C, Possenti A, Boufana B, Saulle R, La Torre G, et al. Potential risk factors associated with human alveolar echinococcosis: Systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis* 2017; 11: e0005801.
21. Dowling PM, Abo-Shehada MN, Torgerson PR. Risk factors associated with human cystic echinococcosis in Jordan: results of a case-control study. *Ann Trop Med Parasitol* 2000; 4: 69-75.
22. General Directorate of State Hydraulic Works, Turkey [Internet]. Toprak Su Kaynakları. (cited 2021 May 5). Available from: URL: <https://dsi.gov.tr/Sayfa/Detay/754>
23. Khazaei S, Rezaeian S, Khazaei Z, Goodarzi E, Khazaei S, Mohammadian M, et al. Epidemiological and clinical characteristics of patients with hydatid cysts in Khorasan Razavi Province, from 2011 to 2014. *Iran J Parasitol* 2016; 11: 364-70.
24. Turkish State Meteorological Service [Internet]. (cited 2021 May 5). Available from: URL: <https://mgm.gov.tr/veridegerlendirme/gun-derece.aspx?g=yillik&m=06 00&y=2019&a=03#sfB>
25. Karaaslan S, Yılmaz H. [The distribution of pediculus humanus capitis among primary school pupils of the Turkish chamber of commerce and stock exchange organisation in Van]. *Turkiye Parazitoloj Derg* 2015; 39: 27-32.

# Prevalence and Economic Significance of Hidatidosis in Cattle Slaughtered at an Abattoir in Konya, Turkey

*Konya'da Mezbahada Kesilen Sığırlarda Hidatidosis'in Yaygınlığı ve Ekonomik Önemi*

Abdullah Küçükyavaşlı<sup>1</sup>, Uğur Uslu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Selçuk Municipality, Veterinarians, Konya, Turkey

<sup>2</sup>Selçuk University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Konya, Turkey

Cite this article as: Küçükyavaşlı A, Uslu U. Prevalence and Economic Significance of Hidatidosis in Cattle Slaughtered at an Abattoir in Konya, Turkey. Türkiye Parazit Derg 2022;46(3):207-12.

## ABSTRACT

**Objective:** This study was conducted to determine the period prevalence of hydatid cysts isolated from the livers of cattle slaughtered at a slaughterhouse in Konya.

**Methods:** For this purpose, 49,545 cattle were slaughtered and examined for the presence of hydatid cysts in the liver. The study was conducted between June 01, 2018, and May 31, 2019.

**Results:** The highest prevalence of hydatid cysts was observed in autumn 10.83% followed by spring 4.41%, winter 2.90%, and summer 2.66%, with an overall prevalence of 3.93%. Considering the month wise prevalence of hydatid cyst, the highest infection rate was detected in September (7.87%), June (7.16%) and August (7.14%), while the lowest prevalence was observed in February (2.72%) and January (2.83%). In gender-wise investigation, highest prevalence was observed in females (24.65%) during the summer and 18.45% in the spring. In male animals, the infection rate was very low compared with females. However, the highest prevalence in males was observed throughout the year in autumn (2.36%) and the lowest prevalence in winter (1.68%). The highest prevalence was found among female cattle in heifers in winter (6.52%) and cows in summer (27.52%).

**Conclusion:** The overall economic losses of 56,434 USD were estimated due to discarded hydatid cyst-infected livers during the study period. This study enlightens the prevalence and economic significance of hidatidosis in Konya.

**Keywords:** Economic loss, liver hidatidosis, Konya, cattle, prevalence

## ÖZ

**Amaç:** Araştırma Konya'da bir mezbahada kesilen sığırların karaciğerinden izole edilen kist hidatiklerinin mevsimsel prevalansını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

**Yöntemler:** Toplam 49,545 kesilmiş sığır, karaciğerde kist hidatik varlığı yönünden incelendi. Çalışma 1 Haziran 2018 ile 31 Mayıs 2019 tarihleri arasında gerçekleştirildi.

**Bulgular:** En yüksek kist hidatik prevalansı sonbaharda (%10,83) gözlemlendi. Bunu ilkbahar (%4,41), kış (%2,90) ve yaz (%2,66) mevsimi izledi. Genel prevalans ise %3,93 idi. Ay bazında kist hidatik prevalansına bakıldığında en yüksek enfeksiyon oranı Eylül (%7,87), Haziran (%7,16) ve Ağustos (%7,14) aylarında tespit edilirken, en düşük prevalans Şubat (%2,72) ve Ocak (%2,83) aylarında görüldü. Cinsiyet açısından bakıldığında en yüksek prevalans dişi hayvanlarda yaz mevsiminde (%24,65) ve ilkbahar mevsiminde (%18,45) rastlandı. Erkek hayvanlarda enfeksiyon oranı dişilere göre çok düşüktü. Ancak yıl boyunca erkeklerde en yüksek prevalans sonbaharda (%2,36) ve en düşük prevalans kışta (%1,68) gözlemlendi. Dişi sığırlar arasında düvelerde kış döneminde (%6,52) olan en yüksek prevalans, ineklerde yaz aylarında (%27,52) olarak tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Çalışma süresi boyunca kist hidatik ile enfekte karaciğerlerin imhası nedeniyle toplam 56,434 USD'lik ekonomik kayıp tahmin edilmiştir. Çalışma, Konya'da hidatidozun yaygınlığı ve ekonomik önemi hakkında fikir vermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Ekonomik kayıp, karaciğer hidatidozu, Konya, sığır, yaygınlık



Received/Geliş Tarihi: 04.03.2022 Accepted/Kabul Tarihi: 04.07.2022

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Abdullah Küçükyavaşlı, Selçuk Municipality, Veterinarians, Konya, Turkey  
Phone/Tel: +90 532 386 13 66 E-mail/E-Posta: akyaclioglu@hotmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-4673-2480



## INTRODUCTION

Hydatidosis, also known as cystic echinococcosis (CE), is an important zoonotic disease that causes significant public health and economic losses in the world and in Turkey. The larvae of adult *Echinococcus granulosus*, which are found in the small intestine of carnivores, cause the disease. This disease leads to structural disorders in the liver, spleen, lung and other vital organs, resulting in low productivity and economic losses. Yield losses and deaths (5%) are observed in cattle with hydatidosis, such as a decrease in the amount of meat (5%) and milk (2.5-10%), a slow down in growth, a decrease in the birth rate (5%). In addition, the immunity of infected animals is compromised, which increases susceptibility to other infections. The destruction of diseased organs leads to insufficient consumption of animal protein sources by humans. CE, which occurs in humans, is a serious public health problem (1-4).

The final hosts of *E. granulosus* are carnivores (dogs, etc.) and intermediate hosts are ruminants, humans, and other mammals. The eggs spread to the environment with the feces of the infected last host are taken by the intermediate hosts with feed and water. Oncospheres emerge from the eggs opened in the small intestine and go to the internal organs with the blood circulation. Fluid-filled cysts occur here. The last hosts that eat the cystic organs become infected. The parasite, which is the causative agent of the disease, completes its development in the small intestine of the last host. Parasite eggs are excreted in the feces and become recontaminated the environment. Eggs can survive for up to two years in severe environmental conditions (5). Inter regional climatic conditions, presence of intermediate and final hosts, and human-animal interaction are contributing factors to the prevalence of hydatidosis in animals and humans (3,5,6). Aydın et al. (7) reported the presence of hydatidosis in butchers dealing with infected animals.

It has been reported that production losses due to CE are approximately 12-13% of the total values of animals (8). The cattle population in Turkey is estimated to be around 18 million and 5% of this is in the Konya region (9). However, very few studies have been conducted to investigate the prevalence of CE in Konya to date. The most recent study in this region was carried out in 1995 (10,11). Therefore, this study was planned for the following purposes; a) To investigate the prevalence of CE in the liver of cattle slaughtered in a slaughterhouse in Konya, Turkey; b) Risk factors associated with the disease, i.e. age, gender and season, etc. to determine the relationship between and; c) To estimate the economic losses due to the destruction of CE organs.

## METHODS

### Study Area

The study was carried out at the Konya, Turkey's largest city, with an area of 40,838 sq km. Konya, 1016 m above sea level, is a very important city with a 970,876 bovine population (9). Postmortem examinations were carried out by selecting one of the three slaughterhouses in Konya.

### Study Period and Animals

The study was carried out between June 1, 2018, and May 31, 2019. During this period, 49,545 beef livers were examined for hydatid cysts. Cattles under two years of age were grouped as heifers/young, and cattles above two years were grouped as cows.

## Postmortem Examinations

The postmortem examination of the livers was done. First, a shallow examination was performed to check the degree of liver stiffness. While superficial hydatid cysts can be easily seen, the diagnosis is made by the detection of the germinative membrane and protoscolex of the cyst in the parenchyma (2). Infected livers are destroyed regardless of the number of cysts and the degree of infection.

## Calculation of Economic Losses

Losses resulting from the annihilation of livers were calculated by considering the offal prices of the previous year. Accordingly, the price of the beef liver was accepted as 50 TL (7.25 \$)/kg (in 2019). The livers were wholly annihilated, regardless of the degree of the infection and the number of cysts present. Therefore, the loss of each infected liver was calculated as 200 TL (29 \$) (in 2019).

Total economic loss was calculated following the formula;  $TEL = NIL \times MWL \times CLP$

TEL: Total economic loss

NIL: Number of infected liver

MWL: Mean weight of liver 4 kg (3-5 kg)

CLP: Current liver price (kg).

## Data Management and Statistical Analysis

The data was saved in the Excel sheets and then transferred to Minitab (min-17) statistics program to analyze any statistical association among the variables. Infection rates by sex (male/female), age group (heifers/cows), seasons and months were compared using chi-square test and Fisher's Exact chi-square test. The association was considered significant at p-value less than 0.05.

## RESULTS

A total of 49,545 cattles were slaughtered in the integrated meat facility, out of which 44,299 (89.41%) were males and 5,246 (10.58%) were females. Among the female population, 4,179 (79.66%) were cows, and 1,067 (20.33%) were heifers. The postmortem examination showed that the number of animals infected with hydatid cysts was 1,947, and the overall prevalence of the disease was found 3.93%, as shown in Table 1. The seasonal prevalence was found to be higher in autumn (10.83%), followed by spring (4.41%), winter (2.90%) and summer (2.66%). Month wise prevalence of CE in slaughtered animals and the prevalence of infected animals out of slaughtered animals throughout the

**Table 1.** Prevalence (%) of hydatid cysts according to seasons in cattle slaughtered

Seasons	Total number of cattle slaughtered	Number of liver infected cattle	Prevalence (%)
Autumn	5558	602	10.83 <sup>a</sup>
Winter	20685	598	2.90 <sup>b</sup>
Spring	8990	396	4.41 <sup>c</sup>
Summer	13193	351	2.66 <sup>d</sup>
Total	49545	1947	3.93

$\chi^2$ : 803.168, DF: 3,  $p < 0.05$ , <sup>a,b,c,d</sup>; Different superscripts in the same column indicate significant difference in season-specific prevalence

**Table 2.** Prevalence (%) of hydatid cysts in cattle slaughtered in different months of the year

Months	Total number of cattle slaughtered	Number of liver infected cattle	Prevalence (%)
June	2250	161	7.16 <sup>a</sup>
July	2160	108	5.00 <sup>b</sup>
August	1148	82	7.14 <sup>a</sup>
September	1436	113	7.87 <sup>a</sup>
October	5080	175	3.45 <sup>c</sup>
November	7796	314	4.03 <sup>d</sup>
December	7456	229	3.07 <sup>de</sup>
January	8809	249	2.83 <sup>adef</sup>
February	4420	120	2.72 <sup>fg</sup>
March	1897	119	6.27 <sup>abcd</sup>
April	2099	103	4.91 <sup>bch</sup>
May	4994	174	3.48 <sup>cej</sup>
Total	49545	1947	3.93

<sup>a,b,c,d,e,f,g,h,i,j</sup>: Different superscripts in the same column indicate significant difference in season-specific prevalence (p<0.05)

year have been shown in Table 2 and Figure 1, respectively. A statistically asignificant association (p<0.05) was found with the month-wise prevalence of CE. However, the highest month-wise prevalence was observed in September (7.87%), June (7.16%) and August (7.14%), while the lowest prevalence was observed in January (2.83%) and February (2.72%). Considering the gender-wise prevalence, asignificant association (p<0.05) of CE was found in females 20.49% (1075/5246) as compared to males 1.97% (872/44299), as shown in Table 3, 4. Similarly, the seasonal prevalence was observed to be higher in females in summer (24.65%) and spring (18.45%). On the contrary, alower prevalence was observed in males in the autumn (2.36%) and spring (1.68%). Among females, the highest prevalence was observed in cows

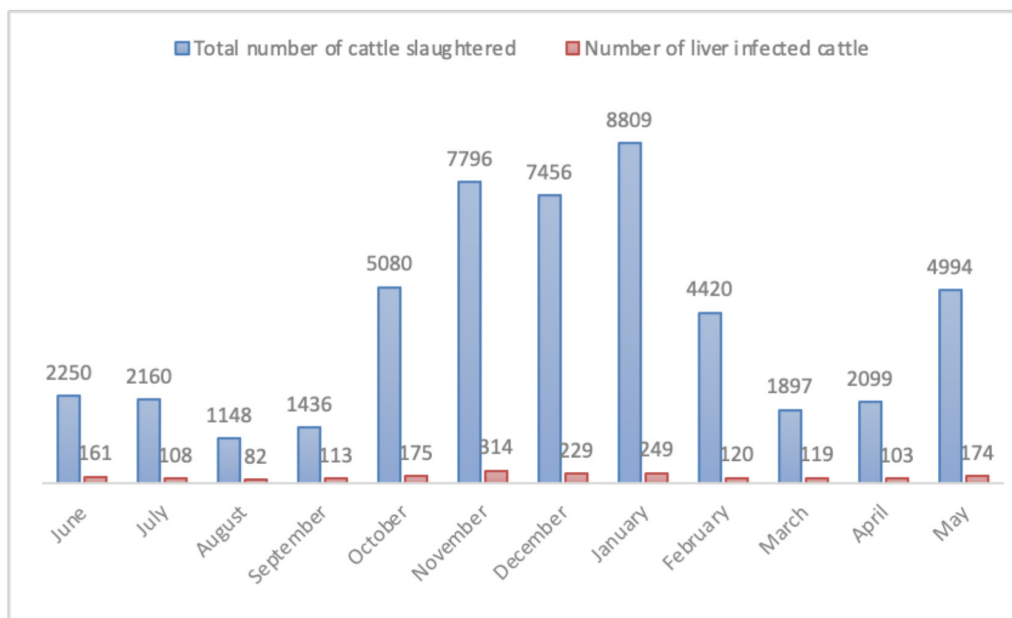
in the summer (27.52%) and heifers in the winter (6.52%). An economic loss of 56.434\$ (389.400 TL) was estimated due to the annihilation of livers having CE during the whole year.

### DISCUSSION

The prevalence of hydatidosis, seen in almost every region in the world, varies by country. Many factors such as the climate of the area, its ecological structure, and animal breeding methods impact on the prevalence of hydatidosis. Prevalence of hydatidosis has been reported in various parts of the World, ranging from 0.04-70% in Europe, 0.002-46% in Africa, 0.05-80.60% in Asia, and 0.90% in South America (12-17). The prevalence of hydatidosis in cattle from neighbouring countries has been reported about 5.8-82% (13,18); whereas, in Turkey, the average prevalence of hydatiosis in cattle reported 25.9% (18).

The prevalence of *E. granulosus* in dogs has been reported in different parts of Turkey and its neighbouring countries, ranging from 0.94 to 59% (19,20). Various studies have been done to investigate the prevalence of *E. granulosus* and its economic significance, and most of the studies used the records of physical examinations made in the slaughterhouses. A study on the prevalence of hydatid cysts in dogs has also been done in Konya, Turkey (19). In the study, it was reported that 28.33% of 50 dogs had parasites. Dik et al. (10) reported that they found the prevalence of hydatid cyst at 9.40% in cattle in their study in Konya. In the survey conducted by Çivi et al. (11) in Konya, they reported that they detected the prevalence of hydatid cyst in cattle at about 5.60%.

In studies conducted in different parts of Turkey’s in cattle; Van (10.86-19.40%), Adana (3.70%), Ankara (9.40-18.60%), Kars (26.65-31.25%), Manisa (8.96-16.47%), Sivas (4.50%), İzmir (56.50%) and Erzurum (46.40%) (21). In other studies, they detected hydatid cysts in cattle from Sivas (20.40%), Samsun (21.10%) and Van (37.80%) (7). In Kırıkkale (16.68%) and the Thrace region (11.60%), infections of cattle with hydatid cysts have been reported (22). Acioz et al. (23) stated the presence of



**Figure 1.** The number of infected and non-infected cattle slaughtered throughtout the year

**Table 3.** Prevalence (%) of hydatid cysts in male and female animal slaughtered in different seasons

Seasons	Male			Female		
	Total number of cattle slaughtered	Number of liver infected cattle	Prevalence (%)	Total number of cattle slaughtered	Number of liver infected cattle	Prevalence (%)
Autumn	12716	300 <sup>a</sup>	2.36 <sup>a</sup>	1596	302	18.92 <sup>a</sup>
Winter	19411	326 <sup>b</sup>	1.68 <sup>a</sup>	1274	272	21.35 <sup>a</sup>
Spring	7624	144 <sup>bc</sup>	1.89 <sup>b</sup>	1366	252	18.45 <sup>a</sup>
Summer	4548	102 <sup>ac</sup>	2.24 <sup>a</sup>	1010	249	24.65 <sup>b</sup>
Total	44299	872	1.97	5246	1075	20.49

<sup>a,b,c</sup>: Different superscripts in the same column indicate significant difference in season-specific prevalence ( $p < 0.05$ )

**Table 4.** Prevalence (%) of hydatid cysts in female cattle slaughtered according to age and seasons

Seasons	Cow			Heifer		
	Total number of cattle slaughtered	Number of liver infected cattle	Prevalence (%)	Total number of cattle slaughtered	Number of liver infected cattle	Prevalence (%)
Autumn	1059	278 <sup>a</sup>	26.25	537	24	4.47 n.s.
Winter	1044	257 <sup>a</sup>	26.62	230	15	6.52 n.s.
Spring	1182	241 <sup>b</sup>	20.39	184	11	5.98 n.s.
Summer	894	246 <sup>a</sup>	27.52	116	3	2.59 n.s.
Total	4179	1022	24.46	1067	53	4.97

<sup>a,b</sup>: Different superscripts in the same column indicate significant difference in season-specific prevalence ( $p < 0.05$ , n.s.: Not significant)

hydatid cysts in Sivas (35.70%), Düzlü et al. (24) in Kayseri (3%) and Balkaya and Şimşek (25) in Erzurum (34.30%). Sarıözkan and Yalçın (8) found CE with a rate of 7.40% in cattle. It has been reported that there are hydatid cysts in cattle from Hakkari (6.80%) and Van (38.50) (26).

In the study in Elazığ, 7.26% prevalence of CE was reported in cattle livers (27). In a study conducted in Bursa, it was reported that the offal from the hydatid cyst and fasciolosis was 2.38% (28). The study conducted in Aydın, reported that the prevalence of hydatid cysts was 2.09% in males and 14.31% in female cattle (29). A recent study conducted in the Aydın region of Turkey by Bağdatlıoğlu (29), the lowest prevalence rate (2.09%) was found in male animals. These results are similar to the prevalence of cattle CE (1.97%) reported in our study. As a result of the general prevalence of 3.93% we found in this study, it was seen that the rate between 3.70-56.50% found in previous studies is in line with the lowest range of prevalence. According to the 9.40% infection rate found in the study in 1992 in Konya, it was observed that the percentage of hydatidosis decreased to one third and the 5.60% prevalence rate found in 1995 decreased to 3.93%.

According to Şenlik (30), the probability of these cysts in young animals may be low because cysts develop very slowly in the intermediate host; therefore, 1% in males were found positive in our study. The presence of 97 ratios may lead to the misconception that the infection in our region has regressed considerably. Studies indicating the prevalence of hydatidosis by months and seasons are limited (31). However, Azami et al. (31) reported that they detected CE in spring (7.89%) and least in winter (4.6%) in their studies in Iran; in our research, the highest prevalence was observed in autumn (10.83%) and in lower in summer (least 2.66%). Similarly, Başpınar et al. (27) reported that they encountered the highest prevalence of hydatid cysts in the study they conducted in Elazığ in Winter (9.87%) and least in the spring (4.17%), it shows completely different results with our

study in which, the highest rate of infection was observed in cattle in June (7.16%) and in February (2.72%). While Ayad et al. (32) reported that cattle hydatid cyst was observed higher in October in Algeria. Dik et al. (10) reported that infection was highest in October (75.3%) and lowest in June (15.1%), which is different from our study.

According to the regions, it has been reported that various biotic and abiotic factors are responsible for the prevalence of CE in cattle, including; climatic conditions of the area, age and species of animals, the technique used to investigate the prevalence, data acquisition etc. (24). Hydatidosis harms the country's economies by decreasing the amount of meat, milk, and wool in cattle, sheep, and goats, decreasing fertility and destroying infected offal (protein) from animal origin (33). At the same time, the money spent to treat infectious animals increases the cost of damage. Hydatidosis also seriously harms public health and expenditures (surgery, medicine, hospital, etc.) to treat cysts that occur through contact with contaminated food and water, ultimately imposing heavy burdens on national economies (34).

In the study conducted in the province of Burdur to investigate the economic losses caused by the CE found in ruminants, a yearly loss of 583\$ was estimated through condemnation of infected liver and lungs (35). In a study in Erzurum, Arslan and Umur (36) found that economic damage was 2.300\$ in the post-slaughter examination of 1066 sheep and 530 cattle. In the study conducted in Konya reported that liver and lungs found infected during the investigation of sheep and cattle caused economic losses of 52,264\$ yearly (10). It is seen that the loss after liver destruction alone in our study caused much more economic losses of 77,880\$. Sarıözkan and Yalçın (8) nationwide, the production loss of CE in ruminants caused by meat, milk, fleece and fertility, decreased fertility, and sacred destroyed in cattle in 2008 was 89.2\$ million.



In a study conducted in sheep in the Konya region in 2019, in the slaughtered 42.000 sheep, it was determined that the economic loss due to hydatid cysts in the liver was 36.450 TL (6417\$) (37). In the study conducted in cattle, it is seen that the financial loss is much higher than in sheep.

## CONCLUSION

Hydatid cyst is a zoonotic disease that continues to be an important problem in terms of public health in many parts of the World and our region. For control of echinococcus infection, there is dire need to work in collaboration with public health authorities to develop effective control and eradication programs through raising public awareness, controlling and treating dogs, preventing offal and raw meat consumption by dogs, regular inspection of slaughterhouses and condemnation of illegal slaughtering should be adopted as control measures. Routine inspection and treatment of captive dogs keeping in view the parasite's life cycle are also important for public health. Although the prevalence of CE has decreased compared to the prevalence rates found in previous studies, it has been determined that CE is an important public health problem. Control and prevention measures should be carried out together to prevent the spread of the disease. For this purpose, uncontrolled animal slaughter should not be done and post-mortem examinations should be done very carefully. In addition, infected organs must be appropriately disposed of (burning in the oven, burial in deep holes) and never be fed to dogs.

## ACKNOWLEDGEMENT

We would like to thank the veterinarians in the slaughterhouse who contributed to our study.

### \*Ethics

**Ethics Committee Approval:** As stated in the Regulation on Working Procedures and Principles of Animal Experiments Ethics Committees, Ethics Committee Approval Certificate is required for vertebrate animals. Since the study was conducted on non-living organs after slaughter, the ethics committee approval certificate was not obtained.

**Informed Consent:** "Patient consent information" document was not requested for our study to be on non-living organs after slaughter.

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

### \*Authorship Contributions

Surgical and Medical Practices: A.K., U.U., Concept: A.K., U.U., Design: A.K., U.U., Data Collection or Processing: A.K., U.U., Analysis or Interpretation: A.K., U.U., Literature Search: A.K., U.U., Writing: A.K., U.U.

**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

- Fadakar B, Tabatabaei N, Borji H, Naghibi A. Genotyping of *Echinococcus granulosus* from goats and sheep indicating G7 genotype in goats in the Northeast of Iran. *Vet Parasitol* 2015; 214: 204-7.
- Avcıoğlu H. Cystic Echinococcosis (Cyst Hydatid) in Cattle, In: Parasitic Diseases in Cattle. In: Parasitic Diseases in Veterinary Medicine. Eds: İnci A, 2nd edition, Meta Press: İzmir; 2016.p.204-9.
- Şenlik B. Echinococcosis. In: Parasitic Diseases in Dogs and Cats. In: Parasitic Diseases in Veterinary Medicine. Eds: Dumanlı N, Meta Press: İzmir; 2016.p.1183-95.
- Yaylak E, Konca Y, Koyubenbe N. A Study on health protection managements and health disorders survey of cattle breeders' association registered farms in Odemis, Izmir. *Hayvansal Üretim* 2016; 57: 28-40.
- Soulsby E.J.L. Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. 7th Ed., Bailliere Tindall: London; 1986.
- Yıldız K, Tunçer Ç. [Prevalence of hydatid cysts in cattle in the province of Kirikkale]. *Turkiye Parazitolojisi Dergisi* 2015; 29: 247-50.
- Aydın MF, Gökmen S, Koç Ş, Adıgüzel E, Kocaman H, Çöplü M, et al. Evaluation the knowledge levels regarding Hydatid cyst among butchers in Karaman Province of Turkey. *Van Vet J* 2015; 26: 147-50.
- Sarıözkan S, Yalçın C. Estimating the production losses due to cystic Echinococcosis in ruminants in Turkey. *Vet Parasitol* 2009; 163: 330-4.
- Anonymous. Turkey Statistical Institute, Databases, Animal İstatistikleri 2021. Available from: <https://www.tarimorman.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/HAYGEM.pdf> Access date: June 2021.
- Dik B, Cantoray R, Handemir E. The spread and economic importance of hydatidosis in small and bovine animals slaughtered in Konya Meat and Fish Institution Combination. *Turkiye Parazitolojisi Dergisi* 1992; 16: 91-2.
- Çivi S, Güler S, Kesici S. Economic losses due to cyst hydatid according to the records of Konya Meat Fish Institution and Konet Facilities. *Turkiye Parazitolojisi Dergisi* 1995; 19: 237-42.
- Onah DN, Chiejina SN, Emehele CO. Epidemiology of echinococcosis/hydatidosis in Anambra State, Nigeria. *Ann Trop Med Parasitol* 1989; 83: 387-93.
- Isakov SI, Safronov MG, Ivanova RN. Strains of Echinococcus in Yakutiya. *Vet Moskva* 1993; 9: 36-9.
- Artures CF, Souza RM, Ribeiro RPM. Prevalence and geographical distribution of bovine hydatidosis in the state of Minas Gerais, Brasil. *Arg Bras Med Vet Zootecnia* 1996; 48: 623-7.
- Lis H. Results of veterinary inspection of slaughtered animals in Poland and their economic significance. *Med Weter* 1998; 44: 267-9.
- WHO. Manual on echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. World Organization for Animal Health 12, rue de Prony, 75017 Paris: France; 2012.p.286.
- Almalki E, Al-Quarishy S, Abdel-Baki AS. Assessment of prevalence of hydatidosis in slaughtered Sawakny sheep in Riyadh city, Saudi Arabia. *Saudi J Biol Sci* 2017; 24: 1534-37.
- Özçelik S. Cystic echinococcosis and echinococcosis in Turkey. XXth International Congress of Hydatidology, RT9, 69, June, 4-8, Kuşadası-Turkey. 2001.
- Aydenizöz M. Helminthological researches in dogs of Konya region. *Turkiye Parazitolojisi Dergisi* 1997; 4: 429-34.
- Gıcık Y, Kara M, Sarı B, Kılıç K., Arslan MÖ. Intestinal parasites of Red foxes (*Vulpes vulpes*) and their zoonotic importance for humans in Kars province. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2009; 15: 135-40.
- Gıcık Y, Kara M. The prevalence of cystic echinococcosis in cattle and sheep slaughtered in the Kars province. *Turkiye Parazitolojisi Dergisi* 2004; 28: 136-9.
- Esatgil MU, Tüzer E. Prevalence of hydatidosis in slaughtered animals in Thrace, Turkey. *Turkiye Parazitolojisi Dergisi* 2007; 31: 41-5.
- Acıöz M, Çeliksöz A, Özçelik S, Değerli S. Prevalence of cyst hydatid in slaughtered cattle between April and May 2005 in Sivas. *Turkiye Parazitolojisi Dergisi* 2008; 32: 205-7.
- Düzlü Ö, Yıldırım A, Sarıözkan S, İnci A. The economic importance of cystic echinococcosis in sheep and cattle from three different slaughterhouses in Kayseri region. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 2010; 7: 7-11.
- Balkaya İ, Şimşek S. Prevalence and economic importance of hydatidosis and fasciolosis in slaughtered cattle in Erzurum province of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2010; 16: 793-7.



26. Oğuz B, Değer S. Cystic Echinococcosis and cysticerci of *Taenia hydatigena* in cattle and sheep slaughtered in a Van local slaughterhouse. *Turkiye Parazitol Derg* 2013; 37: 186-9.
27. Başpınar S, Kaplan M, Keleştemur N. The prevalence of cystic echinococcosis in live stock slaughtered between 2008-2012 *FU Med J Health Sci* 2014; 28: 89-92.
28. Yibar A, Selcuk O, Şenlik B. Major causes of organ/carcass condemnation and financial loss estimation in animals slaughtered at two abattoirs in Bursa Province, Turkey. *Prev Vet Med* 2015; 118 : 28-35.
29. Bağdatlıoğlu Aİ. Prevalence of some cestodes larvae (*Hydatid cyst, Cysticercus bovis, Cysticercus tenuicollis*) among the slaughtered cattle in Aydın region. Aydın Adnan Menderes University Institute of Health Sciences Veterinary Parasitology (Veterinary) Program Master Thesis. 2019.
30. Şenlik B. Development of Echinococcus Species, Echinococcosis. Altınbaş N, Tınar R, Çoker A. Eds. Ege University Printing House, Bornova: İzmir; 2004.p.31-44.
31. Azami M, Anvarinejad M, Ezatpour B, Alirezai M. Prevalence of hydatidosis in slaughtered animals in Iran. *Turkiye Parazitol Derg* 2013; 37: 102-6.
32. Ayad A, Benhanifia M, Balla, EH, Moussouni L, Ait-Yahia F, Benakhla A. A retrospective survey of fasciolosis and hydatidosis in domestic ruminants based on abattoirs' data in Bejaia province, Algeria. *Veterinaria* 2019; 68: 47-51.
33. Şenlik B. The prevalence of hydatidosis in sheep in Bursa region and its relationship with age, race and gender. *Turkiye Parazitol Derg* 2000; 24: 304-8.
34. Torgerson PR. Economic effects of echinococcosis. *Acta Trop* 2003; 85: 113-8.
35. Umur S. Prevalence and economic importance of cystic echinococcosis in slaughtered ruminants in Burdur, Turkey. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2003; 50: 247-52.
36. Arslan MÖ, Umur Ş. Prevalence and economic importance of hydatidosis in slaughtered sheep and cattle in Erzurum slaughterhouses. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 1997; 3: 167-71.
37. Uslu U, Küçükyağlıoğlu A, Şenlik B. Prevalence of liver hydatidosis and its economic significance in sheep slaughtered in a private abattoir in Konya. *Turkiye Parazitol Derg* 2021; 45: 5-10.

# Identification of Larval *Eustrongylides* (Nematoda: Dioctophymatoidea) sp. from *Channa punctata* Bloch, 1793 by Morphological and Molecular Techniques

*Channa punctata* Bloch'tan Larva *Eustrongylides* (Nematoda: Dioctophymatoidea) sp.'nin Morfolojik ve Moleküler Tekniklerle Tanımlanması, 1793

✉ Ivy Kundu<sup>1</sup>, ✉ Dipak Ranjan Mandal<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Barasat Government College, Department of Zoology, West Bengal, India

<sup>2</sup>South Asian Forum for Environment, West Bengal, India

Cite this article as: Kundu I, Mandal DR. Identification of Larval *Eustrongylides* (Nematoda: Dioctophymatoidea) sp. from *Channa punctata* Bloch, 1793 by Morphological and Molecular Techniques. Türkiye Parazitoloj Derg 2022;46(3):213-8.

## ABSTRACT

**Objective:** This study aimed to identify the larval form of *Eustrongylides* sp. isolated from the visceral organs of *Channa punctata* (Bloch, 1793) using morphological and molecular methods.

**Methods:** Fishes were collected from fish farms in Nadia and North 24 Paraganas for the collection of nematodes. The visceral organs were dissected and kept in 0.67% normal saline. Nematodes collected from the abdominal regions and visceral organs for light microscopy study were fixed in 70% ethanol. Morphological features were studied by placing the nematodes in lactophenol. The specimens were later preserved in 70% ethanol containing 5% glycerine. Specimens processed for scanning electron microscopy were fixed in 2.5% glutaraldehyde and postfixed in 1% osmium tetroxide. Proper identification was done by using standard methodology. Molecular studies were performed for the 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2 and 28S rRNA gene fragments using polymerase chain reaction amplification, sequencing and phylogenetic analysis.

**Results:** The morphological characteristics of nematodes were described with the help of light and scanning electron microscopy. Additional features not described earlier like dimensions and shape of the cephalic papillae, absence of somatic papillae, presence of caudal papillae, were identified for the first time. Moreover, molecular studies with ITS regions further confirmed the identification of the nematode.

**Conclusion:** Thus the use of morphotaxonomy along with molecular techniques would help in proper identification of *Eustrongylides* sp infecting edible fish. Studies on the nematode would help to explore the intermediate as well as paratenic hosts of the parasite. Data in this regard would contribute significantly to the fish database in regard to parasites infesting edible fishes.

**Keywords:** *Channa punctata*, *Eustrongylides* sp., scanning electron microscopy, taxonomy, molecular identification

## ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, *Channa punctata*'nın (Bloch, 1793) visceral organlarından izole edilen *Eustrongylides* sp.'nin larva formunun morfolojik ve moleküler yöntemlerle belirlenmesidir.

**Yöntemler:** Balıklar, nematodların toplanması için Nadia ve Kuzey 24 Paraganas'taki balık çiftliklerinden toplandı. İç organlar diseksiyonla çıkarıldı ve %0,67 normal salin içinde tutuldu. Işık mikroskopu çalışması için karın bölgelerinden ve iç organlardan toplanan nematodlar, %70 etanol içinde sabitlendi. Nematodlar laktofenol içerisine yerleştirilerek morfolojik özellikleri incelendi. Numuneler daha sonra %5 gliserin içeren %70 etanol içinde muhafaza edildi. Taramalı elektron mikroskopu için işlenen numuneler %2,5 glutaraldehit içinde ve daha sonra %1 osmiyum tetraoksit içinde sabitlendi. Standart metodoloji kullanılarak uygun tanımlama yapıldı. 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2 ve 28S rRNA gen fragmanı için polimeraz zincir reaksiyon amplifikasyonu ve dizileme kullanılarak moleküler çalışmalar ve filogenetik analiz yapıldı.



Received/Geliş Tarihi: 29.04.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 24.06.2022

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Ivy Kundu, Barasat Government College, Department of Zoology, West Bengal, India  
Phone/Tel: +09433994105 E-mail/E-Posta: ivy\_kundu@rediffmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0003-3467-4620

**Bulgular:** Nematodların morfolojik özellikleri ışık ve taramalı elektron mikroskobu yardımıyla yeniden tanımlanmıştır. Sefalik papillaların boyutları ve şekli, somatik papillaların yokluğu, kaudal papillaların varlığı gibi daha önce tanımlanmayan ek özellikler ilk kez tanımlanmıştır. Ayrıca, ITS bölgeyle yapılan moleküler çalışmalar, nematodun tanımını daha da doğrulamıştır.

**Sonuç:** Moleküler tekniklerle birlikte morfotaksonominin kullanılması, yenilebilir balıkları enfekte eden *Eustrongylides* sp.'nin doğru tanımlanmasına yardımcı olacaktır. Nematod üzerinde yapılan çalışmalar, parazitin ara ve paratenik konaklarının araştırılmasına yardımcı olacaktır. Bu bağlamdaki veriler, yenilebilir balıkları istila eden parazitlerle ilgili olarak balık veritabanına önemli ölçüde katkıda bulunacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** *Channa punctata*, *Eustrongylides* sp., taramalı elektron mikroskopisi, taksonomi, moleküler kimlik

## INTRODUCTION

Fishes diseases are prevalent as they act as host in the life cycle of various organisms which severely affects the economic value of the marketable fishes. This is important particularly for those fishes which are consumed raw or smoked (1). In aquaculture practices parasitic infection like bacteria, protozoa, helminths, fungus and viruses causes huge financial deprivation and diminishes the biodiversity of indigenous species. Platyhelminths and Nematelminths are two phyla under which helminth parasites are included (2). Intermediate stages of nematodes, cestodes and trematodes affects internal visceral organs of fishes, while monogeneans being ectoparasites infest on gills and skin (2). In the life cycle of endoparasitic helminthes the parasite passes through intermediate stages and finally develops into an adult in higher vertebrates like piscivorous, birds, mammals, man that feed on the fish. The larval stage shows adaptation that enables them to survive and reach adult stage (3). Dynamics of aquatic system is better evaluated and understood due to the study of life cycle of helminth which involves more than one intermediate hosts (4). Molluscs and copepods also act as intermediate host in the development of various helminth parasites.

*Channa punctata* Bloch, 1793 commonly known as snake headed fish belongs to family Channidae and is well known for its nutritional value. The fresh water fish, being a prolific breeder is commercially reared and accords significantly to aquaculture sector. Taxonomy of nematodes were studied by researchers (5-7) collected from fishes. Information on the database of helminth parasites infecting fishes in different districts of West Bengal is inadequate with incomplete representation. Hence the present study was conducted to provide a comprehensive data of nematode parasite for proper characterization infecting economically important fishes like *Channa punctata*.

## METHODS

### Collection of Fish Samples and Parasites

The host fishes collected from fish farms of various districts of West Bengal like Nadia (22° 59' 0" N, 88° 29' 0" E) and North 24 Paraganas (22.7228° N, 88.4806° E) during the period of December 2017-January 2020 and were brought to the parasitology laboratory for examination. As per CPCSEA instruction's protocol for experimentation on fishes, does not require approval from ethical committee. Nematodes collected were first washed in normal saline, then fixed in 70% ethanol. Later they were examined in lactophenol for light microscopical examination and morphological observation. All collected specimens were then preserved in 70% ethanol and 5% glycerine. Identification of the parasites were done using standard methodology using identification keys (8-10).

### Sample Preparation for Scanning Electron Microscopic Study

The helminth parasites were fixed in 2.5% glutaraldehyde solution (pH 7.4) in 0.1 M sodium cacodylate buffer at 4 °C, postfixed in 1% osmium tetroxide. Dehydrated through varying alcoholic concentrations followed by wash with absolute alcohol and amyl acetate mixture of different ratios (3:1, 2:2 and 1:3) and finally in 100% amyl acetate. Specimens were then coated with gold using a coater (Quorum Q 150 TES) by placing them on stubs with double adhesive tape. Coated samples were examined with a high-resolution scanning electron microscope (Zeiss EVO-MA 10 Germany) operating at accelerating voltages of 15KV.

### Illustrations and Measurement

Measurements were taken with the use of stage and an ocular micrometer while figures were drawn by using camera lucida. Light microscopic photographs of parasites were taken by camera-mounted microscope (Olympus CX41).

### Statistical Analysis

Statistical analysis was conducted using SPSS software. All measurements are given in millimeters if not stated otherwise. Parasite specimens (holotype and paratypes) were deposited and preserved in the Parasitology Laboratory, Department of Zoology, University of Kalyani, Kalyani in West Bengal, India.

### Genotypic Characterization

The identified parasites specimens were further confirmed by modern molecular technique such as 18S rDNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2 and 28S rRNA analysis. DNA was isolated using the genomic DNA isolation kit according to the instructions of the manufacture (Bangalore Genei and Eurofins).

### Polymerase Chain Reaction (PCR) Amplification and Sequencing

In case of *Eustrongylides* sp. the 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2 and 28S rRNA gene fragment rDNA sequences was amplified by PCR. The primer sequences forward 5'GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG 3' and reverse 5'CCGCTTTGAAACACGGACC 3' were used. The PCR mixture consisted of 1X assay buffer (Mg<sub>2</sub><sup>+</sup> free), 1 µL of dNTP mixtures (2.5 mM each), 100 ng of each primer (forward and reverse), 200 ng of template DNA and Taq DNA polymerase (3 U/µL) in a final volume of 50 µL. PCR was performed in a thermal cycler using an initial denaturation at 94 °C for five minutes, followed by thirty-five cycles at 94 °C for thirty seconds, 56 °C for thirty seconds and 72 °C for one minute and final extension at 72 °C for 10 minutes. Electrophoresis of the PCR products (10 mL) lead to its separation on 1.0% agarose gel for 1 h in 1X TBE (Tris-Boric acid-EDTA) buffer. Amplicons were detached from gel and purified using a PCR purification kit eluted in Tris-HCl (10 mM, pH 8.5) prior to sequencing.

## Sequencing and Phylogenetic Analysis

In case of *Eustrongylides* sp. amplification of the rDNA genes (1090b bp) were performed by automated sequencer to obtain the sequence information. Clustal X mega software was used for editing the sequences and from the National Center for Biotechnology Information database, BLAST search was done. The knowledge of the nearest neighbors of the amplified sequence was used in homology studies.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Macroscopic Observation

Nematodes were recovered from the abdominal cavity, visceral organs, musculature, and have been identified as *Eustrongylides* sp. based on larval morphological features. The anterior one-third of the larval body was yellowish to red, while the rest was bright red in colour with visible cuticle stratification which was retained by the larvae description of nematode parasite, *Eustrongylides* sp.

**Site of infection:** Liver, intestine, abdominal cavity, 33.33% prevalence.

Specimen bearing numbers PR/IK/N-09, PR/IK/N-12 and PR/IK/N-15 have been deposited in Parasitology Laboratory, Department of Zoology, University of Kalyani, West Bengal, India Identifying characters: (24 nematodes, Figure 1, 2).

### Light Microscopic Study

Body of smaller larvae whitish while larger larvae red-brown in colour. Cuticle coarsely striated but without spines (Figure 1a). Head not particularly swollen (Figure 1a). Nerve ring arises from the anterior end. Buccal cavity followed by long oesophagus long without any particular swelling (Figure 1a).



**Figure 1.** Light microscopic structure of *Eustrongylides* sp. a) Anterior portion of nematode *Eustrongylides* sp. showing the oesophagus (os), spine shaped papillae (pa) and striations (st). scale bar - 1 mm, b) Caudal (ca) portion of nematode *Eustrongylides* sp. scale bar -1 mm

Mouth simple with twelve papillae arranged in two circles, always two lateral and four submedian in each circle (Figure 1a). Papillae of the internal circle have a long, tapering, spine like central process while papillae of the external circle were low, dome shaped with wide bases. Many caudal papillae were present at the posterior end which were smooth and oblate. Male bursa closed, bell shaped without rays. Female posterior end stumpy (Figure 1b). Anus terminal and the position of vulva lies very close to the anus. Adults usually detected in the glands of fore stomach of aquatic birds and larva in fishes.

### Scanning Electron Microscopic Structure

Scanning electron microscopic images of *Eustrongylides* sp. helped further to elucidate the taxonomic features of the isolated parasite. SEM studies performed showed that the cephalic extremity was conical having twelve labial papillae placed in two rings having six papillae each. Each circle consisted of two lateral, two subventral and two subdorsal papillae (Figure 2a). Presence of sensilla above the papillae was observed (Figure 2a). Amidst two outer subventral papillae, horizontal flat ventral papillae was present (Figure 2a). Inner and outer papillae were of similar size, while the inner papillae had tapered base with spine-like apices (Figure 2b). Cephalic and labial papillae bears a distinct ring and the border being marked by a cuticular depression (Figure 2b, c). Outer papillae had broad bases with dome shaped apices (Figure 2c). Nematode bears transverse cuticular striations with many flat caudal papillae at tail end (Figure 2d).

### Molecular Studies

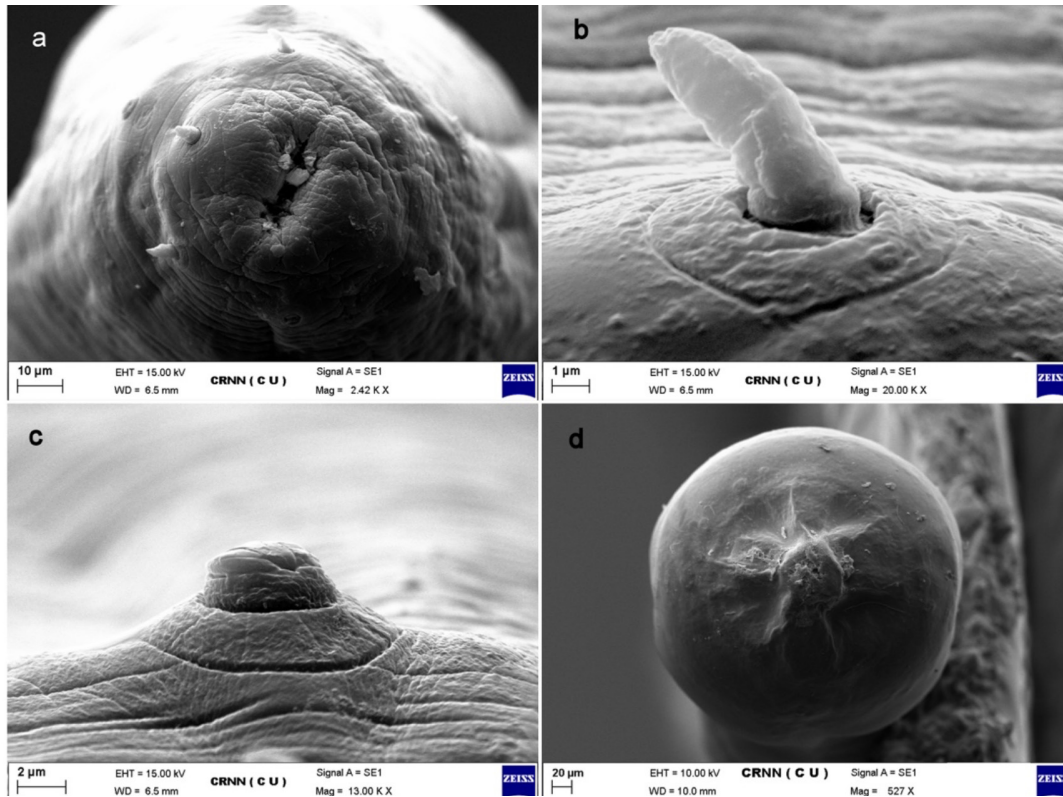
ITS-1, 5.8S, and ITS-2 regions of the nuclear rDNA region were amplified using PCR primers and the lengths of the PCR products was found to be 1090 bp. The analysis further shows that the sequence contains 320 adenine bases, 185 cytosine bases, 297 guanine bases and 288 thymine bases. Thus GC content of the ribosomal RNA molecule has 44.2% and 55.8% AT content. The rRNA gene amplified resulted in a 1090-bp fragment (Figure 3). The sequence was submitted in Genbank under the accession number KJ458967. The consensus sequence analysed by BLAST search gave a 100% identity with *Eustrongylides* sp. 16 XF-2009 (GQ215514), *Eustrongylides* sp. 35 XF-2009 (GQ215533). 99% identity with *Eustrongylides* sp. 74 XF-2009 (GQ215572), *Eustrongylides* sp. 54 XF-2009 (GQ215552), *Eustrongylides* sp. 61 XF-2009 (GQ215559) and *Eustrongylides* sp. 42 XF-2009 (GQ215540). 98.0% with *Eustrongylides* sp. 4 XF-2009 (GQ215502). 97% similarity with *Eustrongylides* sp. 53 XF-2009 (GQ215551), *Eustrongylides* sp.79XF-2009 (GQ215577) and *Eustrongylides excisus* isolate 319/17B12 (GQ215528). Phylogenetic tree constructed using neighbor joining method shows the studied sequence forms a clade with other closely related *Eustrongylides* sp. with bootstrap values ranging from 77-95% (Figure 4). The alignment of the rRNA showed few differences (using Kimura 2 parameters) between the studied sequences, with distances ranging from 0.001% to 0.037% (Table 1).

