

— TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY —

Özgün Araştırmalar / Original Investigations

Koyunlarda *Enterocytozoon bienersi*

Enterocytozoon bienersi in Sheep

Muhammet Hasan Apaydın, Gamze Yetişmiş, Faruk Karabulut, Alparslan Yıldırım; Kayseri, Türkiye

Parasite Investigation in Spring Waters

Kaynak Sularında Parazit İncelemesi

Önder Akkaş, Esra Gürbüz, Selahattin Aydemir, Maksut Şahin, Abdurrahman Ekici; Erzincan, Van, Türkiye

***Aelurostrongylus abstrusus* Prevalence in Cats**

Kedilerde *Aelurostrongylus abstrusus* Prevalansı

İlayda Yıldırım, Buse Öztürk, Damla Ekin Solmaz, Ersoy Baydar, Uğur Aydoğdu; Kastamonu, Balıkesir, Türkiye

***Echinococcus* Serology**

Echinococcus Serolojisi

Büşra Betül Özmen Çapın, Barış Can, Meltem Kurşun, Canan Cimsit, Ayşegül Karahasan; İstanbul, Türkiye

Sigırlarda Toxocara vitulorum

Toxocara vitulorum in Cattle

Milad Torkamanian Afshar, Selahattin Aydemir, Hasan Yılmaz, Rahmi Yıldız, Fethi Barlık, Muhammed Yasul; Van, Türkiye

Enterobiasis ve Akut Apandisit

Enterobiasis and Acute Appendicitis

Fatma Zeynep Özen, Gökçe Celep; Amasya, Türkiye

Pandemi Sürecinin Bağırsak Parazitlerinin Prevalansına Etkisi

Impact of Pandemic on Parasite Prevalence

İbrahim Yıldız, Evren Tileklioğlu; Aydın, Türkiye

Determination of Parasitic Contamination in Vegetables

Sebzelerdeki Parazit Bulaşının Belirlenmesi

Fatma Bilgiç, Eylem Akdur Öztürk, Sefer Özer Babat, Aylin Babaoğlu, Derya Dirim Erdoğan, Metin Korkmaz; İzmir, Adana, Şırnak, Türkiye

Prevalence of Head Lice Infestation

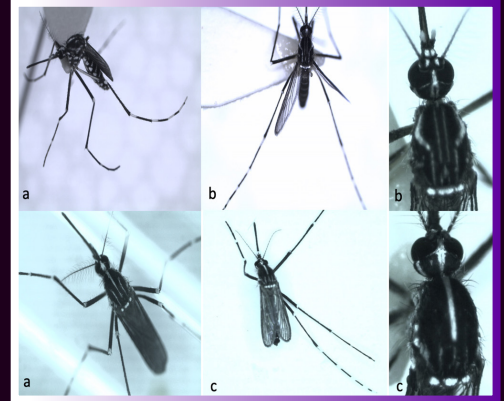
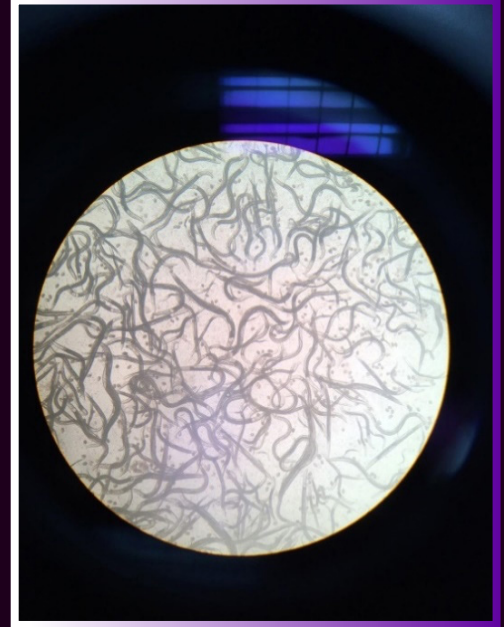
Baş Biti Enfestasyonu Prevalansı

Özben Özden, İnci Timur, Hale Ezgi Açma, Duygu Şimşekli, Barış Gülerman, Özgür Kurt; İstanbul, Türkiye

Distribution of *Aedes cretinus* in Türkiye

Türkiye'de *Aedes cretinus*'un Dağılımı

Fatih Mehmet Şimşek, Sare İlkur Yavaşoğlu; Aydın, Türkiye



EDİTÖRDEN

Bu yılın ikinci sayısında 10 özgün araştırma, bir olgu sunumu ve bir de editöre mektup yer almaktadır. Özgün makalelerde, koyunlarda *E. bieneusi* prevalansı, kedilerde *A. abstrusus* prevalansı, sığırlarda *T. vitulorum* prevalansı, kaynak sularında protozoonların varlığı, kistik ekinokozis hastalarında seroloji ve radyoloji sonuçlarını irdeleyen retrospektif araştırma, *E. vermicularis* saptanan hastaların klinik değerlendirmesini içeren bir araştırma, COVID-19 pandemisinin bağırsak parazitlerinin görülme sıklığını etkilemesini inceleyen bir çalışma, marketlerden toplanan sebzelerin parazitik kontaminasyonu, İstanbul'da baş biti enfestasyonu, Türkiye çapında *Aedes cretinus* dağılımını belirten bir araştırma yer almaktadır. Olgu sunumunda bir miyaz olgusuna yer verilmiştir.