Fishes acts as either the second intermediate or paratenic hosts (other paratenic hosts may be amphibians and reptiles) harbouring the third and fourth-stage *Eustrongylides* larvae while the definitive hosts are various fish-eating birds. Taxonomic studies depicted that the length, width and length of oesophagus of the larvae were found to be greater than that studied by Moravec et al. (11), Xiong et al. (12), Novakov et

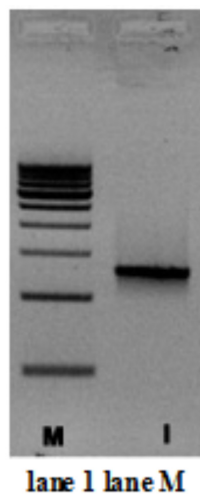


al. (13) however the number, arrangement and shape of the cephalic papillae as well as transverse cuticular striations were found to be similar. The morphometrics of the parasite obtained however correspond to the data provided by Llchtenfels and Pilitt (14). Moravec et al. (11) reported presence of *Eustrongylides* sp. although there was no mention of the stage and neither

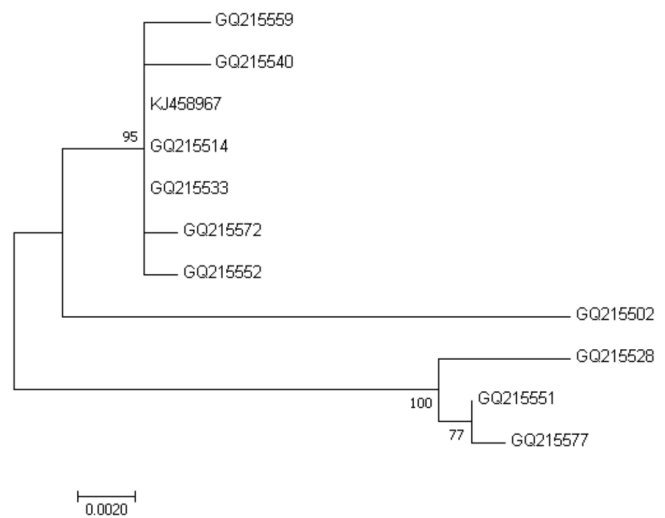
identification upto species level was done. Comparison of the findings of Xiong et al. (12), and Llchtenfels and Pilitt (14), it can be concluded that present nematode appears to be the fourth stage of development as the third stage lacks the round base with cuticular depression. A comparative measurement account of the genus is given in Table 2.



**Figure 2.** Scanning electron microscopic structures of *Eustrongylides* sp. a) Anterior portion of nematode *Eustrongylides* sp. showing the mouth, arrangement of domeshaped and spine shaped papillae (pa) in two circles. Cuticular striations prominent, b) Enlarged portion of spine shaped papillae (pa), c) Enlarged portion of dome shaped papillae (pa), d) Papillae (pa) present in the caudal (ca) region of *Eustrongylides* sp.



**Figure 3.** Nucleotide composition of *Eustrongylides* sp. isolated from *Channa punctata* (KJ458967) and agarose gel electrophoresis showing the PCR amplified product in lane 1 and StepUp™ 500bp DNA ladder in lane M  
PCR: Polymerase chain reaction



**Figure 4.** Phylogenetic tree constructed using neighbor joining method of *Eustrongylides* sp. using ten similar sequences along with representative sequences KJ458967. The numbers associated with the branches represent the bootstrap values

In the present study the SEM showed the details of the arrangement, structure and shape of the inner and outer circle papillae in the cephalic end which corroborates with the study of Xiong et al. (12) and Mazzone et al. (15). Somatic papillae was not detected in the larval stage of the parasite during in the present study which was similar to the observation of Xiong et al. (12) however Mazzone et al. (15) and Gupta (16) have reported the presence the papillae arranged in one row in each lateral field from cephalic to anal end. Sensilla was detected above the cephalic papillae which is similar to the reports of Gupta (16). Many smooth and oblate caudal papillae were observed in the present study, were also reported by Xiong et al. (12) although Gupta (16) did not report any such observations. Differentiation of both third- and fourth stage of *Eustrongylides* sp. collected from fishes were done by both Crites (17); Llchtenfels and Pilitt (14) by scanning electron microscopy which further confirmed the fourth stage of development of the larva isolated in the current study.

Xiong et al. (12) identified the fourth stage larvae of *E. ignotus* and differentiated it from *E. tubifex* and *E. excisus*, Čabrilo et al. (18) first reported *Eustrongylides excisus* Jägerskiöld, 1909 larvae in pike-perch *Sander lucioperca* by light microscopic study only, Gupta (16) reported *E. excisus* from *Channa punctatus* by morphological characters although no molecular characterization neither transmission experiments was performed. Though Measures (19,20) had the opinion that species identification of *Eustrongylides* larvae from fishes is very difficult, unless verified by feeding experiments to bird definitive hosts as interspecific morphological differences are found only in adults.

Further more molecular procedures have played an important role in identification of parasites McManus and Bowles (21). BLAST analysis of the sequence from studied parasite shows high genetic

similarity with *Eustrongylides* sp. compared with similar sequences in Genbank. The analysis carried out on the molecular sequence fragment region confirmed that parasites belong to the species *Eustrongylides* sp. display is 100% identity in the similar gene fragment region as the same nematode was collected by Xiong et al. (22) from different fish species. Thus along with morphometric studies, molecular data confirmed the isolated parasite to be *Eustrongylides* sp. In phylogenetic tree, high bootstrap value of the molecular sequence KJ458967 accounts for the maximum likelihood and the clustering pattern with that of *Eustrongylides* sp. clade. The sequences collected from various fishes worldwide shows high level of similarity which suggests that *Eustrongylides* sp. could form communities of the same species. Xiong et al. (22) reported that phylogenetic analysis of mitochondrial cytochrome oxidase c subunit 1 (*COI*) gene and internal transcribed spacer (ITS) rDNA regions supported the fact that *Eustrongylides* species collected from various fishes were divided into 3 clades. On the basis of ITS divergence it was concluded that clade 1 constitutes cryptic species while clades 2 and 3 might indicate the same species. Mazzone et al. (15) showed that their sequences was grouped in the clade 3 of Xiong et al. (22) was identified as *E. excisus* which was validated by morphological data also. Thus phylogenetic evidence helps in proper identification of larval specimens in addition to morphological data.

### CONCLUSION

The present study characterizes *Eustrongylides* sp. by morphological and molecular techniques on the fish *C. punctata* from West Bengal in details which were not elaborated earlier. Further studies are required for understanding the phylogenetic

**Table 1.** Distance matrix based on nucleotide sequence homology (using Kimura 2 parameters) formed using ten sequences along with sequence KJ458967

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
KJ458967		0	0.001	0.001	0.002	0.001	0	0.004	0.005	0.005
GQ215514	0		0.001	0.001	0.002	0.001	0	0.004	0.005	0.005
GQ215572	0.001	0.001		0.002	0.002	0.002	0.001	0.005	0.005	0.005
GQ215552	0.001	0.001	0.002		0.002	0.002	0.001	0.005	0.005	0.005
GQ215559	0.002	0.002	0.003	0.003		0.002	0.002	0.005	0.005	0.005
GQ215540	0.002	0.002	0.003	0.003	0.005		0.001	0.005	0.005	0.005
GQ215533	0	0	0.001	0.001	0.002	0.002		0.004	0.005	0.005
GQ215502	0.021	0.021	0.022	0.022	0.023	0.023	0.021		0.007	0.007
GQ215551	0.021	0.021	0.022	0.022	0.023	0.023	0.021	0.036		0.001
GQ215577	0.022	0.022	0.023	0.023	0.024	0.024	0.022	0.037	0.001	
GQ215528	0.024	0.024	0.025	0.025	0.027	0.027	0.024	0.04	0.006	0.007

**Table 2.** Comparative chart of morphometric charecters of larval stage of *Eustrongylides* sp. in fishes

Morphometric charecters	<i>Eustrongylides</i> sp. Moravec et al. (11), (mm)	<i>Eustrongylides excisus</i> Čabrilo et al. (18), (mm)	<i>Eustrongylides</i> sp. Present study (mm)
Body length	32-50	27-40	17-20 (0.1375±0.89)
Body width	0.381-0.639	0.2 to 0.35	0.19-0.23 (1.177±0.072)
Buccal cavity	0.095-0.177	0.099	0.060-0.070 (3.467±0.972)
Length of oesophagus	8.704-11.628	2.9-5.0	4.25-6.0 (2.177±1.94)
Nerve ring	0.163-0.258	-	0.086-0.101(3.027±1.52)

position and enriching the fish database for parasites affecting common edible fishes like *C. punctata*.

### \*ACKNOWLEDGMENT

Authors are thankful to the late Prof P.K Bandyopadhyay, Department of Zoology, University of Kalyani, Kalyani for providing the all laboratory facilities during the research period. The authors would also like to thank the Director, Centre for Research of Nanoscience and Nanotechnology (CRNN), University of Calcutta for providing technical support for carrying out the scanning electron microscopy study.

### \*Ethics

**Ethics Committee Approval:** As per CPCSEA instruction's protocol for experimentation on fishes, does not require approval from ethical committee.

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

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

### \*Authorship Contributions

Concept: I.K., Design: D.R.M., I.K., Data Collection or Processing: I.K., Analysis or Interpretation: I.K., Literature Search: D.R.M., Writing: I.K.

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

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

## REFERENCES

- Paperna I. Parasites, infections and diseases of fishes in Africa: An update. RFAO/CIFA Technical Paper No 31; 1996.
- Roberts IS, Janovy J. Gerald D Schmidt and Larry S. Roberts' Foundation of Parasitology. McGraw-Hill International Editions. 6th Edition. Boston; 2000.
- Dawes B. The Trematoda with special reference to British and other European forms. Cambridge University Press, Cambridge: England; 1946. p644.
- Hoffman GL, Bauer ON. Fish parasitology in water reservoirs: A review. In G.E. Hall (ed) Reservoir fisheries and limnology. American Fisheries Society 1971; 56: 78-89.
- Karve JN. Some parasitic nematodes of frogs and toads. Ann Trop Med PH 1930; 24: 481-91.
- Agarwal V. Studies on some nematode parasites of freshwater fishes from Lucknow. Ann Parasitol Hum Comp 1966; 41: 217-37.
- Soota TD. Studies on nematode parasites of Indian vertebrates I. Fishes Rec Zool Surv India Occ Paper 1983; 352.
- Yamaguti S. The Nematodes of vertebrates. In: Systema Helminthum. Volume III. John Wiley and Sons: New York; 1961.
- Moravec F. Parasitic nematodes of freshwater fishes of Europe. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston: London; 1994.
- Anderson RC. Nematode parasites of vertebrates their development and transmission. 2nd Edition. CABI Publishing; 2000.
- Moravec F, Nie P, Wang G. Some nematodes of fishes from central China, with the redescription of *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *fulvidraconis* (Camallanidae). Folia Parasitol (Praha) 2003; 50: 220-30.
- Xiong F, Wang GT, Wu S, Nie P. Development of *Eustrongylides ignotus* (Nematoda: Dioctophmida) in domestic ducks (*Anas Platyrhynchos domestica* L. J Parasitol 2009; 95: 1035-9.
- Novakov N, Bjelic-Cabrilo O, Cirkovic M, Jubojevic D, Lujic J, Davidov I, et als. *Eustrongylidosis* of European catfish (*Silurus glanis*). Bulgarian Journal of Agricultural Science 2013; 19: 72-6.
- Lichtenfels JR, Pilitt PA. *Eustrongylides* sp. (Nematoda: Dioctophymatoidea): Differentiation of third and fourth-Stage larvae from killifish, *Fundulm* sp, collected in Chesapeake Bay Area, U.S.A. Proc Helminthol Soc Wash 1986; 53: 144-8.
- Mazzone A, Caffara M, Gustinelli A, Agnetti F, Sgariglia E, Lo Vaglio G, et al. Morphological and molecular characterization of larval and adult stages of *Eustrongylides exciscus* (Nematoda: Dioctophymatoidea) with histopathological observations. J Parasitol 2019; 105: 882-9.
- Gupta N. Light and scanning electron microscopic studies on *eustrongylides exciscus* larvae (Nematoda: Dioctophmida) from *Channa punctatus* Bloch from India. Pak J Zool 2019; 51: 159-66.
- Crites. Clear Technical Report No. 258, Ohio State University, Center for Lake Erie Area Research, Columbus: Ohio; 1982.p.83.
- Čabrilo OB, Novakov N, Čirković M, Kostić D, Popović E, Aleksić N, et al. The first determination of *Eustrongylides exciscus* Jägerskiöld, 1909- larvae (Nematoda: Dioctophymatidae) in the pike-perch *Sander lucioperca* in Vojvodina (Serbia). Helminthologia 2013; 50: 291-4.
- Measures LN. Revision of the genus *Eustrongylides* Jägerskiöld, 1909 (Nematoda: Dioctophymatoidea) of piscivorous birds. Can J Zool 1988; 66: 885-95.
- Measures LN. The development of *Eustrongylides tubifex* (Nematoda: Dioctophymatoidea) in oligochaetes. J Parasitol 1988b; 74: 294-304.
- McManus DP, Bowles J. Molecular genetic approaches to parasite identification: their value in diagnostic parasitology and systematics. Int J Parasitol 1996; 26: 687-704.
- Xiong F, Li WX, Wu SG, Zou H, Wang GT. Molecular phylogeny and host specificity of the larval *Eustrongylides* (Nematoda: Dioctophmidae) from freshwater fish in China. J Parasitol 2013; 99: 137-44.

# Oküler *Demodex* Kolonizasyonu ile Konjunktival Flora İlişkisinin Araştırılması

## Investigation of the Relationship Between Ocular *Demodex* Colonization and the Conjunctival Flora

✉ Taha Ayyıldız<sup>1</sup>, ✉ Muttalip Çiçek<sup>2</sup>, ✉ Fikriye Milletli Sezgi<sup>3</sup>, ✉ Mevlüt Yılmaz<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bursa Şehir Hastanesi, Göz Hastalıkları Kliniği, Bursa, Türkiye

<sup>2</sup>Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Kırşehir, Türkiye

<sup>3</sup>Amasya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Amasya, Türkiye

<sup>4</sup>Ankara Ulucanlar Göz Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göz Hastalıkları Kliniği, Ankara, Türkiye

Cite this article as: Ayyıldız T, Çiçek M, Milletli Sezgi F, Yılmaz M. Investigation of the Relationship Between Ocular *Demodex* Colonization and the Conjunctival Flora. *Turkiye Parazitoloj Derg* 2022;46(3):219-23.

### Öz

**Amaç:** Bu çalışmada amaç, sağlıklı orta yaş bireylerde oküler *Demodex* kolonizasyonunun konjunktival florada değişime yol açıp açmadığını tespit etmektir.

**Yöntemler:** Çalışmaya, göz hastalıkları kliniğine presbiyopi şikayeti ile başvuran, sistemik ve oküler yakınması olmayan 70 hasta dahil edildi. Çalışmaya alınan bireylerin her iki alt göz kapağından ikişer adet kirpik, steril eküvyonlu çubuk ile alt konjunktival fornixten kültür örneği alındı. Kirpik materyali *Demodex* spp. yönünden direkt nativ yöntem ile lam-lamel arası preparat hazırlanarak mikroskopta incelendi. Konjunktival sürüntü örneklerinin kanlı agar, eozin metilen blue ve çikolata besiyerlerine ekimleri yapıldı.

**Bulgular:** Çalışmaya alınan 70 hastanın kirpik incelemelerinde *Demodex* spp. pozitifliği %38,5 olarak tespit edildi. Saptanan bu oranın, %11,4'ü *Demodex brevis* ve %27,1'i ise *Demodex folliculorum* olarak teşhis edildi. Konjunktival sürüntüsü alınan 70 hastanın %82,9'unda bakteri üredi, en sık görülen bakteri %57 oranında *Staphylococcus epidermidis* idi.

**Sonuç:** Oküler yüzeyde pterjium, göz kuruluğu ve şalazyon gibi hastalıklarla ilişkisi önceki çalışmalarda gösterilen *Demodex* varlığının, sağlıklı erişkinlerde oküler yüzey florasında değişime yol açmadığı tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Demodex*, konjunktival flora, kirpik, *Staphylococcus epidermidis*

### ABSTRACT

**Objective:** this study aimed to determine whether ocular *Demodex* colonization leads to changes in the conjunctival flora in healthy middle-aged individuals.

**Methods:** This study included 70 patients who applied to an ophthalmology clinic with a complaints of presbyopia. Two eyelash specimens from the lower eyelids of both eyes were obtained from each individual. In eyelash specimens were examined for *Demodex* spp. by direct wet smearing under microscopy. Conjunctival culture samples were cultivated on blood agar, eosin methylene blue and chocolate agar.

**Results:** In the 38.5% of the individuals, *Demodex* spp. mites were found in the eyelashes, out of which 11.4% were *Demodex brevis* and 27.1% *Demodex folliculorum*. Bacterial growth was observed in 82.9% of the samples examined. The most frequently detected bacterium was *Staphylococcus epidermidis* (57%).

**Conclusion:** Although *Demodex* spp. infestation has been shown to be related to diseases on ocular surface of eyes such as pterygium, xerophthalmia and chalazion, we did not observe that it induces changes in ocular surface flora in healthy adults.

**Keywords:** *Demodex*, conjunctival flora, eyelash, *Staphylococcus epidermidis*



Geliş Tarihi/Received: 01.02.2022 Kabul Tarihi/Accepted: 10.02.2022

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Muttalip Çiçek, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Kırşehir, Türkiye

Tel/Phone: +90 386 280 25 36 E-Posta/E-mail: muttalipcecek@hotmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0003-4807-4482



## GİRİŞ

*Demodex* spp. ektoparazitleri, Alman dermatolog Simon tarafından 1841 yılında tanımlanmıştır (1). Tüm dünyada insanlarda özellikle yüz bölgesinde yaygın bulunan *Demodex* spp. ile deri kolonizasyonu, genelde doğrudan temasla olabilmektedir. İnsan yüzünde yaşadığı bilinen iki türü (*Demodex brevis* ve *D. folliculorum*) vardır (2,3).

*Demodex folliculorum* 0,3-0,4 mm uzunluğunda olup, kıl foliküllerinde gruplar halinde; *Demodex brevis* ise 0,2-0,3 mm uzunluğunda olup, sebace bez dokularında tek başına yaşamaya eğilim gösterir (4-7). Bu nedenle kirpik numunelerinin analizinde *Demodex folliculorum* 0,3-0,4 mm uzunluğunda olup, kıl foliküllerinde; *Demodex brevis* ise 0,2-0,3 mm uzunluğunda olup, sebace bez dokularında yaşamaya eğilim gösterir (4-7). *Demodex* spp. türlerinin yumurtadan yetişkinliğe uzanan ortalama yaşam süresi 3-4 hafta olup, dişiler yumurtalarını bıraktıktan sonra 5 gün daha yaşayabilir. *Demodex* spp.'ler epidermal deri hücreleri ve sebum ile beslenir, bundan dolayı yaşamak için sebace glandların yoğun olduğu burun, çene ve perioküler alanları tercih ederler (7,8). *D. folliculorum* ve *D. brevis*'in blefarit ve şalazyon ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (8,9).

*Demodex* akarları 16 mm/saat hızla yer değiştirebilirler (1). Özellikle geceleri foliküllerden çıkarak yüz derisinde yüzeysel olarak hareket ederler. Bu sırada gıda kaynağı olan epidermal hücreler ve yağ salgılarını alırlarken deri yüzeyinde bulunan mikroorganizmaları da alarak hareket ettikleri bölgelere transfer edebilirler (2). Normal konjonktival florada en sık saptanan bakteriler; *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Micrococcus* spp. ve *Corynebacterium* spp., zorunlu anaerobik bakteriler arasında en yaygın olanı *Propionibacterium acnes* ve *Peptostreptococcus* spp.'dir (10). *Demodex* spp. ile ilgili çalışmaların çoğunlukla hasta gruplarında prevalans ve olgu üzerine yoğunlaştığı görülmektedir (11-16). Tarafımızca yapılan bu çalışmada, oküler *Demodex* spp. varlığı saptanan sağlıklı bireylerde konjonktival bakteri florasında değişim olup olmadığının araştırılması amaçlandı.

## YÖNTEMLER

Bu çalışma, iyi klinik uygulama ilkeleri Helsinki Kılavuz Bildirgesi uyarınca yapılmış ve Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (10.04.2018/2018-07/61). Bu çalışmada aydınlatılmış onamlar çalışmaya katılan kişilerin kendilerinden alınmıştır. Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Kliniği'ne presbiyopi şikayeti ile başvuran, sistemik ve oküler yakınması olmayan 70 hasta çalışmaya dahil edilmiştir.

*Demodex* spp. varlığı ve türünün saptanması amacıyla her iki göz alt kapağından bir pens ile epilasyon yöntemiyle ikişer adet kirpik alınarak temiz bir lam üzerine kondu ve üzerine serum fizyolojik damlatılıp lamelle kapatıldıktan sonra parazitoloji laboratuvarına getirildi. Örnekler en hızlı şekilde ışık mikroskopunda 4X, 10X, 40X objektiflerinde incelendi, yetişkin formuna bakılarak ilgili literatürler ışığında (17) *D. folliculorum* ve *D. brevis*'in teşhisi yapıldı. Alınan kirpik numunelerinde larva, nimf veya erginine rastlanılması durumunda örnek materyali *Demodex* spp. bakımından pozitif olarak kabul edildi. Aynı zamanda örneklerde bulunan *Demodex*'ler sayıldı. İncelenen örneklerin üzerine 1-2 damla Hoyer (200 g kloralhidrat, 30 g kristalin arap zambkı, 20 ml gliserin, 50 mL saf su) eriyiği damlatılarak preparat haline getirildi.

## Bakteriyel Konjonktival Floranın Belirlenmesi

Hastalardan triptik soy broth besiyeri ile ıslatılmış steril eküvyon çubuk kullanılarak alt konjonktival fornixten alınan sürüntü örnekleri Stuart transport besiyerine aktararak mikrobiyoloji laboratuvarına gönderildi. Örnekler aerobik ve anaerobik olmak üzere işleme alınmıştır. %5 koyun kanlı agar, eozin metilen blue ve çikolata agara ekimleri yapılarak 24-48 saat 35-37 °C'de %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda inkübe edildi. Anaerob kültürler ise anaerob Gaspak sistemi (BD, USA) kullanılarak inkübasyon süresi 5 gün olacak şekilde inkübe edildi. Üreyen kolonilerin tanımlanmasında gram boyama, katalaz, koagülaz, pyrolydonly-beta naphilamide gibi konvansiyonel yöntemler ile birlikte Vitek-2 otomatize sistem (bioMérieux, Fransa) kullanıldı. Antibiyotik duyarlılık testleri Vitek-2 otomatize sistem (bioMérieux, Fransa) ile çalışılarak EUCAST önerileri doğrultusunda değerlendirildi.

## İstatistiksel Analiz

Çalışmada verilerin istatistiksel analizinde SPSS paketinin 15.0 versiyonu kullanıldı. Kategorik veriler, ki-kare testi ile analiz edilerek, sayısal veriler ise ortalama ± standart sapma olarak sunuldu. Sürekli değişkenler için dağılımların normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren veriler (yaş p=0,3) parametrik istatistiksel önemlilik testleri ile karşılaştırılır iken normal dağılım göstermeyen veriler (*Demodex* sayısı p=0,000 ve koloni sayısı p=0,000) non-parametrik testler ile karşılaştırıldı. Grup yaş ortalamaları bağımsız gruplarda t-testi ile *Demodex* sayısı ve koloni sayısı ise Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. Cinsiyet ve kültürde üreme varlığı kategorik değişkenleri ise normal dağılıma uymadığı için (p=0,00) Spearman ki-kare testi ile değerlendirildi. P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

*Demodex* spp. pozitif olan grupta yaş ortalaması 53,44±6,39 yaş iken; *Demodex* spp. negatif olan grupta 50,93±5,58 yaş idi. *Demodex* spp. pozitif olan grubun 16'sı erkek, 11'i kadındı, *Demodex* spp. negatif olan grubun ise 20'si erkek, 23'ü kadındı. İstatistiksel olarak pozitif ve negatif gruplar yaş yönünden Mann-Whitney U testine göre (p=0,08) ve cinsiyete göre Spearman ki-kare testine göre (p=0,21) değerlendirildiğinde anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

Kirpik incelemesinde *Demodex* spp. pozitifliği 70 hastanın %38,5'inde tespit edildi. Bunların %27,1'i *D. folliculorum* %11,4'ü ise *D. brevis* olarak saptandı (Şekil 1). Kirpik incelemesi neticesinde *Demodex* varlığı saptanan 27 kişinin %85,2'sinde kültürde üreme saptandı (Tablo 1) ve ortalama koloni sayısı 20,03±27,31 (0-100 koloni) iken; *Demodex* varlığı saptanmayan 43 kişinin %81,4'ünün kültüründe üreme tespit edildi ve ortalama koloni sayısı 15,56±25, 12 (0-80 koloni) olarak saptandı. Gruplar arası koloni sayısı Mann-Whitney U (p=0,47), kültürde üreme varlığı ise Spearman ki-kare (p=0,58) testi ile değerlendirildi ve gruplar arasında farklılık gözlenmedi.

Çalışmaya alınan 70 kişinin %82,9'unda konjonktival kültür örneklerinde bakteriyel üreme gözlenirken; %17,1'inde üreme olmamıştır. Elli üç örnekte tek bakteri türü ürerken, 5 örnekte 2 bakteri türü birlikte üreme göstermiştir. En sık tespit edilen bakteri türleri, ilk sırada *Staphylococcus epidermidis* (%68,9) ve ikinci sırada ise *Staphylococcus hominis* (%18,9) olmak üzere koagülaz negatif *Staphylococcus* (KNS) idi (Tablo 1). Anaerobik

ortamda üreme olmamıştır. KNS'lerin antibiyotik duyarlılıkları incelendiğinde en yüksek direnç eritromisin (%69,6) ve tetrasikline (%66) karşı saptanmıştır. Metisilin dirençli KNS oranı ise %51,7 olarak bulunmuştur. Diğer antibiyotiklere karşı direnç oranları Tablo 2'de gösterilmiştir.

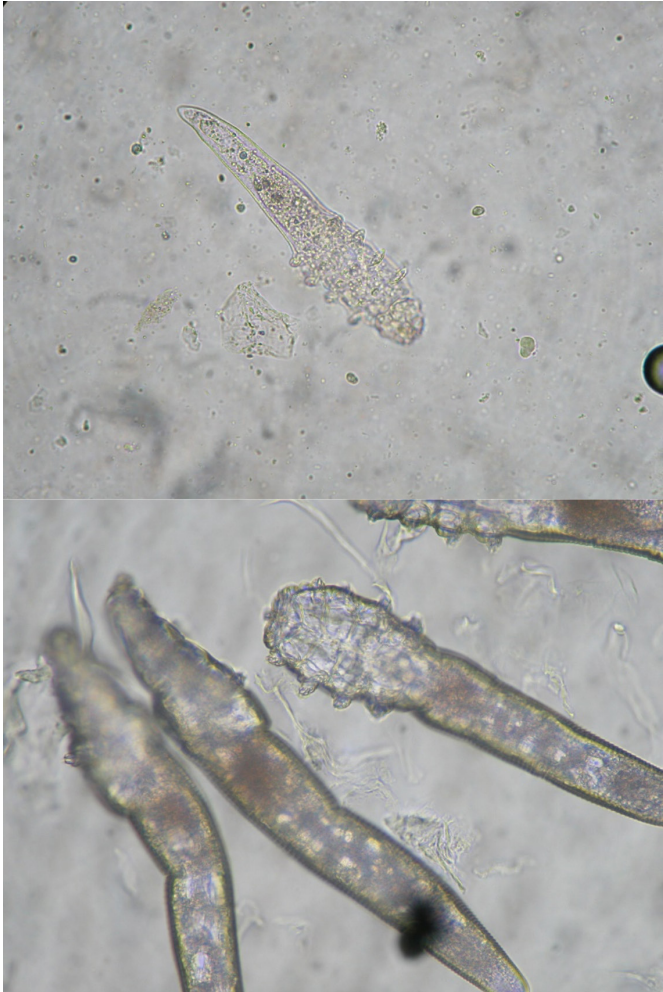
Kültür sonucu bakteri tespit edilen grupta *Demodex* akarı sayısı  $1,29 \pm 2,44$  iken; kültür sonucu bakteri tespit edilmeyen grupta *Demodex* akarı sayısı  $1,51 \pm 3,23$  idi. Bu verilere göre; *Demodex* akarı sayısı ile kültürde bakteri üremesi olanlar ve olmayanlar arasındaki ilişki Mann-Whitney U testi ile kıyaslandığında anlamlı bir ilişkinin olmadığı saptandı ( $p=0,81$ ). Ayrıca tespit edilen *Demodex* sayısı ile kültürde üreyen bakteri koloni sayısı arasında korelasyon yapıldığında ilişkinin anlamlı olmadığı görüldü ( $p=0,07$ ).

## TARTIŞMA

*Demodex* spp. akarları yaşın artmasına paralel olarak perioküler deri ve göz kapaklarında yaygın bir şekilde bulunmaktadır. *D. folliculorum* ve *D. brevis*'in insanlara özgü türler olduğu ve *D. brevis*'in, *D. folliculorum*'a göre insanlarda daha az sıklıkta görüldüğü bildirilmektedir (18,19). Bu çalışmada, kirpik numunesi alınan 70 kişinin, %38,5'inde *Demodex* varlığı saptanmış olup, bunların %27,1'i *D. folliculorum*, %11,4'ü ise *D. brevis* olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda, Behçet hastalığı olan 40 kişinin %60'ının

kirpiklerinde *Demodex* spp. pozitifliği bildirilmiştir (12). Kronik böbrek yetmezliği olan 47 hastasının gözkapığı kirpik folikülünde %12,7 oranında *Demodex* spp. görüldüğü rapor edilmiştir (20). Blefaritli hastaların kirpiklerinin incelendiği bir diğer çalışmada, 96 blefarit hastasının %81,2'sinde *D. folliculorum*, %26'sında ise *D. brevis*'i saptadıklarını belirtmişlerdir (15). Kronik blefaritli 153 olgunun %45,1'inin kirpik foliküllerinde *Demodex* spp. paraziti varlığı tespit edilmiştir (13). Bunlara ek olarak; blefariti olan 170 hastanın %28,8'inde (21), kronik blefaritli 69 hastanın %58,75'inde (14), kronik blefaritli 365 hastanın %72,3'ünde *D. folliculorum*, %0,7'sinde *D. brevis*'i, %27'sinde ise her iki etkenin (22) saptandığı rapor edilmiştir. Yine blefarit, görme bozukluğu ve konjunktivit şikayetleri olan 335 kişi üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise %42,6 oranında *D. folliculorum* tespit edildiği rapor edilmiştir (23). *Demodex* spp. pozitiflik oranı, araştırmalarında blefariti olan ve Behçet hastalığı olan hasta gruplarını seçen çalışmaların çoğuna göre daha düşük oranda tespit edilirken, kronik böbrek yetmezliği grubunu seçen çalışmadan ise yüksek bulunmuştur. Bu hasta gruplarında daha yüksek oranda görülmesinin nedeni, *Demodex* akarlarının blefarit oluşumunda önemli rolünün olmasıyla ve bu araştırmadaki çalışma grubunun presbiyopi şikayeti ile başvuran, sistemik ve oküler yakınması olmayan hastalardan seçilmiş olmasından kaynaklandığı şeklinde yorumlanabilir.

Bu çalışmaya katılan kişilerin yaş aralığı 42-65 yaş arasında tespit edilmiştir. *Demodex* spp. pozitif olan grupta yaş ortalaması  $53,44 \pm 6,39$  yaş iken; *Demodex* spp. negatif olan



**Şekil 1.** X10 büyütmede *Demodex brevis* (1) ve *Demodex folliculorum* (2)

**Tablo 1.** Konjonktival kültür örneklerinde üreyen bakteri türleri ve oranları

Üreyen bakteri türü	Üreme	
	n	%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	40	68,9
<i>Staphylococcus hominis</i>	11	18,9
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	8,5
<i>Bacillus subtilis</i>	2	3,4
<i>Staphylococcus capitis</i>	2	3,4
<i>Kocuria rosea</i>	1	1,7
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	1	1,7
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	1,7

**Tablo 2.** İzole edilen koagülaz negatif *Staphylococcus*'ların antibiyotik direnç oranları

Antibiyotik	Direnç (R) n	%
Metisilin	29	51,7
Gentamisin	9	16
Siprofloksasin	5	8,9
Eritromisin	39	69,6
Klindamisin	24	42,8
Tetrasiklin	37	66
Trimetoprim-sulfametaksazol	-	-
Fusidik asit	31	53,3
Vankomisin	-	-
Linezolid	-	-



grupta ise 50,93±5,58 yaş idi. Yapılan çalışmalarda *Demodex* akarlarının pozitif bulunduğu hasta gruplarında yaş ortalamaları incelendiğinde, yaş ilerledikçe *Demodex* pozitiflik oranının arttığı görülmektedir, bu durum tarafımızca yapılan çalışma ile benzerlik göstermektedir. Aycan ve ark. (24) çeşitli hasta ve yaş gruplarında *Demodex* varlığını karşılaştırmışlar, 20 yaş altı grupta *Demodex* pozitifliğini %20, 20 yaş üstü grupta ise %53,5 olarak bulduklarını belirtmişlerdir. Yazısız ve ark. (25) yüzünde dermatolojik semptomları olan hastalarda *Demodex* akarlarının varlığını araştırmışlar ve *Demodex* pozitif olan grupta yaş ortalamasını 41,9±14,6 olarak saptadıklarını rapor etmişlerdir. Emre ve ark. (12) Behçet hastaları üzerinde yaptıkları çalışmada ise *Demodex* pozitif olan grupta yaş ortalamasını 37,62 olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. Yine Kemal ve ark. (21) blefaritli hasta grubu üzerinde yaptıkları çalışmada ise *Demodex* pozitifliğini 21-30 yaş arasında %26,9, 60 yaş ve üstünde ise %42,9 oranında saptadıklarını rapor etmişlerdir.

Literatüre baktığımızda; Szkaradkiewicz ve ark.'nın (26) yaptığı bir çalışmada, kronik blefariti olan bireylerde *Bacillus oleronius* ve *Demodex* spp. beraber bulunduğu rapor edilmiştir. Lee ve ark.'ları (27) rosacea hastalarında, oküler *Demodex* enfestasyonu varlığı ile serumda *Bacillus* antijenlerine karşı reaksiyon gelişiminin ilişkisinin olduğunu tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada, *Demodex* spp. enfestasyonu ile blefarite neden olan bakterilerin ilişkisi araştırılmış ve hasta kirpiklerinde *Propionibacterium acnes* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerinin insidansının ve koloni sayısının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiş ve kronik blefaritin oluşumunda *D. folliculorum* ve *P. acnes*'in önemli bir rolü olduğu bildirilmiştir (28). İzmir'de yürütülen bir çalışmada, 48 blefaritli olan hastalardan alınan kirpik örneklerinin %29,7'sinde, blefarokonjonktivitli 11 hastanın %9,0'ında *D. folliculorum* tespit edilmiş ve bu hastalardan yapılan kültür örneklerinin beşinde ise *Staphylococcus aureus* üretilmiştir (29). Tarafımızca yapılan bu çalışmada ise kirpik bakışı neticesinde *Demodex* varlığı saptanan 27 kişinin %85,2'sinde bakteri üremesi tespit edildi. *Demodex* pozitif kişilerin kültür örneklerinde, en sık *Staphylococcus epidermidis* ve ikinci sırada ise *Staphylococcus hominis* ürediği belirlendi. Çalışmamızda da bahsedilen araştırmalara benzer olarak *Demodex* saptanan hastalarda bakteri üremiş fakat üreyen bakteri türleri diğer çalışmalardan farklılık göstermiştir. Üreyen bakteri türlerinin farklılık göstermesinin nedeni, hasta gruplarının farklı olması ve ekilen besiyerlerinin farklılığı olarak açıklanabilir.

*Demodex* yükü ve hasta semptomları arasında henüz doğrudan bir ilişki bulunamamıştır, fakat *Demodex* akarı sayısının fazla olduğu hastalarda, akarın etkili tedavisinin yapılmasıyla birlikte dış oküler hastalık belirtilerinin düzeldiği belirtilmektedir (30,31). Semptomatik *Demodex* enfestasyonu muhtemelen dış oküler ekolojideki bir dengesizliği yansıtır (32). Tarafımızca yapılan bu çalışmada, bakteri tespit edilen grupta *Demodex* akarı sayısı ile bakteri tespit edilmeyen grupta *Demodex* akarı sayısı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Sağlıklı bireylerde de oküler *Demodex* kolonizasyonunun gözlenmesi bu ektoparazitin gerçek bir patojen olup olmadığı konusunda uzlaşma oluşmasını engellemiştir (21,32). Ancak yine de *Demodex* ektoparazitinin tek başına gözde yapacağı patolojik etkisi göz ardı edilmemelidir. Semptomatik oküler enfeksiyonuna sebep olan diğer nedenler eradike edildikten sonra, *Demodex*'in etken olarak yorumlanması gerektiği yönünde çalışmalar da mevcuttur (16,27). Ancak, sağlıklı bireylerde oküler

*Demodex* kolonizasyonunun konjonktival flora üzerine etkisini araştıran literatürdeki ilk çalışmayı yaptığımızda anlamlı bir ilişki olmadığını gözlemledik.

## SONUÇ

Oküler *Demodex* varlığının ve *Demodex* akarı sayısının konjonktiva sürüntülerinden üretilen bakteri varlığını ya da koloni sayısını etkilemediği sonucuna varılmıştır. Semptomatik oküler *Demodex* enfestasyonu saptanan kişilerde de oküler floradaki değişimleri araştıran geniş katılımlı, randomize ve uzun süreli çalışmaların yapılması gerektiği kanaatindeyiz.

### \*Etik

**Etik Kurul Onayı:** Bu çalışma, iyi klinik uygulama ilkeleri Helsinki Kılavuz Bildirgesi uyarınca yapılmış ve Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (10.04.2018/2018-07/61).

**Hasta Onayı:** Bu araştırmada aydınlatılmış onamlar çalışmaya katılan kişilerin kendilerinden alınmıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulunda olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

### \*Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: T.A., M.Y., Konsept: T.A., M.Ç., Dizayn: T.A., F.M.S., M.Ç., Veri Toplama veya İşleme: T.A., F.M.S., M.Ç., M.Y., Analiz veya Yorumlama: T.A., F.M.S., M.Ç., M.Y., Literatür Arama: T.A., F.M.S., M.Ç., Yazan: T.A., M.Ç.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

## KAYNAKLAR

- Lacey N, Ni Raghallaigh S, Powell FC. Demodex mites--commensals, parasites or mutualistic organisms? *Dermatology* 2011; 222: 128-30.
- Liu J, Sheha H, Tseng SC. Pathogenic role of Demodex mites in blepharitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010; 10: 505-10.
- English FP, Nutting WB. Demodicosis of ophthalmic concern. *Am J Ophthalmol* 1981; 91: 362-72.
- Lacey N, Kavanagh K, Tseng SC. Under the lash: Demodex mites in human diseases. *Biochem (Lond)* 2009; 31: 2-6.
- Liang L, Ding X, Tseng SC. High prevalence of demodex brevis infestation in chalazia. *Am J Ophthalmol* 2014; 157: 342-8.
- Rufli T, Mumcuoglu Y. The hair follicle mites Demodex folliculorum and Demodex brevis: biology and medical importance. A review. *Dermatologica* 1981; 162: 1-11.
- Nutting WB. Hair follicle mites (Acari:Demodicidae) of man. *Int J Dermatol* 1976; 15: 79-98.
- Luo X, Li J, Chen C, Tseng S, Liang L. Ocular Demodicosis as a Potential Cause of Ocular Surface Inflammation. *Cornea* 2017; 36(Suppl 1): 9-14.
- Yildiz Tas A, Arici C, Mergen B, Sahin A. In Vivo Confocal Microscopy in Blepharitis Patients with Ocular Demodex Infestation. *Ocul Immunol Inflamm* 2021; 1: 1-6.
- Groden LR, Murphy B, Rodnite J, Genvert GI. Lid flora in blepharitis. *Cornea* 1991; 10: 50-3.
- Esenkaya Tasbent F, Dik B. [A dog related Demodex spp. infestation in a student: a rare Demodex case]. *Mikrobiyol Bul* 2018; 52: 214-20.
- Emre S, Aycan OM, Atambay M, Bilak S, Daldal N, Karıncaoglu Y. What is the importance of Demodex folliculorum in Behcet's disease? *Türkiye Parazit Derg* 2009; 33: 158-61.

13. Tanrıverdi C, Demirci G, Balcı Ö, Odabaşı M, Özsütçü M. Investigation of Demodex Parasite Existence in Treatment-Resistant Chronic Blepharitis Cases. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2018; 42: 130-3.
14. Anane S, Anane Touzri R, Malouche N, El Aich F, Beltaief O, Zhioua R, et al. Which is the role of parasites and yeasts in the genesis of chronic blepharitis?. *Pathol Biol* 2007; 55: 323-7.
15. Murphy O, O' Dwyer V, Lloyd-McKernan A. The effect of lid hygiene on the tear film and ocular surface, and the prevalence of Demodex blepharitis in university students. *Cont Lens Anterior Eye* 2020; 43: 159-68.
16. Gao YY, Di Pascuale MA, Li W, Liu DTS, Baradaran-Rafii A, Elizondo A, et al. High prevalence of Demodex in eyelashes with cylindrical dandruff. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46: 3089-94.
17. Desch C, Nutting WB. Demodex folliculorum (Simon) and D. brevis akbulatova of man: redescription and reevaluation. *J Parasitol* 1972; 58: 169-77.
18. Li J, O'Reilly N, Sheha H, Katz R, Raju VK, Kavanagh K, et al. Correlation between ocular Demodex infestation and serum immunoreactivity to Bacillus proteins in patients with Facial rosacea. *Ophthalmology* 2010; 117: 870-7.
19. Biernat MM, Rusiecka-Ziółkowska J, Piątkowska E, Helemejko I, Biernat P, Gościniak G. Occurrence of Demodex species in patients with blepharitis and in healthy individuals: a 10-year observational study. *Jpn J Ophthalmol* 2018 62: 628-33.
20. Özçelik S, Sümer Z, Değerli S, Özyazıcı G, Berksoy Hayta S, Akyol M, ve ark. Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda *Demodex folliculorum* görülme sıklığı. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2007; 31: 66-8.
21. Kemal M, Arıcı ZS, Toker MI, Erdoğan H, Topalkara A, Akbulut M. The prevalence of Demodex folliculorum in blepharitis patients and the normal population. *Ophthalmic Epidemiol* 2005; 12: 287-90.
22. Zeytun E, Karakurt Y. Prevalence and Load of Demodex folliculorum and Demodex brevis (Acari: Demodicidae) in Patients With Chronic Blepharitis in the Province of Erzincan, Turkey. *J Med Entomol* 2019; 56: 2-9.
23. Demirkazık M, Koltas IS. Blepharitis Caused by *Demodex*. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2020; 44: 21-5.
24. Aycan ÖM, Otlu GH, Karaman Ü, Daldal N, Atambay M. [Frequency of the appearance of Demodex sp. in various patient and age groups]. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2007; 31: 115-8.
25. Yazısız H, Cekin Y, Koclar FG. The Presence of *Demodex* Mites in Patients with Dermatologic Symptoms of the Face. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2019; 43: 143-8.
26. Szkaradkiewicz A, Chudzicka-Strugała I, Karpiński T, Goslińska-Pawłowska O, Tułeczka T, Chudzicki W, et al. Bacillus oleronius and Demodex mite infestation in patients with chronic blepharitis. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: 1020-5.
27. Lee SH, Chun YS, Kim JH, Kim ES, Kim JC. The relationship between demodex and ocular discomfort. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 2906-11.
28. Zhu M, Cheng C, Yi H, Lin L, Wu K. Quantitative analysis of the bacteria in blepharitis with Demodex infestation. *Front Microbiol* 2018; 9: 1719.
29. Türk M, Oztürk I, Sener AG, Küçükbay S, Afşar I, Maden A. Comparison of incidence of Demodex folliculorum on the eyelash follicle in normal people and blepharitis patients. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2007; 31: 296-7.
30. Tighe S, Gao Y-Y, Tseng SC. Terpinen-4-ol is the most active ingredient of tea tree oil to kill *Demodex* mites. *Trans Vis Sci Technol* 2013; 2: 2.
31. Ayyıldız T, Yılmaz M, Milletli F, Cicek M. Investigation of the effect of smoking and Schirmer test scores on ocular demodex colonization in healthy middle-aged adults. *Ocul Infect Inflamm* 2018; 2: 2.
32. Pena GP, Andrade Filho JS. Is demodex really non-pathogenic?. *Rev Ins Med Trop Sao Paulo* 2000; 42: 171-3.



# Afyonkarahisar İlinde Bildirilen Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Olgularının Özelliklerinin İncelenmesi

## Investigation of the Characteristics of Crimean Congo Hemorrhagic Fever Cases Reported in Afyonkarahisar Province

✉ Derya Korkmaz, ✉ Petek Konya, ✉ Neşe Demirtürk

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

Cite this article as: Korkmaz D, Konya P, Demirtürk N. Investigation of the Characteristics of Crimean Congo Hemorrhagic Fever Cases Reported in Afyonkarahisar Province. Türkiye Parazitoloj Derg 2022;46(3):224-7.

### Öz

**Amaç:** Kırım Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA); ateş, vücutta yaygın ağrı, karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma ile seyreden; deri, mukozalarda, bazen iç organlarda kanamalara ve ölüme yol açabilen kene kaynaklı bir viral enfeksiyon hastalığıdır. Bu çalışmada, Afyonkarahisar ilinde tanı konulan KKKA olgularının klinik, laboratuvar ve epidemiyolojik özelliklerini retrospektif olarak değerlendirmeyi amaçladık.

**Yöntemler:** Afyonkarahisar ilinde KKKA tanısı alan hastaların demografik ve klinik özellikleri, laboratuvar bulguları, uygulanan tedaviler ve prognozları retrospektif olarak incelenmiştir.