SCI/SCI-Expanded kapsamında olan dergilerde yapacağınız yayınlarda dergimizde yer alan makalelere atıf yapılmasının, dergimizin bu endekse başvuru/kabul sürecinde büyük önem taşıdığını yeniden belirtmek isterim. Bilim alanımızın en önemli unsurlarından ve bizleri güçlendiren araçlarından biri olan "Türkiye Parazitoloji Dergisi"nin bu sayısının da bilimsel çalışmalarınıza ve birikimlerinize yararlı olmasını umuyorum.

Prof. Dr. Yusuf Özbel

Baş Editör

■ **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, Türkiye

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, Türkiye

yusuf.ozbel@ege.edu.tr

yusuf.ozbel@gmail.com

ORCID No: 0000-0001-8335-1997

Biyoistatistik Editörü / Biostatistical Consultant

Aliye Mandiracıoğlu

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Department of Public Health Care, Faculty of Science, Ege University, İzmir, Türkiye

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, Türkiye

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, Türkiye

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, Türkiye

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, Türkiye

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, Türkiye

ozlem.miman@deu.edu.tr

ORCID No: 0000-0003-3415-4959



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

Genel Yayın Koordinatörü/Publication
Coordinator
Burak Sever

Web Koordinatörleri/Web Coordinators
Ethem Candan
Fuat Hocalar
Turgay Akpınar

Grafik Departmanı/Graphics Department
Ayda Alaca
Ceyda Beyazlar
Çiğdem Birinci
Gülşah Özgül

Finans Koordinatörü/Finance Coordinator
Sevinç Çakmak
Emre Kurtulmuş

Proje Koordinatörleri/Project Coordinators

Aybuke Ayvaz
Aysel Balta
Çilem Çağrı Çınar
Gamze Aksoy
Gülşay Akın
Hatice Sever
Melike Eren
Özlem Çelik Çekil
Pınar Akpınar
Rabia Palazoğlu
Sümeyye Karadağ

Araştırma&Geliştirme/Research&Development
Fırat Kahraman Aykara
Gözde Nur Beyaz

Dijital Pazarlama Uzmanı/Digital Marketing
Specialist
Ümit Topluoğlu

Yayınevi İletişim/Publisher Contact

Address: Molla Gürani Mah. Kaçamak Sk. No: 21/1
34093 İstanbul, Türkiye

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: Haziran / June 2023

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, Türkiye
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, Türkiye
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, Türkiye
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, Türkiye
okoru@gata.edu.tr

Özgür Kurt

Acıbadem Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul,
Türkiye
Department of Microbiology, School of Medicine, Acıbadem
Üniversitesi, İstanbul, Türkiye
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, Türkiye
hccetin@akdeniz.edu.tr
ORCID No: 0000-0002-9758-6356

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

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

Ayşen Gargılı

Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik
Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
Department of Nursing, Faculty of Health Sciences,
Marmara University, İstanbul Türkiye
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, Türkiye
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, Türkiye
tulinkaragenc@yahoo.com

Bayram Şenlik

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

Abdullah İnci

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

Adil Allahverdiyev

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

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, Türkiye

Ahmet Özbilgin

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

Ali Ahmet Kilimcioğlu

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

Ali Aydoğdu

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

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, Türkiye

Alparslan Yıldırım

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

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, Türkiye

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, Türkiye

Aykut Özkul

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

Aynur Gülanber

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

Aysu Değirmenci Döşkaya

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

Ayşe Caner

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

Ayşe Çakmak

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

Aysegül Taylan Özkan

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

Aysegül Ünver

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

Aytül Önal

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

Bahadır Gönenç

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

Barış Sarı

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



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, Türkiye

Bayram Şenlik

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

Bekir Keskin

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

Bijen Kuvçak

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

Bilal Dik

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

Bilge Karatepe

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

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, Türkiye

Cem Vuruşaner

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

Çağrı Büke

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

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,
Türkiye

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, Türkiye

M. Emin Limoncu

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

Derya Dirim Erdoğan

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

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, Türkiye

Ergün Köroğlu

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

Erol Ayaz

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

Esin Güven

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

Esmâ Kozan

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

Fadile Yıldız Zeyrek

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

Ferda Sevinç

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

Feride Kırçalı

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



Feyzullah Güçlü

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

Funda Doğruman Al

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

Gönül Dinç

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

Gökmen 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, Türkiye

Gülşay Vural

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

Gülnaz Çulha

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

Gürol Cantürk

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

Hamdi Ögüt

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

Hamza Avcıoğlu

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

Handan Çetinkaya

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

Hande Dağcı

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

Hasan Eren

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

Hasan Yılmaz

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

Hatice Çiçek

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

Hatice Ertabaklar

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

Hatice Öge

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

Hayrettin Akkaya

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

Hüseyin Arıkan

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

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, Türkiye

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, Türkiye

İsmet Özel

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

İzzet Şahin

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

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, Türkiye



Kamile Biçek

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

Kirami Ölgün

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

Kor Yereli

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

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, Türkiye

Cemal Oğuz

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

Fatih Şimşek

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

Özkan Arslan

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

Mehmet Ziya Alkan

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

Mehmet Harman

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar
Anabilim Dalı, Diyarbakır
Department of Dermatology, Faculty of Medicine
University of Dicle, Diyarbakır, Türkiye