**Bulgular:** Afyonkarahisar ilinde; ülkemizde KKKA'nın ilk kez görüldüğü tarih olan 2002 yılından Kasım 2019 tarihine kadar toplam 35 olgu bildirimi yapıldığı belirlendi. Otuz bir olguda kene tutunması öyküsü saptandı. Kene tutunması olguları en çok Haziran (12 olgu; %34.3) ve Temmuz (9 olgu; %2.9) aylarında görüldü. Yirmi yedi (%77.1) hastada kırsal kesimde yaşama öyküsü, 12 hastada hayvanlarla yakın temas, 4 hastada hayvan kanı ile temas öyküsü mevcuttu. Takip edilen 35 olgunun tamamı şifa ile sonuçlanmış, mortalite görülmemiştir.

**Sonuç:** KKKA, ülkemizde halen önemini koruyan endemik bir hastalıktır. Hastalığın kontrolünde en önemli faktör, bulaşı önlemek için virüs temasını engellemektir. Endemik bölgelerde yaşayan kişiler kene tutunmasına karşı alınması gereken önlemler konusunda bilgilendirilmeli, hastalık hakkında eğitim verilerek farkındalık oluşması sağlanmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Kırım Kongo Kanamalı Ateşi virüsü, Afyonkarahisar, epidemiyoloji, klinik özellikler

### ABSTRACT

**Objective:** Crimean Congo Hemorrhagic Fever (CCHF); fever, widespread pain in the body, deterioration in liver function tests; it is a tick-borne viral infectious disease that can cause bleeding and death in the skin, mucous membranes, and sometimes internal organs. In this study, we retrospectively evaluated the clinical, laboratory, and epidemiological characteristics of CCHF cases diagnosed in Afyonkarahisar.

**Methods:** Demographic and clinical characteristics, laboratory findings, treatments, and prognoses of patients diagnosed with CCHF in Afyonkarahisar were retrospectively analyzed.

**Results:** In Afyonkarahisar, it was determined that 35 case reports were made between 2002 and November 2019, the date when the CCHF was first seen in Turkey. A history of tick attachment was detected in 31 subjects. Tick arrest cases were most common in June (12 cases; 34.3%) and July (9 cases; 2.9%). There was a history of living in rural areas in twenty-seven (77.1%) patients, close contact with animals in 12 patients, and a history of contact with animal blood in 4 patients. All the 35 cases that followed resulted in healing and no mortality was observed.

**Conclusion:** CCHF is an endemic disease that still maintains its importance in our country. The most important factor in the control with the disease is to prevent virus contact to prevent transmission. People living in endemic areas should be informed about the precautions to be taken against tick bites, and awareness should be raised by providing education about the disease.

**Keywords:** Crimean Congo Hemorrhagic Fever virus, Afyonkarahisar, epidemiology, clinical features



Geliş Tarihi/Received: 03.06.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 24.06.2022

**Yazar Adresi/Address for Correspondence:** Derya Korkmaz, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

**Tel/Phone:** +90 506 278 84 68 **E-Posta/E-mail:** drderya@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0001-7236-2164

## GİRİŞ

Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA); ateş, vücutta yaygın ağrı, karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma ile seyreden; deri, mukozalarda, bazen iç organlarda kanamalara ve ölüme yol açabilen kene kaynaklı bir viral enfeksiyon hastalığıdır (1). Hastalığın etkeni; en çok *Hyalomma* cinsi keneler ile bulaşan, *Bunyaviridae* ailesinin *Nairovirus* cinsi, zarflı bir RNA virüsüdür (2). Virüs insanlara infekte kenelerin ısırmasıyla ya da viremik hayvanlara ait kan ve dokulara temas sonucunda bulaşmaktadır. Ayrıca infekte kişilerden nozokomiyal bulaş da olabilmektedir (3). KKKA dünyada viral kanamalı ateşlerin en yaygın olarak görülenlerindedir. Asya, Afrika, Güneydoğu Avrupa ve ülkemizin de içinde bulunduğu 30'dan fazla ülkede halen görülmeye devam etmektedir (4). Ülkemizde hastalık 2002 yılında Tokat ve çevresindeki salgın sonucunda ilk kez dikkati çekmiş, daha sonrasında Karadeniz Bölgesi'nin güneyi, İç ve Doğu Anadolu Bölgeleri'nin kuzey kesimlerinde geniş bir alanda görülmüş, son yıllarda daha önceden hastalığın görülmediği Aydın ve İstanbul gibi illerden de bildirimler yapılmıştır (5,6). Bu çalışmada Afyonkarahisar ilinde tanı konulan KKKA olgularının epidemiyolojik, klinik, laboratuvar ve epidemiyolojik, özelliklerini retrospektif olarak değerlendirmeyi amaçladık.

## YÖNTEMLER

Çalışmamızda; Afyonkarahisar İl Sağlık Müdürlüğü Bilimsel Araştırma Taleplerini Değerlendirme Komisyonu'nun onayı ile Halk Sağlığı Bulaşıcı Hastalıklar Birimi'nde bildirim yapılan hastalara yönelik veri kayıtları retrospektif olarak incelendi. Afyonkarahisar ilinde KKKA tanısı alan hastaların; klinik, laboratuvar ve demografik bulguları, uygulanan tedaviler ve prognozları kayıt edildi.

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 06.12.2019 tarih ve 2019/417 sayılı kararıyla çalışma onayı alındı.

## İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizde; IBM SPSS Statistic 22 versiyon programı kullanıldı. Kategorik verilerin değerlendirilmesinde frekans ve yüzdelikler, nicel verilerde ise ortalama ve standart sapma verildi. Kategorik değişkenlerin arasındaki farklılıkların incelenmesinde ki-kare testinden yararlanıldı.

## BULGULAR

Afyonkarahisar İli Halk Sağlığı Bulaşıcı Hastalıklar Birimi'ne, ülkemizde KKKA'nın ilk kez görüldüğü tarih olan 2002 yılından Kasım 2019 tarihine kadar toplam 35 olgu bildirim yapıldığı belirlendi. İlk olgu 2007 yılında bildirilmiş, 2017 ve 2018 yıllarında KKKA olgusu bildirilmemişti (Şekil 1). En çok olgu İhsaniye ve Dinar ilçelerinde bildirilmişti (Şekil 2).

Olgulardan 23'ü erkek (%65,7), 12'si kadındı (%34,3). Olguların yaş ortalaması ise 37,09±16,68 olarak hesaplandı. Otuz bir olguda (%88,6) kene tutunması öyküsü vardı. Kene tutunma öyküsü olmayan 4 (%11,4) hastada, tanı klinik şüphe ile konulmuştu. Kene tutunması olgularının en çok Haziran (12 olgu; %34,3) ve Temmuz (9 olgu; %2,9) aylarında görüldüğü saptandı. Yalnızca 8 (%22,9) olguda tutunan kene hastane ortamında çıkarılmıştı. Hastaların 20'sinde (%57,1) çiplak elle kene çıkarma, ezme gibi

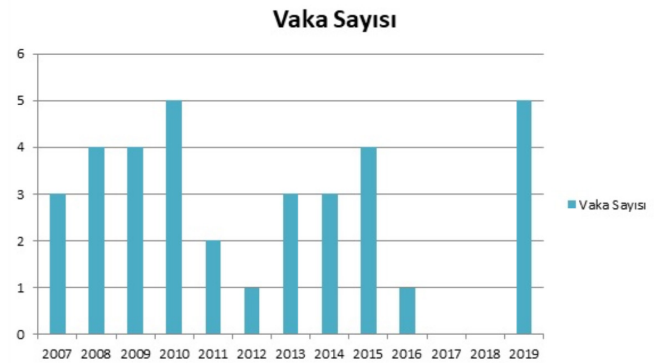
direkt maruziyet mevcuttu. Yirmi yedi (%77,1) hastada kırsal kesimde yaşama öyküsü, 12 (%34,3) hastada hayvanlarla yakın temas, 4 (%11,4) hastada hayvan kanı ile temas öyküsü mevcuttu. Değerlendirilen 35 hastanın 7'sinde (%20) başvuru sırasında ateş yüksekliği tanımlanmamışken, 28 hastada (%80) 38 °C ve üzeri ateş yüksekliği saptanmıştı. Hastalarda en sık saptanan diğer semptomlar baş ağrısı, yaygın vücut ağrısı ve halsizlik olup Tablo 1'de tanımlanan tüm semptomlar gösterilmiştir.

Hastaların laboratuvar bulgularında en sık trombositopeni olduğu görüldü. Yirmi hastada (%57,1) transaminaz yüksekliği mevcuttu. Saptanan tüm laboratuvar bulguları Tablo 1'de özetlenmiştir.

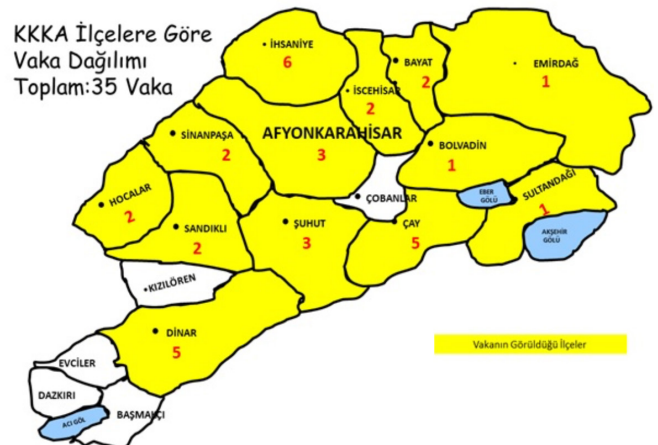
Uygulanan tedavilere bakıldığında; 10 (%28,6) hastaya ribavirin, 4 (%11,4) hastaya trombosit süspanasyonu ve 2 (%5,7) hastaya taze donmuş plazma, 4 (%11,4) hastaya da antibiyotik tedavisi verildiği görüldü. Hastaların tamamı hastaneye yatırılarak izlenmiş ve tümüne destek tedavi uygulanmıştı. Olguların tamamı şifa ile sonuçlandı, mortalite görülmedi.

## TARTIŞMA

KKKA; Türkiye'de endemik olarak görülen, ateş, yaygın miyalji, vücutta döküntüler ve bazen kanama ile seyreden kene kaynaklı, viral bir enfeksiyondur (7). Hastalık bulaşı; *Hyalomma* cinsi infekte kenelerin ısırması sonucu virüsün kan akımına geçmesi ile ya da infekte konakların kan, doku ve vücut sıvılarıyla teması neticesinde olabilmektedir. Hastalık gelişiminde; keçi, sığır, koyun ve yabani hayvanlar rezervuar konumundayken, keneler ise hem



Şekil 1. Hasta sayılarının yıllara göre dağılımı



Şekil 2. Olguların ilçelere göre dağılımı

**Tablo 1.** Hastaların anamnez, fizik muayene ve laboratuvar bulguları

Semptom	Hasta sayısı	%
Baş ağrısı	18	51.4
Yaygın vücut ağrısı	29	82.9
Halsizlik	27	77
İshal	6	17.1
Bulantı-kusma	18	51.4
Karın ağrısı	10	28.6
Kanama*	2	5.7
Ateş yüksekliği	28	80
Vücutta morluklar ekimoz	1	2.9
Döküntü	5	14.3
Bilinç bozukluğu	1	2.9
Hipotansiyon	2	5.7
Taşikardi	3	8.6
Splenomegali	4	11.4
Anemi**	4	11.4
Transaminaz yüksekliği	20	57.1
Lökopeni	20	57.1
Ck yüksekliği	16	45.7
Kreatin yüksekliği	1	2.9
Trombositopeni	23	65.7
LDH yüksekliği	14	40
aPTT uzaması	15	42.9

\*Bir hastada dış eti kanaması, bir hastada melena görüldü. \*\*Hemogloblin değeri erkeklerde 13 gr/dL, kadınlarda ise 12 gr/dL'nin altında ise anemi olarak değerlendirildi. Ck: Kreatin kinaz, LDH: Laktat dehidrogenaz, aPTT: Aktive parsiyel tromboplastin zamanı, AST: 5-40 U/L, ALT: 5-40 U/L, Beyaz kan hücresi: 4,0-10,0 10<sup>3</sup>/uL, Ck: 25-200 U/L, kreatin: 0,5-1,2 mg/L, trombosit: 160-370 10<sup>3</sup>/uL, LDH: 135-225 U/L, aPTT: 23,6-36,1 sn

rezervuar, hem de vektör olarak rol oynamaktadır (8). Ülkemiz, bulunduğu coğrafi kuşak nedeniyle kene enfestasyonlarının tehtidi altındadır. Eser ve Çiçek'in (9) yaptığı çalışmada Mayıs 2008-Nisan 2010 tarihleri arasında Afyonkarahisar yöresinde bulunan kene türleri incelenmiş; koyun, keçi ve sığırlardan 13,660 kene toplanmış; bunların %4,93'ü *Hyalomma marginatum* olarak teşhis edilmiştir. Bu nedenle ilimizde tarım ve hayvancılık ile uğraşan kişilerin özellikle kene temasına karşı gerekli koruyucu önlemleri alması ve bu konuda bilgilendirilerek farkındalığın artırılması gerekmektedir. Bu amaçla Halk Sağlığı Bulaşıcı Hastalıklar Birimi tarafından halka yönelik eğitim çalışmaları yapılmakta, ayrıca bu konuda çeşitli kart ve broşürler dağıtılarak farkındalık oluşturulmaya çalışılmaktadır.

Ülkemizde ilk kez Tokat ve çevresinde gelişen 2002 yılındaki salgında benzer şikayetleri ve laboratuvar bulguları olan hastaların olması ile farkındalık oluşmuş, hastalığın KKKK olduğu 2003 yılında saptanmış ve konuyla ilgili çalışmalar yapılmıştır. Bir form oluşturularak 2004 sörveyansına yılında başlanmıştır (10). Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu verilerine göre 2002-2017 yılları arasında 10,562 olgu bildirilmiş, 501 olgu ölümle sonuçlanmıştır (10). Dünya genelinde olgu ölüm oranı yaklaşık %30 iken, Türkiye'de bu oran yaklaşık %5'tir (1). İlimizde görülen olgularda ölüm bildirilmemesi sevindiricidir.

Hastalık hayvanlarda asemptomatik seyretmekteyken; insanlarda en sık ateş, baş ağrısı, yaygın vücut ağrısı, döküntü gibi bulgular görülür. İshal, kusma gibi gastrointestinal sistem bulguları da bazen görülebilir. Gövde ve ekstremitelerde döküntü ve ekimozlar oluşabilir. Epistaksis, hematemez ve hematüri sıktır (11). Bazen hastalarımızda olduğu gibi melena ve dışeti kanaması da görülebilir.

Laboratuvar sonuçlarında dikkati çeken bulgular lökopeni ve trombositopenidir. Alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz, kreatin kinaz ve bilirubin kandaki yükselişini gamaglutamil transferaz, alkalen fosfotaz, ve laktat dehidrogenaz değerlerindeki yükselme takip eder. Parsiyel tromboplastin zamanı, protrombin zamanı, ve diğer pıhtılaşma testlerinde bozulma görülmektedir. Kanama görülmesi de hemogloblin değerleri düşebilir (12). Çalışmamızda yer alan olguların klinik ve laboratuvar bulguları literatür ile uyumlu idi. Trombositopeni, lökopeni ve transaminaz yüksekliği en sık saptanan laboratuvar bulguları olarak dikkat çekti.

Hastalık için en büyük risk grubu endemik bölgede çalışan, tarım ve hayvancılıkla uğraşan insanlardır (5,6). Diğer bir risk grubu ise bu hasta tanı, tedavi ve bakımında görev alan sağlık çalışanlarıdır (13,14). Sağmak Tartar ve ark. (4) Türkiye'nin doğusunda KKKK tanısı alan 61 olguyu incelemiş, bunların 60'ünün (%98,4) kırsal bölgede yaşayan hastalar olduğunu saptamıştır. Bizim çalışmamızda ise hastaların 27'sinde (%77,1) kırsal kesimde yaşama, 12'sinde (%34,3) hayvanlarla yakın temas öyküsü mevcuttu. Hastalarımızın hiçbirinde nozokomiyal bulaş bildirilmemişti.

Spesifik bir tedavisi olmayan hastalıkta temel yaklaşım destek tedavisidir (13). Gerektiğinde replasman amaçlı kan ürünleri (trombosit süspansiyonu, taze donmuş plazma, tam kan) ve parenteral beslenme desteği sağlanmalı, sıvı-elektrolit dengesi takip edilmelidir. Solunum, dolaşım desteği, gerektiğinde hemodiyaliz sağlanmalıdır (4). Hastalarımızdan ikisine (%5,7) taze donmuş plazma, dördüne (%11,4) trombosit süspansiyonu, 2 hastaya da (%5,7) eritrosit süspansiyonu verildi. Yapılan çalışmalarda tedavide ribavirin kullanımının özellikle hastalığın erken dönemde etkili olduğu bildirilmektedir (6). Bizim çalışmamızda yalnızca 10 hastaya (%28,6) ribavirin tedavisi verilmiştir. Ribavirin tedavisi alan ve almayan hastaların klinik yanıtlarına detaylı olarak ulaşılamadığı için tedavinin etkinliğini değerlendirmek, bu çalışma ile kesin olarak mümkün değildir. Ancak ribavirin alsın ya da almasın hastaların hiçbirinde mortalite bildirilmemiştir. Literatürde de ribavirin kullanımının etkin olduğu kanıtlanmış değildir (15). Bu nedenle RBV etkinliğini araştırılacağı randomize kontrollü çalışmalara gereksinim vardır.

## SONUÇ

KKKK ülkemizde halen önemini koruyan endemik bir hastalıktır. Ülkemizin hemen her bölgesinden bildirilmektedir. Bizim bölgemizde de mevsimsel özellik göstermekte ve sporadik olarak görülmektedir. Özellikle yaz aylarında kene temaslarının ve olgu sayılarının arttığı göz önünde bulundurulmalı, bu dönemlerde şüpheli klinik bulgularla başvuran hastalarda kene teması olup olmadığı sorgulanmalı, bu yönde detaylı muayenesi yapılmalıdır. Kene teması öyküsü olmayan hastalarda ise klinik şüphe durumunda gerekli tetkikler yapılmalıdır. Hastalığın etkin bir tedavisi bilinmemekte, RBV tedavisinin etkinliğinin değerlendirilmesi için yeni verilere ihtiyaç duyulmaktadır. Hastalığın kontrolünde en önemli yol hastalığın bulaşımı dolayısıyla virüs ile teması engellemektir. Endemik bölgelerde

yaşayan kişiler kene tutunmasına karşı alınması gereken önlemler konusunda bilgilendirilmeli, hastalık hakkında eğitim verilerek farkındalık oluşması sağlanmalıdır. Mümkün olduğunca kene ile temas riskinin bulunduğu alanlardan kaçınılması, bu mümkün değil ise uygun kıyafetlerin giyilmesi, pantolonun paçalarının çorabın içine sokulması, kenelerin daha iyi görünmesi için açık renkli giysilerin tercih edilmesi, vücutta kene kontrolü yapılması konusunda eğitilmelidir.

#### \*Etik

**Etik Kurul Onayı:** Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 06.12.2019 tarih ve 2019/417 sayılı kararıyla çalışma onayı alındı.

**Hasta Onayı:** Retrospektif çalışma.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

#### \*Yazarlık Katkıları

Konsept: D.K., P.K., N.D., Dizayn: D.K., P.K., N.D., Veri Toplama veya İşleme: D.K., P.K., N.D., Analiz veya Yorumlama: D.K., P.K., N.D., Literatür Arama: D.K., P.K., N.D., Yazan: D.K., P.K., N.D.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Ser Ö, Çetin H. Kırm Kongo Kanamalı Ateşi'nin güncel durumu. TAF Prev Med Bull 2016; 15: 58-68.
2. Bente DA, Forrester NL, Watts DM, McAuley AJ, Whitehouse CA, Bray M. Crimean-Congo hemorrhagic fever: History, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic 190 diversity. Antiviral Res 2013; 100: 159-89.
3. Ergonul O, Battal I. Potential sexual transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever infection. Jpn J Infect Dis 2014; 67: 137-8.
4. Sağmak Tartar A, Balın ŞÖ, Akbulut A, Demirdağ K. Crimean Congo Hemorrhagic Fever in Eastern Turkey: Epidemiological and Clinical Evaluation. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2019; 43: 26-9.
5. Öngürü P, Bodur H. Kırm Kongo Kanamalı Ateşi. J Exp Clin Med 2012; 29: 175-81.
6. Gök ŞE. Kırm-Kongo Kanamalı Ateşi. Ok Meydanı Tıp Dergisi 2016; 32: 13-9.
7. Torun M. A case of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever disease due to tick bite with long incubation period. Turkish Journal of Clinics and Laboratory 2015; 6: 130-2.
8. Tavşan Ö, Duygu F, Kaya T. Endemik bir bölgede kasım ayında görülen Kırm-Kongo Kanamalı Ateşi olgusu. Klimik Dergisi 2012; 25: 130-2.
9. Eser M, Çiçek H. Studies on tick (*Ixodoidea*) infestation in sheep, goats and cattle in Afyonkarahisar Region. Kocatepe Vet J 2018; 11: 385-93.
10. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. Kırm Kongo Kanamalı Ateşi Erişim adresi: [https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/zoonotik-vektorel-hastaliklar-db/zoonotik-hastaliklar/1-KKKA/7-Sunumlar/KKKA\\_Sunum\\_Hekimlere\\_Ynelik08.04.2020.pdf](https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/zoonotik-vektorel-hastaliklar-db/zoonotik-hastaliklar/1-KKKA/7-Sunumlar/KKKA_Sunum_Hekimlere_Ynelik08.04.2020.pdf) Erişim: 16.04.2021
11. Taşkesen M, Okur N, Taş MA. Kene ısırması nedeniyle başvuran 19 olgunun değerlendirilmesi. Dicle Tıp Dergisi 2008; 35: 110-3.
12. Sayiner HS, Şahin MS, Bıyık M, Selçuk MY, Aksöz S. Adıyaman'da endemik bölgelere seyahat öyküsü olmayan Kırm-Kongo Kanamalı Ateşi olguları. Klimik Dergisi 2017; 30: 142-5.
13. Yapıcı K, Demir C, Karahocagil MK, Uluç HH, Ceylan A, Akdeniz H. Kırm Kongo Kanamalı Ateşi: 12 olgunun değerlendirilmesi. Van Tıp Dergisi 2010; 17: 46-9.
14. Öztürk DB. Türkiye'den bildirilen nozokomiyal Kırm Kongo Kanamalı Ateşi olgularının değerlendirilmesi. Ortadoğu Tıp Dergisi 2019; 11: 322-5.
15. Johnson S, Henschke N, Maayan N, Mills I, Buckley BS, Kakourou A, et al. Ribavirin for treating Crimean Congo haemorrhagic fever. Cochrane Database Syst Rev 2018; 6.



# Hirudinea (Annelida) Fauna of Some Wetlands in Bingöl Province

## Bingöl İlindeki Bazı Sulak Alanların Hirudinea (Annelida) Faunası

✉ Tuba Elaltunkara<sup>1</sup>, ✉ Mustafa Koyun<sup>2</sup>, ✉ Nimetullah Korkut<sup>1</sup>, ✉ Naim Sağlam<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bingöl University Institute of Sciences, Department of Biology, Bingöl, Türkiye

<sup>2</sup>Bilecik Şeyh Edebali University Faculty of Art and Science, Department of Molecular Biology and Genetics, Bilecik, Türkiye

<sup>3</sup>Fırat University Faculty of Fisheries, Department of Aquaculture and Fish Diseases, Elazığ, Türkiye

Cite this article as: Elaltunkara T, Koyun M, Korkut N, Sağlam N. Hirudinea (Annelida) Fauna of Some Wetlands in Bingöl Province. Türkiye Parazitoloj Derg 2022;46(3):228-34.

### ABSTRACT

**Objective:** Leeches are important and reliable indicators of water quality and biodiversity in the ecosystem, so the presence of specific leech species is often closely related to basic water conditions and the presence of certain animals. This study was carried out in 2017 and 2018 in order to determine the Hirudinea fauna of some wetlands in Bingöl province. The investigation was conducted on a total of 13 stations.

**Methods:** The water parameters of the stations were measured and recorded *in situ*. The collected specimens were brought alive to the Zoology Laboratory of Bingöl University Biology Department and kept alive under room temperature conditions. The diagnosis of leech samples was made through the living samples, and they were identified at the level of family, genus, and species.

**Results:** During the study, seven species, belonging to six genera and in four families were recorded. These are; *Hirudo verbana* Carena, 1820, *Glossiphonia complanata* (L. 1758), *Theromyzon tessulatum* (O. F. Müller, 1774), *Placobdella costata* (Fr. Müller, 1846), *Erpobdella octoculata* (L., 1758), *Erpobdella testacea* (Savigny, 1820), *Piscicola geometra* (L., 1761).

**Conclusion:** The locations where the study was carried out are new records for the detected leech species.

**Keywords:** Hirudinea, annelida, fauna, wetland, Bingöl

### ÖZ

**Amaç:** Bu çalışma Bingöl ilindeki bazı sulak alanların Hirudinea faunasını belirlemek amacıyla, 2017 ve 2018 yıllarında iki yıllık arazi çalışması ile gerçekleştirilmiş olup, 13 istasyonda yürütülmüştür.

**Yöntemler:** İstasyonlara ait su parametreleri yerinde ölçülerek kaydedilmiştir. Sülük örnekleri Bingöl Üniversitesi Biyoloji Bölümü Zooloji Laboratuvarı'na canlı olarak getirilip oda sıcaklığı koşullarında çalışma süresince canlı olarak muhafaza edilmiş olup, tür teşhisleri canlı örnekler üzerinden yapılmıştır. Toplanan sülük örneklerinin familya, cins ve tür düzeyinde teşhisleri yapılmıştır.

**Bulgular:** Çalışmada dört familyada altı cinsle ait yedi tür kaydedilmiştir. Bunlar *Erpobdella octoculata* (L., 1758), *Erpobdella testacea* (Savigny, 1822), *Glossiphonia complanata* (L. 1758), *Hirudo verbana* Carena, 1820, *Piscicola geometra* (L., 1761), *Placobdella costata* (Fr. Müller, 1846), *Theromyzon tessulatum* (O. F. Müller, 1774) türleridir.

**Sonuç:** Tespit edilen sülük türleri verilen lokasyonlar için ilk kayıt olmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Hirudinea, annelida, fauna, sulak alan, Bingöl

### INTRODUCTION

Leeches are important indicators for water quality and biodiversity in the ecosystem and are closely related to basic water conditions and the presence of certain animals (1). These creatures are usually annular worms known as ectoparasites that feed on blood sucking. Parasitic leeches can greatly affect the fitness of their hosts depending on environmental conditions

and frequency (2). More than 650 leech species have been identified by now and 15 of them are reported to be used for medicinal purposes (3). Most leeches live in burrows dug into mud at the bottom of fresh water during the hot and dry days of summer. It has been reported that organic pollutants do not harm the leeches, but the increase in acid values of the waters causes a decrease in the leech fauna (4).



Received/Geliş Tarihi: 10.09.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 28.04.2022

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Nimetullah Korkut, Bingöl University Institute of Sciences, Department of Biology, Bingöl, Türkiye  
Phone/Tel: +90 534 473 66 21 E-mail/E-Posta: nkorkut@bingol.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0002-6016-0028

Parasitic leeches have economic importance as they are used in the treatment of some diseases. It is known that leeches collected for medical purposes have been exported and become commercial products. For these reasons, *H. medicinalis* was classified as Endangered in Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES) according to the International Union for Conservation of Nature (IUCN) an international convention and it was taken under protection.

Wells and Coombes (5) reported that little is known about medicinal leeches in European and eastern Mediterranean countries. Kasperek (6) emphasized that although the country of origin of medicinal leeches is defined as Türkiye, almost no information is available. Over twenty-five years after Kasperek (6), many studies have been carried out and many new records have been identified, including two new species.

Species recorded for Turkish leech fauna are; *Actinobdella* sp., *Alboglossiphonia heteroclite*, *Batrachobdella euxina*, *Cystobranchnus respirans*, *Dina lineata*, *Dina lineata lineata*, *Dina lineata concolor*, *Dina stschegolewi*, *Dina vignai*, *Erpobdella octoculata*, *Erpobdella vilnensis*, *Erpobdella testacea*, *Glossiphonia complanata*, *Haemopsis sanguisuga*, *Haementaria costata*, *Helobdella stagnalis*, *Hemiclepsis marginata*, *Hirudo medicinalis*, *Hirudo sulukii*, *Hirudo verbana*, *Limnatis nilotica*, *Limnatis paluda*, *Piscicola geometra*, *Placobdella costata*, *Nephelopsis obscura*, *Trachellobdella torquate*, *Theromyzon tessulatum* and *Trocheta* sp.. Among these species, the species known as medicinal leeches and used for this purpose are *H. medicinalis*, *H. verbana* and *H. sulukii*.

Considering these studies in the Turkish leech literature, the absence of any study on the leech fauna of Bingöl necessitated a study in Bingöl, which has an important place in the Eastern Anatolia region with its wetlands.

## METHODS

### Study Area

The study was carried out in 2017 (June, July, August, September) and 2018 (April, May, June, July, August, September)

to determine the Hirudinea fauna of some wetlands in Bingöl province and was carried out in a total of 13 stations (Figure 1). The water parameters of the stations were measured and recorded on-site using AZ 8361 conductivity meters and AZ 8685 pH meters, and the coordinates of the stations were determined by GPS. The sampling stations and various data of these stations are presented in the table below (Table 1).

### Collection and Preservation of Leeches

The samples were collected from the stations in monthly periods. The leech samples were classified according to family, genus and species categories, the collected samples were kept alive in plastic bottles, and their diagnosis was made on these live samples. The metric and meristic measurements of the morphological features of the leech samples were recorded. In order to determine the biological diversity of the leech fauna of Bingöl province, 4 samples from different species belonging to each station were stored in 70% alcohol. No leeches were killed except for 4 samples from each station in the sample stock operations. Ethics committee approval was obtained from Bingöl University Local Ethics Committee for this study (with the meeting numbered 2017/06, dated 09/06/2017, and decision numbered 06/04).

### Diagnosing of Leeches

Identification of the samples was made under the Olympus SZ51 stereo binocular microscope in the Bingöl University Research Laboratory, using Sawyer (7), Elliott and Mann (8), Sládeček and Košel (9), Davies (10), Neubert and Nesemann (11) and Sağlam (12).

### Statistical Analysis

IBM SPSS 25 statistical software was used to determine the relationship of leech diversity and populations with Altitude, Water Temperature, pH and Electrical Conductivity.

## RESULTS

During the study, a total of 525 samples were collected from the study area and as a result of the identification of the samples, 7



**Figure 1.** Study area (marked with red points)

**Table 1.** Locations of the stations and water parameters

N	Stations	Latitude	Longitude	Altitude (m)	WT (°C)	pH	EC (µS/cm)
S1	Adaklı-Karaçubuk	39° 11'27.38"N	40° 29'27.59"E	1436	24.1±2.0	7.6±1.6	203.8±74.52
S2	Sarıççek	38° 53'22.55"N	40° 34'15.74"E	1028	20.8±2.3	9.3±0.4	401.5±11.9
S3	Çobantaşı	39° 03'10.81"N	40° 47'40.56"E	1484	25.9±6.8	9.6±3.1	280.0±68.0
S4	Alatepe	39° 03'05.71"N	40° 46'22.78"E	1382	24.5±8.0	9.1±3.4	298.0±60.2
S5	Arıcılar Hamlet 1	39° 03'26.83"N	40° 17'28.22"E	1653	24.6±4.6	9.0±3.2	215.5±31.1
S6	Arıcılar Hamlet 2	39° 03'24.59"N	40° 17'27.70"E	1648	22.9±4.4	4.8±0.3	193.4±23.0
S7	Arıcılar Hamlet 3	39° 03'23.35"N	40° 17'28.10"E	1644	21.9±3.1	5.4±0.5	274.2±53.5
S8	Arıcılar Hamlet 4	39° 03'21.77"N	40° 17'28.18"E	1641	17.7±5.7	5.5±0.4	381.7±151.4
S9	Arıcılar Hamlet 5	39° 03'35.22"N	40° 17'21.75"E	1652	23.5±0.0	5.3±0.0	338.0±0.0
S10	Göynük stream	38° 58'26.41"N	40° 40'36.85"E	1131	-	-	-
S11	Yamaç	38° 47'36.07"N	40° 26'12.71"E	1669	-	-	-
S12	Garip	38° 46'38.86"N	40° 33'35.80"E	997	-	-	-
S13	Soğukçeşme	39° 03'20.50"N	40° 47'52.32"E	1499	21.1±0.0	5.1±0.0	273.0±0.0

WT: Water temperature, EC: Electrical conductivity

species belonging to 6 genera in 4 families were recorded. Identified species are *Hirudo verbana* (Carena, 1820) from Hirudinidae, *Glossiphonia complanata* (L. 1758), *Theromyzon tessulatum* (Müller, 1774), *Placobdella costata* (Müller, 1846) from Glossiphonidae, *Erpobdella octoculata* (L. 1758), *Erpobdella testacea* (Savigny, 1822) from Erpobdellidae, and *Piscicola geometra* (L., 1761) from the family Piscicolidae (Table 2).

*H. verbana* was found in 10 stations (minimum: 8 ind., maximum: 95 ind., mean: 33.8±25.5 ind.), and Adaklı-Karaçubuk (S1) is the richest among these localities in terms of the number of individuals belonging to *H. verbana* with a total of 95 individuals. In terms of biodiversity, Çobantaşı (S3) and Arıcılar Hamlet 1 (S5) are the richest, because 7 different leech species were recorded together in these locations. The station with the highest leech population is Çobantaşı (S3) with a total of 119 individuals. The poorest localities in terms of biodiversity are the 9<sup>th</sup>, 10<sup>th</sup>, 11<sup>th</sup>, 12<sup>th</sup> and 13<sup>th</sup> localities where only one species is found. The species identified in the study areas are given in Table 2 according to their localities.

The most common species was *H. verbana* collected from 10 locations and then *E. octoculata* from 7 stations. *E. testacea* and *P. costata* collected from 4 stations, *T. tessulatum* from 3 stations, *G. complanata* from 2 stations, *P. geometra* from 1 station, respectively. In addition, seven of the eight recorded leech species were found in Çobantaşı (S3) and Arıcılar Hamlet 1 (S5) stations,

because these ponds never dried up and so these stations were visited regularly.

In the summer of 2018, one of the two small ponds in Alatepe Village was filled with soil by the landowner, and no sampling could be made from here after July, and this leech habitat was also completely destroyed. In Karaçubuk Pond, it has been observed that the leech fauna can survive with the small amount of water remaining in the deepest area of the lake towards the end of August every year.

Spearman's rho correlation analysis was performed to test the direction and strength of the relationship between water quality values and the detected species. According to this, it was observed that there was a positive and strong correlation between pH values and biological diversity ( $r=0.758$ ,  $p<0.05$ ), a positive and strong correlation between water temperature and the total number of leeches ( $r=0.673$ ,  $p<0.05$ ). In other words, it has been observed that as the pH value increases, the biological diversity increases, and as the water temperature increases, the amount of leech collected increases.

Furthermore, it was found to be a positive and strong relationship between *H. verbana* ( $r=0.721$ ,  $p<0.05$ ), *E. octoculata* ( $r=0.857$ ,  $p<0.05$ ), biodiversity ( $r=0.879$ ,  $p<0.01$ ) and total leech count. In other words, as *H. verbana*, *E. octoculata* and biodiversity in the station increase, the total number of leeches increases as expected (Table 2).

**Table 2.** Leech species for stations

Species/stations	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	Total
<i>H. verbana</i>	95	18	39	35	17	40	49	27	8		10			338
<i>G. complanata</i>			40		23									63
<i>T. tessulatum</i>	1		6		1									8
<i>P. costata</i>			14		9							1	1	25
<i>E. octoculata</i>	12	2	17	8	21	11	10							81
<i>E. testacea</i>		1	3		1			4						9
<i>P. geometra</i>										1				1
Total	108	21	119	43	72	51	59	31	8	1	10	1	1	525

## DISCUSSION

There are many studies on Turkish freshwater leeches and the studies with similar results with the species obtained in our study are listed in the table below (Table 3).

Until recently, *H. verbana* was known as a variation of *H. medicinalis* belonging to the same genus *Hirudo*, which had different colors and patterns. These two *Hirudo* species have been confused with each other for years, but in recent years, detailed studies have

**Table 3.** Similar studies on leeches from freshwaters in Türkiye

Author	Location	Results
Geldiay and Tareen (13)	Gölcük Lake	<i>H. stagnalis</i> , <i>P. geometra</i> , <i>H. medicinalis</i> , <i>E. octoculata</i> and <i>E. testacea</i>
Sağlam (14)	Elazığ	<i>P. geometra</i> , <i>Actinobdella</i> sp.
Ustaoglu et al. (15)	Izmir Tahtali Dam Basin	<i>H. costata</i> , <i>H. marginata</i> , <i>H. stagnalis</i> , <i>G. complanata</i> , <i>H. sanguisuga</i> and <i>E. octoculata</i>
Balık et al. (16)	North Aegean	<i>H. stagnalis</i> and <i>E. octoculata</i>
Neubert and Neesemann (11)	Türkiye, Anatolia	<i>G. nebulosa</i> , <i>P. costata</i> , <i>B. euxina</i> , <i>A. heteroclita</i> , <i>C. respirans</i> , <i>P. geometra</i> , <i>H. sanguisuga</i> , <i>H. verbana</i> , <i>L. paluda</i> , <i>E. octoculata</i> , <i>T. vigni</i> , <i>Trocheta</i> sp., <i>D. lineata lineata</i> , <i>D. lineata concolor</i> , <i>D. stschegolewi</i>
Sağlam (17)	Discharge channels in Elazığ	<i>P. costata</i>
Ustaoglu et al. (18)	Gediz Basin	<i>H. stagnalis</i> , <i>G. complanata</i> , <i>H. medicinalis</i> , <i>H. sanguisuga</i> , <i>D. lineata</i> , <i>E. octoculata</i>
Balık et al. (19)	Bozalan Lake (İzmir)	<i>H. verbana</i> , <i>D. lineata</i>
Özbek and Sarı (20)	West Blacksea (Thirteen lakes)	<i>G. complanata</i> , <i>P. costata</i> , <i>H. marginata</i> , <i>H. stagnalis</i> , <i>T. tessulatum</i> , <i>H. medicinalis</i> , <i>H. verbana</i> , <i>E. octoculata</i> , <i>D. lineata</i>
Özbek et al. (21)	Western Taurus Mountains	<i>D. lineata</i> , <i>E. octoculata</i> , <i>T. bykowskii</i> , <i>G. complanata</i> , <i>H. stagnalis</i> , <i>T. tessulatum</i> , <i>H. medicinalis</i>
Odabaşı et al. (22)	Biga Peninsula	<i>H. medicinalis</i> , <i>D. lineata</i> , <i>P. costata</i> , <i>E. octoculata</i> , <i>G. complanata</i> , <i>H. stagnalis</i> and <i>P. geometra</i>
Arslan and Emiroğlu (23)	Lake Uluabat	<i>P. geometra</i>
Ceylan et al. (24)	Lake Uluabat	<i>P. geometra</i>
Koyun (25)	Murat River (Bingöl)	<i>P. geometra</i>
Sağlam (26)	Samsun (Nine Lakes)	<i>H. verbana</i> , <i>H. medicinalis</i>
Arslan and Öktener (27)	Türkiye (Checklist)	<i>P. geometra</i> /13 different species of freshwater fish in Türkiye
Ceylan et al. (28)	Experimental	The reproduction of the medicinal leech <i>H. verbana</i>
Kazancı et al. (29)	Yedigöller, Yeşilirmak, Büyük Menderes, Karadut, Karamuk	<i>H. stagnalis</i> , <i>E. octoculata</i> , <i>E. testacea</i> , <i>E. vilnensis</i> , <i>H. sanguisuga</i> , <i>H. verbana</i> , <i>D. stschegolewi</i> , <i>L. nilotica</i>
Koyun et al. (30)	Dumlu and Göynük Stream	<i>P. geometra</i>
Sağlam et al. (31)	Elazığ, Bursa, Samsun, Adıyaman, Gaziantep and Batman	<i>H. verbana</i> , <i>H. sulukii</i> /new species
Ceylan and Çetinkaya (32)	Lake Eğirdir	Ecology and population size of <i>H. verbana</i>
Özkan (33)	Tunca River	Colonization of <i>E. octoculata</i>
Sağlam et al. (34)	Akpınar Marsh, Eastern Anatolia	Effect of Water Quality on <i>H. verbana</i>
Kaçmaz (35)	Edirne	<i>H. sanguisuga</i> , <i>H. verbana</i> , <i>L. nilotica</i> , <i>E. octoculata</i> , <i>Erpobdella</i> sp. <i>P. costata</i>
Sağlam et al. (36)	Balıkesir	Detailed ultrastructure of the <i>H. verbana</i> salivary gland
Uğural and Serezli (37)	Lake Yay	Breeding patterns of <i>H. verbana</i>
Ayhan et al. (38)	Güdül, Ankara	Morphology of <i>H. verbana</i>
Ceylan and Çetinkaya (39)	Lake Eğirdir	Size and structure of <i>H. verbana</i> populations
Ceylan et al. (40)	Lake Eğirdir	<i>H. verbana</i> , <i>H. sanguisuga</i> , <i>T. tessulatum</i> , <i>P. costata</i> , <i>H. stagnalis</i> , <i>H. marginata</i> , <i>E. octoculata</i> and <i>Trocheta</i> sp.
Elaltunkara et al. 2022	Bingöl (Present study)	<i>H. verbana</i> , <i>G. complanata</i> , <i>T. tessulatum</i> , <i>P. costata</i> , <i>E. octoculata</i> , <i>E. testacea</i> , <i>P. geometra</i>



shown that *H. verbana* is not different variation of *H. medicinalis* on the contrary it is a completely different species (31,41,42).

*H. verbana* is distributed in the Balkans, Greece, Bulgaria, Hungary, Austria, and Eastern Mediterranean Countries (11,43). It has been reported in different studies that *H. verbana* is found in different aquatic habitats in the North, West and Northwest of Anatolia such as Kızılırmak and Yeşilirmak Basin, Işıklı Lake (Denizli), Karamuk Marsh Lake (29), Eğirdir Lake (39), Bozalan Lake (İzmir) (19), Poyrazlar (Sakarya) (20), Çernek, Gıcı, Tatlı, Balık, Uzungöl, Ladik Lakes (Samsun) and Uzun Lake (Trabzon) (26,34) (Table 3).

It is seen that *H. verbana* can adapt to different water sources and has a wide ecological tolerance (11,44). It is reported that *H. verbana* can live on land as well as in water if there is sufficient moisture to don't dry out (41). The incidence of *H. verbana* in 10 of the 13 study areas is consistent with the data on its prevalence and density.

*G. complanata* is relatively common in much of Europe and parts of Eurasia, and as part of a historical misunderstanding, North America. This species is one of the most common leeches in freshwater and is usually rarely found on a muddy substrate and mainly on stones and macrophytes (45).

The distribution of *T. tessellatum* in the world is not clear, but it is reported as the Holarctic region. It has been reported that *T. tessellatum* is found in stagnant wet areas on the migration routes of birds, especially attaches to wild ducks and geese, and it sucks blood from the cheek and nasal mucous membranes of these birds (8,11). In this way, it is reported that *T. tessellatum* is transported between water sources by means of water birds (7,8). Due to the lack of studies on the ecological characteristics of *T. tessellatum*, it is thought that some physico-chemical parameters measured in the field will partially help to overcome this deficiency.

*P. costata* is a common species in the Mediterranean, and is thought to be a vector of haemogregarine blood parasites in turtles. An ectoparasitic association with the turtle species was also noted in Tunisia, Algeria, Morocco, Iran, Spain (2).

Erpobdellid leeches are known as macrophagotic predators of aquatic invertebrates. *E. octoculata* is one of the most common leech species in fresh waters, and it is known as stone leech, which usually lives under stones in slow-flowing lotic habitats (8).

Most of the parasitic annelid species are associated with freshwater fish (53%). The remainder is associated with marine fish (39%), brackish water fish (4%) and aquarium fish (4%) (27). *P. geometra* is a member of the Piscicolidae and lives as an ectoparasite on freshwater fish. While it feeds by sucking the blood of its host, it is mostly seen in and around the gills where the skin is thin, at the bottom of the fins and around the mouth. It can be found solitarily under stones in the water floor and freely on aquatic macrophytes (46).

Almost all of the leech species need similar ecological conditions. Leeches living as ectoparasites prefer places where aquatic plants are abundant in the environment so that they can approach the host where they can feed unbeknownst. Places where aquatic plants are dense allow leeches to both hide and easily reach their hosts. Considering the physical conditions of the stations in the study, the summer pH average of Çobantaşı (S3) and Arıcılar

Hamlet-1 (S5) locations, which have the highest number of species, was measured as  $9.6\pm 3.1$  for Çobantaşı and  $9.0\pm 3.2$  for Arıcılar Hamlet-1. Especially in Çobantaşı wetland, the continuous feeding of the pond with a source ensures that the water quality remains constant, and as it can be understood from these values, the water quality of the study area shows usable characteristics. It has been observed that the small pond in "Arıcılar Hamlet-1" is fed from the bottom, even a little. Because of both stations are fed from the source shows that the water is good in terms of both temperature and oxygen. The fact that almost all the leech species recorded in the study were found in these two stations proves that leech biodiversity is related to water quality.

While the water level was sufficient in the spring in all the locations where the sampling was taken, the wetland areas became muddy after the middle of summer, especially at Karaçubuk and Alatepe stations between May and July. It has been observed that these ponds increase with the snow waters coming from the mountains in the spring, but later on, the branches flowing into these lakes dry up. The preference of these ponds for agricultural irrigation, their use for water needs of animals, and excessive evaporation cause the water in the wetland to decrease earlier or partially dry out.

Most leech species appear most abundant at pH 7.0 because pH values in the 6.0-7.0 range likely have abundant prey. It will therefore have an indirect effect on the formation and abundance of leeches. Some species have been found at pH values as low as 4.0. In a study conducted at University of Port Harcourt, Abuja (Nigeria), *H. costata*, *H. sanguisuga*, *H. medicinalis* and *E. octoculata* species were reported in fresh water with pH 4.40-4.58 (47). Like our study, it has been reported that *Hirudo* and *Erpobdella* species can survive even at very low pH levels.

Although leeches cannot be considered as the only parameter in water quality studies due to their wide ecological tolerance, it is seen that Hirudinea members are used in water quality evaluations (48). Thanks to these data, it can be said that the water resources in the locations where *H. verbana* was recorded are usable in terms of water quality parameters.

## CONCLUSION

It was aimed to detect leech species in a total of 13 locations within the borders of the province of Bingöl, which is located in the Eastern Anatolia Region. The detected leech species are the first record for the given locations.

## ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by the project numbered BAP-FEF.2017.00.014, Bingöl University Scientific Research Projects Coordination Unit.

## \*Ethics

**Ethics Committee Approval:** Ethics committee approval was obtained from Bingöl University Local Ethics Committee for this study (with the meeting numbered 2017/06, dated 09/06/2017, and decision numbered 06/04).

**Informed Consent:** This was not required.

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

**\*Authorship Contributions**

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

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

**Financial Disclosure:** It was supported by the Scientific Research Projects Coordination Unit of Bingöl University with the project numbered BAP-FEF.2017.00.014.