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, Türkiye

Mehmet Yaman

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

Mehtap Gül Altaş

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

Meral Aydenizöz

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

Meral Türk

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

Metin Atambay

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

Metin Korkmaz

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

Murat Kara

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

Murat Sevgili

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

Mustafa Açıcı

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

Mustafa Demirci

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

Mustafa Kaplan

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

Mustafa Karatepe

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

Mustafa Köse

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

Mustafa Necati Muz

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



Mustafa Yaman

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

Mustafa Yılmaz

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

Münir Aktaş

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

Naciye Güllüz Şenler

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

Nalan Özdal

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

Nazif Elaldi

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

Nazir Dumanlı

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

Nermin Şakru

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

Nevin Turgay

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

Nihal Doğan

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

Nogay Girginkardeşler

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

Nuran Aysul

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

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, Türkiye

Oğuz Sarımehtemetoğlu

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

Oktay Alver

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

A. Onur Girişgin

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

Osman Selçuk Aldemir

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

Önder Düzlü

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

Özgür Kurt

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

Özlem Miman

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

Özlem Tünger

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

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, Türkiye

Renate Radek

Berlin Serbest Üniversitesi Biyoloji/Zooloji Enstitüsü, Berlin, Almanya
Institut 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, Türkiye



Sabri Ünal

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

Salih Gürel

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

Sami Şimşek

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

Selim S. Çağlar

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

Sema Ertuğ

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

Semih Öge

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

Semra Özçelik

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

Seray Töz

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

Serdar Değer

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

Serdar Düşen

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

Serdar Paşa

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

Serkan Bakırcı

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

Serpil Değerli

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

Serpil Nalbantoğlu

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

Sibel Ergüven

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

Soner Uzun

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

Songül Delibaş

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

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, Türkiye

Süleyman Aypak

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

Süphan Karaytuğ

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

Şebnem Üstün

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

Şevki Ziya Coşkun

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

Şinasi Umur

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

Şükran Yağcı Yücel

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

Tonay İnceboz

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



Tuğrul Dereli

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

Uğur Uslu

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

Ulus Salih Akarca

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

Ülgen Z. Ok

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

Ümit Çimli Aksoy

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

Veli Yılgör Çırak

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

Volkan Akyol

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

Yaşar Ali Öner

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

Yunus Kılıç

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

Yüksel Gürüz

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

Zafer Karaer

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

Zati Vatansever

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

Zeynep Sümer

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

Zeynep Taş

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

Please refer to the journal's webpage (<https://www.turkiyeparazitolderg.org/home>) for "Aims and Scope", "Instructions to Authors" and "Instructions to Reviewers".

Turkish Journal of Parasitology is indexed in PubMed/MEDLINE, BIOSIS-Zoological Record, EBSCO Host, Index Copernicus, Gale, ProQuest, SCOPUS, CINAHL, BIOSIS Previews Biological Abstracts, CABI, Embase, J-Gate, TÜBİTAK ULAKBİM TR Dizin, DOAJ, ARDI, GOALI, Hinari, OARE, Turkish Medline, CNKI and Turkish Citation Index.

Owner: Yusuf Özbel on Behalf of Turkish Society of Parasitology

Responsible Manager: Yusuf Özbel

Contact**Editorial Office**

Editor in Chief: Yusuf Özbel, MD, Prof

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

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

Fax: +90 232 388 13 47

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



İÇİNDEKİLER/CONTENTS

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / ORIGINAL INVESTIGATIONS

- 64** Van Yöresindeki Koyunlarda *Enterocytozoon bieneusi*'nin Moleküler Prevalansı ve Filogenetik Karakterizasyonu
Molecular Prevalence and Phylogenetic Characterization of Enterocytozoon bieneusi in Sheep in the Van Region
Muhammet Hasan Apaydın, Gamze Yetişmiş, Faruk Karabulut, Alparslan Yıldırım; Kayseri, Türkiye
- 71** Investigation of *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp. and *Cyclospora cayetanensis* in Samples Collected from Different Spring Waters İğdır, Türkiye
Farklı Kaynak Sularından Alınan Örneklerde Giardia spp., Cryptosporidium spp. ve Cyclospora cayetanensis'in Araştırılması İğdir, Türkiye
Önder Akkaş, Esra Gürbüz, Selahattin Aydemir, Maksut Şahin, Abdurrahman Ekici; Erzincan, Van, Türkiye
- 78** Determination of *Aelurostrongylus abstrusus* Prevalence and Risk Factors in Cats from Balıkesir
Balıkesir İlindeki Kedilerde Aelurostrongylus abstrusus Prevalansı ve Risk Faktörlerinin Belirlenmesi
İlayda Yıldırım, Buse Öztürk, Damla Ekin Solmaz, Ersoy Baydar, Uğur Aydoğdu; Kastamonu, Balıkesir, Türkiye
- 83** Retrospective Analysis of Serology and Radiology Results in Patients with Suspected Cystic Echinococcosis Through 3 Years Period
Kistik Ekinokkoz Şüphesiyle Serolojik ve Radyolojik Değerlendirme Yapılan Hastaların Üç Yıllık Periyotta Retrospektif Analizi
Büşra Betül Özmen Çapın, Barış Can, Meltem Kurşun, Canan Cimşit, Ayşegül Karahasan; İstanbul, Türkiye
- 88** Ağrı Yöresi Sığırlarında *Toxocara vitulorum*'un Yayılışı
Distribution of Toxocara vitulorum in Cattle of Ağrı Region
Milad Torkamanian Afshar, Selahattin Aydemir, Hasan Yılmaz, Rahmi Yıldız, Fethi Barlık, Muhammed Yasul; Van, Türkiye
- 93** *Enterobius vermicularis* Enfeksiyonu Olan Hastalarda Klinikopatolojik Değerlendirme
Clinicopathological Assesment in Patients with Enterobius vermicularis Infection
Fatma Zeynep Özen, Gökçe Celep; Amasya, Türkiye
- 100** COVID-19 Pandemisi Sürecinin Bağırsak Parazitlerinin Görülme Sıklığı Üzerindeki Etkisinin Araştırılması; Aydın İli Örneği
The Effect of the COVID-19 Pandemic Process on the Incidence of Intestinal Parasites; Aydın Province Example
İbrahim Yıldız, Evren Tileklioğlu; Aydın, Türkiye
- 105** Determination of Parasitic Contamination in Vegetables Collected from Local Markets in İzmir Province, Türkiye
Türkiye'nin İzmir İlindeki Yerel Marketlerden Toplanan Sebzelerdeki Parazit Bulaşının Belirlenmesi
Fatma Bilgiç, Eylem Akdur Öztürk, Sefer Özer Babat, Aylin Babaoğlu, Derya Dirim Erdoğan, Metin Korkmaz; İzmir, Adana, Şırnak, Türkiye
- 112** Assessment of the Prevalence of Head Lice Infestation and Parents' Attitudes Towards Its Management: A School-based Epidemiological Study in İstanbul, Türkiye
Baş Biti Enfestasyonu Prevalansının ve Ebeveynlerin Tedaviye İlişkin Tutumlarının Değerlendirilmesi: İstanbul'daki Bir Okulda Yürütülen Epidemiyolojik Bir Çalışma
Özben Özden, İnci Timur, Hale Ezgi Açma, Duygu Şimşekli, Barış Gülerman, Özgür Kurt; İstanbul, Türkiye



İÇİNDEKİLER/CONTENS

- 117** Distribution of *Aedes (Stegomyia) cretinus* in Türkiye
Türkiye'de Aedes (Stegomyia) cretinus'un Dağılımı
Fatih Mehmet Şimşek, Sare İlknur Yavaşoğlu; Aydın, Türkiye

OLGU SUNUMU / CASE REPORT

- 124** *Sarcophaga* sp.'nin Sebep Olduğu Nazofarengeal Miyaz Olgusu
A Case of Nasopharyngeal Myiasis Caused by Sarcophaga sp.
Mutalip Çiçek, Fatih Çakır, Duygu Neval Sayın İpek, Alican Bilden, Eşref Akıl; Kırşehir, Diyarbakır, Türkiye

EDİTÖRE MEKTUP / LETTER TO THE EDITOR

- 127** Disseminated Scabies During Induction Chemotherapy for Acute Promyelocytic Leukemia
Akut Promyelositik Löseminin İndüksiyon Tedavisi Sırasında Gelişen Yaygın Scabies
Ali Zahit Bolaman, Ayşe Hilal Eroğlu Küçükçildir, İrfan Yavaşoğlu; Aydın, Türkiye



Van Yöresindeki Koyunlarda *Enterocytozoon bienewi*'nin Moleküler Prevalansı ve Filogenetik Karakterizasyonu

Molecular Prevalence and Phylogenetic Characterization of *Enterocytozoon bienewi* in Sheep in the Van Region

✉ Muhammet Hasan Apaydın, ✉ Gamze Yetişmiş, ✉ Faruk Karabulut, ✉ Alparslan Yıldırım

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

Cite this article as: Apaydın MH, Yetişmiş G, Karabulut F, Yıldırım A. Molecular Prevalence and Phylogenetic Characterization of *Enterocytozoon bienewi* in Sheep in the Van Region. Türkiye Parazitoloj Derg 2023;47(2):64-70.

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada Van yöresinde sağlıklı görünümlü koyunlarda *Enterocytozoon bienewi*'nin yaygınlığının moleküler yöntemlerle araştırılması ve saptanan izolatların genotiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Mayıs-Eylül 2021 tarihleri arasında Van yöresindeki çeşitli işletmelerden 38'i erkek 162'si dişi, 32'si süt emen, 38'i süttten kesilmiş kuzu ve 130'u da ergin olmak üzere toplam 200 Akkaraman ırkı koyun çalışmaya dahil edilmiştir. Koyunlardan toplanan dışkı örneklerinden ticari kitler ile genomik DNA (gDNA) ekstraksiyonu yapılmış ve elde edilen gDNA izolatlarında *E. bienewi* DNA'sı ITS rRNA gen bölgesini amplifiye eden primerler yardımıyla Nested polimeraz zincir reaksiyon (PZR) yöntemi ile araştırılmıştır. Pozitif belirlenen izolatlar ait PZR ürünleri *E. bienewi*'nin genotiplendirmesi ve filogenetik analizleri için sekans analizine tabii tutulmuştur.

Bulgular: İncelenen 200 koyuna ait dışkı gDNA örneklerinin toplam 16'sında (%8,0) Nested PZR ile *E. bienewi* DNA'sı belirlenmiştir. *E. bienewi* pozitifliği en yüksek %18,8 ile süt emen kuzularda saptanmış bunu %10,5 ile süttten kesilmiş kuzular ve %4,6 ile de ergin koyunlar takip etmiştir. Enfeksiyonun yaygınlığı erkeklerde %7,9 dişilerde ise %9,3 olarak tespit edilmiştir. Sekans ve filogenetik analizler çalışmada belirlenen izolatların BEB6 genotipine ait olduğunu, Türkiye ve çeşitli ülkelerde farklı konaklardaki BEB6 izolatlarıyla birlikte kümelenerek *E. bienewi* genogrup 2'de yer aldığını ortaya koymuştur.