**REFERENCES**

- Moser WE, Govedich FR, Klemm D. Annelida, Euhirudinea (leeches). In: Encyclopedia of Inland Waters. Oxford, UK : G.E. Likens, editor. Elsevier Ltd. 2009.p.116-23.
- Laghzaoui EM, Abbad A, El Mouden E. Host-parasite association of *Placobdella costata* (Glossiphoniidae: Hirudinea) and *Mauremys leprosa* (Geoemydidae: Testudinoidea) in aquatic ecosystems of Morocco. Parasitol Res 2020; 119: 3459-67.
- Sket B, and Trontelj P. Global diversity of leeches (Hirudinea) in freshwater. In: Balian EV, Lévêque C, Segers H, Martens K, editors. Freshwater Animal Diversity Assessment. Developments in Hydrobiology; Springer: Dordrecht; 2007.
- Sağlam N. Sülük biyolojisi ve yetiştirme teknikleri. Ticari Balık Türlerinin Biyolojisi ve Yetiştirme Teknikleri Hizmet İçi Eğitim Semineri. Ankara: Tarım ve Köy işleri Bakanlığı, Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü, Su Ürünleri Daire Başkanlığı 2000.p.51-6.
- Wells S, Coombes W. The status of and trade in the medicinal leech. Traffic Bull 1987; 8: 64-9.
- Kasperek M. Zum Handel und Populationsstatus des Medizinischen Blutegels (*Hirudo medicinalis*) in der Türkei. Germany: Unpubl. Report to Bundesamt für Naturschutz (German Scientific CITES Authority), 1994.
- Sawyer RT. North American freshwater leeches, exclusive of the Piscicolidae, with a key to all species 46. Urbana: University of Illinois Press; 1972.
- Elliott JM, Mann KH. A key to the British freshwater leeches with notes on their life cycles and ecology. Cumbria : Hyperion Books, Freshwater Biol. Assoc. Sci. Publ 1979; 40: 1-72.
- Sládeček V, Košel V. Indicator value of freshwater leeches (Hirudinea) with a key to the determination of European Species. 5, s.l. : Acta Hydrochimica et Hydrobiologica 1984; 12: 451-61.
- Davies RW. Annelida: Leeches, Polychaetes and Acanthobdellids. In: Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates (Thorp JH, AP Covich AP, editors). New York: Academic Press; 1991.p.437-79.
- Neubert E, Neesemann H. Annelida, Clitellata: Branchiobdellida, Acanthobdellea, Hirudinea. Berlin : 6/2.Spektrum Akademischer Verlag 1999.p.176.
- Sağlam N. Tatlı su ve deniz sülükleri teşhis anahtarı. Elazığ: Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Fırat Üniversitesi Basım Evi; 2004.
- Geldiay R, Tareen IU. Bottom fauna of Gölçük Lake. 1. Population Study of Chironomids, Chaoborus and Oligochaeta. İzmir : E.Ü.F.F. İlimi Raporlar Serisi 1972; 137: 15.
- Sağlam N. Investigation of external parasites on fish caught in Lake Keban. Elazığ: Fırat University 1992.p.50.
- Ustaoglu MR, Balık S, Sarı HM, Özbek M. Tahtalı Baraj havzasının (Gümüldür-İzmir) Hirudinea faunası. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi 1998; 15: 111-6.
- Balık S, Ustaoglu MR, Sarı HM. Kuzey Ege Bölgesi'ndeki akarsuların faunası üzerine ilk gözlemler. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi 1999; 16: 289-99.
- Sağlam N. First record of the leech *Placobdella costata* (Hirudinoidea: Glossiphoniidae) in Turkey. Zoology in the Middle East 2001; 23: 113-8.
- Ustaoglu MR, Balık S, Özbek M, Sarı HM. The freshwater leeches (Annelida-Hirudinea) of the Gediz catchment area (Izmir region). Zoology in the Middle East 2003; 29: 118-20.
- Balık S, Ustaoglu MR, Sarı HM, Özdemir Mis D, Aygen C, Taşdemir A, ve ark. Bozalan Gölü'nün (Menemen-İzmir) biyolojik çeşitliliği hakkında bir ön araştırma. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi 2006; 23: 291-4.
- Özbek M, Sarı HM. Batı Karadeniz Bölgesi'ndeki bazı göllerin Hirudinea (Annelida) faunası. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi 2007; 1-2: 83-8.
- Özbek M, Balık S, Ustaoglu MR. Batı Toros Dağları Üzerindeki Göllerin Hirudinea (Annelida) Faunası. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi 2008; 25: 315-7.
- Odabaşı DA, Sağır Odabaşı S, Akbulut M, Aşçıbaşı P, Bayrak GS, BAL D, Uluhan T. Biga Yarımadası Akarsularındaki Sülük Faunası (Hirudinea-Annelida) ve Dağılımı. Çanakkale : X. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi 2011.p.297.
- Arslan N, Emiroğlu Ö. First record of parasitic annelida-hirudinea (*Piscicola geometra* Linnaeus, 1761) on *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) in Lake Uluabat (Turkey). Kafkas Univ Vet Fak Derg 2011; 17: 131-3.
- Ceylan M, Boyacı YÖ, Meke T, Inceoglu H, Kara A. A report of ectoparasite *Piscicola geometra* (Linnaeus, 1761)(Hirudinea: Rhynchobdellida) on roach (*Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758)) from Uluabat Lake. Turkiye Parazit Derg 2011; 35: 207-9.
- Koyun M. First report of *Tracheliastes polycolpus* (Copepoda: Lernaepodidae) and *Piscicola geometra* L. 1761 (Annelida-Hirudinea) on *Capoeta umbla* at Murat River, Turkey. Asian J Anim Vet Adv 2011; 6: 966-70.
- Sağlam N. Bazı tıbbi sülüklerin (*Hirudo Medicinalis* L., 1758 ve *Hirudo Verbana* Carena, 1820) ihracatı, korunması ve sürdürülebilirliği. Journal of Fisheries Sciences.com 2011; 5: 1-15.
- Arslan N, Öktener A. A general review of parasitic Annelida (Hirudinea) recorded from different habitats and hosts in Turkey. Turk J Zool 2012; 36: 141-5.
- Ceylan M, Çetinkaya O, Küçükbara R, Akçimen U. Reproduction efficiency of the medicinal leech *Hirudo verbana* Carena, 1820. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 2015; 15: 411-8.
- Zazancı N, Ekingen P, Dügel M, Türkmen G. Hirudinea (Annelida) species and their ecological preferences in some running waters and lakes. Int. J. Environ. Sci. Technol 2015; 12: 1087-96.
- Koyun M, Tepe Y, Mart A. First record of *Piscicola geometra* (Annelida, Hirudinea) on some species of Cyprinidae from Euphrates-Tigris basin in Turkey. Journal of Fisheries and Aquatic Science 2015; 10: 575-80.
- Sağlam N, Saunders R, Lang SA, Shain DH. A new species of *Hirudo* (Annelida: Hirudinidae): Historical Biogeography of Eurasian Medicinal Leeches. BMC Zoology 2016; 1.
- Ceylan M, Çetinkaya O. Investigation on the Collection and Economy of Medicinal Leeches from Wetlands Around Lake Eğirdir, Turkey. Turkiye Parazit Derg 2017; 41: 96-101.
- Özkan N. Colonization of fresh water leech *Erpobdella octoculata* Linnaeus, 1758 (Annelida: Hirudinida) in different habitats in Tunca River, Edirne. Fresenius Environmental Bulletin 2018; 27: 4743-50.
- Sağlam N, Özbay Ö, Demir T, Balcı M, Pala A, Kılıç A. Effect of Water Quality on Monthly Density Variation of the Endangered Southern Medicinal Leech *Hirudo verbana* Carena, 1820 (Hirudinea: Arhynchobdellida: Hirudinidae). Acta Zoologica Bulgarica 2018; 70: 433-41.
- Kaçmaz D. Investigation of Hirudinea (Annelida) Fauna of inland waters in Edirne Province. Edirne : Trakya University Institute of Natural Sciences 2020.p.100. Available from: URL: <https://acikbilim.yok.gov.tr/handle/20.500.12812/407665>
- Sağlam N, Saunders R, Shain DH, Saidel WM. Detailed ultrastructure of the *Hirudo* (Annelida: Hirudinea) salivary gland. Micron 2020; 136: 102887.
- Uğural B, Serezli R. Effects of various environments on number of cocoon and offspring in breeding of southern medicinal leech, *Hirudo verbana* Carena, 1820. Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 2020; 37: 207-11.

38. Ayhan H, Özyurt Koçakoglu N, Candan S. Functional morphology of the suckers and teeth of the medicinal leech *Hirudo verbana* Carena, 1820 (Annelida; Clitellata; Hirudinida): A scanning electron microscope study. *Microscopy Research and Technique* 2021; 84: 2930-5.
39. Ceylan M, Çetinkaya O. Size and structure of the Mediterranean medicinal leech, *Hirudo verbana* populations inhabiting wetlands around Lake Eğirdir, Turkey. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 2021; 38: 437-47.
40. Ceylan M, Çetinkaya O, Kvist S. Function of the waterfowl nests as reproduction and living areas for leeches (Annelida: Hirudinea). *Animal Reproduction Science* 2021; 232: 106816.
41. Kutschera U, Elliott JM. The European medicinal leech *Hirudo medicinalis* L.: Morphology and occurrence of an endangered species. *Zoosystematics and Evolution* 2014; 91: 271-80.
42. Siddall ME, Trontelj P, Utevsky SY, Nkamany M, Macdonald III KS. Diverse molecular data demonstrate that commercially available medicinal leeches are not *Hirudo medicinalis*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 2007; 274: 1481.
43. Todorov M, Grozeva S, Hubenov Z, Kenderov L, Trichkova T. Taxonomic status and distribution of medicinal leeches of the genus *Hirudo* L. (Hirudinea) in Bulgaria. *Acta zool bulg* 2016; 68: 171-82.
44. Utevsky S, Zagmajster M, Atemasov A, Zinenko O, Utevska O, Utevsky A, et al. Distribution and status of medicinal leeches (genus *Hirudo*) in the Western Palaearctic: anthropogenic, ecological, or historical effects? *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 2010; 20: 198-210.
45. Mack J, Kvist S. Improved geographic sampling provides further evidence for the separation of *Glossiphonia complanata* and *Glossiphonia elegans* (Annelida: Clitellata: Glossiphoniidae). *Journal of Natural History* 2019; 53: 335-50. <https://doi.org/10.1080/00222933.2019.1590658>
46. Demirtaş M, Şenel Ü. Terkos Gölü'ndeki bazı balıklarda (cyprinidae) *Piscicola geometra* L., 1761 enfestasyonunun mevsimsel dağılımı. *KSÜ Doğa Bil Derg* 2012; 15: 52-8.
47. Woke GN, Eze NC. Effect of physico-chemical parameters of water containing leech in University of Port Harcourt community Abuja, Port Harcourt. *Global Journal of Pure and Applied Sciences* 2014; 20: 135-8.
48. Koperski O. Testing the suitability of leeches (Hirudinea, Clitellata) for biological assessment of lowland streams. 1, s.l. *Polish Journal of Ecology* 2005; 53: 65-80.

# Bir Eğitim ve Araştırma Hastanesine 2017-2021 Yılları Arasında Başvuran Hastalarda *Toxoplasma* Serolojisinin Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi

*Retrospective Evaluation of Toxoplasma Serology in Patients Admitted to a Training and Research Hospital Between 2017-2021*

Özlem Ulusan Bağcı<sup>1</sup>, Fulya Bayındır Bilman<sup>1</sup>, Nurten Baran<sup>1</sup>, Bilal Olcay Peker<sup>1</sup>,  
Bayram Pektaş<sup>1</sup>, Ayşegül Aksoy Gökmen<sup>2</sup>, Hüseyin Hakan Er<sup>1</sup>, Selçuk Kaya<sup>2</sup>

<sup>1</sup>İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Cite this article as: Ulusan Bağcı Ö, Bayındır Bilman F, Baran N, Peker BO, Pektaş B, Aksoy Gökmen A, Er HH, Kaya S. Retrospective Evaluation of *Toxoplasma* Serology in Patients Admitted to a Training and Research Hospital Between 2017-2021. Türkiye Parazitoloj Derg 2022;46(3):235-41.

## ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmada 01.01.2017-31.12.2021 tarihleri arasında hastanemizde toksoplazma serolojisi istemi yapılmış hastaların anti-*Toxoplasma* IgG, IgM ve avidite indeksi sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Anti-*Toxoplasma* antikorları Abbott Architect İ2000 SR markalı cihazda kemoluminesan mikropartikül immünojenik tetkik yöntemiyle (CMIA) firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır. Hastaların yaş, cinsiyet, uyruk, başvurduğu klinik/poliklinik, gebelik durumu bilgileri hastane sisteminden taranmıştır.

**Bulgular:** 2017-2021 yılları arasındaki beş yıllık süreçte 12694 hastadan istenen anti-*Toxoplasma* IgG testlerinin %29,58'inde ve 12546 hastadan gönderilen anti-*Toxoplasma* IgM'nin %0,94'ünde pozitiflik saptanmıştır. Test istem sayılarının kadınlarda daha fazla olduğu gözle çarpılmaktadır. IgG pozitifliği kadınlarda en fazla 30-39 (%9,97), erkeklerde 60-69 (%6,97) yaş grubundadır. IgM pozitifliğinin hem kadınlarda hem de erkeklerde 20-29 yaş grubunda daha fazla olduğu saptanmıştır (sırasıyla %0,48 ve %0,38). Gebelerin %27,78'inin anti-*Toxoplasma* IgG'leri ve %0,64'ünün IgM'leri pozitif bulunmuştur. Türk ve Suriyeli gebelerdeki IgG pozitiflikleri sırasıyla %25,88; %47,10 ve IgM pozitiflikleri %0,49; %1,83 olarak belirlenmiş olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,001).

**Sonuç:** Anti-*Toxoplasma* antikor pozitifliklerimiz ülkemizde farklı merkezlerde yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Kadınlarda IgM pozitifliğinin doğurganlık çağı olan 20-29 yaş grubunda yüksek olması gebelik öncesinde ve sürecindeki taramaların önemini vurgulamaktadır. Literatürdeki diğer çalışmalara benzer olarak Suriyeli gebelerde seropozitiflik oranları Türklere göre daha yüksek bulunmuştur. Bu durum sosyo-kültürel davranışların prevalans üzerindeki etkisini göstermesi bakımından önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** *Toxoplasma*, seroloji, antikor, prevalans, gebe

## ABSTRACT

**Objective:** In this study, it was aimed to retrospectively evaluate the anti-*Toxoplasma* IgG, IgM and avidity index results of patients who were requested for *Toxoplasma* serology in our hospital between 01.01.2017 and 31.12.2021.

**Methods:** Anti-*Toxoplasma* antibodies are studied with Abbott Architect İ2000 SR device that using the chemiluminescent microparticle immunoassay method (CMIA), according to the company's recommendations. The age, gender, nationality, sending clinic/polyclinic, and pregnancy status information of patients were scanned from the hospital system.

**Results:** In the five-year period between 2017 and 2021, 29.58% of anti-*Toxoplasma* IgG tests requested from 12694 patients and 0.94% of anti-*Toxoplasma* IgM tests sent from 12546 patients were found positive. It is striking that the number of test requests is higher in women. IgG positivity is highest in women in the age group of 30-39 (9.97%), and in men in the age group of 60-69 (6.97%). IgM positivity is higher in both women and men in the 20-29 age group (0.48% and 0.38%, respectively). Anti-*Toxoplasma*



Geliş Tarihi/Received: 01.02.2022 Kabul Tarihi/Accepted: 05.05.2022

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

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



IgG was positive in 27.78% and IgM in 0.64% of the pregnant women. IgG positivity in Turkish and Syrian pregnant women were determined as 25.88%; 47.10% and IgM positivity as 0.49% and 1.83%, respectively, and the difference was statistically significant ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** Our anti-*Toxoplasma* antibody positivity was found to be compatible with studies conducted in different centers in our country. The fact that IgM positivity in women is high in the 20-29 age group, which is the childbearing age, emphasizes the importance of screening before and during pregnancy. Consistent with other studies in the literature, the rate of seropositivity in Syrian pregnant women was found to be higher than Turkish. This is important in terms of showing the effect of socio-cultural behaviors on prevalence.

**Keywords:** *Toxoplasma*, serology, antibody, prevalence, pregnant

## GİRİŞ

Toksoplazmoz, *Toxoplasma gondii*'nin neden olduğu, insan dahil birçok memeliyi enfekte edebilen paraziter bir hastalıktır (1). İnsanlara bulaş, sporlanmış ookistlerin alınması, iyi pişmemiş etlerin yenmesi, çiğ süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi, enfekte kan ürünleri ve vücut sıvıları, organ transplantasyonu ve enfekte anneden bebeğe plasenta aracılığıyla olmaktadır (2,3). Bağışıklık sistemi sağlam hastalar enfeksiyonu asemptomatik olarak veya hafif semptomlarla kendiliğinden geçirirken, immünitesi baskılanmış hastalarda ölümcül tablolar görülebilmektedir (4). Gebeliğin ilk üç ayında kazanılan enfeksiyon abortus, ölü doğum, mental retardasyon, intrakraniyal kalsifikasyon, koryoretinit gibi ağır klinik tablolara neden olur (5). Son trimestera gidildikçe plasenta yoluyla bulaş riskinde artış görülürken, bebekteki kliniğin şiddeti hafifler (6). Son trimesterde edinilen bir enfeksiyonda bebekler tamamen normal olabileceği gibi, ilerleyen dönemde körlük veya sağırılık gibi tablolara karşımıza çıkabilir (7). Bu nedenle gebelerde ve immüno-suprese hasta grubunda enfeksiyonun erken tanısı ve tedavisi önem taşımaktadır (8).

Etkenin tanısında direkt ve indirekt tanı yöntemleri kullanılmaktadır. Direkt yöntemler beyin omurilik sıvısı (BOS), lenf nodu aspirasyonu, göz içi sıvısı gibi örneklerin boyalı mikroskopik incelemesinde etkenin takizoit formunun gösterilmesine dayanmaktadır. Ayrıca alınan örnekler, farelere intrakraniyal veya intraperitoneal olarak enjekte edilerek çoğaltılıp, devamında parasentezle alınan örneklerde inceleme yapılabilmektedir. Ancak bu yöntemlerin hem duyarlılığı düşüktür hem de belirtilen örneklerin alınmasında güçlükler yaşanabilmektedir (9). Daha duyarlı bir yöntem olan polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile amniyon sıvısı göz içi sıvısı, BOS gibi örneklerde ile etkeni aramak da mümkündür. PZR'nin duyarlılığı oldukça yüksek olup, az sayıda mikroorganizmayı saptama imkanı sunmaktadır (10). Tanıda çoğunlukla ELISA, enzyme-linked fluorescence assay, immunosorbent agglutination assay, indirect haemagglutination, indirect fluorescent antibody test gibi antikor saptamaya dayanan serolojik testler kullanılmaktadır. Serolojik yöntemler, genellikle IgM ve IgG türü antikorlar ile enfeksiyon zamanını tespit etmeye yönelik bir test olan avidite indeksini saptamayı hedeflemektedir (9). IgM türü antikorlar etkenin alınmasından bir hafta sonra pozitifleşir ve pozitifliği aylar veya yıllar boyu devam edebilir (11). Bu nedenle akut enfeksiyon tanısında tek başına yeterli değildir. Kişinin hayatının bir döneminde etkenle karşılaştığını gösteren IgG, tek başına etkenin alınma zamanı ile ilgili fikir vermemektedir. Antijenlerin antikorlara bağlanma gücünü ölçen bir parametre olan avidite indeksi etkenle karşılaşma zamanı hakkında yorum yapabilmemizi sağlaması açısından önemlidir. Enfeksiyonun erken dönemlerinde avidite indeksi düşük saptanırken, ilerleyen dönemlerde genellikle yükselmektedir (12). Kadınlarda mutlaka gebe kalmadan önce serolojik durum belirlenmeli, seronegatif gebelere toksoplazmozdan korunma önlemleri anlatılmalı ve

gebelik süresince 1-2 aylık aralıklarla yakın serolojik izlem yapılmalıdır (13). HIV, organ nakli, kemoterapi gibi nedenlerle immün sistemi baskılanmış kişilerde göz, beyin, kalp gibi organlarda kalan bradizoit formları reaktif olarak ölümcül tablolara neden olabilir. Bu kişilerde reaktivasyon takibi açısından IgG düzeyine bakılması önemlidir. Ancak B hücre yetmezliği sonucunda antikor saptanamayabileceği de hatırlanarak serolojik tanının mutlaka moleküler tanıyla desteklenmesi gerekmektedir (14).

Dünya nüfusunun yaklaşık üçte biri *T. gondii* ile enfektedir (3) Toksoplazmoz seroprevalansı coğrafik konuma göre değişkenlik göstermekte olup, Afrika'da %90'lara ulaşmakta, Avrupa'nın bazı ülkelerinde %60'lar civarında seyretmektedir (15). Ülkemizde farklı bölgelerden yapılan yayınlarda anti-*T. gondii* IgG seropozitifliği erkeklerde %8,2 ile %23,4; kadınlarda ise %27 ile %34,1 arasında değişen oranlarda bildirilmektedir (16). Çalışmamızda hastanemize 2017-2021 yılları arasında başvuran hastaların toksoplazmoz serolojisi sonuçlarını retrospektif olarak değerlendirerek hastanemizdeki toksoplazmoz prevalansını belirlemeyi amaçladık.

## YÖNTEMLER

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne 2017-2021 yılları arasında başvuran ve toksoplazma serolojisi istenen hastaların sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Hastaların yaşları, cinsiyetleri, başvurdıkları poliklinik/klinik bilgileri, gebelik durumları, anti-*Toxoplasma* IgM/IgG ve avidite indeksi sonuçları incelenmiştir. Hastalar pozitifliklerin yaşa göre değişimini araştırmak amacıyla 9 ayrı yaş (0-1, 1-9, 10-19, ..., 70 yaş ve üzeri) grubuna ayrılmıştır. Gebelere ait sonuçlar ayrıca kendi içinde değerlendirilmiştir. Aynı hastaya ait tekrarlayan sonuçların olması durumunda sadece ilk sonuç değerlendirmeye alınmıştır.

Anti-*Toxoplasma* antikorları Abbott Architect i2000 SR markalı cihazda kemoluminesan mikropartikül immünolojik tetkik yöntemiyle (CMIA) üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır. Anti-*Toxoplasma* IgG için 1,6 IU/mL'den düşük değerler negatif, 1,6-3 IU/mL arası sınır değer, 3 IU/mL ve üzeri değerler pozitifdir. Anti-*Toxoplasma* IgM için 0,50 indeksin altındaki değerler negatif, 0,50-0,60 arası sınır değer, 0,60 ve üzerindeki değerler pozitif olarak raporlanmaktadır. Avidite indeksinde %50'nin altı düşük avidite, %50-59,9 arası gri zon, %60 ve üzeri yüksek aviditedir.

## İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler Graph Pad Prisma V.3 paket programı kullanılarak yapılmış olup, %95 güven aralığında  $p < 0,05$  olan değerler anlamlı kabul edilmiştir. Analizlerde nitel verilerin karşılaştırılması için Fisher's Exact ve ki-kare testleri kullanılmıştır.

## BULGULAR

Hastanemizde 2017-2021 yılları arasındaki beş yıllık süreçte 10586'sı (%83,39) kadın ve 2108'i (%16,6) erkek olmak üzere toplam 12694 hastadan anti-*Toxoplasma* IgG istemi yapılmıştır. Tüm örneklerin %29,58'inde anti-*Toxoplasma* IgG pozitif saptanırken, kadınlarda pozitiflik oranı %28,13; erkeklerde %36,86 olarak bulunmuştur. Kadınlarda seropozitiflik yüzdesi en fazla %9,97 ile 30-39 yaş grubundadır ve bu yaş grubundaki kadınlar genele bakıldığında da pozitifliğin en fazla saptandığı gruptur. Erkeklerde en yüksek seropozitiflik yüzdesi %6,97 ile 60-69 yaş grubunda saptanmıştır. Anti-*Toxoplasma* IgG seroloji sonuçlarının yaş gruplarına ve cinsiyetlere göre dağılımı Tablo 1'de ayrıntılı olarak sunulmuştur.

Toplam 12546 hastadan anti-*Toxoplasma* IgM istemi yapılmış olup, hastaların 10465'i (%83,41) kadın, 2081'i (%16,59) erkektir. Tüm örneklerin %0,94'ünde pozitiflik saptanmıştır. Erkeklerde pozitiflik oranı %0,86 iken, kadınlarda %0,96'dır. Seropozitiflik kadınlarda %0,48, erkeklerde %0,38 ile en fazla 20-

29 yaş grubundadır. Tablo 2'de ise anti-*Toxoplasma* IgM sonuçları ayrıntılı olarak analiz edilmiştir. Suriyeli ve Suriye dışı yabancı uyruklu hastalara ait pozitiflikler kendi içinde değerlendirilmiştir. Türk, Suriyeli ve diğer yabancı uyruklularda IgG pozitifliği sırasıyla %28,62, %48,81 ve %24,07; IgM pozitifliği ise %0,81, %2,18 ve %2,97'dir (Tablo 3).

Gebe polikliniği veya kadın doğum servisindeki hastalarda anti-*Toxoplasma* IgG pozitifliği %27,78; anti-*Toxoplasma* IgM pozitifliği %0,64 olarak bulunmuştur. Türk gebelerin anti-*Toxoplasma* IgG ve IgM düzeyleri sırasıyla %25,88 ve %0,49'dur. Suriyeli gebelerin %47,1'inin IgG ve %1,83'ünün IgM düzeyleri pozitifdir. Suriyeli dışı yabancı uyruklu gebelerde IgG pozitifliği %22,22 iken, IgM pozitifliği %4'tür. Türk, Suriyeli ve diğer yabancı uyruklu gebelerin anti-*Toxoplasma* seroloji sonuçları Tablo 3'te ayrıntılı olarak verilmiştir.

Toplam 749 hastadan anti-*Toxoplasma* IgG avidite indeksi istenmiştir. Bu hastaların 206'sından IgG istemi olmadan, 194 tanesinden ise IgG negatif olmasına rağmen avidite indeksi

**Tablo 1. Anti-*Toxoplasma* IgG seroloji sonuçlarının yaş grupları ve cinsiyetlere göre dağılımı**

Yaş grupları	Cinsiyet	Negatif	Negatif (%)	Sınır değeri	Sınır değeri (%)	Pozitif	Pozitif (%)	Toplam	Toplam (%)
0-1 yaş	Kadın	15	0,14	0	0	2	0,02	17	0,16
	Erkek	9	0,43	1	0,05	5	0,24	15	0,71
	Toplam	24	0,19	1	0,01	7	0,06	32	0,25
2-9 yaş	Kadın	21	0,2	0	0	0	0	21	0,2
	Erkek	16	0,76	0	0	0	0	16	0,76
	Toplam	37	0,29	0	0	0	0	37	0,29
10-19 yaş	Kadın	440	4,16	3	0,03	133	1,26	576	5,44
	Erkek	93	4,41	0	0	16	0,76	109	5,17
	Toplam	533	4,2	3	0,02	149	1,17	685	5,4
20-29 yaş	Kadın	3496	33,02	65	0,61	1014	9,58	4575	43,22
	Erkek	340	16,13	6	0,28	106	5,03	452	21,44
	Toplam	3836	30,22	71	0,56	1120	8,82	5027	39,6
30-39 yaş	Kadın	2577	24,34	115	1,09	1055	9,97	3747	35,4
	Erkek	250	11,86	18	0,85	120	5,69	388	18,41
	Toplam	2827	22,27	133	1,05	1175	9,26	4135	32,57
40-49 yaş	Kadın	473	4,47	39	0,37	344	3,25	856	8,09
	Erkek	212	10,06	16	0,76	136	6,45	364	17,27
	Toplam	685	5,4	55	0,43	480	3,78	1220	9,61
50-59 yaş	Kadın	155	1,46	17	0,16	171	1,62	343	3,24
	Erkek	141	6,69	15	0,71	143	6,78	299	14,18
	Toplam	296	2,33	32	0,25	314	2,47	642	5,06
60-69 yaş	Kadın	94	0,89	19	0,18	138	1,3	251	2,37
	Erkek	108	5,12	19	0,9	147	6,97	274	13
	Toplam	202	1,59	38	0,3	285	2,25	525	4,14
70 ve üzeri	Kadın	61	0,58	18	0,17	121	1,14	200	1,89
	Erkek	73	3,46	14	0,66	104	4,93	191	9,06
	Toplam	134	1,06	32	0,25	225	1,77	391	3,08
Tüm yaşlar	Kadın	7332	69,26	276	2,61	2978	28,13	10586	100
	Erkek	1242	58,92	89	4,22	777	36,86	2108	100
	Toplam	8574	67,54	365	2,88	3755	29,58	12694	100

**Tablo 2. Anti-Toxoplasma IgM seroloji sonuçlarının yaş gruplarına ve cinsiyetlerine göre dağılımı**

Yaş grupları	Cinsiyet	Negatif	Negatif (%)	Sınır değer	Sınır değer (%)	Pozitif	Pozitif (%)	Toplam	Toplam (%)
0-1 yaş	Kadın	17	0,16	0	0	0	0	17	0,16
	Erkek	15	0,72	0	0	0	0	15	0,72
	Toplam	32	0,26	0	0	0	0	32	0,26
2-9 yaş	Kadın	20	0,19	0	0	0	0	20	0,19
	Erkek	16	0,77	0	0	0	0	16	0,77
	Toplam	36	0,29	0	0	0	0	36	0,29
10-19 yaş	Kadın	559	5,34	3	0,03	10	0,1	572	5,47
	Erkek	109	5,24	0	0	1	0,05	110	5,29
	Toplam	668	5,32	3	0,02	11	0,09	682	5,43
20-29 yaş	Kadın	4426	42,29	12	0,11	50	0,48	4488	42,89
	Erkek	414	19,89	0	0	8	0,38	422	20,28
	Toplam	4840	38,58	12	0,1	58	0,46	4910	39,14
30-39 yaş	Kadın	3663	35	10	0,1	29	0,28	3702	35,38
	Erkek	375	18,02	0	0	3	0,14	378	18,16
	Toplam	4038	32,19	10	0,08	32	0,26	4080	32,52
40-49 yaş	Kadın	831	7,94	1	0,01	6	0,06	838	8
	Erkek	369	17,73	0	0	2	0,1	371	17,83
	Toplam	1200	9,56	1	0,01	8	0,06	1209	9,64
50-59 yaş	Kadın	359	3,43	0	0	3	0,03	362	3,46
	Erkek	292	14,03	0	0	2	0,1	294	14,13
	Toplam	651	5,19	0	0	5	0,04	656	5,23
60-69 yaş	Kadın	260	2,48	1	0,01	2	0,02	263	2,51
	Erkek	275	13,21	1	0,05	1	0,05	277	13,31
	Toplam	535	4,26	2	0,02	3	0,02	540	4,3
70 ve üzeri	Kadın	203	1,94	0	0	0	0	203	1,94
	Erkek	197	9,47	0	0	1	0,05	198	9,51
	Toplam	400	3,19	0	0	1	0,01	401	3,2
Tüm yaşlar	Kadın	10338	98,79	27	0,26	100	0,96	10465	100
	Erkek	2062	99,09	1	0,05	18	0,86	2081	100
	Toplam	12400	98,84	28	0,23	118	0,94	12546	100

istemi yapılmıştır. IgG'si pozitif olan 349 hastada yüksek avidite indeksi saptanmıştır. Bu hastaların sonuçlarının ayrıntılı değerlendirilmesi Tablo 4'te yapılmıştır.

## TARTIŞMA

*Toxoplasma gondii*, dünyanın her yerinde görülen ve prevalansı %10-90 arasında değişen ihmal edilmiş paraziter hastalıklardan bir tanesidir (17). Hastalık kontrol ve önleme merkezi, Amerika Birleşik Devletleri'nde toksoplazmozun yiyeceklerle bulaşan paraziter enfeksiyonlar arasında mortalite oranı açısından ikinci ve hastaneye yatış oranları açısından dördüncü sıklıkta olduğunu belirtmiş olup, bu veriler bize hastalığın morbidite ve mortalitesinin yüksek olduğunu göstermektedir (18). Toksoplazmoz, en önemli zoonotik protozoal hastalıklardan biridir ve özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda ölümcül enfeksiyonlara ve gebelerde düşük veya ölü doğumlara neden olmaktadır (19). Hastalığın tanısında serolojik testlerin

önemi büyüktür ve özellikle immün sistemi baskılanmış hastaların ve gebelerin taranması ve erken tanısı için oldukça kullanışlıdır.

*Toxoplasma* prevalansı sosyo-ekonomik düzey, hijyen alışkanlıkları, konak duyarlılıkları, coğrafik konum ve toprağın nem düzeyine göre değişiklik göstermektedir (20). Ülkemizde *Toxoplasma* serolojik prevalansını araştıran çok sayıda çalışma yapılmış; anti-*Toxoplasma* IgG ve IgM pozitifliği için sırasıyla %17,22-69,5; %0,5-4 arasında değişen sonuçlar rapor edilmiştir (21). Şanlıurfa'daki gebelerden bildirilen %69,5'lik IgG pozitifliği, bilindiği kadarıyla Türkiye'de saptanan en yüksek orandır ve bölgedeki çığ et yeme alışkanlığı ile ilişkilendirilmiştir (22). En düşük oran olan %17,22 ise Samsun'dan 2000 yılında bildirilmiştir (23). Bizim çalışmamızda ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla uyumlu olarak 2017-2021 yılları arasında anti-*Toxoplasma* IgG ve IgM pozitifliği sırasıyla %29,58 ve %0,94 olarak saptanmıştır. Hastanemiz yıllık 1.968.196 poliklinik, 398.154 acil servis başvurusu ve 1150 yatak kapasitesi ile oldukça geniş bir hasta popülasyonuna hizmet veren büyük bir eğitim ve araştırma hastanesidir ve

**Tablo 3. Anti-Toxoplasma IgM ve G sonuçlarının uyruklara ve gebelik durumlarına göre değerlendirilmesi**

		Anti-Toxoplasma IgG				Anti-Toxoplasma IgM			
		Negatif	Sınır değer	Pozitif		Negatif	Sınır değer	Pozitif	
				Sayı	%			Sayı	%
Türkiye	Gebe	3798	125	1370	25,88	5274	13	26	0,49
	Genel	8192	343	3422	28,62	11677	26	101	0,81
Suriye	Gebe	264	19	252	47,10	535	1	10	1,83
	Genel	303	19	307	48,81	625	2	14	2,18
Suriyeli dışı yabancı uyruk	Gebe	40	2	12	22,22	48	0	2	4,00
	Genel	79	3	26	24,07	98	0	3	2,97
Toplam	Gebe	4102	146	1634	27,78	5857	14	38	0,64
	Genel	8574	365	3755	29,58	12400	28	118	0,94

**Tablo 4. Yüksek avidite saptanan hastaların anti-Toxoplasma IgM ve IgG sonuçlarının değerlendirilmesi**

IgM	IgG		
	Sınır değer	Pozitif	Toplam
Negatif	30	207	237
Sınır değer	0	15	15
Pozitif	1	82	83
Yok	1	13	14
Toplam	32	317	349

sonuçların İzmir'deki toksoplazmoz prevalansını yansıtabileceği düşünülmektedir. Türk, Suriyeli, Suriyeli dışı hastaların sonuçları kendi içinde değerlendirildiğinde anti-Toxoplasma IgG pozitifliği sırasıyla %28,62, %48,81 ve %24,07; IgM ise %0,81, %2,18 ve %2,97 olarak saptanmış olup, hem IgM hem de IgG açısından üç grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,001$ ).

Kadınlarda ve erkeklerde IgG pozitifliği sırasıyla %28,13 ve %36,86 olarak saptanmış olup, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p < 0,001$ ). Şimdiye kadar yapılan çalışmaların aksine anti-Toxoplasma IgG pozitifliği, erkeklerde daha yüksek saptanmıştır. IgG pozitifliğinin kadınlarda daha düşük olmasının bir nedeni olarak, gebelik taramaları nedeniyle kadınlardan daha fazla test istemi yapılması gösterilebilir. Erkeklerden genellikle klinik semptomları toksoplazmozdu düşündürdüğü zaman serolojik testler istendiği için pozitiflik yüzdesinin daha fazla olabileceği düşünülmektedir. IgG pozitifliği kadınlarda en fazla 30-39 yaş grubunda, erkeklerde 60-69 yaş grubunda saptanmıştır. Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvarı verileri de kadınlarda IgG pozitifliğinin 30-39 yaş grubu kadınlarda daha fazla olduğunu belirtmektedir. Ancak aynı yayında erkeklerde pozitiflik en fazla 0-1 yaş grubunda saptanmıştır (24). Bu durumun laboratuvarın referans merkez olması nedeniyle konjenital toksoplazmoz şüphesi olan bebek serumlarının doğrulama amacıyla gönderilmesine bağlı olabileceği düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda 0-1 yaş grubundaki erkek bebeklerin sadece %0,24'ünde pozitiflik saptanmıştır ve 1-9 yaş grubundan sonra saptanan en düşük orandır. Kadınlarda %0,96, erkeklerde %0,86 olarak saptanan IgM pozitifliği arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p = 0,8$ ). Literatürle uyumlu olarak IgM pozitifliği kadınlarda daha fazladır (21,25). Ayrıca IgM

pozitifliği en fazla doğurganlık çağı olan 20-29 ve takiben 30-39 yaş gruplarında bulunmuştur. IgM pozitifliğinin doğurganlık çağındaki kadınlarda daha fazla olması maternal enfeksiyon ve konjenital toksoplazmoz taranmasının önemini vurgulanması açısından son derece önemlidir. Anti-Toxoplasma IgM'nin pozitifliği, akut enfeksiyon tanısı koydurmaz, çünkü pozitiflik enfeksiyon etkeninin alınmasından sonra birkaç yıla kadar devam edebilir (11). Ancak bu gebelerden ardışık test istemleri yapılarak serokonversiyon takibi yapılması ve avidite indeksi çalışılması önerilmektedir (26).

Hastanemizde 2004 ve 2012 yıllarında toksoplazmoz serolojik prevalansını araştıran iki çalışma yürütülmüş ve anti-Toxoplasma IgG pozitiflikleri sırasıyla %43,46 ve %32,4 olarak saptanmıştır (27,28). Bizim çalışmamızda oran %29,58'dir. IgM seropozitifliği 2004 yılında %4,8; 2012 yılında %2,7 ve bizim çalışmamızda %0,94'tür (27,28). Hem IgG hem de IgM seropozitifliklerinde yıllar içinde düşüş görülmüştür. Bu durumun nedeni olarak hijyen ve yeme alışkanlıklarının gelişmesi, halkın bilinçlenmesi, toksoplazmoza verilen önemin artması gösterilebilir.

Maternal akut enfeksiyon konjenital toksoplazmoza neden olabilmesi nedeniyle önem taşımaktadır. Dünyada ve ülkemizde gebelerde toksoplazma serolojisini araştıran çok sayıda çalışma yapılmıştır. Toplam 250 çalışmadaki 723.655 gebenin seroloji sonuçlarının derlendiği bir meta-analizde; IgG pozitifliğinin ortalama %32,9 ve IgM pozitifliğinin %1,9 olduğu belirtilmiştir (29). Dünyanın farklı yerlerinde coğrafik konuma, beslenme alışkanlıklarına, hijyen davranışlarına, sosyo-ekonomik duruma göre prevalans değişmektedir (20). IgG pozitiflik oranı en yüksek Amerika'da, en düşük Batı Pasifik'te; IgM pozitiflik oranı ise en yüksek Doğu Akdeniz'de, en düşük Amerika'da saptanmıştır (29). Ülkemizde ise batıdan doğuya doğru gidildiğinde IgG seropozitiflik oranlarında artış olduğu görülmektedir. Muğla, İstanbul, Ankara, Kahramanmaraş ve Şanlıurfa'daki gebelerde anti-*T. gondii* IgG pozitifliği sırasıyla %18,8; %26,3; %30; %41 ve %69,5 olarak saptanmıştır. IgM pozitiflik oranının ise %0,2 ve %3,7 arasında değiştiği görülmektedir (22,30-33). Bizim çalışmamızda gebelerdeki anti-Toxoplasma IgG ve IgM pozitiflik oranı sırasıyla %27,78 ve %0,64'tür. Anti-Toxoplasma IgG pozitiflik oranının İstanbul ve Ankara'da yapılan çalışmalarda belirtilen yüzdelerle uyumlu olduğu göze çarpmaktadır. İzmir, nüfus yoğunluğu açısından İstanbul ve Ankara'dan sonra üçüncü sırada gelmektedir ve ülkemizin en fazla göç alan şehirlerinden bir tanesidir. Pozitiflik yüzdelerindeki yakınlığın nüfus dağılımındaki



kozmpolitliğin benzer oluşundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda Türk ve Suriyeli gebelerdeki pozitiflikler ayrı olarak değerlendirildiğinde; Türk ve Suriyeli gebelerde IgG pozitifliğinin sırasıyla %25,88 ve %47,10; IgM pozitifliğinin ise %0,49 ve %1,83 olduğu görülmektedir. Türk ve Suriyeli gebeler arasında hem IgG hem de IgM pozitiflik oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p < 0,001$ ). Literatürde Suriyeli mültecilerde toksoplazmoz seroprevalansını araştıran çalışmalarda, IgG ve IgM pozitifliği açısından sırasıyla %45,7-64,6 ve %0,1-6,1 arasında değişen oranlar bildirilmektedir ve çalışmamızla uyumlu olarak Suriyeli gebelerde pozitifliğin daha fazla olduğu ifade edilmektedir (31,33-35). Ülkemizde batıdan doğuya gidildikçe pozitiflikte artış görülmesi ve Suriye uyruklarda Türklere göre prevalansın daha yüksek olması pozitifliğin hem coğrafik konumla hem de sosyo-kültürel ve sosyo-ekonomik alışkanlıklarla ilişkisi olduğunu doğrular niteliktedir (22,30-35).

Enfeksiyona karar vermede IgG ve IgM testlerinin birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. IgG pozitif saptandığında enfeksiyon etkeninin alınma zamanına karar vermek için avidite indeksi faydalı olacaktır. Bu çalışmada hastanemizde 2017-2021 yılları arasında 206 hastadan sadece avidite indeksi istendiği görülmektedir. Bu istemlerin sonuç kısmına avidite indeksinin IgG ile birlikte değerlendirilmesi gereken bir parametre olduğu ve tek başına bir anlam taşımadığı yorumu yazılarak onaylanmıştır. Bu hastaların bir kısmı dış merkezlerden IgG ve/veya IgM pozitifliği nedeniyle ileri tetkik için gönderilen hastalar olabilir ancak çalışmanın retrospektif olarak planlanmasından dolayı klinik durumları ve takipleri hakkında bilgiye ulaşılamamıştır. Ayrıca 194 hastadan IgG negatif olmasına rağmen avidite indeksi istenmiştir. Hekimlerin vakit kaybetmemek ve tek poliklinik kontrolünde tüm testlerin sonucunu görebilmek için IgM, IgG ve avidite indeksini birlikte isteme alışkanlığı bulunmaktadır. Ancak IgG negatif olduğunda avidite indeksi yorumlanamamakta, kafa karışıklığına yol açabilmekte ve gereksiz test istemi maliyetleri yükseltmektedir. Böyle bir durumda avidite indeksi istemenin, anti-*Toxoplasma* IgM ve IgG pozitif çıktığında laboratuvar hekimi inisiyatifine bırakılmasının daha uygun olacağı düşünülmektedir. Alternatif olarak daha küçük hastanelerde IgM ve IgG pozitif saptandığında klinisyenlerle iletişime geçilerek avidite indeksi istemi yapılması sağlanabilir. Testlerin istenmesi ve yorumlanmasında laboratuvar hekimi-klinisyen işbirliğine gidilmesinin önemli olduğu, testlerin akılcı kullanımına ve yorumlanmasına yardımcı olacağı düşünülmektedir. IgG'si sınır değer veya pozitif olan 349 hastanın avidite indeksi yüksek saptanmıştır. Bu hastaların 237 tanesinin IgM'si negatif, 15'i sınır değer ve 83'ü pozitif saptanmış olup, 14 tanesinden IgM istemi yapılmamıştır (Tablo 4).

## SONUÇ

Hastanemiz büyük bir eğitim araştırma hastanesi olup, oldukça fazla sayıda hastaya hizmet vermektedir. 2017-2021 yılları arasında anti-*Toxoplasma* IgG ve IgM pozitiflikleri sırasıyla %29,58 ve %0,94 olarak saptanmış ve literatürde bildirilen seropozitifliklerle uyumlu bulunmuştur. IgM pozitifliğinin 20-29 yaş arası doğurganlık çağındaki kadınlarda daha yüksek olması gebelik taramalarının önemini vurgulamaktadır. Merkezimizde 2004 ve 2012 yıllarındaki pozitifliğin araştırıldığı iki çalışmada seropozitiflikler daha yüksek bulunmuştur. Zamanla prevalanstaki

azalma hijyenik koşulların gelişmesi, halkın bilinçlenmesi ve sosyo-ekonomik durumun gelişmesi ile ilişkilendirilebilir. Gebelerin sık aralıklarla taranması, immüno-suprese hastalar gibi hassas popülasyonların reaktivasyon takibi açısından serolojik ve moleküler yöntemlerle araştırılması, seronegatif bireylere korunma yöntemlerinin anlatılması gibi uygulamalarla seropozitifliğin daha da azalabileceği ve toksoplazmoz kaynaklı komplikasyonların önlenilebileceği düşünülmektedir.

Suriyeli hastalarda ve gebelerde hem anti-*Toxoplasma* IgG hem de IgM pozitifliği daha yüksek bulunmuştur. Bu durum bize coğrafik konumun ve sosyo-kültürel alışkanlıkların hastalık prevalansı üzerindeki etkisini göstermektedir.

Geniş bir hasta popülasyonunun serolojik verilerinin araştırılmasının ilimizdeki toksoplazmoz görülme sıklığını yansıtabileceğini, özel hasta popülasyonları açısından tarama ve tanı algoritmalarının oluşturulmasına ve epidemiyolojik olarak korunma önlemlerinin planlanmasına katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

## \*Etik

**Etik Kurul Onayı:** İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onaylanmıştır (karar no: 0001, tarih: 20.01.2022).

**Hasta Onayı:** Retrospektif çalışmada.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulunda olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

## \*Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: Ö.U.B., F.B.B., N.B., B.O.P., B.P., A.A.G., H.H.E., S.K., Konsept: Ö.U.B., S.K., Dizayn: Ö.U.B., F.B.B., Veri Toplama veya İşleme: Ö.U.B., F.B.B., N.B., B.O.P., B.P., A.A.G., H.H.E., S.K., Analiz veya Yorumlama: Ö.U.B., F.B.B., N.B., B.O.P., B.P., A.A.G., H.H.E., S.K., Literatür Arama: Ö.U.B., F.B.B., Yazan: Ö.U.B.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Matta SK, Rinckenberger N, Dunay IR, Sibley LD. *Toxoplasma gondii* infection and its implications within the central nervous system. *Nat Rev Microbiol* 2021; 19: 467-80.
2. Tenter AM, Heckerth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol* 2000; 30: 1217-58.
3. Montoya J, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *Lancet* 2004; 363: 1965-76.
4. Weiss LM, Dubey JP. Toxoplasmosis: A history of clinical observations. *Int J Parasitol* 2009; 39: 895-901.
5. Swisher CN, Boyer K, McLeod R. Congenital toxoplasmosis. The Toxoplasmosis Study Group. *Semin Pediatr Neurol* 1994; 1: 4-25.
6. Chaudhry SA, Gad N, Koren G. Toxoplasmosis and pregnancy. *Can Fam Physician* 2014; 60: 334-6.
7. McAuley JB. Congenital toxoplasmosis. *J Pediatr Infect Dis Soc* 2014; 3: 30-5.
8. Berthélémy S. Toxoplasmose et grossesse. *Actualités Pharmaceutiques* 2014; 53: 43-5.
9. Liu Q, Wang ZD, Huang SY, Zhu XQ. Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. *Parasites Vectors* 2015; 8: 292.
10. Switaj K, Master A, Skrzypczak M, Zaborowski P. Recent trends in molecular diagnostics for *Toxoplasma gondii* infections. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 170-6.

11. Montoya JG, Rosso F. Diagnosis and management of toxoplasmosis. Clin Perinatol 2005; 32: 705-26.
12. Candolfi E, Pastor R, Huber R, Filisetti D, Villard O. IgG avidity assay firms up the diagnosis of acute toxoplasmosis on the first serum sample in immunocompetent pregnant women. Diagn Microbiol Infect Dis 2007; 58: 83-8.
13. Nogareda F, Le Strat Y, Villena I, De Valk H, Goulet V. Incidence and prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in women in France, 1980-2020: model-based estimation Epidemiol Infect 2014; 142: 1661-70.
14. Lewis JM, Clifford S, Nsutebu E. Toxoplasmosis in immunosuppressed patients. Rheumatology (Oxford) 2015; 54: 1939-40.
15. Molan A, Nosaka K, Hunter M, Wang W. Global status of *Toxoplasma gondii* infection: systematic review and prevalence snapshots. Trop Biomed 2019; 36: 898-925.
16. Alver O, Payaşoğlu M, Ener B. Investigation of *Toxoplasma gondii* Seropositivity in Uludağ University Hospital between 2009-2016. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2019; 43: 8-12.
17. 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.
18. Jones JL, Parise ME, Fiore AE. Neglected parasitic infections in the United States: toxoplasmosis. Am J Trop Med Hyg 2014; 90: 794-9.
19. Yousefvand A, Mirhosseini SA, Ghorbani M, Mohammadzadeh T, Moosazadeh Moghaddam M, Mohammadyari S. Molecular and serological detection and of *Toxoplasma gondii* in small ruminants of southwest Iran and the potential risks for consumers. J Verbrauch Lebensm 2021; 16: 117-27.
20. Borkakoty B, Biswas D, Jakharia A, Mahanta J. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* among pregnant women in Northeast India. J Assoc Physicians India 2016; 64: 24-8.
21. Malatyali 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 Parazitolojisi Dergisi 2019; 43: 1-4.
22. Tekay F, Ozbek E. [The seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in women from Sanliurfa, a province with a high raw meatball consumption]. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2007; 31: 176-9.
23. Hökelek M, Uyar Y, Günaydın M, Çetin M. *Toxoplasma* antikorlarının Samsun yöresinde seroprevalansının araştırılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Dergisi 2000; 17: 50-5.
24. Babür C, Yücesan B, Sezen F, Kılıç S. Ulusal Parazitoloji Evaluation of Seropositivity of Toxoplasmosis Suspected Patients Admitted to the National Parasitology Reference Laboratory Between 2009 and 2019. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2021; 45: 181-9.
25. Kuk S, Özden M. Hastanemizdeki dört yıllık *Toxoplasma gondii* seropozitifliğinin araştırılması. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2007; 31: 1-3.
26. Villard O, Cimon B, L'Ollivier C, Fricker-Hidalgo H, Godineau N, Houze S, et al. Serological Diagnosis of *Toxoplasma gondii* Infection: Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis. Diagn Microbiol Infect Dis 2016; 84: 22-3.
27. Türk M, Güngör S, Bayram D, Bilgin N, Er H, Kurultay N, ve ark. İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesine Bir Yılda Başvuran Toxoplasmosis şüpheli hastaların ELISA yöntemiyle taranması. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2004; 28: 80-2.
28. Pektaş B, Aksoy Gökmen A, Er HH, Güngör S, Kaya S, Demirci M. Evaluation of Serological Results of Patients with Suspected Toxoplasmosis. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2015; 39: 90-3.
29. Bigna JJ, Tochie JN, Tounouga DN, Olive Bekolo A, Ymele NS, Youda EL, et al. Global, regional, and country seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in pregnant women: a systematic review, modelling and meta-analysis. Sci Rep 2020; 10.
30. Kasap B, Öner G, Küçük M, Öztürk Turhan N, Akın MN, Arıkan S, et al. Evaluation of toxoplasmosis, rubella, cytomegalovirus and hepatitis prevalence of pregnant women in Muğla. Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dergisi 2017; 27: 31-6.
31. 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 Ist Euras 2018; 29: 235-9.
32. Mumcuoğlu I, Toyran A, Cetin F, Coskun FA, Baran I, Aksu N, et al. [Evaluation of the toxoplasmosis seroprevalence in pregnant women and creating a diagnostic algorithm]. Mikrobiyol Bul 2014; 48: 283-91.
33. Hansu K, Özdemir H, Hansu İ, Çıkım G, Tok A. Comparison of the *Toxoplasma* Seroprevalence Rates in Syrian Refugee Pregnant Women and Turkish Pregnant Women. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2021; 45: 247-51.
34. Bakacak M, Serin S, Aral M, Ercan Ö, Köstü B, Kireççi A, et al. [Seroprevalence Differences of *Toxoplasma* Between Syrian Refugees Pregnants and Indigenous Turkish Pregnants in Kahramanmaraş]. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2015; 39: 94-7.
35. Kul G, Turan G. Comparison of *Toxoplasma* and Rubella seropositivity rates of Syrian and Turkish pregnant women. Cukurova Med J 2021; 46: 975-81.

# MIS-C ve Visseral Leishmaniasis Birlikteliği: Pandemide Diğer Hastalıkların Kliniği Maskelendi mi?

## *MIS-C and Visceral Leishmaniasis Co-occurrence: Has the Clinic of Other Diseases Masked in the Pandemia?*

✉ Merve Kılıç Çil<sup>1</sup>, ✉ Metin Çil<sup>2</sup>, ✉ Songül Uzgelir<sup>3</sup>, ✉ Orkun Tolunay<sup>3</sup>, ✉ Ümit Çelik<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Adana Şehir ve Eğitim Araştırma Hastanesi, Çocuk Enfeksiyon Kliniği, Adana, Türkiye

<sup>2</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Adana Şehir ve Eğitim Araştırma Hastanesi, Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Kliniği, Adana, Türkiye

<sup>3</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Adana Şehir ve Eğitim Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Adana, Türkiye

Cite this article as: Kılıç Çil M, Çil M, Uzgelir S, Tolunay O, Çelik Ü. MIS-C and Visceral Leishmaniasis Co-occurrence: Has the Clinic of Other Diseases Masked in the Pandemia? Türkiye Parazitoloj Derg 2022;46(3):242-5.

### Öz

2019 yılının sonunda, Çin'de yeni tespit edilen şiddetli akut solunum sendromu-koronavirüs (COVID)-2 hızla yayılmış ve küresel bir salgına neden olmuştur. COVID-2019 hastalığının nedeni olan ve şiddetli akut solunum yetmezliği tablosu yapabilen virüsün daha sonraki zamanlarda hiperenflamatuvar bir tabloya neden olduğu ve Kawasaki hastalığı benzeri bir klinik oluşturduğu görülmüştür. Multisistem enflamatuvar sendrom (MIS-C) olarak adlandırılan bu tabloda çocuklarda ateş, kardiyak tutulum ve döküntü en sık görülen bulgulardır. Patofizyolojisi tam bilinmemekle birlikte en sık nedenin enfeksiyon sonrası immün disregülasyon olduğu düşünülmektedir. Visseral leishmaniasis (VL) ise; *Leishmania infantum* ve daha nadir olarak *Leishmania donovani*'nin etken olduğu bir zoonoz olup benzer klinik tabloya neden olabilmektedir. Bu yazıda; COVID ilişkili MIS-C tanısıyla izlediğimiz ancak MIS-C tedavisiyle kliniğinde yeterli yanıt alınmayan ve ileri tetkikler ile VL tanısı alan bir hasta tartışılmıştır. Bildiğimiz kadarıyla bu makale, literatürdeki ilk MIS-C ve VL birlikteliğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Çocuk, multisistem enflamatuvar sendrom, visseral leishmaniasis, SARS-CoV-2

### ABSTRACT

At the end of 2019, the newly detected severe acute respiratory syndrome-coronavirus (COVID)-2 in China spread rapidly and caused a global epidemic. It has been observed that the virus, which is the cause of COVID-2019 and can cause severe acute respiratory failure, later causes a hyperinflammatory picture and causes a clinical picture similar to Kawasaki disease. Fever, cardiac involvement and rash are the most common findings in this picture, which is called multisystem inflammatory syndrome (MIS-C). Although its pathophysiology is not fully known yet, the most common cause is thought to be post-infection immune dysregulation. Visceral leishmaniasis (VL) is a zoonosis in which *Leishmania infantum* and rarely *Leishmania donovani* are the agents and can cause a similar clinical picture. In this text; we discussed a patient who was followed up with a diagnosis of COVID-associated MIS-C, but without an adequate response in his clinic with MIS-C treatment, and was diagnosed with VL with further examinations. To our knowledge, this is the first MIS-C and VL co-occurrence in the literature.

**Keywords:** Child, multisystem inflammatory syndrome, visceral leishmaniasis, SARS-CoV-2

### GİRİŞ

Koronavirüs hastalığı-2019 (COVID-19), tüm dünyaya hızla yayılmış, 440 milyondan fazla kişinin enfekte olmasına ve yaklaşık 5,9 milyon kişinin ölmesine neden olmuştur (1). Çocuklarda COVID-19 genellikle

hafif seyredir. Bununla birlikte, nadir durumlarda çocuklar daha ciddi şekilde etkilenebilmekte ve klinik belirtiler yetişkinlerden farklı olabilir. Nisan 2020'de İngiltere'den gelen raporlarda, çocuklarda Kawasaki hastalığına (KH) benzer bir durumdan bahsedilmiştir. Bu durum, çocuklarda multisistem enflamatuvar



Geliş Tarihi/Received: 05.10.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 14.04.2022

**Yazar Adresi/Address for Correspondence:** Merve Kılıç Çil, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Adana Şehir ve Eğitim Araştırma Hastanesi, Çocuk Enfeksiyon Kliniği, Adana, Türkiye

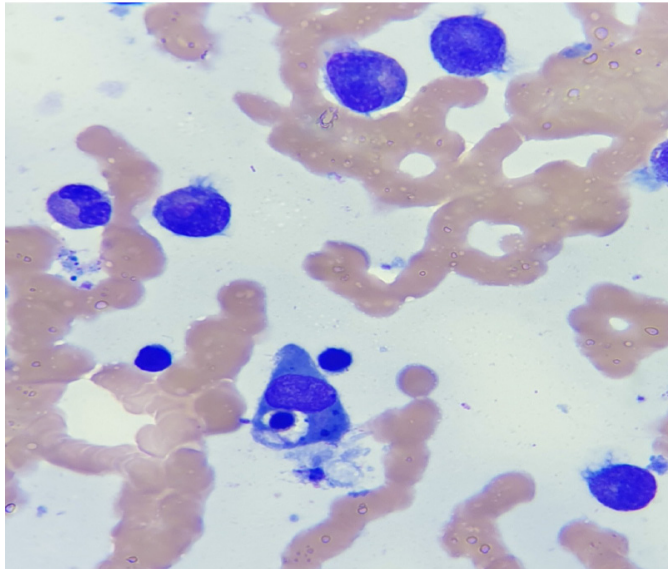
**Tel/Phone:** +90 322 455 90 00 **E-Posta/E-mail:** klcmrwe@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-0924-5739



sendrom (MIS-C) olarak adlandırılır. Visseral leishmaniasis (VL) ise; *Phlebotomus* cinsi sinekler aracılığıyla insanlara bulaşan *L.infantum* ve daha nadir olarak *L. donovani*'nin etken olduğu bir zoonozdur. Türkiye endemik ülkeler arasında bulunur (2). Bu yazıda; MIS-C tanısıyla izlediğimiz ancak MIS-C tedavisiyle kliniğinde yeterli yanıt alınamayan ve ileri tetkikler ile VL tanısı alan bir hastayı tartıştık. Bildiğimiz kadarıyla bu, literatürdeki ilk MIS-C ve VL birlikteliğidir.

## OLGU SUNUMU

On iki yaşında bilinen bir hastalığı olmayan erkek hasta; yaklaşık dört gündür olan ateş, halsizlik, ishal ve karın ağrısı şikayetleri ile hastanemize başvurdu. şiddetli akut solunum sendromu (SARS)-COVID-polimeraz zincir reaksiyon (PZR) testi pozitif saptanan hastanın tetkiklerinde pansitopenisi saptanması üzerine ileri tetkik ve tedavi amacı ile çocuk servisine yatırıldı. Toraks tomografisinde infiltrasyonu yoktu. Tetkiklerinde; TORCH, EBV, *Salmonella* ve *Brusella* serolojisi negatifti. COVID-19 ulusal rehberine uygun tedavisi başlandı. Dalak büyüklüğü için yapılan doppler ultrasonografisi (USG) normaldi. Takibinde 4. günde pansitopenisinin derinleşmesi ve splenomegalinin eşlik etmesi üzerine kemik iliği aspirasyonu (KİA) akım sitometri incelemesi normal olarak değerlendirildi. Kemik iliği yayması ışık mikroskop incelemesinde malign infiltrasyon saptanmadı, nadir hemofagositöz izlendi (Şekil 1). Makrofaj aktivasyon sendromu (MAS) açısından tetkikleri yapıldı. Ateşi dirençli olan hastanın tedavisine intravenöz immünoglobulin (IVIG) ve steroid (2 mg/kg/gün) eklendi. Altıncı gün tetkiklerinde lenfosit 400  $\mu$ L, trombosit 45.000  $\mu$ L, C-reaktif protein 171 mg/L, D-dimer 12.100  $\mu$ g/L ve ferritin 18.000  $\mu$ g/L olması nedeni ile hastaya pulse steroid tedavisi başlandı. Dokuzuncu gün tetkiklerinde lökopenisi düzelmeyen D-dimer ve ferritin değerlerinde giderek artış olan hastanın tedavisine; COVID nedeniyle favipiravir ve steroid tedavisine yanıt alınamayınca MIS-C açısından anakinra tedavisi (2x50 mg) eklendi. Ekokardiyografi normal olarak değerlendirildi. Hasta, bu duruma sebep olabilecek diğer hastalıklar açısından tekrar değerlendirildi. Hastanın sinek temas öyküsü bulunması,

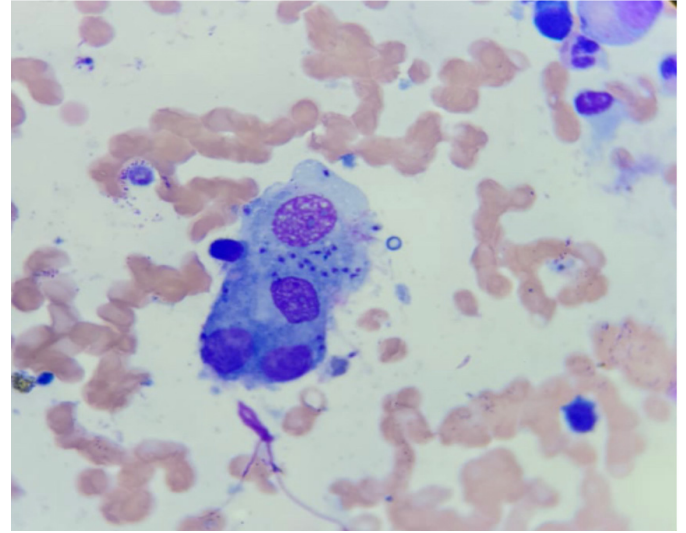


**Şekil 1.** KİA görüntüsü, hemofagositik hücre  
KİA: Kemik iliği aspirasyonu

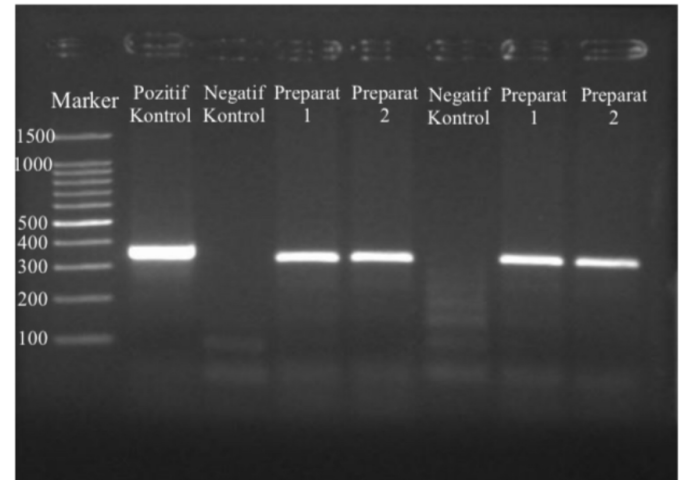
endemik bölgede yaşaması ve splenomegaliyle birlikte dirençli trombositopenisi olması üzerine *Leishmania* enfeksiyonu açısından tetkik edildi. *Leishmania* RK 39 hızlı test sonucu pozitif saptandı. Hastanın kemik iliği preparatlarından bakılan *Leishmania* PZR testinin de pozitif gelmesi üzerine hastanın KİA preparatları tekrar boyatıldı, sadece bir alanda fagosite etmiş hücrenin içinde amastigotlar gözlemlendi (Şekil 2, 3). Hastaya lipozomal amfoterisin B intravenöz tedavisi 3 mg/kg/doz olacak şekilde başlandı. MIS-C tanısı da olan hastanın anakinra tedavi dozu 2x100 mg'ye artırıldı. Lipozomal amfoterisin B tedavisi ile hastanın ateşi ve splenomegalisi geriledi. Laboratuvar tetkiklerinde belirgin düzelme gözlemlendi (Şekil 4). Hasta klinik düzelme sağlandıktan sonra aspirin ve steroid azaltma planı ile taburcu edildi. Birinci ve ikinci ay poliklinik kontrollerinde görülen hastanın kan tetkikleri normal, splenomegalisi yoktu.

## TARTIŞMA

COVID-19, 2019 yılı Aralık ayında Çin'den başlayarak tüm dünyaya hızla yayılmış ve global epidemiyeye sebep olmuştur (1).

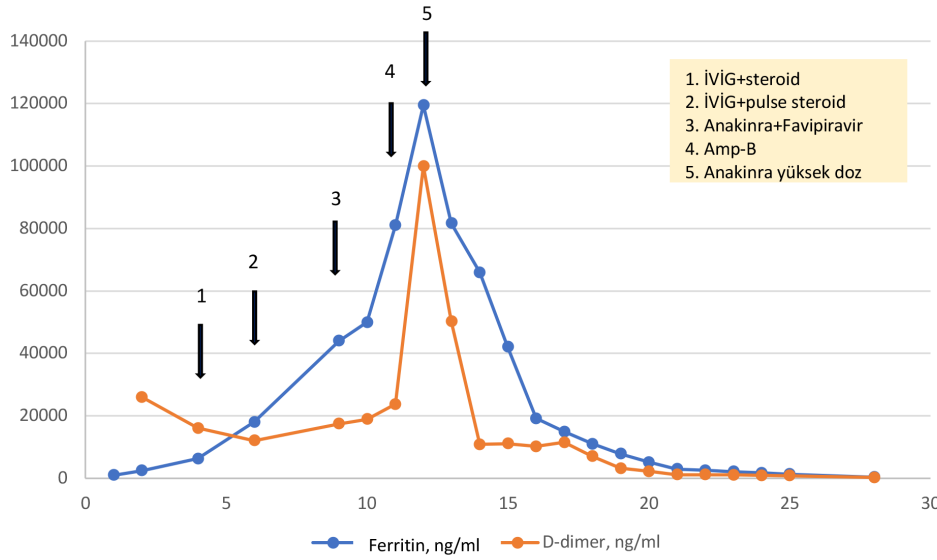


**Şekil 2.** KİA görüntüsü, amastigotlar  
KİA: Kemik iliği aspirasyonu



**Şekil 3.** *Leishmania* PZR (+) liği  
PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu





**Şekil 4.** Verilen tedavilere göre D-dimer ve ferritin yanıtı

Ülkemizde ilk COVID-19 olgusu 11 Mart 2020'de saptanmıştır (3). On sekiz yaş altı çocuklarda COVID-19 tanısı %13-18 civarındır. En sık etkilenen yaş 14-17 yaştr (4). Erişkinlere göre daha hafif klinik gösteren çocuklarda, enfeksiyonun en sık semptomları ateş, öksürük ve dispnedir. Laboratuvar bulgularında ise; lenfopeni, trombositopeni, karaciğer enzimlerinde yükselme, LDH yüksekliği, enflamasyon belirteçlerinde yükselme ve D-dimer yüksekliği tespit edilebilir (5,6). Hastamıza, yüksek ateş ve halsizlik belirtilerine eşlik eden pansitopeni tablosu olması sebebi ile gönderilen SARS-CoV-PZR testinin pozitif gelmesi sonucu tedavi başlandı (3). Dalak büyüklüğü eşlik etmesi üzerine malignite ve venöz tromboz ekartasyonu için KİA ve Doppler USG yapıldı, spesifik bulgu elde edilemedi. Hastanın kemik iliği incelemesinde malignite gözlenmedi, bir adet hemofagositoza rastlandı (Şekil 1). Dördüncü gün takiplerinde karın ağrısı başlayan, ateşleri düşmeyen ve özellikle enflamasyon belirteçlerinde artma olan hastanın Dünya Sağlık Örgütü MIS-C kriterlerine uyması sebebiyle tedavisine steroid ve İVIG eklendi (7).

Hastamızın 9. gün kontrol tetkiklerinde pansitopenisi olup, ferritin 44.000 ng/mL, fibrinojen 86 mg/dL, trigliserid 196 mg, karaciğer enzimleri yüksek ve dirençli ateşleri devam ediyordu. Önceki KİA materyalinde nadir hemofagositoz tariflenen hasta sekonder hemofagositoz nedenleri araştırılmak üzere tekrar değerlendirildi. MIS-C, KH ve sekonder hemofagositik lenfositosis (SHLH)/MAS arasındaki benzerlikler, patogenezele ilgili hipotezlerin yapılmasına izin vermekle beraber bazen karmaşıklığa yol açabilir (8). MAS, özellikle romatolojik hastalıklar zemininde gelişir. Ayrıca çeşitli enfeksiyon ve malignite durumlarında da görülebilir. KH zemininde gelişen MAS literatürde yeterince tariflenmiştir (9-11). Tüm bu bulgulardan yola çıkarak; COVID-19 PZR ve immünglobulin G pozitifliği olan hastamızda gastrointestinal semptomlar başta olmak üzere MIS-C bulguları ile mevcut laboratuvar ve kemik iliği bulguları sonucu MAS geliştiği düşünüldü. SHLH alta yatan patoloji sonucunda tetiklenen, şiddetli ve kontrolsüz bir hiperenflamatuvar reaksiyonun sonucudur. Çoğu durumda enfeksiyöz bir ajan tarafından tetiklenir. Literatüre bakıldığında; etkenler arasında en sık viral etkenler bulunur. Fakat maligniteler, bakteriler, mantarlar ve protozoalar gibi daha birçok etken

sekonder HLH sebebi olabilir. Leishmania ise SHLH'nin sık etkenlerinden birisidir (12-14). Hastamızda SHLH sebebi olabilecek tüm viral ve bakteriyel serolojiler negatif sonuçlandı. Uygulanan tüm tedavilere beklenen yanıt olmayan hastada sinek temas öyküsü ve endemik bölgede yaşaması sebebi ile Leishmania için yapılan RK 39 hızlı test ve KİA preparatından yapılan PZR çalışması pozitif sonuçlandı (Şekil 3).

VL, *Phlebotomus* cinsi sinekler aracılığıyla insanlara bulaşan ve tedavi edilmez ise yaşamı tehdit edebilen bir zoonozdur. Tipik klinik bulguları ateş, pansitopeni, organomegali ve enflamasyon belirteçlerinde yükselmez (15). Tanısal yaklaşım, parazit ile enfekte dokudan hazırlanan preparatın ışık mikroskopisinde incelenmesi, *in vitro* kültürde üretme ve moleküler çalışmalar ile olur. Tedavi sistemiktir ve en iyi tedavi seçeneği lipozomal amfoterisin B'dir. Bu sebeple hastamıza lipozomal amfoterisin B tedavisi eklendi. Hastamızda birlikteliği görülen MIS-C ve VL sebepli SHLH klinikte kötüleşmeye sebep olmuş, fakat yeterli ve uygun tedaviler ile tam düzelme sağlanmıştır.

## SONUÇ

COVID-19, tüm dünyayı olduğu gibi ülkemizi de çok yakından etkilemiştir. Hastalık ve etkenle ilgili bilinenden daha fazla bilinmeyen olması, biz hekimleri olası her durumun altından bu hastalığı düşünmemize sevk etmektedir. Bu durum bazen gerekli olmakla birlikte bazen de benzer kliniği yapacak diğer hastalıkların gözden kaçmasına sebep olabilir. Hastamız tüm klinik ve laboratuvar parametreleri ile MIS-C zemininde gelişen MAS ile uyumlu olup tedavisi düzenlenmiş fakat istenilen yanıt alınmayınca yapılan ileri incelemelerde Leishmania tespit edilmiştir. Bizim hastamızda olduğu gibi özellikle çoğu hastalıkta olabilecek ateş, sitopeni, enflamasyon belirteçlerinde artma ve organomegali durumlarında, her ülkenin kendi gerçekleri ile örtüşen endemik hastalıkları da muhakkak akılda tutulmalıdır.

### \*Etik

**Hasta Onayı:** Alınmıştır.

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

**\*Yazarlık Katkıları**

Konsept: M.K.Ç., Ü.Ç., Dizayn: O.T., Veri Toplama veya İşleme: S.U., Analiz veya Yorumlama: O.T., Ü.Ç., Literatür Arama: M.Ç., Yazan: M.K.Ç.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

**KAYNAKLAR**

1. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. Available from: URL: <https://covid19.who.int>
2. Sirekbasan S, Polat E. A Retrospective Study of Cutaneous and Visceral Leishmaniasis in Istanbul, Turkey. *J Infect Dev Ctries* 2021; 15: 595-9.
3. Günlük COVID-19 Aşı Tablosu. Erişim adresi: URL: <https://covid19.saglik.gov.tr>
4. Leidman E, Duca LM, Omura JD, Proia K, Stephens JW, Sauber-Schatz EK. COVID-19 Trends Among Persons Aged 0-24 Years - United States, March 1-December 12, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2021; 70: 88-94.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Interim Clinical Guidance for Management of Patients with Confirmed Coronavirus Disease (COVID-19). Available from: URL: <https://www.cdc.gov/>
6. Liguoro I, Pilotto C, Bonanni M, Ferrari ME, Pusiol A, Nocerino A, et al. SARS-COV-2 infection in children and newborns: a systematic review. *Eur J Pediatr* 2020; 179: 1029-46.
7. World Health Organization. Multisystem inflammatory syndrome in children and adolescents with COVID-19: Scientific Brief 2020.
8. Nakra NA, Blumberg DA, Herrera-Guerra A, Lakshminrusimha S. Multi-System Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) Following SARS-CoV-2 Infection: Review of Clinical Presentation, Hypothetical Pathogenesis, and Proposed Management. *Children (Basel)* 2020; 7: 69.
9. Palazzi DL, McClain KL, Kaplan SL. Hemophagocytic syndrome after Kawasaki disease. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22: 663-6.
10. Ohga S, Ooshima A, Fukushige J, Ueda K. Histiocytic haemophagocytosis in a patient with Kawasaki disease: changes in the hypercytokinaemic state. *Eur J Pediatr* 1995; 154: 539-41.
11. Suresh N, Sankar J. Macrophage activation syndrome: a rare complication of incomplete Kawasaki disease. *Ann Trop Paediatr* 2010; 30: 61-4.
12. Henter JJ, Horne A, Aricó M, Egeler RM, Filipovich AH, Imashuku S, et al. HLH-2004: diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2007; 48: 124-31.
13. Janka GE, Lehmborg K. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: pathogenesis and treatment. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2013; 2013: 605-11.
14. Carvalho FHG, Lula JF, Teles LF, Caldeira AP, Carvalho SFG. Hemophagocytic lymphohistiocytosis secondary to visceral leishmaniasis in an endemic area in the north of Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2020; 53: e20190491.
15. Arik Yilmaz E, Tanir G, Tuygun N, Taylan Ozkan A. Visceral leishmaniasis in 13 pediatric patients in Turkey: treatment experience. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2009; 33: 259-62.

# Karaciğer ve Akciğer Kistik Ekinokokkoz Nedeni ile Tedavisi Tamamlanan Hastada Spinal Bölgede Görülen Nüks: Nadir Bir Pediyatrik Spinal Kistik Ekinokokkoz Olgusu

*Recurrence from the Spinal Region of the Patient Whose Treatment Was Completed with Liver and Lung Cystic Echinococcosis: A Rare Pediatric Case of Spinal Cystic Echinococcosis*

© Fatma Kılınç<sup>1</sup>, © Ümmühan Çay<sup>1</sup>, © Özlem Özgür Gündeşlioğlu<sup>1</sup>, © Derya Alabaz<sup>1</sup>, © Kadir Oktay<sup>2</sup>, © Umur Anıl Pehlivan<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Enfeksiyon Bilim Dalı, Adana, Türkiye

<sup>2</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahi Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

<sup>3</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

Cite this article as: Kılınç F, Çay Ü, Özgür Gündeşlioğlu Ö, Alabaz D, Oktay K, Pehlivan UA. Recurrence from the Spinal Region of the Patient Whose Treatment Was Completed with Liver and Lung Cystic Echinococcosis: A Rare Pediatric Case of Spinal Cystic Echinococcosis. Türkiye Parazit Derg 2022;46(3):246-8.

## ÖZ

Kistik ekinokokkoz, Echinococcus tenyasının neden olduğu paraziter bir hastalıktır. Hastalık sıklıkla karaciğer ve akciğer olmak üzere kaslar, kemik, böbrek, beyin, dalak gibi organları tutabilir. Spinal kistik ekinokokkoz hastalığı ise literatürde oldukça nadir bildirilmiştir. Bu raporda; karaciğer ve akciğerde multipl kistik ekinokokkoz tanısı ile 3,5 yıl aldığı albendazol tedavisi kesildikten bir yıl sonra yürümede zorlanma, bacak ağrısı şikayetiyle başvurması üzerine spinal kistik ekinokokkoz tanısı alan bir çocuk olgu sunulmuştur. Bu olguda da görüldüğü gibi, herhangi bir organda kistik ekinokokkoz tanısı konuldu ise tedavi tamamlansa da hayatın bir döneminde başka bir organda dahi nükslerin olabileceği unutulmamalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Kistik ekinokokkoz, spinal, nüks

## ABSTRACT

Cystic echinococcosis is a parasitic disease caused by the Echinococcus tapeworm. The disease can often affect organs such as the liver and lungs, muscles, bones, kidneys, brain, and spleen. Spinal cystic echinococcosis has been reported very rarely in the literature. In this report; we present a pediatric case with spinal cystic echinococcosis, who was diagnosed with multiple cystic echinococcosis in the liver and lungs and was admitted with complaints of difficulty in walking and leg pain 1 year after the albendazole treatment, which he had been taking for 3.5 years. If a diagnosis of cystic echinococcosis was made in any organ, recurrences may occur in another organ at some time, even if the treatment is completed.

**Keywords:** Cystic echinococcosis, spinal, recurrence

## GİRİŞ

Kistik ekinokokkoz (KE), Taeniidae ailesinin üyesi olan *Echinococcus* tenyasının enfeksiyonundan kaynaklanır. İnsanlara enfeksiyonun bulaşmasında köpek, koyun, deve, keçi, büyükbaş hayvanlar ve diğer otçul hayvanlar rol oynar. Köpekler son konaktır. İnsanlar

su, yiyecekler ve köpeklerle direkt temas ile parazit yumurtalarını alırlar. Yumurtalar midede larvalarını sindirim sistemine bırakırlar. Embriolar, bağırsak duvarları boyunca ilerler ve venlerle karaciğere ulaşır ve lenfatik yollarla akciğere gidebilirler. Eğer akciğeri de geçerse, kan dolaşımı ile herhangi bir organa yerleşebilirler (1). Sıklıkla karaciğer ve akciğer olmak



Geliş Tarihi/Received: 17.10.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 24.06.2022

**Yazar Adresi/Address for Correspondence:** Fatma Kılınç, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Enfeksiyon Bilim Dalı, Adana, Türkiye

**Tel/Phone:** +90 531 251 42 22 **E-Posta/E-mail:** dr.f.ozurek@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0001-7059-245X

üzere kaslar, kemik, böbrek, beyin, dalak gibi organları tutabilir (2). Kemik tutulumu %0,5-4 arasındadır (3). Omurga tutulumu, kemik tutulumu olan olguların yaklaşık yarısında mevcuttur. En sık vertebral tutulum yeri %50 torakal bölge, sonra sırası ile lomber ve servikal bölge olarak bildirilmiştir (1,3,4). KE'deki cerrahi ve medikal tedavi gelişmelerine rağmen, günümüzde hala nüks en önemli sorunlardan biri olmaya devam etmektedir. Bu raporda akciğer ve karaciğer KE tanısı alan ve tedavisi tamamlanan, takiplerinde spinal bölgeden nüks olan olguyu sunduk.

## OLGU SUNUMU

Altı yaş erkek hasta, birkaç aydır olan ateş, kusma, karın ağrısı şikayeti ile yapılan batın ultrasonografisinde karaciğerinde çok sayıda kistler olması üzerine KE ön tanısı ile hastanemize sevk edilmişti.

Köyde yaşıyorlardı. Köpeklerle yakın temas öyküsü vardı. KE indirekt hemaglutinasyon testi (IHA): 1/2560 ve hemogramında eosinofil %8,4 olması dışında laboratuvarında özellik yoktu. Hastaya albendazol (15 mg/kg/gün, 2x, tok) tedavisi 30 gün kullanıp 15 gün ara verilecek şekilde başlandı. Abdomen ve toraks bilgisayarlı tomografisinde (BT) bilateral akciğerlerde ve karaciğerde multipl öncelikle evre 1 KE ile uyumlu lezyonlar saptandı (Şekil 1).

Kistlerin multipl olması nedeniyle çocuk cerrahi tarafından operasyonu yapılmadı. Beyin bilgisayarlı tomografi ve ekokardiyografide özellik yoktu. Toplam 3,5 yıl albendazol tedavisi aldı. Kontrol görüntülemesinde akciğerde sekel değişiklikler, karaciğerde kalsifiye inaktif kistler olması nedeniyle 10 yaşına geldiği zaman tedavisi kesildi. İlaç kesildikten bir yıl sonra 11 yaşındaki hasta; bacak ağrıları, yürümeye zorlanma, dik duramama şikayeti ile başvurdu. Spinal manyetik rezonans (MR) prekontrast sagittal plan T2, postkontrast aksiyel ve sagittal plan T1 ağırlıklı görüntülerde ekstrapedüller, epidural, Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasına göre tip 2, Gharbi sınıflamasına göre tip 3 KE ile uyumlu, T12 vertebra düzeyinde spinal kanal içinde orta hat-orta hattın sağında sağ nöral foramene uzanan, en geniş 33x24x18 mm boyutunda, iyi sınırlı, ince duvarlı, septasyonlu, multiloküler görünümde, anteriorda vertebra korpusuna uzanım gösteren, dural keseyi posteriora deplase ve komprese eden kontrast tutmayan, benign karakterde kist görüldü (Şekil 2). Kontrol KE IHA 1/2560 saptandı. Hastaya tekrar albendazol tedavisi başlandı. Diğer organlar tarandı ve yeni kist saptanmadı. Beyin cerrahi tarafından opere edildi. Patolojisi; KE, içeriği ile uyumlu geldi. Kontrol MR bulgularına göre albendazol tedavisine 4 yıl daha devam edildi. Toplam 7,5 yıl albendazol tedavisi almıştı. Bu süreçte KE İHA düzeyinde azalma olmadı. Son 1 yıldır ilaçsız takibine devam edilmektedir.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

*Echinococcus*; Türkiye'de en sık görülen parazitlerden biridir. Başlıca 4 alt cinsi bulunmaktadır. Bunlar *E. granulosus*, *E. multilocularis*, *E. vogeli* ve *E. oligarthus*'dir (3). *E. granulosus* kistik ekinokokoza neden olur ve bu klinik tablo ülkemizde ve dünyada en sık karşılaşılan klinik formdur. Asemptomatik olgular semptomatik olanlardan çok daha fazladır (5). Klinik semptomlar organ içindeki kistin yeri ve büyüklüğü, büyüme hızı ve baskısı, rüptürü, lenfatikler tıkanması veya kistlerin sekonder enfeksiyonlara duyarlılığı ile ilgilidir (6). Spinal tutulum nadirdir

ve tüm olguların %1'inden azında bulunur (2). En sık torakal sonra lomber bölge tutulur (4). Kistler epidural yerleşir ve tekli ya da multipl olabilir. İntradural ve ekstrapedüller tutulum nadirdir (7). Bizim hastamızda torakal bölge tutulmuştu ve epidural ve ekstrapedüller multipl kistler mevcuttu.

Portovertebral venöz şant sonucu sıklıkla vertebra korpus cismi primer olarak tutulurken disk aralıkları korunur (8). Spinal KE'li hastalarda vertebral kollapsa ya da hastalığın spinal kanala doğru yayılmasına bağlı olarak ağrı, güçsüzlük ve deformiteler ortaya çıkabilmektedir. Hastalar etkilenen vertebra düzeyinde lokal şişlik ve gerginlik, alt ekstremitelerde güçsüzlük, ağrı, duyu bozuklukları, mesane ve barsak disfonksiyonları gibi semptomlarla başvururlar (9). Bizim olgumuz yürüme bozukluğu ve bacak ağrıları şikayetleri ile başvurdu. Olgumuzda olduğu gibi KE öyküsü olan hastalarda herhangi bir nörolojik semptomla başvurduğunda mutlaka serebral ve spinal KE düşünülmeli ve hastalar bu yönden taranmalıdır.

KE tanısında ve takibinde radyolojik görüntüleme yanında serolojik testlerden faydalanılmaktadır. Tanı için görüntüleme yöntemleri serolojik yöntemlerden daha sensitiftir. Radyolojik özellikler çok karakteristik olmasına rağmen, KE hastalığının kesin tanısı cerrahi örneğin histopatolojik incelemesine dayanır. BT ve MR'de gelişmelere rağmen, bazı tanısal sorunlar devam etmektedir. MR KE tanısında daha sensitiftir (10). Olgumuzun spinal MR'sinde T12 vertebra düzeyinde ekstraaksiyel, ekstrapedüller multiloküler kist saptanmıştı. KE geçirme öyküsü, kırsal bölgede yaşam, seroloji pozitifliği olması nedeniyle KE düşünüldü ve daha



Şekil 1. Batın tomografide karaciğerde multipl öncelikle evre 1 kist hidatik ile uyumlu lezyonlar



Şekil 2. Spinal manyetik rezonans T12 vertebra düzeyinde spinal kanal içinde ekstraaksiyel, ekstrapedüller multiloküler kist görünümü



sonra yapılan biyopside patolojik olarak da tanı kesinleştirildi. KE tedavisi medikal ve cerrahi olarak yapılır. Spinal KE'de optimal tedavi seçeneği cerrahidir (10). Cerrahi hastalığın ilerlemesini ve hayatta kalma süresini uzatır. Medikal tedavide albendazol ve mebendazol kullanılmaktadır. Etkinliği net olmamakla birlikte tedaviye kısa süreli prazikuantel de eklenebilmektedir (11). Bizim olgumuzda albendazol başlandı ve sonrasında cerrahi işlem yapıldı. Hastaların takibi ve tedavi süresi için optimal yaklaşım belirsizdir. Hastanın özelliklerine ve güncel kaynaklara göre kişiselleştirilmelidir. Hastalarda takiplerde nükslerin olabileceği unutulmamalıdır. Nüksler genellikle postoperatif 2-28. ayda olmaktadır. Cerrahi sonrası rekürrens oranı %40'a kadar çıkmaktadır (10). İntradural, ekstramedüller tutulumunda rekürrens oranı düşük bildirilmiştir (12). Nüks için en az 10 yıllık takip ile birlikte en az 2 yıllık ek ilaç tedavisi tavsiye edilmektedir (12). Olgumuzda daha önce karaciğer ve akciğer KE nedeniyle tedavisi tamamlandıktan sonra ilaç kesildikten 1 yıl sonra başka bir vücut bölgesinde marjinal nüks olmuştur. Portovertebral şantlarla bu bölgeye ulaşan kistlerin antiparaziter tedavi kesildikten sonra büyüyen semptomatik hale gelmesi bir olasılıktır. Diğer bir olasılık ise hastanın yeniden enfekte olması sonucu gelişmiş olabileceğidir. Olgumuzda spinal KE ekstramedüller, epidural yerleşimliydi ve MR takipleriyle 4 yıl tedavi verildi. Başarılı kist çıkarılmasından yıllar sonra bile antikolar yüksek kalabilir (13,14). Bizim olgumuzda da beş yıldır serolojik testler pozitif ve düşme gözlemlenmedi.

Spinal KE nadir görülmektedir. Ciddi nörolojik bulgularla karşımıza çıkabilmektedir. Görüntüleme yöntemleri tanı koymada ve tedavi planında çok önemlidir. Multiloküler kistlerin tedavisi güçtür. Hayatın bir döneminde rekürrenslerin ve sistemik yayılımın olabileceği daima akılda tutulmalıdır. Hastalar düzenli aralıklarla ve uzun yıllar takip edilmelidir. Sonuç olarak; hastalığın evcil hayvanlarda ve insanlarda meydana getirdiği önemli sağlık ve ekonomik problemlerinin önüne geçebilmek için KE karşı ciddi kontrol çalışmalarının yürütülmesi gerekmektedir.

## BİLGİLENDİRME

Bu çalışma 14. Ulusal Çocuk Enfeksiyon ve Bağışıklamama Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur.

### \* Etik

**Hasta Onayı:** Yazılı hasta onamı çalışmaya katılan olgudan alınmıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulunda olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

### Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: F.K., Ü.Ç., Ö.Ö.G., D.A., K.O., U.A.P., Konsept: Ü.Ç., Dizayn: Ü.Ç., Veri Toplama veya İşleme: F.Ö., Analiz

veya Yorumlama: Ö.Ö.G., D.A., Literatür Arama: F.Ö. Ö.Ö.G., D.A., Yazan: F.Ö., Ü.Ç.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek bildirilmemiştir.

## KAYNAKLAR

- Demirci E, Altun E, Çalık M, Subaşı ID, Şipal S, Gündoğdu, ÖB. Farklı lokalizasyonları ile kist hidatik olguları: Erzurum bölgesi. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2015; 39: 103-7.
- Ceviker SA, Yuksel C, Sener A, Onder T, Metineren, MH, Ozel C, Akgul, AS. Hydatid cyst of the spine: A rare case report. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2022; 46: 78-82.
- Jain A, Prasad G, Rustagi T, Bhojraj SY. Hydatid disease of spine: Multiple meticulous surgeries and a long term followup. Indian J Orthop 2014; 48: 529-32.
- Charles RW, Govender S, Naidoo KS. Echinococcal infection of the spine with neural involvement. Spine (Phila Pa 1976) 1988; 13: 47-9.
- Akkaya Işık A, Seyman D, Zerdali E, Ayan S, Kakaliçoğlu D, Ayaz T. Kist hidatik hastalığı nedeniyle takip ve tedavi edilen 170 olgunun irdelenmesi: Çok merkezli bir çalışma. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2020; 44: 197-203.
- Moro PL, Clinical manifestations and diagnosis of echinococcosis. Up to date (serial online) 1996 (cited 2022 April 4):1. Available from: URL: <https://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-echinococcosis>
- Braithwaite PA, Less RF. Vertebral hydatid disease: radiological assessment. Radiology 1981; 140: 763-6.
- Neumayr A, Tamarozzi F, Goblirsch S, Blum J, Brunetti E. Spinal cystic echinococcosis--a systematic analysis and review of the literature: Part 1. Epidemiology and Anatomy. PLoS Negl Trop Dis 2013; 7: e2450.
- Çelik C, Şaşmaz M, Uçan H. Spinal hydatid cyst. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2010; 30: 1073-7.
- Pamir NM, Özduman K, Elmacı I. Spinal hydatid disease. Spinal Cord 2002; 40: 153-60.
- Moro PL, Reddy DN. Treatment of echinococcosis. Up to date (serial online) 2022 (cited 2022 March 1). Available from: URL: <https://www.uptodate.com/contents/treatment-of-echinococcosis>
- Velasco-Tirado V, Alonso-Sardón M, Lopez-Bernus A, Romero-Alegria A, Burgillo FJ, Muro A, et al. Medical treatment of cystic echinococcosis: systematic review and meta-analysis. BMC Infect Dis 2018; 18: 306.
- El-On J. Benzimidazole treatment of cystic echinococcosis. Acta Tropica 2003; 85: 243-52.
- Galitza Z, Bazarsky E, Sneier R, Peiser J, El-On J. Repeated treatment of cystic echinococcosis in patients with a long-term immunological response after successful surgical cyst removal. Trans R Soc Trop Med Hyg 2006; 100: 126-33.

# Kutanöz Leishmaniasis Tanı ve İzolasyonunda NNN Besiyeri Olmadığı Durumda RPMI-1640 Besiyeri Kullanılabilir mi?

*Could RPMI-1640 Medium be Used in the Diagnosis and Isolation of Cutaneous Leishmaniasis Lacking NNN Medium?*

İbrahim Çavuş<sup>1</sup>, Tülay Aksoy<sup>1</sup>, Ahmet Yıldırım<sup>1</sup>, Mustafa Turhan Şahin<sup>2</sup>, Ahmet Özbilgin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

<sup>2</sup>Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

Cite this article as: Çavuş İ, Aksoy T, Yıldırım A, Şahin MT, Özbilgin A. Could RPMI-1640 Medium be Used in the Diagnosis and Isolation of Cutaneous Leishmaniasis Lacking NNN Medium? Türkiye Parazitoloj Derg 2022;46(3):249-52.

## ÖZ

Leishmaniasis laboratuvar tanısı kültür, mikroskopik inceleme, serolojik ve moleküler yöntemlere dayanmaktadır. Altın standart yöntem, mikroskopik incelemede amastigotların görülmesi ve Novy, MacNeal, Nicolle (NNN) besiyerinde promastigotların üremesidir. Tüm dünyada kültür için sıklıkla NNN besiyeri kullanılmaktadır. Çalışmamızda, Kutanöz leishmaniasis (KL) tanısında altın standart NNN besiyeri olmadığı durumlarda RPMI-1640 besiyeri kullanımının uygun bir yöntem olup olmadığını araştırılmıştır.