Sonuç: Bu çalışma ile Türkiye'de koyunlarda *E. bienewi* enfeksiyonlarının yaygınlığı üzerine moleküler epidemiyolojik veriler elde edilmiş olup araştırma yöresinde yaygın genotipin BEB6 olduğu ortaya konulmuştur. Elde edilen sonuçlar *E. bienewi*'nin koyunlarda moleküler epidemiyolojisi ve çeşitliliğine katkı sağlamıştır.

Anahtar Kelimeler: *Enterocytozoon bienewi*, moleküler prevalans, filogenetik karakterizasyon, koyun, Van

ABSTRACT

Objective: In this study, we aimed to determine the prevalence of *Enterocytozoon bienewi* in healthy sheep in Van province using molecular techniques and to reveal genotypes of the detected isolates.

Methods: A total of 200 healthy appearance sheep comprise 38 male and 162 female, 32 preweaned, 38 postweaned lamb and 130 adult sheep from several farms in the Van region were included in the study between May and September 2021. Genomic DNA (gDNA) extractions were utilized on fecal samples collected from sheep by commercial kits, and *E. bienewi* DNA was investigated by Nested polymerase chain reaction (PCR) amplifying ITS rRNA in the gDNA isolates. PCR products of the positive isolates were subjected to sequence analyze for genotyping and phylogenetic analyses of *E. bienewi*.

Results: *E. bienewi* DNA was determined in 16 out of 200 examined sheep fecal gDNA samples (8.0%) by Nested PCR. The highest *E. bienewi* prevalence was determined in preweaned lambs with a rate of 18.8%. This was followed by postweaned lambs and adult sheep with a prevalence of 10.5% and 4.6%, respectively. The prevalence of the infection in males and females was 7.9% and 9.3%, respectively. All the ITS rRNA amplicons from 16 positive isolates were subjected to sequence analyses for genotyping and phylogenetic analyses. Sequence analyses revealed that all the isolates determined in sheep belonged to the BEB6 genotype and clustered in genogroup 2 of *E. bienewi* with the BEB6 isolates from different hosts in several countries.

Conclusion: Molecular epidemiological data on the prevalence of *E. bienewi* in sheep in Turkey were obtained with this study and the common genotype was determined as BEB6 in the research area. The obtained data contribute to the molecular epidemiology and diversity of *E. bienewi* in sheep.

Keywords: *Enterocytozoon bienewi*, molecular prevalence, phylogenetic characterization, sheep, Van

Geliş Tarihi/Received: 15.07.2022 Kabul Tarihi/Accepted: 17.10.2022

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Alparslan Yıldırım, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

Tel/Phone: +90 352 207 66 66 **E-Posta/E-mail:** yildirima@erciyes.edu.tr **ORCID ID:** orcid.org/0000-0001-9868-0363

©Telif hakkı 2023 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.turkiyeparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC-ND) 4.0 International License.

GİRİŞ

Enterocytozoon bienersi (*E. bienersi*) insan ve hayvanlarda bağırsak hastalığına yol açan mikrosporlu bir organizmadır. Zorunlu hücre içi bir patojen olan *E. bienersi*, tipik olarak ağır veya kronik ishal, malabsorbsiyon ve halsizliğe yol açar. Güncel olarak *E. bienersi* mantarlar içinde sınıflandırılmakta olup, kesin sınıflandırılması halen tartışmalıdır (1). *E. bienersi* insandan insana ve/veya hayvanlardan insanlara bulaşabilmektedir. Bulaşma genellikle *E. bienersi* sporları ile kontamine su, çevre, gıdaların alınması veya enfekte bireylerle temas sonucu fekal-oral yolla gerçekleşmektedir. Buna ilaveten, *E. bienersi* ayrıca rekreasyonel ve şebeke suları ile birlikte sanitasyona tabii doğal ve atık sularda da bulunmuştur (1). Epidemiyolojik araştırmalar, *E. bienersi*'nin ekosistemde oldukça yaygın olduğunu ve çevresel kaynaklar ile farklı konaklardan izole edilen jenerasyonlarının yüksek genetik çeşitliliğe sahip olduğunu göstermiştir (1,2). *E. bienersi*'nin bu denli yaygın olması farklı konak spektrumuna sahip çeşitli genotiplerin evrimine ve yine çok çeşitli ekolojik ortamlara parazitin adaptasyonuna yol açmıştır. Bu durum özellikle parazitin ekosistemdeki kaynaklarının ve halk sağlığı açısından oluşturduğu riskin değerlendirilmesinde zorluklara yol açmaktadır. Bu açıdan farklı konaklarda yerleşim gösteren *E. bienersi*'nin genotipik yapısının belirlenmesi önem arz etmektedir (1). *E. bienersi* genotipleri, genellikle nükleer ribozomal DNA'nın internal transcribed spacer bölgesinin (ITS) polimeraz zincir reaksiyon (PZR)-sekans analizleriyle teşhis edilmekte ve sınıflandırılmaktadır (3). Günümüze kadar 40'in üzerinde ülkeden çeşitli memeli takımları, sürüngenler ve böcekler de dahil yaklaşık 170 hayvan türünde 600'e yakın farklı *E. bienersi* genotipi teşhis edilmiştir (1). Bu genotiplerin ITS gen bölgesi nükleotid sekans varyasyonlarına göre şu ana kadar 11 genogrup içerisinde kümelendiği tespit edilmiştir. Farklı gruplardaki *E. bienersi* genotiplerinin değişen derecelerde konak spesifitesi sergilediği bilinmektedir (4). Genogrup 1, insan dahil olmak üzere çeşitli konaklardan izole edilen genotiplerin büyük çoğunluğunu oluşturan en geniş genogrup olup zoonotik grup olarak da nitelenmektedir. Genogrup 2'nin ruminantlara özgü genotiplerden oluştuğu düşünülse de yapılan yeni çalışmalarda I, J, BEB4 ve BEB6 gibi genotiplerin insanlarda da bulunduğu bildirilmiştir (4,5). Genogrup 3-11'in konak spesifik gruplar olduğu ve ilgili konakların yanı sıra atık sularda da bulunabildiği kaydedilmiştir (4). Günümüze kadar koyunlarda tespit edilen tüm *E. bienersi* genotiplerinin genogrup 1, 2 ve 7'de bulunduğu tespit edilmiştir (4). Bu yönüyle de koyunların *E. bienersi*'nin zoonotik bulaşma dinamikleri içerisinde önemli bir konak olabileceği vurgulanmaktadır (3,4).

E. bienersi'nin rezervuar konakları, bazı omurgasız vektörler de dahil olmak üzere aynı veya farklı türlerin ekolojik olarak bağlantılı birkaç popülasyonundan oluşur. *E. bienersi* bu konaklar arasında birbirlerine bulaşma suretiyle sürekliliğini sağlayabilir. Hem evcil hem de vahşi hayvanlar *E. bienersi* için rezervuar konak olabilir ve birçok hayvan türü potansiyel olarak zoonotik ve konak spesifik *E. bienersi* genotipleri ile enfekte olabilir (1,2). *E. bienersi* enfeksiyonları araştırılan konak türlerinde sıklıkla asemptomatik seyreder, ancak diyare ile karakterize klinik hastalıklar da ortaya çıkabilir. Rezervuar konaklardaki bu subklinik enfeksiyonlar, *E. bienersi*'nin diğer rezervuar ve duyarlı konaklara yayılmasına neden olabilir. *E. bienersi* için güvenli ve etkili bir terapötik ajan veya aşı bulunmamaktadır. Bu açıdan parazitle mücadelede, tek sağlık kapsamında, enfekte ve duyarlı konaklar arasındaki yakın teması azaltılması ve hayvan dışkı ile insan kanalizasyonunda

yaygın olarak bulunan *E. bienersi* sporlarının su ve gıdalara kontaminasyonunun engellenmesinin en etkin yaklaşım tarzı olduğu bilinmektedir (1).

Son 10 yıl içerisinde *E. bienersi*'nin epidemiyolojisi ve genotip çeşitliliği üzerine araştırmaların yoğunlaştığı görülmekle birlikte insan ve hayvan konaklarda organizmanın prevalansı, genotiplerin dağılımı ve bulaşma dinamikleri ile ilgili risk faktörleri üzerine halen birçok coğrafyada araştırma açığı bulunmaktadır (6).

Ülkemizde de son yıllarda *E. bienersi* üzerine çalışmaların artış gösterdiği dikkat çekmekte olup insan ve farklı hayvan türlerinde etken izole ve teşhis edilmiştir (3,7-12). Dünyada farklı coğrafyalarda yürütülen araştırmalarda koyunların *E. bienersi*'nin epidemiyolojisinde önemli konaklardan biri olduğu görülmektedir (13). İnsanlarda olduğu gibi koyunlarda da *E. bienersi* bağırsak mukozasında patolojik bozukluklara yol açarak malabsorbsiyon ve ishale seyreder, önemli verim kayıplarına yol açan hastalık tablosu oluşturabilir (14). Türkiye'de günümüze kadar koyunlarla ilgili olarak yalnızca koyun sütlerinde yapılan bir araştırma mevcut olup *E. bienersi*'nin koyun sütlerinde varlığı, yaygınlığı ve genotip profilleri gösterilmiştir (9). Bu çalışmada, Van yöresinde çeşitli çiftliklerdeki sağlıklı görünen Akkaraman ırkı koyunlarında *E. bienersi*'nin varlığı ve farklı yaş grupları ile cinsiyet bazında yaygınlıklarının araştırılması hedeflenmiştir. Çalışmada ayrıca tespit edilen *E. bienersi* izolatlarının sekans analizleri ile genotipleri araştırılmış ve filogenetik yapıları belirlenmiştir.

YÖNTEMLER

Araştırma Bölgesi, Hayvan Materyali ve Dışkı Örneklerinin Toplanması

Çalışma kapsamında, Mayıs-Eylül 2021 tarihleri arasında Van yöresinde Saray ilçesindeki üç, Özalp ilçesindeki iki ve Gürpınar, Gevaş ve Erciş ilçelerindeki birer işletme olmak üzere toplam sekiz koyunculuk işletmesinden 200 Akkaraman ırkı koyun (işletme başına 25 koyun) örneklenmiştir. Araştırmaya dahil edilen koyunların yaş ve cinsiyete göre dağılımları da Tablo 1'de verilmiştir. Örneklem yapılan işletmelerin yapısı genel özellikleri itibarıyla birbirine benzediği görülmüş olup, çiftliklerde aynı zamanda köpek ve kedilerle birlikte kümes hayvanlarının da bulunduğu ve merayı yöredeki büyükbaş hayvanlarla ortak kullandıkları dikkati çekmiştir. Diğer yandan işletmelerin organize olmuş su ve atık sistemlerinin bulunmadığı da görülmüştür.