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Dermatoloji Polikliniği'ne başvuran ve KL şüphesi uyandıran lezyonlara sahip hastadan, iğne aspirasyon sıvısı örneğinden yayma preparatlar hazırlanmış ve Giemsa ile boyanarak amastigot varlığı açısından incelenmiştir. Alınan örnekler direkt olarak RPMI-1640 sıvı besiyerine ekimi yapılarak ve 26 °C'de inkübe edilerek promastigot varlığı araştırılmıştır. İnkübasyon sonrası ardışık günlerde, promastigot üremesi açısından kontrol edilmiştir. Üremesi sağlanan izolatin gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yardımıyla internal transcribed spacer-1 (ITS-1) gen bölgesine özgü primer ve probalar ile genotipleme yapılmıştır. Hastadan alınan iğne aspirasyon sıvı örneği yayma preparatların mikroskopik incelemesinde amastigot formu görülmüştür. RPMI-1640 sıvı besiyerinde ise üçüncü günden itibaren promastigot üremesi görülmüştür. Ayrıca KL hastasından elde edilen izolatin genotipleme ile yapılan tür tayini sonucunda *Leishmania tropica* olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, Leishmaniasis tanısında kolay ulaşılabilen ve altın standart NNN besiyerinin temin edilemediği laboratuvarlarda RPMI-1640'ın alternatif besiyeri önermesi açısından önemli olduğu düşünülmektedir. Parazitoloji laboratuvarlarında kolay bir şekilde temin edilen ve hazırlanan RPMI-1640 sıvı besiyeri, hastalık tanısının konulması ve tedavi takibi, *Leishmania* spp. izolasyonu ve ilaç direnç çalışmaları gibi konularda yardımcı olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Kültür, kutanöz leishmaniasis, RPMI-1640 besiyeri

## ABSTRACT

Laboratory diagnosis of leishmaniasis is based on culture, microscopic examination, serological and molecular methods. The gold standard method is to see amastigotes in microscopic examination and to grow promastigotes in Novy, MacNeal, Nicolle (NNN) medium. NNN medium is frequently used for culture all over the world. In our study, it was aimed to investigate whether the use of RPMI-1640 medium is an appropriate method in cases where the gold standard NNN medium is not available for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis (CL).

Smears were prepared from the needle aspiration fluid sample from the patient who applied to Manisa Celal Bayar University Faculty of Medicine and had lesions suspicious of CL, and were stained with Giemsa for the presence of amastigotes. The samples taken were directly inoculated into RPMI-1640 broth and incubated at 26 °C for the presence of promastigotes. On consecutive days after incubation, it was checked for promastigote growth. Genotyping of the grown isolate was performed with primers and probes specific to the internal transcribed spacer-1 (ITS-1) gene region with the help of real-time polymerase chain reaction. The amastigote form was observed in the microscopic examination of the needle aspiration fluid sample smear preparations taken from the patient. On the other hand, promastigote growth was observed in RPMI-1640 broth from the 3<sup>rd</sup> day. In addition, the isolate obtained from the CL patient was determined to be *Leishmania tropica* as a result of the species determination made by genotyping. It is thought that this study is important in terms of suggesting an alternative medium for the diagnosis of



Geliş Tarihi/Received: 31.12.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 16.07.2022

**Yazar Adresi/Address for Correspondence:** Tülay Aksoy, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

**Tel/Phone:** +90 535 897 39 31 **E-Posta/E-mail:** tulay.aksoy@inonu.edu.tr **ORCID ID:** orcid.org/0000-0003-3397-8411

leishmaniasis in laboratories where the gold standard NNN medium is easily accessible. RPMI-1640 medium, which is easily obtained and prepared in parasitology laboratories, can help in the diagnosis of the disease and treatment follow-up, *Leishmania* spp. isolation and drug resistance studies.

**Keywords:** Culture, cutaneous leishmaniasis, RPMI-1640 medium

## GİRİŞ

İnsan ve hayvan sağlığı için önemli olan leishmaniasis, *Leishmania* cinsine ait parazitlerin neden olduğu zoonotik/antroponotik karakterli bir enfeksiyon hastalığıdır. Dünya genelinde 102 ülke ve bölgede endemik olarak görüldüğü bilinmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün ihmal edilen hastalıklar listesinde bulunan leishmaniasis, tropikal hastalıklar listesinde sıtmadan sonra ikinci sırada bulunmaktadır. Hastalık farklı *Leishmania* türüne ve konağın immün sistemine bağlı olarak kutanöz leishmaniasis (KL), mukokutanöz (MKL) ve visseral leishmaniasis (VL) olmak üzere üç klinik formu bulunmaktadır (1,2). Türkiye'de KL olgularına, başta *L. tropica* olmak üzere *L. infantum*, *L. major* ve *L. donovani*'nin neden olduğu Güneydoğu Anadolu Bölgesi, Ege, Akdeniz ve Orta Anadolu Bölgeleri'nde, VL'ye ise başta *L. infantum* olmak üzere ve nadiren *L. donovani* ile *L. tropica*'nın neden olduğu sporadik olgular şeklinde daha çok Akdeniz ve Ege Bölgeleri'nde rastlanmaktadır. Son yıllarda KL olgu sayılarında görülen artışın önemli oranda küresel iklim değişikliği, seyahat etmenin kolaylaşması ve diğer endemik ülkelerden Türkiye'ye göç nedeniyle olduğu düşünülmektedir (3).

KL'de ilk lezyon, genellikle 2 cm çapa kadar küçük kırmızı bir papül şeklinde başlamaktadır. Birkaç hafta içinde papüller koyulaşır, kenarları kabarıklık ve merkezi kraterlere sahip ülserlere dönüşür. Lezyonlar genellikle derinin açıkta kalan bölgelerinde, özellikle yüz ve ekstremitelerde görülür. Lezyonlar ağrısızdır, yaklaşık bir yıl içinde kendiliğinden iz bırakarak iyileşir ve ömür boyu süren izler estetik açıdan sorun yaratır (4).

KL tanısında, klinik özellikler, laboratuvar testleri ve epidemiyolojik veriler tanı kriterlerini vermektedir. Aynı şekilde endemik bölgeye seyahat öyküsü ve endemik bölgede yaşamak da epidemiyolojik tanı kriterlerindedir (5). KL tanısında altın standart, lezyon bölgesinden alınan materyalden hazırlanan yayma preparatların Giemsa veya Wright boyama yöntemiyle incelenmesi sonucu direkt mikroskop inceleme veya alınan materyallerin NNN besiyerine ekilerek yapılan kültür yöntemleridir (6). Basit olmasına rağmen direkt mikroskop inceleme yönteminin kronik olgularda duyarlılığı düşüktür (7). Kültür yöntemleri, parazitemi oranlarının düşük olduğu durumlarda boyama yöntemi ile gözden kaçabilen parazitini üremesi ile tanının daha rahat konulmasını mümkün kılmaktadır (4).

Bu çalışmada, KL tanısında altın standart NNN besiyeri olmadığı durumlarda parazitlerin uzun süreli canlılığını koruyan ve hemen hemen tüm laboratuvarlarda bulunan bileşenlerden oluşan *Leishmania* türlerinin izolasyonu ve teşhisi için RPMI-1640 besiyeri kullanımının uygun bir yöntem olup olmadığı tartışılmıştır.

## OLGU SUNUMU

Bu çalışmada, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hastanesi Dermatoloji Polikliniği'ne başvuran KL şüphesi uyandıran lezyonlara sahip 25 yaşındaki erkek hastadan alınan deri lezyon örneği kullanılmıştır. Hastanın Manisa/Kula'da ikamet ettiği, ancak Nisan 2018-Ağustos 2021 tarihleri arasında Suriye/İdlib'de asker olarak görev yaptığı öğrenilmiştir. Hastanın dermatolojik

muayenesinde sağ ayak birinci proksimal metatarsofalangeal eklem ve sağ ayak bileği üzerine lokalize boyutları 2x2 cm ve 1x1 cm arasında değişen 2 adet etrafı ödemli, eritemli, ülsere plak izlenmiştir (Şekil 1). Lezyonun bulunduğu bölge %70 alkol ile temizlenmiştir, kuruduktan sonra sağlam doku ile lezyonun birleşme sınırından iğne ucu yardımıyla açılan kısımdan çıkan seröz sıvı alınarak yayma preparat hazırlanmıştır. Ardından oda ısısında kurumaya bırakılan preparatlar metil alkol ile 2-3 dakika tespit edilmiştir ve Giemsa ile boyanarak mikroskop altında (x1000) *Leishmania* spp. amastigotlarının varlığı açısından değerlendirilmiştir. Hastanın lezyonlarından seröz sıvı alınarak rutin besiyeri olarak kullanılan NNN besiyeri yerine RPMI-1640 sıvı besiyerine ekim gerçekleştirilmiştir. Bunun için lezyonların bulunduğu bölgeler %70 alkol ile temizlendi ve kurumaya bırakılmıştır, sağlam doku ile lezyonun birleşme sınırı baş ve işaret parmağı arasında tutularak iğne ucu yardımıyla seröz sıvı çıkarılmıştır. Bu seröz sıvı, içerisinde 2 mL RPMI-1640 sıvı besiyeri olan tüplere ekilmiştir ve tüpler 10 gün boyunca 26 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında güneş ışığına maruz bırakılarak kontrol edilerek promastigot varlığı açısından değerlendirilmiştir (Şekil 2). Hastanın lezyonlarından alınan seröz sıvısından DNA izolasyonu için High Pure PCR Template Preparation Kit (Roch®, Germany) kit prosedürüne uygun olarak yapılmıştır. Bu amaçla *Leishmania* spp. parazitlerinin SSU-rRNA ve 5.8S rRNA'sını kodlayan genleri ayıran ITS1 (Ribozomal Internal Transcribed Spacer 1) bölgesini hedefleyen primerler ve probalar kullanılarak çoğaltılmıştır (8).



**Şekil 1.** Sağ ayak sırtında ve ayak başparmağı üzerindeki 2 adet kutanöz leishmaniasis lezyonu



**Şekil 2.** Hasta örneğinin RPMI-1640 besiyerinde kültürü ve hazırlanan Giemsa boyalı preparatların mikroskopik incelenmesi



Çalışmamızda, KL şüpheli hastanın lezyonlarından elde edilen seröz sıvıdan hazırlanan Giemsa boyalı yayma preparatlarda *Leishmania* spp. amastigotları görülmüştür. Yapılan ekim sonrasında RPMI-1640 sıvı besiyerinde promastigotlar üretilmiştir (Şekil 3) ve qPCR ile izolat *L. tropica* olarak tanımlanmıştır (Şekil 4). *Leishmania tropica* promastigotlarının RPMI-1640 sıvı besiyerinde en erken üçüncü günde üremeye başladığı saptanmıştır.

## TARTIŞMA

Leishmaniasis, insan-vektör-insan geçişi ile yayılan, dünyada ülkemizin de içinde olduğu tropikal/subtropikal iklim kuşağındaki ülkelerde geniş bir alanda görülebilen önemli halk sağlığı sorunlarından birisidir. Endemik bölgede yaşayan bir milyardan fazla insan leishmaniasis açısından risk altındadır (9). KL tanısında en sık kullanılan yöntem lezyon kenarından enjektör yardımıyla alınan örneğin Giemsa veya Wright ile boyanması ve amastigot formlarının görülmesidir. Mikroskop inceleme yöntemi basit ve hızlı tekniktir, ancak özellikle kronik lezyonlarda duyarlılığı düşüktür (10). Kesin tanı, kültür yöntemleri kullanılarak promastigot formlarının üretilmesi veya klinik örneklerde parazitini amastigot formlarının gösterilmesiyle konulmaktadır. Leishmaniasis tanısında bu yöntemler "altın standart" olarak kabul edilmektedir (11).

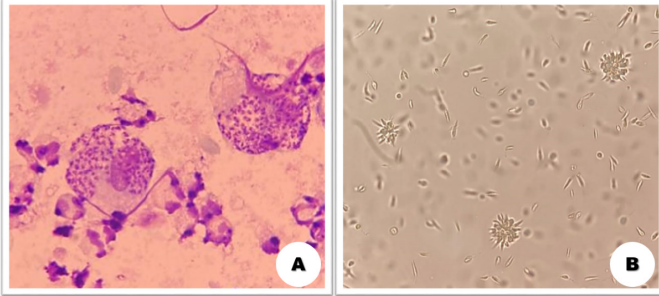
Tanıda yaygın olarak kullanılan besiyerleri, defibrine tavşan kanı ve agar içeren NNN, pepton, agar ve sığır eti içeren modifiye Tobie besiyeri ve Schneider Drosophila besiyerleridir. Ayrıca

piyasada bulunan M199 ve RPMI-1640 sıvı besiyerleri de oldukça sık kullanılmaktadır. Sıvı besiyerleri genellikle FCS, serum veya kan lizatları ile zenginleştirilmektedir. Ancak son yıllarda kontaminasyonu azaltmak, basit ve ucuz besiyeri hazırlamak için serumsuz ve otoklavlanabilir besiyerleri üzerine yapılan çalışmalar ön plana çıkmaktadır (4,12). Besiyeri kullanarak farklı *Leishmania* türlerinin morfolojisini, biyokimyasal analizini, enfektivitelerini, immünolojisini ve moleküler özelliklerini değerlendirmek mümkündür. Besiyeri çalışmalarında NNN ve ticari besiyerlerinin yanı sıra çeşitli maddeler kullanılarak farklı kültür besiyerleri hazırlanmış ve *Leishmania* spp. promastigotlarının üretiminde çeşitli yöntemler kullanılmıştır (4,13). Fakat NNN besiyerinde tavşan kanı kullanılması, hazırlanmasının zor ve zaman alması, kontaminasyon riski olması gibi dezavantajları bulunmaktadır (12). Bununla birlikte *Leishmania* izolatları ile yapılacak birçok çalışma için kısa sürede çok sayıda promastigot üreten sıvı kültür besiyerlerine ihtiyaç duyulmaktadır.

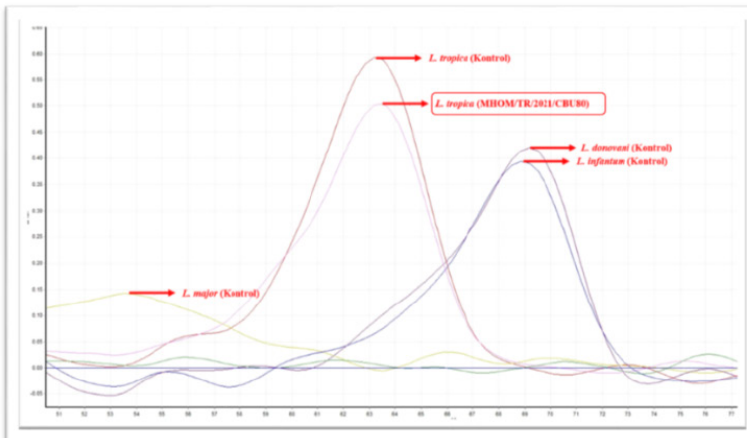
Hastadan alınan iğne aspirasyon sıvısı örneği ile yapılan Giemsa boyalı yayma preparatta *Leishmania* spp. amastigotlarının görülmesi ve besiyerinde promastigotların görülmesi KL tanısında altın standart olup en çok tercih edilen yöntemdir (10). Bizim olgumuzda da direkt mikroskopi ve kültür ile tanı konmuş ve qPCR ile yapılan tür ayrımı sonucunda etken *L. tropica* olarak saptanmıştır.

Aksoy Gökmen ve ark.'nın (12) çalışmalarında, tek fazlı sıvı besiyeri (nutrient buyyon) *Leishmania* spp. kültürü için kullanılmış ve RPMI-1640 sıvı besiyeri ile NNN besiyerlerine göre daha az başarılı olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise, KL tanısında NNN besiyeri olmadığı durumda ona alternatif olabilecek RPMI-1640 sıvı besiyeri kullanılmış ve ekimin 3. günden itibaren de *Leishmania* spp. promastigotları tespit edilmiştir.

Limoncu ve ark.'nın (14) çalışmalarında, içerisine maya ekstresi, pepton ve %10 FCS ilave edilmiş P-Y adı verilen sıvı besiyeri, NNN ve %10 FCS ilaveli RPMI-1640 besiyerleri *L. tropica* ve *L. infantum* promastigotlarının çoğalmasında karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak P-Y besiyerinin, %10 FCS ilaveli RPMI-1640 besiyerine ile benzer sonuçlar verdiği saptanmıştır. Çalışmamızda, parazitoloji ve mikrobiyoloji laboratuvarlarında kolaylıkla bulunabilen hızlı ve kolay hazırlanan RPMI-1640 sıvı besiyeri kullanılmıştır. RPMI-1640 sıvı besiyeri, promastigotların üretilmesi ve hastadan promastigot izolasyonu için kullanılmıştır. Bu besiyeri, bifazik NNN besiyerine alternatif bir seçenek olarak rapor edilmiştir.



**Şekil 3.** *Leishmania tropica* yaşam formları (A: Giemsa boyalı preparatta hücre içi amastigotlar, B: RPMI-1640 besiyerinde üreyen promastigotlar)



**Şekil 4.** Gerçek zamanlı PZR yönteminde *Leishmania tropica*'ya uygun erime eğrisi  
PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu



Sonuç olarak bu çalışmanın, leishmaniasis tanısında kolay ulaşılabilen ve altın standart NNN besiyerinin temin edilemediği laboratuvarlarda alternatif besiyeri önermesi açısından önemli olduğu düşünülmektedir. Parazitoloji laboratuvarlarında kolay bir şekilde temin edilen ve hazırlanan RPMI-1640 sıvı besiyeri, hastalık tanısının konulması ve tedavi takibi, *Leishmania* spp. izolasyonu ve ilaç direnç çalışmaları gibi konularda yardımcı olabilir.

## TEŞEKKÜR

Çalışmada *Leishmania tropica* izolatının kriyoprezervasyonunu sağlayan Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankası'na teşekkür ederiz.

**Bilgilendirme:** Uluslararası 22. Parazitoloji Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur.

## \*Etik

**Hasta Onayı:** Hastanemizin polikliniklerine başvuran her hastadan onam formu alındığı için bu çalışma için ayrıca hasta onamı alınmamıştır.

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

## \*Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: A.Ö., M.T.Ş., Konsept: A.Ö., M.T.Ş., Dizayn: A.Ö., Veri Toplama veya İşleme: İ.Ç., T.A., A.Y., M.T.Ş., Analiz veya Yorumlama: A.Ö., M.T.Ş., Literatür Arama: İ.Ç., T.A., A.Y., Yazan: İ.Ç., T.A., A.Y.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

## KAYNAKLAR

- World Health Organization. Leishmaniasis. Erişim Tarihi: 01.12.2021. Erişim adresi: URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>
- Yıldız Zeyrek F, Töz S, Uluca N, Doni N, Toprak Ş, Özbel Y. Cutaneous Leishmaniasis Cases Caused by *Leishmania infantum* in Şanlıurfa Province, Turkey. Mikrobiyol Bul 2020; 54: 647-56.
- Özbilgin A, Töz S, Harman M, Topal SG, Uzun S, Okudan F, et al. The current clinical and geographical situation of cutaneous leishmaniasis based on species identification in Turkey. Acta Trop 2019; 190: 59-67.
- Özbilgin A, Zeyrek F, Limoncu ME, Öztan İ, Tabak T, Kilimcioglu AA, et al. Comparison of culture media in the isolation and diagnosis of cutaneous leishmaniasis. African Journal of Microbiology Research 2010; 4: 1038-43.
- Özbilgin A, Yıldırım A, Çavuş İ, Baştemir S. Three Autochthonous Cutaneous Leishmaniasis Cases in Manisa. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2015; 45: 103-8.
- Luz ZMP, Silva ARD, Silva FDO, Caligorne RB, Oliveira E, Rabello A. Lesion aspirate culture for the diagnosis and isolation of Leishmania spp. from patients with cutaneous leishmaniasis. Mem Inst Oswaldo Cruz 2009; 104: 62-6.
- Ameen M. Cutaneous leishmaniasis: advances in disease pathogenesis, diagnostics and therapeutics. Clin Exp Dermatol 2010; 35: 699-705.
- Toz SO, Çulha G, Zeyrek FY, Ertabaklar H, Alkan MZ, Vardarlı AT, et al. A real-time ITS1-PCR based method in the diagnosis and species identification of *Leishmania* parasite from human and dog clinical samples in Turkey. PLoS Negl Trop Dis 2013; 7: e2205.
- Kurt Ö, Özen NM, Aydın EM, Kaya DE, Kayhan CK, Okullu SÖ, et al. Characterisation of the *Leishmania donovani/L. infantum* hybrid isolated from an autochthonous kala-azar patient: preliminary results of an *in vivo* model. Türkiye Parazit Derg 2021; 45: 95-101.
- Ertabaklar H, Çalışkan SÖ, Boduç E, Ertuğ S. [Comparison of direct microscopy, culture and polymerase chain reaction methods for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis]. Mikrobiyol Bul 2015; 49: 77-84.
- Demir Y, Çavuş İ, Özbilgin A. Türkiye'den Elde Edilen Kutanöz Leishmaniasis Etkeni İzolatların Sıvı Besiyerlerindeki Üremelerinin Karşılaştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2020; 50: 49-55.
- Aksoy Gökmen A, Öncel K, Özdemir OA, Pektaş B, Çavuş İ, Güngör S, et al. An Alternative Biphasic Nutrient Medium for the Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis. Mikrobiyol Bul 2015; 49: 266-71.
- Mansour NS, Hady J, McConnell E. A modified liquid medium for Leishmania. J Parasitol 1973; 59: 1088-90.
- Limoncu ME, Balcıoğlu IC, Yereli K, Özbel Y, Özbilgin A. A new experimental in vitro culture medium for cultivation of Leishmania species. J Clin Microbiol 1997; 35: 2430-1.

# Toxoplasma gondii'ye Karşı Geliştirilen DNA Aşılarına Genel Bir Bakış

## An Overview of DNA Vaccines Development Studies Against Toxoplasma gondii

© Ceren Gül<sup>1</sup>, © Tuğba Karakavuk<sup>1</sup>, © Muhammet Karakavuk<sup>2</sup>, © Hüseyin Can<sup>3</sup>,  
© Aysu Değirmenci Döşkaya<sup>4</sup>, © Aytül Gül<sup>5</sup>, © Sedef Erkunt Alak<sup>3</sup>, © Adnan Yüksel Gürüz<sup>4</sup>,  
© Cemal Ün<sup>3</sup>, © Mert Döşkaya<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Ödemiş Meslek Yüksek Okulu, İzmir, Türkiye

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>4</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>5</sup>Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Cite this article as: Gül C, Karakavuk T, Karakavuk M, Can H, Değirmenci Döşkaya A, Gül A, Erkunt Alak S, Gürüz AY, Ün C, Döşkaya M. An Overview of DNA Vaccines Development Studies Against *Toxoplasma gondii*. Türkiye Parazit Derg 2022;46(3):253-70.

### ÖZ

*Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), insan dahil hemen hemen tüm sıcakkanlı hayvanları enfekte edebilen zorunlu hücre içi bir parazittir ve küresel nüfusun üçte birinin bu parazit ile enfekte olduğu düşünülmektedir. Kontamine gıdaların tüketilmesi, enfekte bir konak ile temas edilmesi veya konjenital geçiş ile enfeksiyon oluşabilmektedir. Toksoplazmozis immün sistemi sağlam olan kişilerde asemptomatik seyrederken, immün yetmezliği olan veya immün sistemi baskılanmış bireylerde şiddetli enfeksiyonlara neden olabilmektedir. İnsanlarda hastalık oluşturmamasının yanı sıra çiftlik hayvanlarında da enfeksiyona neden olmakta, koyun ve keçilerde ölü doğum ve kürtaj gibi sonuçlar doğurabilmektedir. Ciddi klinik tablo ve ekonomik kayıplara yol açan parazite karşı %100 etkili bir ilaç veya aşı mevcut değildir. İnsanlarda ve hayvanlarda kullanılmak üzere koruyucu bağışıklığı sağlayabilecek etkili, güvenli ve dayanıklı bir aşıya ihtiyaç duyulmaktadır. Toksoplazmozise karşı aşı çalışmaları 1990'lardan sonra hız kazanmıştır. Günümüzde moleküler biyoloji, biyoteknoloji ve immünolojideki gelişmelere bağlı olarak etkili ve güvenli aşıların geliştirilmesine yönelik çalışmalar yapılabilmektedir. DNA aşıları kolay üretilibilmeleri, güvenli olmaları, soğuk zincire ihtiyaç duymamaları hem humoral hem de hücrel immün yanıtı uyatabilmeleri sebebiyle Toksoplazmozise karşı umut vadeden bir aşı platformudur. Bu derleme; parazitin karmaşık yaşam döngüsü, patogenezi ve epidemiyolojisi, neden olduğu enfeksiyona karşı konakta gelişen immün yanıt ve toksoplazmozise karşı geliştirilen DNA aşıları ve bu aşılar hakkında genel bir bakış açısı sunmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** DNA aşıları, toksoplazma, immünizasyon

### ABSTRACT

*Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) is an obligate intracellular parasite that can infect almost all warm-blooded animals, including humans, and one-third of the global population is thought to be infected with this parasite. Infection can occur through consumption of contaminated food, contact with an infected host, or congenital transmission. While toxoplasmosis is asymptomatic in people with a healthy immune system, it can cause severe infections in people with a suppressed immune system or with immunodeficiency. In addition to causing diseases in humans, it also causes infections in livestock and may result in stillbirth and abortion in sheep and goats. There is no 100% effective medicine or vaccination against the parasite that causes major clinical symptoms and financial losses. There is a need for an effective, safe, and durable vaccine that can provide protective immunity for use in humans and animals. Vaccination studies against toxoplasmosis have gathered speed since the 1990s. Today, studies can be carried out to develop effective and safe vaccines depending on the developments in molecular biology, biotechnology, and immunology. DNA vaccines are a promising vaccine platform against toxoplasmosis because they are easy to produce, they are safe, they do not need a cold chain, and they can stimulate both humoral and cellular immune responses. This review provides an overview of the complex life cycle, pathogenesis, and epidemiology of the parasite; the immune response that develops in the host against the infection it causes; and the DNA vaccines developed against toxoplasmosis and these vaccines.

**Keywords:** DNA vaccines, toxoplasma, immunization



Geliş Tarihi/Received: 21.05.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 24.06.2022

**Yazar Adresi/Address for Correspondence:** Mert Döşkaya, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
**Tel/Phone:** +90 232 390 47 34 **E-Posta/E-mail:** mert.doskaya@ege.edu.tr **ORCID ID:** orcid.org/0000-0001-6868-008X

## GİRİŞ

*Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), insan dahil tüm sıcakkanlı hayvanları enfekte edebilen zorunlu bir hücre içi *Apicomplexan* parazittir (1). Kesin konak olan kedilerde eşeyli ve eşeysiz, ara konakta ise sadece eşeysiz çoğalan bu protozoanın akut enfeksiyonda görülen takizoit, kronik enfeksiyonda görülen bradizoit ve içerisinde sporozoitleri barındıran ookist olmak üzere üç farklı enfektif formu bulunmaktadır (2). Parazit takizoit formundayken konaktaki tüm çekirdekli hücreleri enfekte edebilme yeteneğine sahiptir. Bu sayede immün yanıtın olmadığı ortamda kendini çoğaltarak enfekte hücreleri öldürmekte ve hücre içinde yaşamını devam ettirebilmektedir (3). Doku kisti içeren az pişmiş etlerin, kontamine gıdaların ve ookist ile enfekte suların tüketilmesi, enfekte bir konak ile temas edilmesi veya konjenital geçiş yoluyla enfeksiyon oluşabilmektedir (1).

İmmün sistemi sağlam olan kişilerde enfeksiyonların çoğu asemptomatiktir ya da hafif grip benzeri semptomlarla seyredir. Bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde (HIV ile enfekte hastalar, organ nakli alıcıları, kanser hastaları vb.) birincil enfeksiyon veya reaktivasyon, ensefalit veya pnömoni gibi ciddi komplikasyonlara neden olabilmektedir (4). Günümüzde toksoplazmozis şizofreni ve diğer psikiyatrik bozukluklarla ilişkilendirilmektedir. Lori ve ark. (5) tarafından yapılan bir çalışmada *T. gondii* ile enfekte olmuş kişilerin, enfekte olmayan kişilere kıyasla şizofreniye yatkın olan farklı genetik risk faktörlerine sahip olup olmadığı incelenmiş ve çalışma sonucunda *T. gondii*'nin şizofreni riskini artırdığı belirtilmiştir. Yapılan başka bir çalışma, otizmlili çocuklardaki enfeksiyon oranının normal çocuklara kıyasla anlamlı seviyede yüksek olduğunu göstermiştir (6). Bunlara ek olarak toksoplazmozis ile kanser gelişimi arasında bir bağlantı olduğu düşünülmektedir. Hodge ve ark. (7) tarafından *T. gondii* ile erişkin glioma riski arasındaki ilişkiyi incelemek için yapılan bir çalışmada, *T. gondii* antikoru için seropozitiflik ve glioma riski arasında pozitif ilişki gözlemlenmiştir. İnsanlarda neden olduğu hastalıkların yanı sıra koyun ve keçi gibi çiftlik hayvanlarında da enfeksiyona neden olan bu parazit ölü doğum ve kürtaja neden olarak ekonomik bir yük oluşturmaktadır (4).

Küresel nüfusun üçte birini enfekte ettiği düşünülen, ciddi klinik tablo ve ekonomik kayıplara yol açan *T. gondii*'ye karşı %100 etkili bir ilaç mevcut değildir (1). Günümüzde koyunlarda kürtajın önüne geçmek için ticari olarak temin edilebilen yalnızca bir aşı (Toxovax®, MSD hayvan sağlığı) bulunmaktadır (8). Aşılamanın amacı koruyucu bağışıklığın sağlanmasıdır (9). Toksoplazmozise karşı insanlarda ve hayvanlarda kullanılacak etkili, güvenli ve dayanıklı bir aşıya ihtiyaç duyulmaktadır (4).

DNA aşuları, patojene ait hedeflenen bir antijeni içeren bakteriyel plazmitlerden oluşmakta, canlı zayıflatılmış veya inaktive edilmiş patojenleri içermediğinden virülen formlara geri dönüş riski taşımamaktadır (10). Hem hücresel hem de humoral bağışıklık tepkilerini indüklemeye yeteneği DNA aşısını geleneksel protein veya peptit aşılardan farklı kılmaktadır (11). Son beş yılda toksoplazmozise karşı elliden fazla DNA aşı adayı fare modelinde test edilmiştir. Aşının başlıca hedefi olan kediler ve oyunlarda ise sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. İnsanlarda ise henüz test edilmiş bir aşı bulunmamaktadır. DNA aşılarının istenilen düzeyde korunma sağlayamaması DNA aşılarının piyasaya çıkmasını engellemektedir (1,12). Bunun yanında yakın zamanda Koronavirüs hastalığı 2019'a karşı geliştirilen DNA aşısının insanlarda faz çalışmalarını birer birer geçip acil kullanım onayı

alması DNA aşılarının insanlara uygulanabilirliğini göstermiştir (13). DNA aşılarının koruyucu etkinliğinin artırılması için adjuvan eklenmesi, aşı dağıtımında taşıyıcı olarak bakteri ve virüslerin kullanılması, çapraz koruma için birden fazla antijenin dahil edilmesi gibi stratejiler geliştirilmiştir (1).

## *Toxoplasma gondii* Genel Bilgi

*T. gondii* ilk kez 1908 yılında *Ctenodactylus gundi* adlı bir kemirgende tanımlanmış ve aynı yıl içinde Brezilya'da, tavşan dokusunda bu parazitin varlığı tespit edilmiştir. *T. gondii* şekil itibari ile yaya benzediği için Yunancada yay anlamına gelen *Toxo* ve yaşam anlamına gelen *plasma* kelimeleri birleştirilerek *Toxoplasma gondii* adlandırılması yapılmıştır (14). 1923 yılında ilk kez gözden *T. gondii* kistlerinin izolasyonunu gerçekleştirilmiştir. İlk konjenital olgu ise 1937 yılında tespit edilmiş ve insanlardaki toksoplazmozis 1942 yılında tanımlanmıştır (15). Aynı yıl koyunlarda toksoplazmozis olgusu bildirilmiştir (16).

Türkiye'de ilk kez 1950 yılında bir köpekten *T. gondii* izolasyonu gerçekleştirilmiş, 1953 yılında ise ilk insan olgusu bildirilmiştir. 1969 yılına gelindiğinde toksoplazmozis tanısında serolojik yöntemler kullanılmaya başlanmıştır. 1973 yılında ölen bir köpekten parazit izolasyonu ve bir yıl sonra ise Ankara'da bir bebekten *T. gondii* izolasyonu yapılmış, bu suş Ankara suşu olarak adlandırılmıştır (15,17,18).

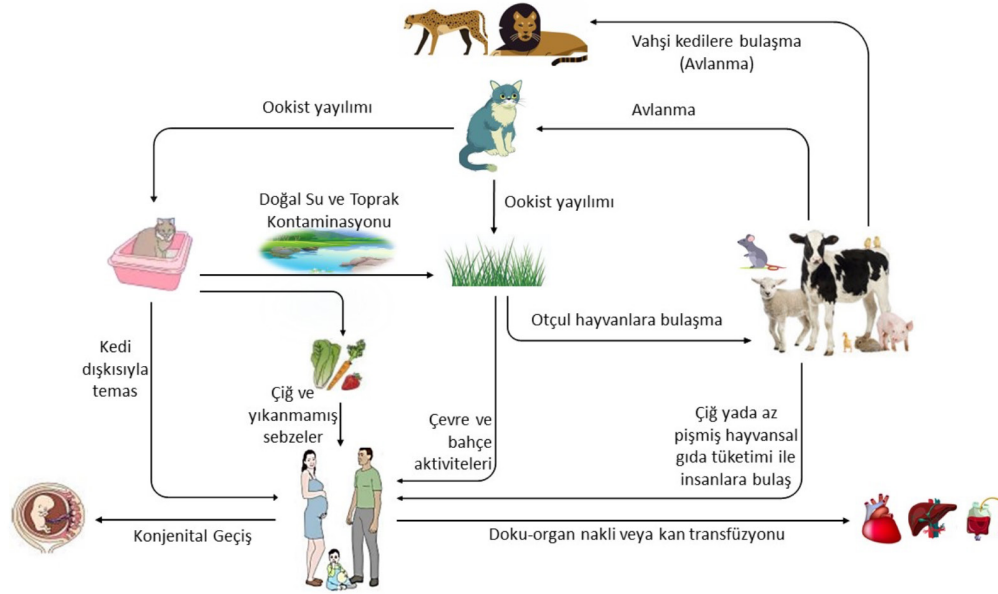
## Morfoloji ve Yaşam Döngüsü

*T. gondii*, insanları ve hayvanları enfekte ederek toksoplazmozise neden olan geniş bir konak yelpazesine sahip zorunlu hücre içi parazittir (Şekil 1) (19). Parazitin yaşam döngüsünde hızlı bölünme özelliğine sahip takizoitler, doku kistlerinde bulunan bradizoitler ve sporozoitleri bulunduran ookistler olmak üzere 3 farklı form olduğu bilinmektedir (Şekil 2) (20).

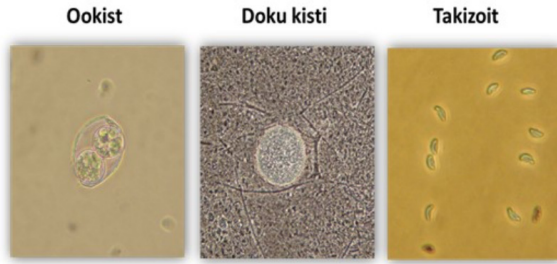
Takizoitler 2x6 µm boyutlarında, karakteristik olarak muz veya hilal şeklinde, nükleusa sahip, hareket edebilen ancak herhangi bir almaca sahip olmayan bir formdur. Yapılarında bulunan çeşitli proteinler ve moleküller sayesinde konak hücrelere penetrasyon, kimyasal etkileşim ya da fagositoz yoluyla girdikleri bilinmektedir. Konak hücreye girdikten sonra ovalleşir ve kendisine konak hücre duvarından parazitofor vakuölü (PV) oluşturarak konağın immün sisteminden korunmaktadır. Vakuol içinde bulunan takizoitte meydana gelen tekrarlayan bölünmeler sonucunda konak hücre patlar. Açığa çıkan takizoitlerin bir kısmı çevredeki komşu hücreleri istila ederken bir kısmı kan ve lenf yoluyla genellikle sinir sistemi, plasenta, göz ve kalp kası gibi hayati doku ve organlara yayılmaktadır (17,21).

Konak hücredeki immün sistem baskısından dolayı PV içinde bulunan takizoitlerin daha yavaş bölünen bradizoitlere dönüştüğü ve konak hücrenin sitoplazmasında doku kistlerini oluşturduğu görülmüştür. Morfolojik olarak kist duvarı ince, esnek bir yapıya ve 5-120 µm arasında değişen bir çapa sahiptir ve içerisinde 100-3000 bradizoit barındırır. Konakta hiçbir belirti göstermeden aylarca hatta yıllarca immün sistemden korunarak yaşamını devam ettirebilmektedir (21). Doku kistleri sinir sistemi, kalp kası, göz ve beyine yerleşebilmekte ve beyine yerleşen doku kistlerinin konak hücre dışına çıkmadan da ölüme sebep olduğu bilinmektedir (17,22).

Ookistlerin kesin konakları kedigillerdir. Çeşitli yollarla beslenme sonucunda paraziti vücutlarına alan kedilerin bağırsak epitel hücrelerinde üreme döngüleri başlamakta ve eşeyli üreme sonucunda oluşan ookistler dışkıyla ile çevreye bırakılmaktadır.



Şekil 1. *Toxoplasma gondii*'nin yaşam döngüsü



Şekil 2. *T. gondii*'nin 3 formuna ait faz kontrast mikroskobu altındaki görüntüleri (orijinal)

Dışkıda bulunan sporüle olmamış ookistler 1-21 gün sonra uygun ortam şartlarında sporüle olarak enfektif hale gelmektedir (21).

Kompleks bir yaşam döngüsüne sahip olan bu parazit Şekil 1'de görüldüğü gibi kedigiller dışında insan, koyun, domuz, fare ve sığır gibi canlıları ara konak olarak kullanıp yaşamını sürdürmektedir. Kesin konak ile ara konaklarında gerçekleşen yaşam döngüsü farklılık göstermektedir (23). Ara konakta endodiyogeni ile takizoitler çoğalırken, kesin konakta eşeyli üreme sonucunda ookistler oluşmaktadır. Oluşan ookistlerin ara konaklar tarafından su ve besinlerle (çevrede birikmiş su kaynakları, pişmemiş ya da az pişmiş et tüketimi, iyi yıkanmamış sebze-meyve tüketimi) vücuda alınmasıyla takizoit ve bradizoit formlarının oluşumu gözlenmektedir. Doku kistlerinin çevreden alınmasıyla tüm konakların enfekte olduğu bilinmektedir. Takizoitler konakta akut enfeksiyona, bradizoitler ise kronik enfeksiyona yol açmaktadır (21,24).

### Toksoplazmozis

Toksoplazmozise neden olan *T. gondii* büyükbaş ve küçükbaş hayvanları enfekte ederek düşüklere ya da ölü doğumlara sebep olmaktadır. Özellikle koyun, keçi, domuz gibi ekonomik öneme sahip çiftlik hayvanlarında gelişen toksoplazmozis sonucunda hayvancılıkta büyük ekonomik kayıplar yaşanmaktadır (14,25).

Toksoplazmozisin insanlara konjenital ve edinsel olmak üzere iki farklı yolla bulaştığı bilinmektedir. Edinsel bulaş genellikle parazite ait ookistlerin kedi dışkısı ile çevreye atılması sonucunda kontamine olan su ve besin maddelerinin, doku kisti içeren çiğ ya da az pişmiş etlerin veya pastörize edilmemiş süt ürünlerinin tüketilmesiyle gerçekleşmektedir. Takizoit formu ile bulaşın oldukça nadir görüldüğü bildirilmektedir (17,21). Çiğ veya az pişmiş kontamine etlerin tüketilmesiyle enfekte olan insanlarda inkübasyon süresi 10-23 gün sürerken, kedi dışkısı yoluyla ookistlerin alınmasında bu süre 5-20 gün arasında değişmektedir. Doku ve organ nakilleri veya kan transfüzyonları ve konjenital geçiş ise diğer bulaş yollarıdır. Konjenital bulaş, hamilelik sırasında ya da öncesinde anne adayının *T. gondii* ile enfekte olması sonucu gerçekleşmektedir. Hamilelik öncesinde enfekte olan kadınların sırasında enfekte olan anneden plasenta aracılığı ile parazitin fetüse bulaştığı bilinmektedir. Hamileliğin ilk dönemlerinde geçirilen enfeksiyonların düşük ya da ölümlere, son dönemlerinde geçirilen enfeksiyonların ise daha az hasara ve erken doğuma neden olduğu bilinmektedir (15,26,27). Başlangıçta bebeklerde hiçbir belirti göstermeyen toksoplazmozisin geç fark edilmesi veya tedavi edilmemesi gelişme geriliği gibi ciddi klinik sorunlar oluşturmaktadır (28).

Enfekte bireylerde gerçekleşecek klinik belirtiler başta konak hücrenin özellikleri olmak üzere konak hücreyi enfekte eden parazit miktarına ve parazitin bulunduğu konuma göre değişiklik göstermektedir. İmmün sistemi sağlam olanlarda asemptomatik seyreden toksoplazmozis bazı kişilerde hafif ateş, baş ağrısı gibi ağır olmayan belirtiler gösterebilmektedir (3). AIDS ve kanser hastaları ya da hiper immüno globulin M (IgM) sendromuna sahip bireyler gibi immün sistemi baskılanmış ve immün yetmezliği olanlarda bilinç kaybı, yüksek ateş benzeri belirtiler gözlenirken bazılarında da hepatosplenomegali, miyokardit, perikardit ve tonsillit gibi ciddi hastalıklar gözlenmektedir (29).

### Epidemioloji

Dünya nüfusunun yaklaşık üçte birinin *T. gondii* ile enfekte olduğu ileri sürülmektedir (30). Kedilerin dışkılanması sonucu çevreye



atılan ookistlerin diğer canlılar tarafından çeşitli yollarla alınması da parazitin çevreye yayılımında kedigillerin önemli konaklar olduğunu açıkça göstermektedir (31). Dünyadaki prevalansın, coğrafik bölgelere, kişisel hijyene, kedi popülasyonuna ve kişilerin beslenme alışkanlıklarına göre değişkenlik gösterdiği bilinmektedir (32). Yapılan çalışmalarda Asya, Afrika, Doğu Avrupa ve Latin Amerika'da yüksek seropozitiflik gözlenirken, Kuzey Amerika ve Batı Avrupa'da yer alan çoğu ülkede seropozitifliğin düşük olduğu bildirilmiştir (33).

Dünya genelinde yapılan çalışmalarda sığır, koyun, keçi, tavuk ve domuz gibi çiftlik hayvanlarından doku kisti izole edilmiştir. Koyun, inek ve keçilerden elde edilen et ve süt ürünlerinde tespit edilen *T. gondii* varlığı, insanların enfekte olmasında hayvanlarla temasın ve hayvansal gıdaların uygun olmayan şartlarda tüketiminin önemli bulaş yollarını oluşturduğunu göstermektedir (2,34). Hayvan çiftliklerinin yeterince denetlenmemesi, özellikle domuzların doğal ortamda bitki ve çeşitli canlılarla beslenmesi nedeniyle yüksek prevalansa rastlanmakta, yükselen prevalansla birlikte ekonomik kayıplar gerçekleşmektedir (35).

2009-2014 yılları arasında yapılan çalışmada Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) seropozitifliğin %13,3 ve her yıl konjenital toksoplazmozise bağlı olgu sayısının yaklaşık 500-5000 olduğu, ayrıca *T. gondii*'nin sebep olduğu klinik tablolar nedeniyle yaklaşık 750 kişinin hayatını kaybettiği rapor edilmiştir (36-38). ABD Hastalık Koruma ve Önleme Merkezi verilerine göre *T. gondii*, ABD'de gıda kaynaklı hastalıklara bağlı ölümlerin %70'ini oluşturmaktadır (30). 2000'li yıllarda yapılan çalışmada hamile kadınların yaklaşık %60'ının yeterince pişirilmemiş et tüketimi nedeniyle, %6-17'sinin ise çevresel temasa bağlı olarak bu enfekte oldukları belirtilmiştir (39). Paris ve Londra'da yaşayan enfekte kadınların yer aldığı bir çalışmada seropozitiflik oranının Paris'te daha yüksek olduğu saptanmıştır. Elde edilen bu sonuç, kişilerin beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak çiğ ya da az pişmiş et tüketimleriyle ilişkilendirilmiştir (16). Avusturya, Belçika, Almanya ve Norveç gibi ülkelerde yaşayan doğurganlık çağındaki kadınlarda seroprevalansın %37 ile %58 arasında değiştiği belirlenmiştir (27,40).

Dünya genelindeki dağılım oranla Türkiye'de de geniş bir dağılım gösteren *T. gondii*, epidemiyolojik olarak ilk kez koyunlarda çalışılmış ve seroprevalansın %43,1 olduğu saptanmıştır (41). Ankara ve çevresinde seropozitifliğin %62,06, Kırıkkale ve çevresinde %15,7 olduğu, beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak et tüketiminin yüksek olduğu Doğu ve Güneydoğu Anadolu

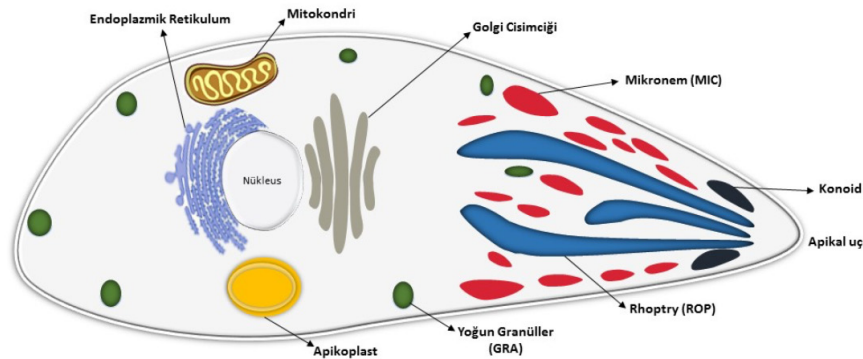
Bölgeleri'nde ise daha yüksek olduğu saptanmıştır (42-45). Türkiye'de doğurganlık çağındaki kadınların yer aldığı bir çalışmada Denizli'de %30,7 olarak belirlenen seropozitiflik Şanlıurfa'da %69,5 olarak saptanmıştır (44,46). Başka bir çalışmada ise Aydın ilinde hamile kadınlar arasındaki seroprevalansının %30,1 olduğu görülmüştür (47). Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinden elde edilen sonuçlara göre *T. gondii* yayılımında önemli olan risk faktörleri çiğ et, yıkanmamış sebze-meyve tüketimi ve kontamine kedi dışkısı ile yakın temas sonucu etrafa saçılan ookistlerin vücuda alınmasıdır (48).