Her bir koyundan dışkı örnekleri dışkılamayı takiben yere temas etmeyen yüzeyinden alınmış ve 15 mL'lik steril numune tüplerine aktarılmıştır. Dışkı örnekleri normal kıvamlı belirlenmiştir. Tüplere protokol numarası verilmiş ve hayvanlara ait bilgilerle birlikte kayıtları sağlanmıştır. Örnekler buz aküleri ile soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiştir. Örneklemeye dahil edilen koyunlarla ilgili bilgiler Tablo 1'de verilmiştir.

Dışkı Örneklerinden DNA Ekstraksiyonu

Koyunlardan toplanan dışkı örneklerinden genomik DNA (gDNA) ekstraksiyonu, QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Germany) ile kitin önerdiği protokol çerçevesinde yapılmıştır. Son basamakta 50 µL elüsyon buffer AE içerisinde gDNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen gDNA örnekleri, Qubit® Fluorometric Quantitation (Thermo Fisher Scientific, USA) cihazında işlenerek total gDNA miktarları (ng/µL) belirlenmiştir.

Tablo 1. Koyunlarda *E. bieneusi* pozitif örneklerin yaş ve cinsiyete göre dağılımları ve istatistiksel analizleri

Faktör		İncelenen hayvan sayısı	Pozitif hayvan		χ²	P
			Sayı	%		
Yaş	Süt emen (≤3 ay)	32	6	18,8 ^a	7,377	0,025
	Sütten kesilmiş (4-12 ay)	38	4	10,5 ^a		
	Ergin (>12 ay)	130	6	4,6 ^b		
Cinsiyet	Erkek	38	3	7,9	1,000	0,542
	Dişi	162	15	9,3		
a,bAynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki istatistiksel farklılık önemlidir (p<0,05)						

^{a,b}Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki istatistiksel farklılık önemlidir ($p < 0,05$)

Ribozomal Internal Transcribed Spacer (ITS) Gen Bölgesinin Amplifikasyonu

Dışkı örneklerinden DNA izolasyonunu takiben elde edilen gDNA izolatları *E. bieneusi* DNA'sının ITS gen bölgesini spesifik olarak çoğaltan primerlerle Nested PZR ile analiz edilmiştir. Birinci PZR'de EBIT3 ve EBIT4, ikinci PZR'de ise EBIT1 ve EBIT2.4 primerleri (11) ile ITS bölgesini kapsayan yaklaşık 390 bp ribozomal bölge çoğaltılmıştır. PZR reaksiyonları 25 μ L final konsantrasyon içinde 12,5 μ L hazır kullanımlık DreamTaq Green PZR Master Mix (2X) (Thermo Fisher Scientific, USA), 0,4 μ M her bir primer ve 10-20 ng kalıp DNA olacak şekilde hazırlanmıştır. İkinci PZR'de ilk PZR ürününden 1 μ L alınarak kalıp olarak kullanılmıştır. PZR protokolü, ilk PZR basamağı için 95 °C'de 4 dk; 35 siklus 95 °C'de 30 sn, 57 °C'de 30 sn, ve 72 °C'de 1 dk; 72 °C'de 10 dk; ikinci PZR basamağı için de 95 °C'de 4 dk; 30 siklus 95 °C'de 30 sn, 55 °C'de 30 sn, ve 72 °C'de 1 dk; 72 °C'de 10 dk olarak ayarlanmıştır. PZR analizlerinde Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı'ndaki referans microsporidia gDNA'ları pozitif kontrol, sterilize edilmiş deiyonize su ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır. PZR analizleri sonrasında ürünlerin görüntülenmesi amacıyla yatay elektroforez tankı (BioRad, USA) kullanılmıştır. Elde edilen PZR ürünlerinin her birinden 10 μ L alınıp %5 SafeView™ Classic (Applied Biological Materials Inc., Canada) içeren %1,5'lik agaroz jele yüklenerek, yatay elektroforez sisteminde 90 V'de 50 dk yürütülmüştür. Elektroforezden sonra PZR ürünleri CLP Jel Dokümantasyon Sisteminde (UVP INC Upland, CA, USA) görüntülenmiş ve Gene Snap from Syngene analiz programı (UVP INC Upland, CA, USA) ile analiz edilmiştir.

Ribozomal ITS Gen Bölgesinin Sekans Analizleri

E. bieneusi pozitif örnekler için izolatların PZR analizleri sonrası ribozomal ITS ampikonları jelden pürifiye edilerek (High Pure PCR Product Purification Kit, Roche, USA) sekans analizleri için hazır hale getirilmiştir. Sekans analizleri, ikinci PZR'de kullanılan primer dizileri ile çift yönlü olarak yapılmıştır (Macrogen Europe). Sekanslama sonrası elde edilen kromatogramlar dikkatli bir şekilde analiz edildikten sonra Geneious Prime 2022.0.2 (<https://www.geneious.com>) yazılımında *de novo* Assamble ile ileri ve geri yönlü okumalar işlenmiş ve kalite skoru yüksek konsensüs dizilimler elde edilmiştir. Konsensüs sekanslardan PZR primerleri kesilerek hedef bölge sekansları (390 bp) sağlanmıştır. *E. bieneusi* izolatlarına ait sekanslar BLASTn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) algoritması üzerinden GenBank'ta kayıtlı izolatların sekanslarıyla hizalamaları yapılmış ve moleküler karakterizasyonları sağlanmıştır. Belirlenen genotiplerin GenBank kayıtları gerçekleştirilmiştir.