*T. gondii* kategori B biyoterörizm ajanıdır ve günümüze kadar dünya çapında önemli salgınlara neden olmuştur. Panama'daki bir askeri birlikte 1979 yılında toksoplazmozis salgını ortaya çıkmış ve salgından ormanda yer alan kontamine su kaynağının sorumlu olduğu ileri sürülmüştür (49). Dünyadaki en büyük epidemiyolojik salgın su rezervuarından sokak kedilerinin su içmesi ve bu rezervuarın içme suyuna bağlanması sonucunda 1995 yılında Kanada İngiliz Kolumbiyası'nda meydana gelmiştir (50). 2001 yılında, Güney Brezilya'nın bir eyaletinde sebebinin kontamine olan içme suyu deposundaki suyun tüketilmesi olduğu düşünülen ve yüzlerce insanı etkileyen salgının meydana geldiği bildirilmiştir (39). 2002 yılında İzmir'de yer alan bir askeri okulda meydana gelen salgında 171 pilot adayı öğrencide akut enfeksiyon saptanmıştır (51). 2004 yılında Hindistan'da kontamine su kaynağından meydana geldiği düşünülen salgında 242 kişide oküler toksoplazmozis olgusu tespit edilmiş ve aynı yıl Hindistan Coimbatore'de 178 kişiyi etkileyen başka bir oküler toksoplazmozis salgını bildirilmiştir (52,53). Brezilya Anapolis'de 2006 yılında doku kisti kaynaklı kontamine gıda tüketimi nedeniyle meydana gelen bir salgında 61 kişide *T. gondii* saptanmıştır (54).

### Patogenez

Konak hücreye ilk tutunmayı gerçekleştiren proteinler yüzey antijenleridir (SAG). Proteinlerin, üç ana salgı organelinden [mikronemler (MIC), roptriler (ROP) ve yoğun granüller (GRA)] sıralı salınımı, konak hücre bağlanmasını, PV'nin oluşumunu ve parazit istilasını düzenlemektedir (55). Salınım bu proteinlerin lokalizasyonu ve hücreden salınım süreleri birbirinden farklıdır (Şekil 3) (56).

Parazitin konak hücrelerce tanınmasında ve konak hücreye tutunmada rol oynayan MIC ve konak hücre membranına penetrasyonunda rol oynayan ROP parazitin apikal ucunda



Şekil 3. *T. gondii* salgı organellerinin lokalizasyonu

lokalizedir (57,58). ROP, paraziti lizozomal enzimlerden korumak için PV'yi oluştururken parazitin çoğalması ve hücre içinde yaşamını devam ettirebilmesi için vakuol içine GRA salgılanmaktadır (55,59). Bu dört ana protein dışında parazit istilasının düzenlenmesinde rol oynayan rhomboidler ve paraziti stres unsurlarından korumakla görevli ısı şok proteinleri (HSP) bulunmaktadır (21,58). 1990'lı yıllardan buyana *T. gondii*'ye karşı geliştirilen DNA aşılarında, aşı adayı antijen olarak kullanılan proteinler Tablo 1'de sunulmuştur. Bu proteinler yanında aşı antijeni olarak yapısal proteinler veya enzimler dahi kullanılmıştır (Tablo 2).

### Toksoplazmozise Karşı Gelişen İmmün Yanıt

Kesin konağı olan kedi ve kedigillerde eşeyli ve eşeysiz, çiftlik hayvanları (özellikle koyun ve domuz), kuşlar, kemirgenler ve insanların dahil olduğu ara konaklarında sadece eşeysiz çoğalan bu parazitin akut enfeksiyonda görülen takizoit, kronik enfeksiyonda görülen bradizoit ve içerisinde sporozoitleri barındıran ookist olmak üzere üç farklı enfektif formu bulunur (2,60,61). Parazit takizoit formundayken konaktaki tüm çekirdekli hücreleri enfekte edebilme yeteneğine sahiptir bu sayede immün yanıtın olmadığı ortamda kendini çoğaltarak enfekte hücreleri öldürmekte ve hücre içinde yaşamını devam ettirebilmektedir. Parazitin neden olduğu enfeksiyona karşı konakta hücresel ve humoral immün yanıt uyarılmakta, gelişen immün yanıt sonucunda takizoitler kendini korumak üzere bradizoit formuna dönüşerek kist içinde saklanmaktadır (3,62).

### Enfeksiyona Karşı Gelişen Hücresel İmmün Yanıt

*T. gondii*'ye ait antijenik yapıdaki proteinler fagositoz yolu ile antijen sunan hücrelerin (APC'lerin) içine alınarak peptitlerine ayrılmaktadır. Peptitler, endoplazmik retikulumda (ER'de) üretilen MHC sınıf II molekülü ile birleşmenin ardından golgi kompleksinde paketlenip APC yüzeyine iletilmekte ve CD4+ T lenfositlerine sunulmaktadır (63). T-hücre yüzeyinde bulunan CD3 koreseptörü, T-hücre reseptörü (TCR) ile MHC II-peptit kompleksi oluşturmak üzere CD4+ T yardımcı 0 ( $T_H0$ ) hücrelerini uyararak aktive etmektedir. APC yüzeyinde bulunan CD80/86 ile T hücre yüzeyinde bulunan CD28 reseptörü bağlanarak CD4+  $T_H0$  hücrelerinin uyarımını artırmaktadır (59). APC üzerinde bulunan

CD40, T-hücre yüzeyindeki CD40 ligandına (CD40L) bağlanarak CD80/86 ekspresyonunu artırarak  $T_H0$  hücre uyarımını artırmaktadır (3). CD40'ın bağlanmasıyla APC'lerden salgılanan IL-12,  $T_H0$  hücrelerinin  $T_H1$  hücrelerine dönüşümünü ve bu hücrelerde IFN- $\gamma$  salgılanmasını sağlamaktadır (64). Salgılanan IFN- $\gamma$  sayesinde makrofajlar ve doğal katil hücreleri (NK) uyarılarak hücresel immün yanıt aktifleşmektedir. Uyarılmayla birlikte IL-12 hücresel immün yanıtı daha fazla CD4  $T_H1$  oluşmasını sağlayarak hücresel immün yanıtı güçlendirmektedir (65).

Parazit vakuolünden salınan proteinler proteozomlar tarafından peptitlerine parçalanarak MHC sınıf I molekülü ile APC yüzeyine iletilmekte ve CD8+ T lenfositlerine sunulmaktadır. T-hücre yüzeyinde bulunan CD3 koreseptörü, CD8+  $T_C$  hücrelerini uyararak T-hücre reseptörü (TCR) ile MHC I-peptit kompleksi oluşturmak üzere aktive etmektedir (63). APC yüzeyinde bulunan CD80/86 ile T-hücre yüzeyinde bulunan CD28 reseptörünün bağlanması uyarımı daha da artırmaktadır (59). APC yüzeyinde bulunan Fas reseptörü ile CD8  $T_C$  hücre yüzeyinde bulunan Fas Ligandının (FasL) bağlanması hedef hücrenin apoptozuna yol açmaktadır. Ek olarak CD8  $T_C$  hücrelerinden salınan perforin ve granzim gibi sitolitik moleküller hedef hücreyi öldürmede, salınan IFN- $\gamma$  ise hedef hücreden indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) salgılanmasını uyararak parazitin ölümünde rol oynamaktadır (64,66).

### Enfeksiyona Karşı Gelişen Humoral İmmün Yanıt

Antikorlar vücudun ilk savunma hattıdır. Toksoplazmozise karşı gelişen humoral immün yanıtta B hücrelerinden farklılaşan plazma hücreleri tarafından ilk haftanın sonunda üretilen birinci antikor IgM'dir. Bu immünooglobulinler kompleman sistemin en iyi aktivatörleri olmalarının yanı sıra yüksek sitotoksositeye sahiptirler (64). Oluşan ikinci antikor olan IgG ve alt grupları, kompleman sistemin aktivasyonu yoluyla takizoitlerin çoğalmasını engellemekte ve antikor-bağımlı sitotoksosite göstererek makrofajları aktive ederek fagositozu artırmaktadır (3). Plazma hücreleri tarafından IgM ve IgG antikorlarının salgılanmasını takiben IgA ve IgE üretimi yapılmaktadır. Enfeksiyondan yaklaşık olarak 2 hafta sonra IgM antikorlarının ve yaklaşık 2 ay sonra IgG antikorlarının tepe noktasına ulaştığı görülmektedir. IgM, IgE ve IgA salınımı bir süre sonra azalırken IgG salınımı hayat boyu devam etmektedir (3,67).

*T. gondii*'nin neden olduğu enfeksiyona karşı gelişen immün yanıtlar göz önüne alındığında koruma sağlamak amacıyla geliştirilecek bir aşının CD4  $T_H1$  ve IFN- $\gamma$  salgılayan CD8  $T_C$  lenfositlerini uyarması beklenmektedir (68).

### DNA Aşıları

DNA aşıları, patojene ait hedeflenen bir antijeni içeren bakteriyel plazmitlerden oluşur. Plazmitler prokaryotik replikasyon orijinine sahip oldukları için replikasyon sadece bakteri hücresindeyken gerçekleşir. Antijenik proteinin üretimi ise memeli hücrelerinde gerçekleşmektedir (9,69,70).

Aşılama sonrasında hedef antijeni içeren plazmit DNA, somatik hücrelerin (miyositler ve keratinositler) veya dendritik hücrelerin (DC'lerin) çekirdeğine girerek gen transkripsiyonunu ve sitoplazmalarında protein ekspresyonunu başlatır. Antijen sunumu ile ilgili üç olası mekanizma bulunmaktadır: 1) Plazmit DNA, somatik hücreler tarafından eksprese edilir ve bu hücrelerin yüzeyinde bulunan MHC sınıf I kompleksleri aracılığıyla CD8+ T-hücrelerine sunulur. 2) Plazmit DNA, enjeksiyon bölgesinde

**Tablo 1. *T. gondii*'ye karşı DNA aşısı geliştirme çalışmalarında aşı adayı antijen olarak kullanılan başlıca proteinler**

Antijen	DNA aşılarında kullanılan proteinler
GRA	GRA1, GRA2, GRA4, GRA6, GRA7, GRA8, GRA14, GRA15, GRA16, GRA17, GRA23, GRA24, GRA41,
MIC	MIC2, MIC3, MIC6, MIC8, MIC11, MIC13
ROP	ROP1, ROP2, ROP5, ROP7, ROP8, ROP9, ROP13, ROP16, ROP17, ROP18, ROP19, ROP21, ROP29, ROP35, ROP38, ROP54
SAG	SAG1, SAG2, SAG2C, SAG2D, SAG2X, SAG3, SAG4, SAG5, SAG5A, SAG5B, SAG5C, SAG5D
DNA aşı çalışmalarında kullanılan diğer antijenler	AMA1, ROM1, ROM4, ROM5, RON4, RON5, HSP30, HSP60, HSP70, HSP90

**Tablo 2. *T. gondii*'ye karşı yapılan DNA aşı çalışmaları**

Kullanılan antijen	Adjuvan	Model hayvan suşu	Aşılama yolu	Sonuçlar	Yazar	Yıl
SAG1	-	C3H, BALB/c	I.M	%80-100 koruma	85	1999
SAG1	GM-CSF	C57BL/6	I.M	Beyin kistlerinde %71 azalma	86	2000
GRA1, GRA7 ve ROP2	-	C57BL/6, BALB/c, C3H	I.M	Değişik gruplarda fare yaşam oranı %50-90	87	2000
ROP2	-	BALB/c, C57BL/6, CBA/J	I.M	2 gün fazla korunma	88	2001
SAG1, ROP2 ve SAG1-ROP2	-	BALB/c	I.M	Kokteyl aşı uygulanan farelerde 9-12 gün yaşam süresi	89	2003
GRA1	-	C3H/HeN	I.M	RH suşuna karşı %75-100 korunma	90	2003
SAG1	-	BALB/c	I.M	Beyin kistleri azalırken, materno-fötal bulaşı engellemede başarısız	91	2003
HSP70, HSP30 ve SAG1	-	C57BL/6, BALB/c	G.G/I.M/I.P	En iyi kısmi koruma HSP70 ile sağlanmıştır	92	2003
MIC3	GM-CSF	CBA/J	I.M	Beyin kistlerinde %67-74 azalma	93	2003
rSAG1-SAG2	Vet L-10	BALB/c	I.P	Enfeksiyon sonrası yaşam oranı %73	94	2004
BAG1, MAG1 ve BAG1-MAG1	-	C3H/HeN	I.M	Beyin kistlerinde %62 azalma	95	2006
Vahşi tip GRA1 ve kodon optimize GRA1	-	BALB/c	I.M	Kodon optimize GRA1 aşısı vahşi tip DNA aşısına göre daha iyi korunma sağlamıştır.	96	2007
GRA1, GRA7, ROP2, GRA1-GRA7, GRA1-ROP2, GRA7-ROP2 ve GRA1-GRA7-ROP2	-	C3H/HeN	I.M	Akut toksoplazmoza karşı %89 koruma, beyin kistlerinde azalma	97	2007
ROP2	BCG	BALB/c	S.C	Kontrol grubuna göre ölüm zamanında gecikme	98	2007
MIC2, M2AP, AMA1 ve BAG1	-	BALB/c, C57BL/6	G.G	Kısmi korunma (%12,5-60 aralığında değişen koruma)	99	2007
SAG1, ROP2 ve SAG1-ROP2	IL-12	BALB/c	I.M	RH suşuna karşı belirgin korunma	100	2007
Kodon optimize GRA1-GRA7	-	Belgian landrace x Piétrain	I.D	İmmün yanıtta belirgin uyarılma (humoral ve hücrel)	101	2008
MIC6	-	Kunming	I.M	Korunma zamanında uzama	102	2009
MIC3	-	BALB/c	I.M	Korunma zamanında uzama	103	2009
SAG1 <sup>238-256</sup> -SAG1 <sup>281-320</sup> -GRA1 <sup>170-193</sup> -GRA4 <sup>331-345</sup> -GRA4 <sup>229-245</sup> -GRA2 <sup>171-185</sup>	CpG-ODN	BALB/c, C57BL/6	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, %40-100 korunma	104	2009
SAG1	-	BALB/c	I.M	Korunma zamanında uzama	105	2010
GRA7	Lipozom, emulsigen P, emulsigen D	Sixty coopworth ewes	I.M	Belirgin immün yanıt uyarılmış	106	2010
MIC8	-	Kunming	I.M	RH suşuna karşı korunmada uzama	107	2010
SAG1	IL-18	BALB/c	I.M	RH suşuna karşı %60 korunma	108	2010
SAG2	-	BALB/c, Swiss-webster	I.N/S.C	Beyin kistlerinde %85 azalma	109	2010
HSP70	-	BALB/c, C57BL/6	G.G	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	110	2010
ROP16	-	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	111	2011
ROP18	-	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	112	2011

<b>Tablo 2. Devamı</b>							
<b>Kullanılan antijen</b>	<b>Adjuvan</b>	<b>Model hayvan suşu</b>	<b>Aşılama yolu</b>	<b>Sonuçlar</b>	<b>Yazar</b>	<b>Yıl</b>	
RON4, NRON4 ve CRON4	GM-CSF	CBA/J	I.M	İmmün yanıtta uyarılma olmasına rağmen korunma sağlanamamış	113	2011	
SAG1, ROP2 ve SAG1-ROP2	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	114	2011	
HSP70	-	C57BL/6	G.G	İmmün yanıtta uyarılma ve kist sayısında azalma	115	2011	
PLP1	IL-18	Kunming	I.M	Korunma zamanında uzama	116	2011	
GRA6	LMS	BALB/c, Kunming	I.M	Kısmi koruma (%53,3)	117	2011	
IMP1	-	BALB/c	I.M	Korunma zamanında uzama	118	2012	
SAG1, MIC3 ve SAG1-MIC3	-	BALB/c	I.M	Korunma zamanında uzama	119	2012	
GRA1, SAG1 ve GRA1-SAG1	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, RH suşuna karşı korunmada uzama	120	2012	
GRA7, ROP1 ve GRA7-ROP1	IL-12	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, kist sayısında azalma ve korunma zamanında uzama	74	2012	
ROP13	IL-18	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama, kistlerde azalma	121	2012	
SAG1, 14-3-3 proteini ve SAG1-14-3-3	-	BALB/c	I.M	Korunma zamanında uzama	122	2012	
SAG1, GRA2 ve SAG1-GRA2	SPreS2	BALB/c	I.M	RH suşuna karşı kısmi koruma	123	2012	
AMA1	-	C57BL/6	I.P	Beyin kistlerinde %23 azalma, %50 korunma	124	2012	
ROM1	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	125	2012	
PLP1, MIC6 ve PLP1-MIC6	IL-18	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, beyin kistlerinde %65,43 azalma	126	2012	
ROP8	-	BALB/c	I.M	Korunma zamanında uzama	127	2013	
SAG1 ve SAG1-SAG3	CTXA <sub>2</sub> /B	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, %40 korunma	128	2013	
GRA4	-	BALB/c	I.M	%40 korunma	129	2013	
MIC13	-	Kunming	I.M	Korunma zamanında uzama, %57,14 beyin kistlerinde azalma	130	2013	
MIC11	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, RH suşuna karşı korunma zamanında belirgin uzama	131	2013	
CDPK3	-	Kunming	I.M	Korunma zamanında uzama, %50 beyin kistlerinde azalma	132	2013	
SAG2C, SAG2D, SAG2X ve SAG2C-SAG2D-SAG2X	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, beyin kistlerinde %77 azalma	133	2013	
eIF4A	-	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	134	2013	
IF2α	-	Kunming	I.M	Korunma zamanında uzama, %44,1 beyin kistlerinde azalma	135	2013	
CyP	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında %37,5 uzama	136	2013	
CPB, CPL ve CPB-CPL	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	137	2013	
ASP1	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	138	2013	
MIC8	IL-12	Kunming	I.M	Korunma zamanında uzama	139	2013	



<b>Tablo 2. Devamı</b>							
<b>Kullanılan antijen</b>	<b>Adjuvan</b>	<b>Model hayvan suşu</b>	<b>Aşılama yolu</b>	<b>Sonuçlar</b>	<b>Yazar</b>	<b>Yıl</b>	
SporoSAG	Bcl-xL	Swiss outbred	I.M	İmmün yanıtta uyarılma (humoral ve hücresele)	68	2014	
ROP16, GRA7 ve ROP16-GRA7	B7-2	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	140	2014	
ROP9	-	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	141	2014	
MIC8	mIL-21, mIL-15	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, %63,8 beyin kistlerinde azalma	142	2014	
CDPK5	-	Kunming	I.M	Korunma zamanında uzama, %40 beyin kistlerinde azalma	143	2014	
SAG5D	α-GalCer	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	144	2014	
DPA	-	Swiss webster	I.P	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	145	2014	
SAG1-GRA1-ROP2-GRA4-SAG2C-SAG2X	-	BALB/c	I.N/I.P/I.O	Her üç yolla aşılamada, immün yanıtta uyarılma ve korunma zamanında uzama (en fazla korunma zamanında uzama %60 ile intraoral yolla)	146	2014	
ROP38	-	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, %76,6 beyin kistlerinde azalma	147	2014	
GST	-	Swiss webster	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	148	2015	
EF-1α	-	BALB/c	I.M	Güçlü humoral ve hücresele immün yanıt tepkileri, korunma zamanında artma	149	2015	
ESA10	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	150	2015	
SAG1-GRA2-GRA7-ROP16	RANTES	BALB/c	I.M	Güçlü humoral ve hücresele bağışıklık tepkileri, korunma zamanında uzama	151	2015	
SAG5A	-	BALB/c	I.M	Etkili hücresele ve humoral tepkileri indükleme, beyin kistlerinde %35 azalma	152	2015	
ROP5, GRA15 ve ROP5-GRA15	-	Kunming	I.M	Korunma zamanında artma, beyin kistlerinde azalma, immün yanıtta artma	153	2015	
ROP5, ROP18 ve ROP5-ROP18	Poly I:C	BALB/c, C3H/HeOuJ	S.C	İmmün yanıtta uyarılma, akut ve kronik toksoplazmoza karşı koruma,	154	2015	
ROM4 ve ROM5	-	Kunming	I.M	İmmün yanıtta artma, korunma zamanında artma, beyin kistlerinde azalma	155	2015	
ROP19	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta (hücresele ve humoral) etkili uyarılma, %57 beyin kistlerinde azalma	156	2016	
CDPK1	IL-7/IL-15	Kunming	I.M	İmmün yanıtta artma, korunma zamanında artma, beyin kistlerinde azalma	157	2016	
GRA1, MIC3 ve GRA1-MIC3	-	BALB/c	I.M	Yüksek seviyede humoral yanıtın indüklenmesi, korunma zamanında uzama, parazit yükünde azalma	158	2016	
ROP5, ROP7 ve ROP5-ROP7	-	BALB/c	I.M	Korunma süresinde uzama, beyin kistlerinde %75 azalma	159	2016	
ROP17	-	BALB/c	I.M	Korunma zamanında uzama, immün yanıtta uyarılma	160	2016	
ROP1	-	BALB/c	I.M/S.C	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında artma	161	2016	

Tablo 2. Devamı

Kullanılan antijen	Adjuvan	Model hayvan suşu	Aşılama yolu	Sonuçlar	Yazar	Yıl
Et-TgSAG1	-	BALB/c, SPF chickens	I.O/I.P	İmmün yanıtta artma, korunma zamanında uzama	162	2016
ROP18	IL-12	CBA/J	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, koruma sağlamadı	163	2016
RON5	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında artma, beyin kistlerinde %25 azalma	164	2016
GRA14	IL-12	BALB/c	I.M	Gelişmiş spesifik humoral ve TH1 hücreli immün tepkilerin indüklenmesi, korunma zamanında uzama, parazit yükünde azalma	165	2017
GRA14	CaPN	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta artma, parazit yükünde azalma, korunma zamanında uzama	166	2017
SAG1, ROM4 VE ROM4-ROM4 <sub>405-424</sub>	-	BALB/c	I.M	Yüksek seviyelerde IgG, IgG2a ve IFN- $\gamma$ , spesifik humoral ve hücreli immün yanıt, korunma zamanında uzama, beyin kistlerinde azalma	167	2017
ROP54	-	Kunming	I.M	Güçlü humoral ve hücreli yanıt, beyin kistlerinde %35,9 azalma, korunma zamanında uzama	168	2017
SAG4 ve SAG4/SAG4 <sub>61-75</sub>	-	BALB/c	I.M	Korunma zamanında uzama, beyin kistlerinde %69 azalma	169	2017
ROM4 ve ROM4- GRA14	CaPN	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta artma, korunma zamanında uzama	170	2017
EGFP	Alum, MPLA, Alum/MPLA	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta artma, korunma zamanında uzama, beyin kistlerinde azalma	171	2017
SOD	-	BALB/c	I.M	Daha yüksek IgG ve IgG2a seviyeleri, korunma zamanında uzama	172	2017
SPATR	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında artma	173	2017
SAG5B, SAG5C ve SAG5B-SAG5C	-	BALB/c	I.M	Korunma zamanında uzama, beyin kistinde %75 azalma	174	2017
NTPase-II	-	BALB/c	E.P/I.M	Akut toksoplazmoza karşı koruma, beyin kistlerinde %70'e varan azalma, humoral ve hücreli yanıtta artma	175	2017
CPC1	$\alpha$ -GalCer	BALB/c	I.M	Korunma zamanında artma, humoral yanıtta artma	176	2017
GRA16	-	Kunming	I.M	İmmün yanıtta artma, beyin kistlerinde %43 azalma	177	2017
CDPK2	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta artma, korunma zamanında artma	178	2017
ROP2	Quil-A	<i>Felis catus</i>	I.N	Kedilerde ookist dökülmesinde azalma	179	2017
GRA17, GRA23 ve GRA17- GRA23	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	180	2017
DOC2C	-	Kunming	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	181	2018
HSP60	-	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	182	2018
GRA2	MLPA	C57BL/6	S.C.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	183	2018
GRA7, ROP2 VE GRA7- ROP2	-	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	184	2018

Tablo 2. Devamı

Kullanılan antijen	Adjuvan	Model hayvan suşu	Aşılama yolu	Sonuçlar	Yazar	Yıl	
GRA8	-	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	185	2018	
ROP18, PLP1 ve ROP18-PLP1	IL-18	Kunming	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, beyin kistlerinde %72,4 azalma	186	2018	
ROP21	-	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	187	2018	
ROP29	R848	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma	188	2018	
ROP35	-	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	189	2018	
SAG1 <sup>76-192'</sup> , SAG1 <sup>25-41'</sup> , SAG1 <sup>72-80'</sup> , SAG1 <sup>21-35'</sup> , AMA1 <sup>1-9'</sup> , AMA1 <sup>197-204'</sup> , ROP2 <sup>220-228'</sup> , GRA4 <sup>209-221'</sup> , GRA4 <sup>278-286'</sup>	PLGA, alum	BALB/c	I.P.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	190	2018	
PF	IL-15	Kunming	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, beyin kistlerinde %40,82 azalma	191	2018	
PF-ROP16-ROP18-MIC6-CDPK3, ROP16-ROP18-MIC6-CDPK3 ve PF	-	Kunming	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, beyin kistlerinde %80,22 azalma	192	2018	
GRA24	-	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	193	2019	
GRA24, GRA25, MIC6, GRA24-GRA25 ve GRA24-GRA25-MIC16	-	Kunming	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, beyin kistlerinde azalma ve her üç antijenin kombinasyonu ile %55,37 azalma	194	2019	
GRA14, rGRA14 ve rGRA14-GRA14	Alum, CaPN	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	195	2019	
GRA41	-	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	196	2019	
ROP13	-	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	197	2019	
MIC3, ROP9, SAG2, SAG2-ROP9, SAG2-MIC3, ROP9-MIC3 ve SAG2-ROP9-MIC3	-	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	198	2019	
MYR1	-	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	199	2019	
SAG1, GRA7 ve SAG1-GRA7	CpG-ODN	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	200	2019	
SAG1, SAG3 VE SAG1-SAG3	Alum, MMT	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	201	2019	
GRA8	CPG-ODN + escort	Swiss-webster	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	202	2019	
GRA17, GRA23	-	Kunming	I.P.	Koruma zamanında uzama, kist yükünde azalma	203	2020	
ROP8	-	BALB/c	S.C.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	204	2020	
ROP8	IL-12	BALB/c	S.C.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	205	2020	
SAG1-ROP2	HBsAg	Kunming	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	206	2020	
GRA7, PF ve GRA7-PF	Freund	BALB/c	I.D.	İmmün yanıtta uyarılma, beyin kistlerinde %60 azalma	207	2021	
MIC3-ROP8-SAG1	Freund, CaPNs	BALB/c	S.C.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	208	2021	

Tablo 2. Devamı

Kullanılan antijen	Adjuvan	Model hayvan suşu	Aşılama yolu	Sonuçlar	Yazar	Yıl
ROP13-GRA14	Alum	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	209	2021
SAG1-SAG3-SAG5	CpG-ODN	BALB/c	S.C.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	210	2021
TgSIR2	Freund	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	211	2021

I.M.: İntertranküler, kas içine, I.P.: İntertranküler, periton içine, S.C.: Subkütan, deri altına, I.N.: İntertranküler, burun içine, I.O.: İntertranküler, ağız içine, I.D.: İntertranküler, deri içine, G.G.: Genegun, gen tabancası, SAG: Yüzey antijeni, MIC: Mikronem, ROP: Rhoptyri bulbul, GRA: Granül antijeni, HSP: Isı şoku proteini, RON: Rhoptyri neck pGM-CSF: Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör, BCG: Bacille Calmette-Guérin, IL: İnterlökin, CpG-ODN: CpG- oligodeoksinükleotit, PLP1: Performans benzeri protein, IMP1: Bağışıklık haritalanmış protein-1, CTXA2/B: A 2/B kolera toksininin alt birimi, CDPK: Kalsiyuma bağımlı protein kinaz, eIF4A: Ökaryotik çeviri başlatma faktörü, IF2 $\alpha$ : ökaryotik başlatma faktörü-2 $\alpha$ , CyP: Siklofilin, sporoSAG: Sporozoite özgü yüzey proteini,  $\alpha$ GalCer: Alfa-galaktosilseramid, DPA: Deoksiriboz fosfat aldolaz, GST: Glutatyon-S-transferaz, EF-1 $\alpha$ : Uzama faktörü 1-alfa, ESA10: Boşaltım-salgı antijeni, Poly I:C: Poliinosinik-polisitidilik asit, CaPn: Kalsiyum fosfat nanopartikül, MPLA: Monofosforil lipit A, IgG: İmmünglobulin G, SOD: Süperoksit dismutaz, SPATR: Değiştirilmiş trombospondin tekrarı, TgNTPase-II: Nükleosit trifosfat hidrolaz-II, CPC: Katepsin C proteazları, PF: Profilin, HBsAg: HBV yüzey antijeni, SIR2: Sessiz bilgi düzenleyici 2

DC'lerin çekirdeğine yerleşerek hedef antijeni eksprese eder ve eksprese edilen antijenler MHC sınıf I ile kompleks oluşturarak CD4+ T-hücrelerine ve/veya MHC sınıf II ile kompleks oluşturarak CD8+ T-hücrelerine sunulur. 3) Plazmit DNA ile transfekte edilmiş somatik hücreler profesyonel APC'ler tarafından fagosite edilerek, antijenlerin hem CD4+ T-hücrelerine hem de CD8+ T-hücrelerine çapraz sunumu gerçekleşir. Hücrel bağışıklık tepkisine ek olarak, B hücre reseptörünün somatik hücrelerden salınan antijenleri tanıyarak kendi yüzeyinde antijene özgü CD4+ T-hücrelerine sunmasıyla humoral bir bağışıklık tepkisi indüklenebilir (71-73).

Canlı zayıflatılmış veya inaktive edilmiş patojenleri içermediklerinden virülan formlara geri dönüş riski taşımayan DNA aşılıları sadece hedef antijeni kodlamakta ve ifade etmektedir, konak genomunda DNA entegrasyonuna, otoimmünite ya da antijen toleransına sebep olmamaktadır (10,74,75). Canlı vektörlere veya kompleks biyokimyasal üretim tekniklerine ihtiyaç duymadan hem hücrel hem de humoral bağışıklık tepkilerini indükleme yeteneğine sahip olan DNA aşılılarında eksprese edilen immünize edici antijen aynı glikozilasyon ve translayon sonrası modifikasyonlara tabi tutulmaktadır (9,10,76). Ayrıca tek bir pDNA aşısına ilgili antijenin çoklu varyantları veya birden fazla farklı antijen varyantı eklenebilmekte ve bu şekilde oluşturulan multiepitop DNA aşılıları farklı antijenik determinantlara karşı bireyi koruyabilmektedir (76,77). DNA aşılıları; canlı zayıflatılmış, inaktive edilmiş, protein ya da peptid dizilerini içeren aşılılara göre daha kolay üretilebilmeleri ve soğuk zincire ihtiyaç duyulmaması sebebiyle düşük üretim ve nakliye maliyetleri gibi lojistik avantajlara sahiptir (10,75,76).

Diğer aşı platformlarına göre birçok avantaja sahip olsa da toksoplazmozise karşı henüz klinik çalışma sonucunda onay almış bir DNA aşısı bulunmamaktadır. Bunun başlıca sebebi DNA aşılılarının düşük immünojenisiteye sahip olmalarıdır (12). Bu dezavantajı ortadan kaldırmak ve DNA aşılılarının etkinliğini artırmak amacıyla antijen kodon optimizasyonu, adjuvanlar, DC hedeflenmesi, *prime-boost* immünizasyonu, gen tabancası, elektroporasyon, mikroigneler, mukozal verme gibi çeşitli stratejiler kullanılmaktadır (10,71,78-82). Aşı aday antijenlerin, konağın immün sistemi ile etkileşime giren antijenleri ve bu etkileşimde yer alan potansiyel mekanizmaları açıklayan immünojenik ve patojen yüzeyinde salgılanan ya da ifade edilen antijen repertuarının tamamının tanımlanabilmesini sağlayan

ters aşılama gibi teknoloji odaklı araştırmalarla seçilmesi daha etkili aşılıların tasarlanabilmesini mümkün kılmaktadır (83,84). Aşı geliştirilmesinde genom bazlı ters aşılama tekniklerinin uygulanması aşılama ile oluşturulacak immün yanıtın başarı şansını artırabilmektedir. Aşılıların etkililiğini artırmak için antijenler doğuştan gelen bağışıklık sistemini aktive ederek profesyonel APC tarafından antijen alınımı ve sunumunu sağlayabilen adjuvanlarla birlikte uygulanabilmektedir (10).

*T. gondii*'ye karşı hayvanlarda ve insanlarda koruyucu bağışıklığın sağlanabilmesi için etkili ve güvenli bir aşıya ihtiyaç vardır (4). Bu ihtiyacın karşılanabilmesi için kolay üretilebilmeleri, güvenli olmaları, soğuk zincire ihtiyaç duymamaları hem humoral hem de hücrel immün yanıtı uyarabilmeleri gibi birçok avantaja sahip olan DNA aşılıları toksoplazmozise karşı umut vadeden bir aşı platformu olmuştur ve bu konuda yapılan çalışmalar 1999 yılından sonra hız kazanmıştır (Tablo 2) (10,76).

Tablo 2'de görüldüğü üzere geçmişten günümüze aşı çalışmalarında en çok SAG1, SAG2, GRA1, GRA7, ROP2, MIC3 ve HSP70 antijenlerini kodlayan DNA aşılıları kullanılmıştır. *T. gondii*'ye karşı etkili aşı geliştirmeye yönelik yapılan ve tek bir antijen ifade eden aşılıların parazite karşı kısmi koruma sağladığını ortaya konmuştur. Bu nedenle alternatif olarak parazitin yaşam döngüsünün birden çok aşamasında yer alan antijenleri ifade eden aşı çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Tablo 2'de, 5'i sadece SAG1 kodlayan ve 21'i farklı antijenler ile kombine SAG1 kokteyl aşılılarını içeren toplamda 26 aşı çalışması yer almaktadır. SAG1 kodlayan plazmit DNA aşılı ile aşılanan farklı fare suşlarının yer aldığı bir çalışmada aşının IgG ve alt sınıf antikolar, CD8, CD4 ve IFN- $\gamma$  seviyelerinde artış sağladığı ve bu aşının koruyuculuğunun %80-100 arasında olduğu belirtilmiştir (85). Başka bir çalışmada ağırlıklı olarak IgG yanıtına yol açan ve IFN- $\gamma$  ile IL-2 seviyelerinde önemli bir artış sağlayan SAG1 DNA aşısının koruyuculuğu %90 olarak belirlenmiştir. Ek olarak kontrol grubuna kıyasla beyin kistlerinde azalma olduğu gözlenmiştir (86). Couper ve ark. (91) tarafından 2003 yılında yapılan çalışmada SAG1 kodlayan DNA aşısının beyin kistlerinde azalma ve erişkinlerde edinilmiş *T. gondii* enfeksiyonuna karşı %66,7 oranında koruma sağladığı fakat konjenital geçişi azaltmadığı belirtilmiştir. Güçlü bir IFN- $\gamma$  indükleyici faktör olan ve Th1 yanıtının oluşmasını kolaylaştıran IL-18'in adjuvan olarak kullanıldığı SAG1 kodlayan DNA aşısı daha yüksek T-lenfosit yanıt ve koruma oranı sağlamıştır. Bu çalışma aşı potansiyelini güçlendirmede IL-18'in güçlü bir adjuvan olduğunu



göstermiştir. IL-12'nin adjuvan olarak kullanıldığı SAG1/ROP2 kodlayan çoklu antijenik DNA aşısının farelerde benzer korunma sağladığı bildirilmiştir (100,108).

Takizoit, bradizoit ve sporozoitlerde ortak olarak salgılanan antijenlerin hedeflendiği aşuların yer aldığı çalışmaların diğer çalışmalara kıyasla daha yüksek oranda koruma sağladığı belirlenmiştir. Rezaei ve ark. (58) tarafından yapılan bir incelemede MIC3, MIC4, MIC13, RON5, ROP2, GRA1, GRA6, GRA8 ve GRA14 proteinlerinin parazitin her üç döneminde de mevcut olduğu ve bu proteinlerin toksoplazmozise karşı koruyucu bağışıklığı sağlayacak bir aşı antijeni olarak umut vadettiği belirtilmektedir. Parazitin tüm evrelerinde yer alan GRA1, ROP2 ve MIC3 antijenleri Tablo 2'de görüldüğü gibi birçok çalışmada kullanılmıştır. GRA1 kodlayan DNA aşısı ile aşılanan farelerde akut enfeksiyona karşı CD8 T-hücrelerinin etkili olduğu ve beyin kisti yükünün azalmasında CD4 T-hücrelerinin etkili olduğu saptanmıştır. Geliştirilen aşının koruyuculuğunun %75-100 arasında olduğu belirtilmiştir (90). Vaşî tip DNA aşularının uyardığı bağışıklık tepkisindeki sınırlayıcı faktörlerden biri düşük miktarda protein ekspresyonudur. Klonlanmış genlerde nadir bulunan kodonların varlığı mRNA ve plazmit stabilitesinin yanı sıra protein ekspresyon seviyesini de etkilemektedir. Hedef genin kodon kullanımı memeli hücrelerinden farklı olduğunda yetersiz protein ekspresyonu ortaya çıkmaktadır. Yapılan bir çalışmada memeli hücrelerinde ekspresyon için kodon optimize edilmiş GRA1 kodlayan DNA aşısının sağladığı bağışıklık tepkisi ve korumanın vaşî tip GRA1 kodlayan DNA aşısından daha iyi olduğu saptanmıştır (96). Son zamanlarda çoğu araştırmacı parazit kokteyl antijenlerine odaklanmıştır. GRA1 ile MIC3'ü birleştiren bir kokteyl DNA aşısının, tek genli aşular ve kontrol gruplarına kıyasla IgG ve IFN- $\gamma$  seviyelerinde daha fazla artış ve daha uzun süre koruma sağladığı gözlenmiştir (158).

Antijenik epitoplara belirlemek için biyoinformatik çalışmaların yapılması, tek bir antijende çoklu epitoplara düzenlenmesi veya birden fazla antijene ait farklı epitoplara bir araya getirilerek çok epitoplulu DNA aşularının tasarlanabilmesini mümkün kılmıştır. MIC3<sub>30-180</sub>/ROP8<sub>85-185</sub>/SAG1<sub>85-235</sub> kodlayan çok epitoplulu DNA aşısı farelerde güçlü humoral ve Th1 hücre yanıtını uyardığı gösterilmiştir (208).

Sonuç olarak *T. gondii*'ye karşı DNA aşı çalışmalarında Tablo 1'de bahsedilen antijenik grupların birçoğunun denendiği ve bunların bir kısmının %50-70 koruma sağladığı gözlenmiştir. Bu aşı antijenleri ile fare modelinde henüz yüksek oranda korunma sağlanamaması bu aşuların kedi, koyun gibi hayvan gruplarına uygulanması veya insanlarda gerçekleştirilecek klinik çalışmalara geçilmesi önündeki en büyük engeldir.

## SONUÇ

Ciddi klinik tablo ve ekonomik kayıplara yol açan *T. gondii*'ye karşı insanlarda ve hayvanlarda kullanılmak üzere koruyucu bağışıklığı sağlayabilecek etkili, güvenli ve dayanıklı bir aşıya ihtiyaç duyulmaktadır. DNA aşuları kolay üretilebilmeleri, güvenli olmaları, soğuk zincire ihtiyaç duymamaları hem humoral hem de hücrel immün yanıtı uyatabilmeleri gibi birçok avantaja sahiptir.

1990'lardan sonra toksoplazmozise karşı yapılan DNA aşı çalışmaları hız kazanmış olsa da günümüzde insanların kullanıma uygun bir DNA aşısı bulunmamaktadır. Bunun başlıca sebebi parazitin karmaşık yaşam döngüsüne sahip olması, konak hücrede yaşamını devam ettirebilmek için çeşitli stratejiler geliştirmesi

ve bu stratejilerin net olarak açıklanamamasıdır. Bunun yanı sıra aşı çalışmalarının hedefinde başlıca kediler ya da koyunlar bulunduğu için insan aşısı ikinci planda kalmaktadır. Bu sebeple insanlardan ziyade koyun ve sığır gibi büyük hayvanlarda ya da kedilerde denenmiş aşular bulunmaktadır.

*T. gondii* DNA aşı çalışmalarının en önemli limitasyonlarından biri de aşı adayları antijenlerin seçiminde genellikle enzimler ve yapısal proteinlerin kullanılmasıdır. Bu aşı adayları immün yanıtı uyarmış olsalar da hastalığa karşı koruma sağlayamamıştır. Bunun yanı sıra aşı çalışmalarında, araştırmacılar genellikle aşuların koruyuculuğunu belirlemek için yapılan öldürücü dozla muamelede doz değişikliklerine gitmektedir, bu da koruyucu etkinin doğru bir şekilde belirlenmesini etkilemektedir. Etkili bir aşının geliştirilmesi, *T. gondii*'nin immünopatogenezinin tam olarak anlaşılmasına, parazitin her üç formunda bulunan antijenlerin hedeflenmesine ve uygun hayvan modellerinde etkililiğin test edilmesine bağlıdır.

Teknoloji odaklı araştırmalar daha fazla immünojenik aşı adayının belirlenebilmesinin yoludur. Ters aşılama ve immünojenik analizler, hedeflenen antijen keşfi ve akılcı aşı tasarımı için yenilikçi fırsatlar sunmaktadır. Genom bazlı ters aşı tekniklerinin toksoplazmozise karşı aşı geliştirilmesinde uygulanması etkili bir aşının üretilme şansını artırabilir. Aşılama başarısını etkileyebilecek başka bir faktör ise aşı dağılım mekanizmasıdır. Kas içine yapılan enjeksiyonlar aşının kan dolaşımına hızlı bir şekilde geçişini sağlamaktadır. Derialtına yapılan enjeksiyon antijen sunan hücrelerin aşıya maruz kalma oranını attırarak daha iyi bağışıklık tepkileri uyandırabilir. Burun içinden yapılan aşı mukozal ve sistemik bağışıklık tepkilerini indüklemesi için etkili bir yoldur. Dendritik hücrelerin hedeflenmesi, *prime-boost* uygulama, gen tabancası, elektroporasyon, mikroigneler, mukozal uygulama, doğuştan gelen bağışıklık sistemini aktive ederek profesyonel antijen sunan hücreler tarafından antijen alınımı ve sunumunu artıran adjuvanlar kullanımı gibi yaklaşımlar DNA aşularının etkililiğini artırmak için kullanılabilir önemli stratejilerdir. Sonuç olarak biyoteknolojik aşı yaklaşımlarının hızla geliştiği çağımızda DNA aşuları parazite karşı etkili ve güvenli aşuların geliştirilebilmesi için umut vadetmektedir.

### \*Etik

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

### \*Yazarlık Katkıları

**Dizayn:** C.G., T.K., M.K., H.C., S.E.A., A.Y.G., M.D., Veri Toplama veya İşleme: C.G., T.K., M.K., H.C., M.D., Analiz veya Yorumlama: C.G., T.K., A.D.D., A.G., S.E.A., A.Y.G., C.Ü., M.D., Literatür Arama: C.G., T.K., M.K., H.C., A.D.D., A.G., A.Y.G., C.Ü., M.D., Yazan: C.G., T.K., M.D.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Loh FK, Nathan S, Chow SC, Fang CM. Vaccination challenges and strategies against long-lived *Toxoplasma gondii*. *Vaccine* 2019; 37: 3989-4000.
2. Sibley LD, Khan A, Ajioka JW, Rosenthal BM. Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* in animals and humans. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2009; 364: 2749-61.

3. Gürüz AY, Delibaş SB. Toksoplazmozis ve İmmunolojisi. Tıbbi ve Veteriner İmmunoparazitoloji, Özcel MA, İnci A, Turgay N, Köroğlu E. Editors. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları. İzmir; 2007.p.167-94.
4. Wang JL, Zhang NZ, Li TT, He JJ, Elsheikha HM, Zhu XQ. Advances in the development of anti-*Toxoplasma gondii* vaccines: challenges, opportunities, and perspectives. Trends Parasitol 2019; 35: 239-53.
5. Lori A, Avramopoulos D, Wang AW, Mülle J, Massa N, Duncan EJ, et al. Polygenic risk scores differentiate schizophrenia patients with *Toxoplasma gondii* compared to toxoplasma seronegative patients. Compr Psychiatry 2021; 152236.
6. Azizy B, Hamid N, Hamidynejat H. Study the Relationship Between *Toxoplasma gondii* Infection and Autism Disorder in Children. Journal of Veterinary Research 2021; 75: 413-7.
7. Hodge JM, Coghill AE, Kim Y, Bender N, Smith-Warner SA, Gapstur S, et al. *Toxoplasma gondii* infection and the risk of adult glioma in two prospective studies. Int J Cancer 2021.
8. Buxton, D, Innes EA. A commercial vaccine for ovine toxoplasmosis. Parasitology 1995; 110(Suppl 1): S11-6.
9. Gurunathan S, Wu CY, Freidag BL, Seder RA. DNA vaccines: a key for inducing long-term cellular immunity. Curr Opin Immunol 2000; 12: 442-7.
10. Sefidi-Heris Y, Jahangiri A, Mokhtarzadeh A, Shahbazi MA, Khalili S, Baradaran B, et al. Recent progress in the design of DNA vaccines against tuberculosis. Drug Discov Today 2020; 25: 1359-6446(20)30345-7.
11. Coban C, Koyama S, Takeshita F, Akira S, Ishii KJ. Molecular and cellular mechanisms of DNA vaccines. Hum Vaccin 2008; 4: 453-6.
12. Duong HTT, Kim NW, Thambi T, Phan VG, Lee MS, Yin Y, et al. Microneedle arrays coated with charge reversal pH-sensitive copolymers improve antigen presenting cells-homing DNA vaccine delivery and immune responses. J Control Release 2018; 269: 225-34.
13. Chavda VP, Pandya R, Apostolopoulos V. DNA vaccines for SARS-CoV-2: toward third-generation vaccination era. Expert Rev Vaccines 2021; 20: 1549-60.
14. Weiss LM, Dubey JP. Toxoplasmosis: A history of clinical observations. Int J Parasitol 2009; 39: 895-901.
15. Dubey JP. *Toxoplasma*, *Neospora*, *Sarcocystis*, and other tissue cyst forming *Coccidia* of humans and animals. Parasitic Protozoa 1993; 6: 5-57.
16. Dubey JP, Beattie CP. Toxoplasmosis of animals and man. CRC Press Inc; 1988.p.220.
17. Altıntaş K. Tıbbi Parazitoloji. Ankara: Nobel Tıp Yayınları; 2002.
18. Döşkaya M, Caner A, Ajzenberg D, Değirmenci A, Dardé ML, Can H, et al. Isolation of *Toxoplasma gondii* strains similar to Africa 1 genotype in Turkey. Parasitol Int 2013; 62: 471-4.
19. Pagheh AS, Sarvi S, Sharif M, Rezaei F, Ahmadpour E, Dodangeh S, et al. *Toxoplasma gondii* surface antigen 1 (SAG1) as a potential candidate to develop vaccine against toxoplasmosis: A systematic review. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 2020; 69: 101414.
20. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int J Parasitol 2000; 30: 1217-58.
21. 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.
22. Montoya JG, Remington JS. *Toxoplasma gondii*. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone Inc; 2000.p.2858-88.
23. Ferguson DJP. Use of molecular and ultrastructural markers to evaluate stage conversion of *Toxoplasma gondii* in both the intermediate and definitive host. Int J Parasitol 2004; 34: 347-60.
24. Kasper LH, Boothroyd JC. *Toxoplasma gondii* and toxoplasmosis. Immunology and Molecular Biology of Parasitic Infections 1993; 269-301.
25. Beghetto E, Nielsen HV, Porto PD, Buffolano W, Guglietta S, Felici F, et al. A combination of antigenic regions of *Toxoplasma gondii* microneme proteins induces protective immunity against oral infection with parasite cysts. J Infect Dis 2005; 191: 637-45.
26. Montoya J, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. Lancet 2004; 363: 1965-76.
27. Jones JL, Lopez A, Wilson M. Congenital toxoplasmosis. Am Fam Physician 2003; 67: 2131-8.
28. Minkoff H, Remington JS, Holman S, Ramirez R, Goodwin S, Landesman S. Vertical transmission of *toxoplasma* by human immunodeficiency virus-infected women. Am J Obstet Gynecol 1997; 176: 555-9.
29. Dupont CD, Christian DA, Hunter CA. Immune response and immunopathology during toxoplasmosis. Semin Immunopathol 2012; 34: 793-813.
30. Guo M, Dubey JP, Hill D, Buchanan RL, Gamble H, Jones JL, et al. Prevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in meat animals and meat products destined for human consumption. J Food Prot 2015; 78: 457-76.
31. Dubey JP. The history of *Toxoplasma gondii*--the first 100 years. J Eukaryot Microbiol 2008; 55: 467-75.
32. Beaman M, Wong SY, Remington JS. *Toxoplasma gondii*. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles. Practice of Infectious Diseases Churchill Livingstone; 1994p.2455-75.
33. Halici-Ozturk F, Yakut K, Öcal FD, Erol A, Gökay S, Çağlar AT, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infections in Syrian pregnant refugee women in Turkey. Eur J Obstet Gynecol Reprod Bio 2021; 256: 91-4.
34. Wiengcharoen J, Thompson RA, Nakthong C, Rattanakorn P, Sukthana Y. Transplacental transmission in cattle: is *Toxoplasma gondii* less potent than *Neospora caninum*?. Parasitol Res 2011; 108: 1235-41.
35. Dubey JP, Gamble HR, Hill D, Sreekumar C, Romand S, Thulliez P. High prevalence of viable *Toxoplasma gondii* infection in market weight pigs from a farm in Massachusetts. J Parasitol 2002; 88: 1234-8.
36. Jones JL, Kruszon-Moran D, Wilson M, McQuillan G, Navin T, McAuley JB. *Toxoplasma gondii* infection in the United States: seroprevalence and risk factors. Am J Epidemiol 2001; 154: 357-65.
37. Owusu-Domney A, Pogreba-Brown K, Villa-Zapata L. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in the US: Evidence from a representative cross-sectional survey. Parasitol Int 2020; 79: 102175.
38. El Bissati K, Levigne P, Lykins J, Adlaoui EB, Barkat A, Berraho A, et al. Global initiative for congenital toxoplasmosis: an observational and international comparative clinical analysis. Emerg Microbes Infect 2018; 7: 165.
39. Holland GN. Ocular toxoplasmosis: a global reassessment: Part I: epidemiology and course of disease. Am J Ophthalmol 2003; 136: 973-88.
40. Jenum PA, Stray-Pedersen B, Melby KK, Kapperud G, Whitelaw A, Eskild A, et al. Incidence of *Toxoplasma gondii* infection in 35,940 pregnant women in Norway and pregnancy outcome for infected women. J Clin Microbiol 1998; 36: 2900-6.
41. Ekmen H. Koyun ve Sığırlarda Toksoplazma Antikorları. Mikrobiyoloji Bülteni 1967; 1: 243-8.
42. Aslantaş O, Ozdemir V, Kiliç S, Babür C. Seroepidemiology of leptospirosis, toxoplasmosis, and leishmaniosis among dogs in Ankara, Turkey. Vet Parasitol 2005; 129: 187-91.
43. Babür C, İnci A, Karaer Z. Detection on seropositivity of *Toxoplasma gondii* in sheep and goats in around of Çankiri using Sabin-Feldman dye test. Türkiye Parazit Derg 1997; 21: 409-12.
44. Tekay F, Özbek E. Çiğ köftenin yaygın tüketildiği Şanlıurfa ilinde kadınlarda *Toxoplasma gondii* seroprevalansı. Türkiye Parazit Derg 2007; 31: 176-9.
45. Mor N, Arslan MO. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in sheep in Kars Province. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2007; 13: 165-70.
46. Karabulut A, Polat Y, Türk M, Balci YI. Evaluation of rubella, *Toxoplasma gondii*, and cytomegalovirus seroprevalences among pregnant women in Denizli province. Turkish Journal of Medical Sciences 2011; 41: 159-64.

47. Ertug S, Okyay P, Turkmen M, Yuksel H. Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma* infection among pregnant women in Aydin province, Turkey. BMC Public Health 2005; 5: 66.
48. Cevizci S, Bakar C. Halk Sağlığı bakışıyla *Toxoplasma gondii*. Türkiye Halk Sağlığı Dergisi 2013; 11: 45-58.
49. Benenson MW, Takafuji ET, Lemon SM, Greenup RL, Sulzer AJ. Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water. N Engl J Med 1982; 307: 666-9.
50. Hill DE, Chirukandoth S, Dubey JP. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. Anim Health Res Rev 2005; 6: 41-61.
51. Doganci L, Tanyuksel M, Araz ER, Besirbellioglu BA, Erdem U, Ozoguz CA, et al. A probable outbreak of toxoplasmosis among boarding school students in Turkey. Clin Microbiol Infect 2006; 12: 672-4.
52. Balasundaram MB, Andavar R, Palaniswamy M, Venkatapathy N. Outbreak of acquired ocular toxoplasmosis involving 248 patients. Arch Ophthalmol 2010; 128: 28-32.
53. Palanisamy M, Madhavan B, Balasundaram MB, Andavar R, Venkatapathy N. Outbreak of ocular toxoplasmosis in Coimbatore, India. Indian J Ophthalmol 2006; 54: 129-31.
54. da Costa MA, Pinto-Ferreira F, de Almeida RPA, Martins FDC, Pires AL, Mareze M, et al. Artisan fresh cheese from raw cow's milk as a possible route of transmission in a toxoplasmosis outbreak, in Brazil. Zoonoses Public Health 2020; 67: 122-9.
55. Ajioka JW, Fitzpatrick JM, Reitter CP. *Toxoplasma gondii* genomics: shedding light on pathogenesis and chemotherapy. Expert Rev Mol Med 2001; 3: 1-19.
56. Alexander DL, Mital J, Ward GE, Bradley P, Boothroyd JC. Identification of the moving junction complex of *Toxoplasma gondii*: a collaboration between distinct secretory organelles. PLoS Pathog 2005; 1: e17.
57. Zhang Y, Lai BS, Juhas M, Zhang Y. *Toxoplasma gondii* secretory proteins and their role in invasion and pathogenesis. Microbiol Res 2019; 227: 126293.
58. Rezaei F, Sarvi S, Sharif M, Hejazi SH, Pagheh SA, Aghayan SA, Daryani A. A systematic review of *Toxoplasma gondii* antigens to find the best vaccine candidates for immunization. Microbial Pathog 2019; 126: 172-84.
59. Weiss LM, Kim, editors. In: *Toxoplasma gondii*: the model apicomplexan. Perspectives and methods. Elsevier; 2011.p.611.
60. Wang HL, Zhang TE, Yin LT, Pang M, Guan L, Liu HL, et al. Partial protective effect of intranasal immunization with recombinant *Toxoplasma gondii* rhoptry protein 17 against toxoplasmosis in mice. PLoS One 2014; 9: e108377.
61. Zhao XY, Ewald, SE. The molecular biology and immune control of chronic *Toxoplasma gondii* infection. J Clin Invest 2020; 130: 3370-80.
62. Denkers EY. From cells to signaling cascades: manipulation of innate immunity by *Toxoplasma gondii*. FEMS Immunol Med Microbiol 2003; 39: 193-203.
63. Henriquez FL, Woods S, Cong H, McLeod R, Roberts CW. Immunogenetics of *Toxoplasma gondii* informs vaccine design. Trends Parasitol 2010; 26: 550-5.
64. Filisetti D, Candolfi E. Immune response to *Toxoplasma gondii*. Ann Ist Super Sanita 2004; 40: 71-80.
65. Innes EA, Hamilton C, Garcia JL, Chryssafidis A, Smith D. A one health approach to vaccines against *Toxoplasma gondii*. Food Waterborne Parasitol 2019; 15: e00053.
66. Pier GB, Lyczak JB, Wetzler LM. Immunology, infection, and immunity. American Society for Microbiology, Washington D.C.; 2004.p.697.
67. Bonenfant C, Dimier-Poisson I, Velge-Roussel F, Buzoni-Gatel, D, Del Giudice G, Rappuoli R et al. Intranasal immunization with SAG1 and nontoxic mutant heat-labile enterotoxins protects mice against *Toxoplasma gondii*. Infect Immun 2001; 69: 1605-12.
68. İz SG, Döşkaya M, Caner A, Döşkaya AD, Rodriguez F, Gürüz Y, et al. A novel dual promoter DNA vaccine induces CD8+ response against *Toxoplasma gondii* sporozoite specific surface protein "sporoSAG" through non-apoptotic cells. Trials in Vaccinology 2014; 3: 81-8.
69. Henderson LM. Overview of marker vaccine and differential diagnostic test technology. Biologicals 2005; 33: 203-9.
70. Liu MA. DNA vaccines: a review. J Intern Med 2003; 253: 402-10.
71. Kutzler MA, Weiner DB. DNA vaccines: ready for prime time?. Nat Rev Genet 2008; 9: 776-88.
72. Qin F, Xia F, Chen H, Cui B, Feng Y, Zhang P, et al. A Guide to Nucleic Acid Vaccines in the Prevention and Treatment of Infectious Diseases and Cancers: From Basic Principles to Current Applications. Front Cell Dev Biol 2021; 9: 633776.
73. Siegrist CA. Vaccine immunology. Vaccines 2008; 5: 17-36.
74. Quan JH, Chu JQ, Ismail HAHA, Zhou W, Jo EK, Cha GH, et al. Induction of protective immune responses by a multiantigenic DNA vaccine encoding GRA7 and ROP1 of *Toxoplasma gondii*. Clin Vaccine Immunol 2012; 19: 666-74.
75. Liu MA. DNA vaccines: an historical perspective and view to the future. Immunol Rev 2010; 239: 62-84.
76. Hasson SSA, Al-Busaidi JKZ, Sallam TA. The past, current and future trends in DNA vaccine immunisations. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 2015; 5: 344-53.
77. Doria-Rose NA, Haigwood NL. DNA vaccine strategies: candidates for immune modulation and immunization regimens. Methods 2003; 31: 207-16.
78. Chen MC, Lin ZW, Ling MH. Near-infrared light-activatable microneedle system for treating superficial tumors by combination of chemotherapy and photothermal therapy. ACS Nano 2016; 10: 93-101.
79. Gary EN, Weiner DB. DNA vaccines: prime time is now. Curr Opin Immunol 2020; 65: 21-7.
80. Luxembourg A, Evans CF, Hannaman, D. Electroporation-based DNA immunisation: translation to the clinic. Expert Opin Biol Ther 2007; 7: 1647-64.
81. Saade F, Petrovsky N. Technologies for enhanced efficacy of DNA vaccines. Expert Rev Vaccines 2012; 11: 189-209.
82. Xie X, Pascual C, Lieu C, Oh S, Wang J, Zou B, et al. Analgesic microneedle patch for neuropathic pain therapy. ACS Nano 2017; 11: 395-406.
83. Kassegne K, Abe EM, Chen, JH, Zhou XN. Immunomic approaches for antigen discovery of human parasites. Expert Rev Proteomics 2016; 13: 1091-101.
84. Sette A, Rappuoli R. Reverse vaccinology: developing vaccines in the era of genomics. Immunity 2010; 33: 530-41.
85. Nielsen HV, Lauemøller SL, Christiansen L, Buus S, Fomsgaard A, Petersen E. Complete protection against lethal *Toxoplasma gondii* infection in mice immunized with a plasmid encoding the SAG1 gene. Infect Immun 1999; 67: 6358-63.
86. Angus CW, Klivington-Evans D, Dubey JP, Kovacs JA. Immunization with a DNA plasmid encoding the SAG1 (P30) protein of *Toxoplasma gondii* is immunogenic and protective in rodents. J Infect Dis 2000; 181: 317-24.
87. Vercammen M, Scorza T, Huygen K, De Braekeleer J, Diet R, Jacobs D, et al. DNA vaccination with genes Encoding *Toxoplasma gondii* antigens GRA1, GRA7, and ROP2 induces partially protective immunity against lethal challenge in mice. Infect Immun 2000; 68: 38-45.
88. Leyva R, Héron P, Saavedra R. Genetic immunization with plasmid DNA coding for the ROP2 protein of *Toxoplasma gondii*. Parasitol Res 2001; 87: 70-9.
89. Machado A, Rodriguez A, Angel SO, Pinto DC, Vila I, Acosta A, et al. Protective effect of a naked DNA vaccine cocktail against lethal toxoplasmosis in mice. Vaccine 2003; 21: 1327-35.
90. Scorza T, D'souza S, Laloup M, Dewit J, De Braekeleer J, Verschuere H, et al. A GRA1 DNA vaccine primes cytolytic CD8+ T cells to control acute *Toxoplasma gondii* infection. Infect Immun 2003; 71: 309-16.
91. Couper KN, Nielsen HV, Petersen E, Roberts F, Roberts CW, Alexander J. DNA vaccination with the immunodominant tachyzoite surface antigen



- (SAG-1) protects against adult acquired *Toxoplasma gondii* infection but does not prevent maternofetal transmission. *Vaccine* 2003; 21: 2813-20.
92. Mohamed RM, Aosai F, Chen M, Mun HS, Norose K, Belal US, et al. Induction of protective immunity by DNA vaccination with *Toxoplasma gondii* HSP70, HSP30 and SAG1 genes. *Vaccine* 2003; 21: 2852-61.
  93. Ismael AB, Sekkai D, Collin C, Bout D, Mévélec MN. The MIC3 gene of *Toxoplasma gondii* is a novel potent vaccine candidate against toxoplasmosis. *Infect Immun* 2003; 71: 6222-8.
  94. Yang CD, Chang GN, Chao D. Protective immunity against *Toxoplasma gondii* in mice induced by a chimeric protein rSAG1/2. *Parasitol Res* 2004; 92: 58-64.
  95. Nielsen HV, Di Cristina M, Beghetto E, Spadoni A, Petersen E, Gargano N. *Toxoplasma gondii*: DNA vaccination with bradyzoite antigens induces protective immunity in mice against oral infection with parasite cysts. *Exp Parasitol* 2006; 112: 274-9.
  96. Döşkaya M, Kalantari-Dehaghi M, Walsh CM, Hiszczyńska-Sawicka E, Davies DH, Felgner PL, et al. GRA1 protein vaccine confers better immune response compared to codon-optimized GRA1 DNA vaccine. *Vaccine* 2007; 25: 1824-37.
  97. Jongert E, De Craeye S, Dewit J, Huygen K. GRA7 provides protective immunity in cocktail DNA vaccines against *Toxoplasma gondii*. *Parasite Immunol* 2007; 29: 445-53.
  98. Wang H, Liu Q, Liu K, Zhong W, Gao S, Jiang L, et al. Immune response induced by recombinant *Mycobacterium bovis* BCG expressing ROP2 gene of *Toxoplasma gondii*. *Parasitol Int* 2007; 56: 263-8.
  99. Dautu G, Munyaka B, Carmen G, Zhang G, Omata Y, Xuenan X, et al. *Toxoplasma gondii*: DNA vaccination with genes encoding antigens MIC2, M2AP, AMA1 and BAG1 and evaluation of their immunogenic potential. *Exp Parasitol* 2007; 116: 273-82.
  100. Zhang J, He S, Jiang H, Yang T, Cong H, Zhou H, et al. Evaluation of the immune response induced by multiantigenic DNA vaccine encoding SAG1 and ROP2 of *Toxoplasma gondii* and the adjuvant properties of murine interleukin-12 plasmid in BALB/c mice. *Parasitol Res* 2007; 101: 331-8.
  101. Jongert E, Melkebeek V, De Craeye S, Dewit J, Verhelst D, Cox, E. An enhanced GRA1–GRA7 cocktail DNA vaccine primes anti-*Toxoplasma* immune responses in pigs. *Vaccine* 2008; 26: 1025-31.
  102. Peng GH, Yuan ZG, Zhou DH, He XH, Liu MM, Yan C, et al. *Toxoplasma gondii* microneme protein 6 (MIC6) is a potential vaccine candidate against toxoplasmosis in mice. *Vaccine* 2009; 27: 6570-4.
  103. Fang R, Nie H, Wang Z, Tu P, Zhou D, Wang L, et al. Protective immune response in BALB/c mice induced by a suicidal DNA vaccine of the MIC3 gene of *Toxoplasma gondii*. *Vet Parasitol* 2009; 164: 134-40.
  104. Liu S, Shi L, Cheng YB, Fan GX, Ren HX, Yuan YK. Evaluation of protective effect of multi-epitope DNA vaccine encoding six antigen segments of *Toxoplasma gondii* in mice. *Parasitol Res* 2009; 105: 267-74.
  105. Fang R, Feng H, Nie H, Wang L, Tu P, Song Q, et al. Construction and immunogenicity of pseudotype baculovirus expressing *Toxoplasma gondii* SAG1 protein in BALB/c mice model. *Vaccine* 2010; 28: 1803-7.
  106. Hiszczyńska-Sawicka E, Li H, Xu JB, Ołędzka G, Kur J, Bickerstaffe R, Stankiewicz M. Comparison of immune response in sheep immunized with DNA vaccine encoding *Toxoplasma gondii* GRA7 antigen in different adjuvant formulations. *Exp Parasitol* 2010; 124: 365-72.
  107. Liu MM, Yuan ZG, Peng GH, Zhou DH, He XH, Yan C, et al. *Toxoplasma gondii* microneme protein 8 (MIC8) is a potential vaccine candidate against toxoplasmosis. *Parasitol Res* 2010; 106: 1079-84.
  108. Liu Q, Shang L, Jin H, Wei F, Zhu XQ, Gao H. The protective effect of a *Toxoplasma gondii* SAG1 plasmid DNA vaccine in mice is enhanced with IL-18. *Res Vet Sci* 2010; 89: 93-7.
  109. Machado AV, Caetano BC, Barbosa RP, Salgado APC, Rabelo RH, Garcia CC, et al. Prime and boost immunization with influenza and adenovirus encoding the *Toxoplasma gondii* surface antigen 2 (SAG2) induces strong protective immunity. *Vaccine* 2010; 28: 3247-56.
  110. Kikumura A, Fang H, Mun HS, Uemura N, Makino M, Sayama Y, et al. Protective immunity against lethal anaphylactic reaction in *Toxoplasma gondii*-infected mice by DNA vaccination with T. *gondii*-derived heat shock protein 70 gene. *Parasitol Int* 2010; 59: 105-11.
  111. Yuan ZG, Zhang XX, He XH, Petersen E, Zhou DH, He Y, et al. Protective immunity induced by *Toxoplasma gondii* rhostry protein 16 against toxoplasmosis in mice. *Clin Vaccine Immunol* 2011; 18: 119-24.
  112. Yuan ZG, Zhang XX, Lin RQ, Petersen E, He S, Yu M, et al. Protective effect against toxoplasmosis in mice induced by DNA immunization with gene encoding *Toxoplasma gondii* ROP18. *Vaccine* 2011; 29: 6614-9.
  113. Rashid I, Hedhli D, Moiré N, Pierre J, Debierre-Grockiego F, Dimier-Poisson I, Mévélec MN. Immunological responses induced by a DNA vaccine expressing RON4 and by immunogenic recombinant protein RON4 failed to protect mice against chronic toxoplasmosis. *Vaccine* 2011; 29: 8838-46.
  114. Khosroshahi KH, Ghaffarifar F, D'Souza S, Sharifi Z, Dalimi A. Evaluation of the immune response induced by DNA vaccine cocktail expressing complete SAG1 and ROP2 genes against toxoplasmosis. *Vaccine* 2011; 29: 778-83.
  115. Makino M, Uemura N, Moroda M, Kikumura A, Piao LX, Mohamed RM, Aosai F. Innate immunity in DNA vaccine with *Toxoplasma gondii*-heat shock protein 70 gene that induces DC activation and Th1 polarization. *Vaccine* 2011; 29: 1899-905.
  116. Yan HK, Yuan ZG, Petersen E, Zhang XX, Zhou DH, Liu Q, et al. *Toxoplasma gondii*: protective immunity against experimental toxoplasmosis induced by a DNA vaccine encoding the perforin-like protein 1. *Exp Parasitol* 2011; 128: 38-43.
  117. Sun XM, Zou J, AA ES, Yan WC, Liu XY, Suo X, et al. DNA vaccination with a gene encoding *Toxoplasma gondii* GRA6 induces partial protection against toxoplasmosis in BALB/c mice. *Parasit Vectors* 2011; 4: 213.
  118. Cui X, Lei T, Yang D, Hao P, Li B, Liu Q. *Toxoplasma gondii* immune mapped protein-1 (TgIMP1) is a novel vaccine candidate against toxoplasmosis. *Vaccine* 2012; 30: 2282-7.
  119. Fang R, Feng H, Hu M, Khan MK, Wang L, Zhou Y, et al. Evaluation of immune responses induced by SAG1 and MIC3 vaccine cocktails against *Toxoplasma gondii*. *Vet Parasitol* 2012; 187: 140-6.
  120. Wu XN, Lin J, Lin X, Chen J, Chen ZL, Lin JY. Multicomponent DNA vaccine-encoding *Toxoplasma gondii* GRA1 and SAG1 primes: anti-*Toxoplasma* immune response in mice. *Parasitol Res* 2012; 111: 2001-9.
  121. Wang PY, Yuan ZG, Petersen E, Li J, Zhang XX, Li XZ, et al. Protective efficacy of a *Toxoplasma gondii* rhostry protein 13 plasmid DNA vaccine in mice. *Clin Vaccine Immunol* 2012; 19: 1916-20.
  122. Meng M, He S, Zhao G, Bai Y, Zhou H, Cong H, et al. Evaluation of protective immune responses induced by DNA vaccines encoding *Toxoplasma gondii* surface antigen 1 (SAG1) and 14-3-3 protein in BALB/c mice. *Parasit Vectors* 2012; 5: 273.
  123. Zhou H, Min J, Zhao Q, Gu Q, Cong H, Li Y, et al. Protective immune response against *Toxoplasma gondii* elicited by a recombinant DNA vaccine with a novel genetic adjuvant. *Vaccine* 2012; 30: 1800-6.
  124. Yu L, Yamagishi J, Zhang S, Jin C, Aboge GO, Zhang H, et al. Protective effect of a prime-boost strategy with plasmid DNA followed by recombinant adenovirus expressing TgAMA1 as vaccines against *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Parasitol Int* 2012; 61: 481-6.
  125. Li J, Han Q, Gong P, Yang T, Ren B, Li S, Zhang X. *Toxoplasma gondii* rhomboid protein 1 (TgROM1) is a potential vaccine candidate against toxoplasmosis. *Vet Parasitol* 2012; 184: 154-60.
  126. Yan HK, Yuan ZG, Song HQ, Petersen E, Zhou Y, Ren D, et al. Vaccination with a DNA vaccine coding for perforin-like protein 1 and MIC6 induces significant protective immunity against *Toxoplasma gondii*. *Clin Vaccine Immunol* 2012; 19: 684-9.
  127. Parthasarathy S, Fong MY, Ramaswamy K, Lau YL. Protective immune response in BALB/c mice induced by DNA vaccine of the ROP8 gene of *Toxoplasma gondii*. *Amk J Trop Med Hyg* 2013; 88: 883-7.
  128. Cong H, Zhang M, Xin Q, Wang Z, Li Y, Zhao Q, et al. Compound DNA vaccine encoding SAG1/SAG3 with A 2/B subunit of cholera toxin as a genetic adjuvant protects BALB/c mice against *Toxoplasma gondii*. *Parasit Vectors* 2013; 6: 63.



129. Meng M, Zhou A, Lu G, Wang L, Zhao G, Han Y, et al. DNA prime and peptide boost immunization protocol encoding the *Toxoplasma gondii* GRA4 induces strong protective immunity in BALB/c mice. *BMC Infect Dis* 2013; 13: 494.
130. Yuan ZG, Ren D, Zhou DH, Zhang XX, Petersen E, Li XZ, et al. Evaluation of protective effect of pVAX-TgMIC13 plasmid against acute and chronic *Toxoplasma gondii* infection in a murine model. *Vaccine* 2013; 31: 3135-9.
131. Tao Q, Fang R, Zhang W, Wang Y, Cheng J, Li Y, et al. Protective immunity induced by a DNA vaccine-encoding *Toxoplasma gondii* microneme protein 11 against acute toxoplasmosis in BALB/c mice. *Parasitol Res* 2013; 112: 2871-7.
132. Zhang NZ, Huang SY, Zhou DH, Chen J, Xu Y, Tian WP, et al. Protective immunity against *Toxoplasma gondii* induced by DNA immunization with the gene encoding a novel vaccine candidate: calcium-dependent protein kinase 3. *BMC Infect Dis* 2013; 13: 512.
133. Zhang M, Zhao L, Song J, Li Y, Zhao Q, He S, Cong H. DNA vaccine encoding the *Toxoplasma gondii* bradyzoite-specific surface antigens SAG2CDX protect BALB/c mice against type II parasite infection. *Vaccine* 2013; 31: 4536-40.
134. Chen J, Huang SY, Li ZY, Yuan ZG, Zhou DH, Petersen E, et al. Protective immunity induced by a DNA vaccine expressing eIF4A of *Toxoplasma gondii* against acute toxoplasmosis in mice. *Vaccine* 2013; 31: 1734-9.
135. Chen J, Huang SY, Zhou DH, Li ZY, Petersen E, Song HQ, Zhu XQ. DNA immunization with eukaryotic initiation factor-2 $\alpha$  of *Toxoplasma gondii* induces protective immunity against acute and chronic toxoplasmosis in mice. *Vaccine* 2013; 31: 6225-31.
136. Gong P, Huang X, Yu Q, Li Y, Huang J, Li J, et al. The protective effect of a DNA vaccine encoding the *Toxoplasma gondii* cyclophilin gene in BALB/c mice. *Parasite Immunol* 2013; 35: 140-6.
137. Zhao G, Zhou A, Lu G, Meng M, Sun M, Bai Y, et al. Identification and characterization of *Toxoplasma gondii* aspartic protease 1 as a novel vaccine candidate against toxoplasmosis. *Parasit Vectors* 2013; 6: 175.
138. Zhao G, Zhou A, Lv G, Meng M, Sun M, Bai Y, et al. *Toxoplasma gondii* cathepsin proteases are undeveloped prominent vaccine antigens against toxoplasmosis. *BMC Infect Dis* 2013; 13: 207.
139. Zhao HG, Huang FY, Guo JL, Tan GH. Evaluation on the immune response induced by DNA vaccine encoding MIC8 co-immunized with IL-12 genetic adjuvant against *Toxoplasma gondii* infection. *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi* 2013; 31: 284-9.
140. Liu Q, Wang F, Wang G, Zhao Q, Min J, Wang S, et al. *Toxoplasma gondii*: immune response and protective efficacy induced by ROP16/GRA7 multicomponent DNA vaccine with a genetic adjuvant B7-2. *Hum Vaccin Immunother* 2014; 10: 184-91.
141. Chen J, Zhou DH, Li ZY, Petersen E, Huang SY, Song HQ, et al. *Toxoplasma gondii*: protective immunity induced by rhoptry protein 9 (TgROP9) against acute toxoplasmosis. *Exp Parasitol* 2014; 139: 42-8.
142. Li ZY, Chen J, Petersen E, Zhou DH, Huang SY, Song HQ, et al. Synergy of mL-21 and mL-15 in enhancing DNA vaccine efficacy against acute and chronic *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Vaccine* 2014; 32: 3058-65.
143. Zhang NZ, Huang SY, Xu Y, Chen J, Wang JL, Tian WP, Zhu XQ. Evaluation of immune responses in mice after DNA immunization with putative *Toxoplasma gondii* calcium-dependent protein kinase 5. *Clin Vaccine Immunol* 2014; 21: 924-9.
144. Lu G, Zhou A, Meng M, Wang L, Han Y, Guo J, et al. Alpha-galactosylceramide enhances protective immunity induced by DNA vaccine of the SAG5D gene of *Toxoplasma gondii*. *BMC Infect Dis* 2014; 14: 3862.
145. Hassan IA, Wang S, Xu L, Yan R, Song X, Li X. DNA vaccination with a gene encoding *Toxoplasma gondii* Deoxyribose Phosphate Aldolase (TgDPA) induces partial protective immunity against lethal challenge in mice. *Parasit Vectors* 2014; 7: 431.
146. Cong H, Yuan Q, Zhao Q, Zhao L, Yin H, Zhou H, et al. Comparative efficacy of a multi-epitope DNA vaccine via intranasal, peroral, and intramuscular delivery against lethal *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Parasit Vectors* 2014; 7: 145.
147. Xu Y, Zhang NZ, Tan QD, Chen J, Lu J, Xu QM, et al. Evaluation of immuno-efficacy of a novel DNA vaccine encoding *Toxoplasma gondii* rhoptry protein 38 (TgROP38) against chronic toxoplasmosis in a murine model. *BMC Infect Dis* 2014; 14: 525.
148. Wang S, Hassan IA, Liu X, Xu L, Yan R, Song X, Li X. Immunological changes induced by *Toxoplasma gondii* Glutathione-S-Transferase (TgGST) delivered as a DNA vaccine. *Res Vet Sci* 2015; 99: 157-64.
149. Wang S, Wang Y, Sun X, Zhang Z, Liu T, Gadahi JA, et al. Protective immunity against acute toxoplasmosis in BALB/c mice induced by a DNA vaccine encoding *Toxoplasma gondii* elongation factor 1-alpha. *BMC Infect Dis* 2015; 15: 448.
150. Wang S, Wang Y, Sun X, Zhang Z, Liu T, Gadahi JA, et al. Protective immunity against acute toxoplasmosis in BALB/c mice induced by a DNA vaccine encoding *Toxoplasma gondii* 10 kDa excretory-secretory antigen (TgESA10). *Vet Parasitol* 2015; 214: 40-8.
151. Cao A, Liu Y, Wang J, Li X, Wang S, Zhao Q, et al. *Toxoplasma gondii*: vaccination with a DNA vaccine encoding T- and B-cell epitopes of SAG1, GRA2, GRA7 and ROP16 elicits protection against acute toxoplasmosis in mice. *Vaccine* 2015; 33: 6757-62.
152. Lu G, Wang L, Zhou A, Han Y, Guo J, Song P, et al. Epitope analysis, expression and protection of SAG5A vaccine against *Toxoplasma gondii*. *Acta Trop* 2015; 146: 66-72.
153. Chen J, Li ZY, Petersen E, Huang SY, Zhou DH, Zhu XQ. DNA vaccination with genes encoding *Toxoplasma gondii* antigens ROP5 and GRA15 induces protective immunity against toxoplasmosis in Kunming mice. *Expert Rev Vaccines* 2015; 14: 617-24.
154. Grzybowski MM, Dziadek B, Gatkowska JM, Dzitko K, Długowska H. Towards vaccine against toxoplasmosis: evaluation of the immunogenic and protective activity of recombinant ROP5 and ROP18 *Toxoplasma gondii* proteins. *Parasitol Res* 2015; 114: 4553-63.
155. Zhang NZ, Xu Y, Wang M, Petersen E, Chen J, Huang SY, Zhu XQ. Protective efficacy of two novel DNA vaccines expressing *Toxoplasma gondii* rhomboid 4 and rhomboid 5 proteins against acute and chronic toxoplasmosis in mice. *Expert Rev Vaccines* 2015; 14: 1289-97.
156. Zhou J, Wang L, Lu G, Zhou A, Zhu M, Li Q, et al. Epitope analysis and protection by a ROP19 DNA vaccine against *Toxoplasma gondii*. *Parasite* 2016; 23: 17.
157. Chen J, Li ZY, Petersen E, Liu WG, Zhu XQ. Co-administration of interleukins 7 and 15 with DNA vaccine improves protective immunity against *Toxoplasma gondii*. *Exp Parasitol* 2016; 162: 18-23.
158. Gong P, Cao L, Guo Y, Dong H, Yuan S, Yao X, et al. *Toxoplasma gondii*: Protective immunity induced by a DNA vaccine expressing GRA1 and MIC3 against toxoplasmosis in BALB/c mice. *Exp Parasitol* 2016; 166: 131-6.
159. Wang L, Lu G, Zhou A, Han Y, Guo J, Zhou H, et al. Evaluation of immune responses induced by rhoptry protein 5 and rhoptry protein 7 DNA vaccines against *Toxoplasma gondii*. *Parasite Immunol* 2016; 38: 209-17.
160. Wang HL, Wang YJ, Pei YJ, Bai JZ, Yin LT, Guo R, et al. DNA vaccination with a gene encoding *Toxoplasma gondii* Rhoptry Protein 17 induces partial protective immunity against lethal challenge in mice. *Parasite* 2016; 23: 4.
161. Sonaimuthu P, Ching XT, Fong MY, Kalyanasundaram R, Lau YL. Induction of protective immunity against toxoplasmosis in BALB/c mice vaccinated with *Toxoplasma gondii* Rhoptry-1. *Front Microbiol* 2016; 7: 808.
162. Tang X, Yin G, Qin M, Tao G, Suo J, Liu X, Suo X. Transgenic *Eimeria tenella* as a vaccine vehicle: expressing TgSAG1 elicits protective immunity against *Toxoplasma gondii* infections in chickens and mice. *Sci Rep* 2016; 6: 29379.
163. Rashid I, Moiré N, Héraud B, Dimier-Poisson I, Mévélec MN. Enhancement of the protective efficacy of a ROP18 vaccine against chronic toxoplasmosis by nasal route. *Med Microbiol Immunol* 2016; 206: 53-62.

164. Zhao Y, Li ZY, Chen J, Sun XL, Liu SS, Zhu XQ, Zhou DH. Protective efficacy of pVAX-RON5p against acute and chronic infections of *Toxoplasma gondii* in BALB/c mice. *Exp Parasitol* 2016; 163: 24-30.
165. Ahmadpour E, Sarvi S, Hashemi Soteh MB, Sharif M, Rahimi MT, Valadan R, et al. Evaluation of the immune response in BALB/c mice induced by a novel DNA vaccine expressing GRA 14 against *Toxoplasma gondii*. *Parasite Immunol* 2017; 39.
166. Ahmadpour E, Sarvi S, Soteh MBH, Sharif M, Rahimi MT, Valadan R, et al. Enhancing immune responses to a DNA vaccine encoding *Toxoplasma gondii* GRA14 by calcium phosphate nanoparticles as an adjuvant. *Immunol Lett* 2017; 185: 40-7.
167. Han Y, Zhou A, Lu G, Zhao G, Wang L, Guo J, et al. Protection via a ROM4 DNA vaccine and peptide against *Toxoplasma gondii* in BALB/c mice. *BMC Infect Dis* 2017; 17: 59.
168. Yang WB, Zhou DH, Zou Y, Chen K, Liu Q, Wang JL, et al. Vaccination with a DNA vaccine encoding *Toxoplasma gondii* ROP54 induces protective immunity against toxoplasmosis in mice. *Acta Trop* 2017; 176: 427-32.
169. Zhou J, Wang L. SAG4 DNA and peptide vaccination provides partial protection against *T. gondii* infection in BALB/c mice. *Front Microbiol* 2017; 8: 1733.
170. Rahimi MT, Sarvi S, Sharif M, Abediankenari S, Ahmadpour E, Valadan R, et al. Immunological evaluation of a DNA cocktail vaccine with co-delivery of calcium phosphate nanoparticles (CaPNs) against the *Toxoplasma gondii* RH strain in BALB/c mice. *Parasitol Res* 2017; 116: 609-16.
171. Song P, He S, Zhou A, Lv G, Guo J, Zhou J et al. Vaccination with toxofilin DNA in combination with an alum-monophosphoryl lipid A mixed adjuvant induces significant protective immunity against *Toxoplasma gondii*. *BMC Infect Dis* 2017; 17: 19.
172. Liu Y, Cao A, Li Y, Li X, Cong H, He S, Zhou H. Immunization with a DNA vaccine encoding *Toxoplasma gondii* Superoxide dismutase (TgSOD) induces partial immune protection against acute toxoplasmosis in BALB/c mice. *BMC Infect Dis* 2017; 17: 403.
173. Zheng B, Ding J, Chen X, Yu H, Lou D, Tong Q, et al. Immuno-efficacy of a *T. gondii* secreted protein with an altered thrombospondin repeat (TgSPATR) as a novel DNA vaccine candidate against acute toxoplasmosis in BALB/c mice. *Front Microbiol* 2017; 8: 216.
174. Lu G, Zhou J, Zhou A, Han Y, Guo J, Song P, et al. SAG5B and SAG5C combined vaccine protects mice against *Toxoplasma gondii* infection. *Parasitol Int* 2017; 66: 596-602.
175. Zheng L, Hu Y, Hua Q, Luo F, Xie G, Li X, et al. Protective immune response in mice induced by a suicidal DNA vaccine encoding NTPase-II gene of *Toxoplasma gondii*. *Acta Trop* 2017; 166: 336-42.
176. Han Y, Zhou A, Lu G, Zhao G, Sha W, Wang L, et al. DNA vaccines encoding *Toxoplasma gondii* cathepsin C 1 induce protection against *Toxoplasmosis* in mice. *Korean J Parasitol* 2017; 55: 505-12.
177. Hu LY, Zhang NZ, Zhang FK, Wang M, Gao Q, Wang JL, et al. Resistance to Chronic *Toxoplasma gondii* infection induced by a DNA vaccine expressing GRA16. *Biomed Res Int* 2017; 2017: 1295038.
178. Chen K, Wang JL, Huang SY, Yang WB, Zhu WN, Zhu XQ. Immune responses and protection after DNA vaccination against *Toxoplasma gondii* calcium-dependent protein kinase 2 (TgCDPK2). *Parasite* 2017; 24: 41.
179. Zulpo DL, Igarashi M, Sammi AS, Santos JRD, Sasse JP, Cunha IALD, et al. rROP2 from *Toxoplasma gondii* as a potential vaccine against oocyst shedding in domestic cats. *Rev Bras Parasitol Vet* 2017; 26: 67-73.
180. Zhu WN, Wang JL, Chen K, Yue DM, Zhang XX, Huang SY, et al. Evaluation of protective immunity induced by DNA vaccination with genes encoding *Toxoplasma gondii* GRA17 and GRA23 against acute toxoplasmosis in mice. *Exp Parasitol* 2017; 179: 20-7.
181. Zhang NZ, Gao Q, Wang M, Hou JL, Zhang FK, Hu LY, Zhu XQ. Protective efficacy against acute and chronic *Toxoplasma gondii* infection induced by immunization with the DNA vaccine TgDOC2C. *Front Microbiol* 2018; 9: 2965.
182. Li ZY, Lu J, Zhang NZ, Chen J, Zhu XQ. Immune responses induced by HSP60 DNA vaccine against *Toxoplasma gondii* infection in Kunming mice. *Korean J Parasitol* 2018; 56: 237-45.
183. Babaie J, Amiri S, Homayoun R, Azimi E, Mohabati R, Berizi M, et al. Immunization of C57BL/6 mice with GRA2 combined with MPL conferred partial immune protection against *Toxoplasma gondii*. *Iran Biomed J* 2018; 22: 22-32.
184. Vazini H, Ghafarifar F, Sharifi Z, Dalimi A. Evaluation of immune responses induced by GRA7 and ROP2 genes by DNA vaccine cocktails against acute toxoplasmosis in BALB/c mice. *Avicenna J Med Biotechnol* 2018; 10: 2-8.
185. Chu JQ, Huang S, Ye W, Fan XY, Huang R, Ye SC, et al. Evaluation of protective immune response induced by a DNA vaccine encoding GRA8 against acute toxoplasmosis in a murine model. *Korean J Parasitol* 2018; 56: 325-34.
186. Chen Y, Yu M, Hernandez JA, Li J, Yuan ZG, Yan H. Immuno-efficacy of DNA vaccines encoding PLP1 and ROP18 against experimental *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Exp Parasitol* 2018; 188: 73-8.
187. Zhang Z, Li Y, Wang M, Xie Q, Li P, Zuo S, et al. Immune protection of rhoptry protein 21 (ROP21) of *Toxoplasma gondii* as a DNA vaccine against toxoplasmosis. *Front Microbiol* 2018; 9: 909.
188. Lu G, Zhou J, Zhao YH, Wang L. DNA vaccine ROP 29 from *Toxoplasma gondii* containing R848 enhances protective immunity in mice. *Parasite Immunol* 2018; 40: e12578.
189. Zhang Z, Li Y, Liang Y, Wang S, Xie Q, Nan X, et al. Molecular characterization and protective immunity of rhoptry protein 35 (ROP35) of *Toxoplasma gondii* as a DNA Vaccine. *Vet Parasitol* 2018; 260: 12-21.
190. Roozbehani M, Falak R, Mohammadi M, Hemphill A, Razmjou E, reza Meamar A, et al. Characterization of a multi-epitope peptide with selective MHC-binding capabilities encapsulated in PLGA nanoparticles as a novel vaccine candidate against *Toxoplasma gondii* infection. *Vaccine* 2018; 36: 6124-32.
191. Gao Q, Zhang NZ, Zhang FK, Wang M, Hu LY, Zhu XQ. Immune response and protective effect against chronic *Toxoplasma gondii* infection induced by vaccination with a DNA vaccine encoding profilin. *BMC Infect Dis* 2018; 18: 117.
192. Zhang NZ, Gao Q, Wang M, Elsheikha HM, Wang B, Wang JL, et al. Immunization with a DNA vaccine cocktail encoding TgPF, TgROP16, TgROP18, TgMIC6, and TgCDPK3 genes protects mice against chronic toxoplasmosis. *Front Immunol* 2018; 9: 1505.
193. Zheng B, Lou D, Ding J, Zhuo X, Ding H, Kong Q, et al. GRA24-based DNA vaccine prolongs survival in mice challenged with a virulent *Toxoplasma gondii* strain. *Front Immunol* 2019; 10: 418.
194. Xu XP, Liu WG, Xu QM, Zhu XQ, Chen J. Evaluation of immune protection against *Toxoplasma gondii* infection in mice induced by a multi-antigenic DNA vaccine containing TgGRA24, TgGRA25 and TgMIC6. *Parasite* 2019; 26: 58.
195. Pagheh AS, Sarvi S, Gholami S, Asgarian-Omran H, Valadan R, Hassannia H, et al. Protective efficacy induced by DNA prime and recombinant protein boost vaccination with *Toxoplasma gondii* GRA14 in mice. *Microb Pathog* 2019; 134: 103601.
196. Zhou J, Li C, Luo Y, Wang L. Antigenic Epitope Analysis and Efficacy Evaluation of GRA41 DNA Vaccine Against *T. gondii* Infection. *Acta Parasitol* 2019; 64: 471-8.
197. Alizadeh P, Ahmadpour E, Daryani A, Kazemi T, Spotin A, Mahami-Oskouei M, et al. IL-17 and IL-22 elicited by a DNA vaccine encoding ROP13 associated with protection against *Toxoplasma gondii* in BALB/c mice. *J Cell Physiol* 2019; 234: 10782-8.
198. Zhang D, Jiang N, Chen Q. Vaccination with recombinant adenoviruses expressing *Toxoplasma gondii* MIC3, ROP9, and SAG2 provide protective immunity against acute toxoplasmosis in mice. *Vaccine* 2019; 37: 1118-25.
199. Zheng B, Ding J, Lou D, Tong Q, Zhuo X, Ding H, et al. The virulence-related MYR1 protein of *Toxoplasma gondii* as a novel DNA vaccine against toxoplasmosis in mice. *Front Microbiol* 2019; 10: 734.

200. Mavi SA, Modarressi MH, Mohebbali M, Shojaaee S, Zeraati H, Teimouri A, et al. Assessment of the immunogenicity and protective efficiency of a novel dual-promoter DNA vaccine, harboring SAG1 and GRA7 genes, from RH strain of *Toxoplasma gondii* in BALB/c mice. *Infect Drug Resist* 2019; 12: 2519-30.
201. Sobati H, Dalimi A, Kazemi, B, Ghaffarifar, F. Evaluation of Anti-*Toxoplasma gondii* Immune Responses in BALB/c Mice Induced by DNA Vaccines Encoding Surface Antigen 1 (SAG1) and 3 (SAG3). *Molecular Genetics Microbiology and Virology* 2019; 34: 59-66.
202. Karakavuk M, Can H, Gül A, Döşkaya AD, Alak SE, Ün C, et al. GRA8 DNA vaccine formulations protect against chronic toxoplasmosis. *Microb Pathog* 2021; 158: 105016.
203. Li TT, Wang JL, Liang QL, Sun LX, Zhang HS, Zhang ZW, et al. Effect of deletion of *gra17* and *gra23* genes on the growth, virulence, and immunogenicity of type II *Toxoplasma gondii*. *Parasitol Res* 2020; 119: 2907-16.
204. Foroutan M, Ghaffarifar F, Sharifi Z, Dalimi A. Vaccination with a novel multi-epitope ROP8 DNA vaccine against acute *Toxoplasma gondii* infection induces strong B and T cell responses in mice. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2020; 69: 101413.
205. Foroutan M, Barati M, Ghaffarifar F. Enhancing immune responses by a novel multi-epitope ROP8 DNA vaccine plus interleukin-12 plasmid as a genetic adjuvant against acute *Toxoplasma gondii* infection in BALB/c mice. *Microb Pathog* 2020; 147: 104435.
206. Sun H, Li J, Xiao T, Huang XD, Wang LJ, Huang BC, et al. Protective immunity induced by a DNA vaccine cocktail expressing TgSAG1, TgROP2, and the genetic adjuvant HBsAg against *Toxoplasma gondii* infection. *Microb Pathog* 2020; 147: 104441.
207. Arcon N, Picchio MS, Fenoy IM, Moretta RE, Soto AS, Sibia MDP, et al. Synergistic effect of GRA7 and profilin proteins in vaccination against chronic *Toxoplasma gondii* infection. *Vaccine* 2021; 39: 933-42.
208. Dodangeh S, Fasihi-Ramandi M, Daryani A, Valadan R, Asgarian-Omran H, Hosseini Z, et al. Protective efficacy by a novel multi-epitope vaccine, including MIC3, ROP8, and SAG1, against acute *Toxoplasma gondii* infection in BALB/c mice. *Microb Pathog* 2021; 153: 104764.
209. Pagheh AS, Daryani A, Alizadeh P, Hassannia H, Oliveira SMR, Kazemi T, et al. Protective effect of a DNA vaccine cocktail encoding ROP13 and GRA14 with Alum nano-adjuvant against *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Int J Biochem Cell Biol* 2021; 132: 105920.
210. Khodadadi M, Ghaffarifar F, Dalimi A, Ahmadpour E. Immunogenicity of in-silico designed multi-epitope DNA vaccine encoding SAG1, SAG3 and SAG5 of *Toxoplasma gondii* adjuvanted with CpG-ODN against acute toxoplasmosis in BALB/c mice. *Acta Trop* 2021; 216: 105836.
211. Yu Z, Chen S, Aleem M, He S, Yang Y, Zhou T, et al. Histone deacetylase SIR2 in *Toxoplasma gondii* modulates functions of murine macrophages in vitro and protects mice against acute toxoplasmosis in vivo. *Microb Pathog* 2021; 154: 104835.