Genotiplendirme ve Filogenetik Analizler

Çalışmada tespit edilen *E. bieneusi* izolatlarının 243 bp uzunluğundaki komple ITS sekansları GenBank'ta mevcut ilgili sekanslarla birlikte değerlendirilerek veri seti oluşturulmuştur. Veri setindeki genotiplere ait sekanslar arasındaki genetik farklılıklar Kimura two-parameter (K2P) modeli (15,16) ile MEGA X yazılımında (17) araştırılmıştır. Filogenetik ağaç Maximum Likelihood (ML) modeli ile oluşturulmuştur. Sekans evrimi için en uygun nükleotid değişim modelinin belirlenmesinde jModelTest v.0.1.1 (18) kullanılmış ve en düşük AIC (Akaike Information, Criterion, correction) skoruna sahip olan model ML ağacının oluşturulmasında kullanılmıştır. ML analizleri Geneious Prime yazılımı üzerinden PhyML (19) eklentisi kullanılarak yapılmıştır. ML analizinde oluşturulan ağacın olasılıklarının analizi için 1,000 tekrarlı Bootstrap testi kullanılmıştır.

E. bieneusi grup ve alt gruplarının teşekkül ettirilmesinde standart sınıflandırma sistemi kullanılmıştır (20-25).

İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler IBM SPSS Statistics 20.0 yazılımı ile istatistiksel olarak analiz edilmiştir. İncelenen koyunlarda *E. bieneusi* moleküler prevalansı ile yaş gruplarının ilişkisi Pearson's ki-kare, cinsiyetin ilişkisi ise Fisher'in kesin testi ile araştırılmıştır.

BULGULAR

E. bieneusi'nin Moleküler Prevalansı

İncelenen 200 Akkaraman ırkı koyuna ait dışkı örneğinden elde edilen gDNA izolatlarının 16'sı (%8,0) ITS Nested PZR analizleriyle *E. bieneusi* DNA'sı yönünden pozitif saptanmıştır. Saray ilçesinde incelenen üç işletmedeki 25'er koyunun sırasıyla üç, üç ve biri, Özalp ilçesinde incelenen iki işletmedeki 25'er koyunun sırasıyla üçü ve biri, Gürpınar, Gevaş ve Erciş ilçelerinde incelenen birer işletmedeki 25'er koyunun sırasıyla iki, bir ve ikisi *E. bieneusi* ile enfekte belirlenmiştir. Pozitif örneklerin koyunların yaş grupları ve cinsiyetine göre dağılımı ve istatistiksel analizleri Tablo 1'de verilmiştir. Yaş gruplarına göre *E. bieneusi* prevalansında istatistiksel açıdan süt emen ve sütten kesilmiş kuzular ile ergin koyunlar arasındaki farklılık önemli ($p < 0,05$) bulunurken süt emen ve sütten kesilmiş kuzular arasındaki farklılık önemsiz tespit edilmiştir. Cinsiyete göre *E. bieneusi* pozitifliğinde istatistiksel açıdan önemli bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Sekans Analizi ve Genotiplendirme Sonuçları

Çalışmada pozitif saptanan 16 izolatın tamamının ribozomal ITS gen bölgesi sekanslanmıştır. İleri ve geri yönlü okumalara ait

dizilimlerin *de novo* analizleri ile eşleştirilmesi sonucu her bir izolat için yüksek kalitede konsensüs final nükleotid dizilimleri ortaya çıkarılmıştır. Toplam 16 *E. bienersi* izolatının genotiplendirmede referans olan 243 bp uzunluğundaki ITS sekanslarının hizalama analizlerinde %100 benzer ve tek bir genotipe ait oldukları belirlenmiştir. Karakterize edilen ITS sekansının GenBank veri tabanındaki referans izolatlarla ait sekanslarla hizalama analizleri çalışmada tespit edilen izolatların BEB6 genotipine ait olduklarını ortaya koymuştur. İlgili tüm izolatların homolog olması yönüyle karakterize edilen *E. bienersi* ribozomal ITS sekansı tek bir izolat adı altında TREbienVan1 olarak GenBank'a kaydedilmiştir (GenBank erişim: ON390931).

BEB6 genotipinde belirlenen TREbienVan1 izolatı ile koyunlarda yaygın görülen diğer *E. bienersi* genotiplerine ait çeşitli izolatların nükleotid ITS rDNA sekanslarının çoklu hizalama analiz sonucu Şekil 1'de verilmiştir. Ribozomal ITS nükleotid sekansının 32., 58., 76., 105., 149. ve 189. bazların genotipleri birbirinden ayıran nükleotid varyasyonları gösterilmiştir.

Filogenetik Analiz Sonuçları

TREbienVan1 izolatının Dünyanın çeşitli bölgeleri ile Türkiye'de farklı konaklardan bildirilen *E. bienersi* genotiplerine ait izolatlarla ilişkileri filogenetik ağaç üzerinde (Şekil 2) verilmiştir. Maximum Likelihood (ML) filogenisine göre oluşturulan ağacın çözünürlüğü genogruplar bazında yüksek bootstrap oranları ile desteklenmiştir. Koyunlarda belirlenen TREbienVan1 izolatının Türkiye'de koyun (süt örneği) ve sığırlar (süt örneği ve dışkı) ile çeşitli ülkelerde insan, koyun, sığır, domuz geyiği, keçi, çinçilla, altın maymunu, Hint şebegi, kedi, sika geyiği ve kızıl geyik gibi farklı konaklardan bildirilmiş BEB6 izolatlarıyla birlikte kümelenerek *E. bienersi* genogrup 2'de yer aldığı belirlenmiştir.

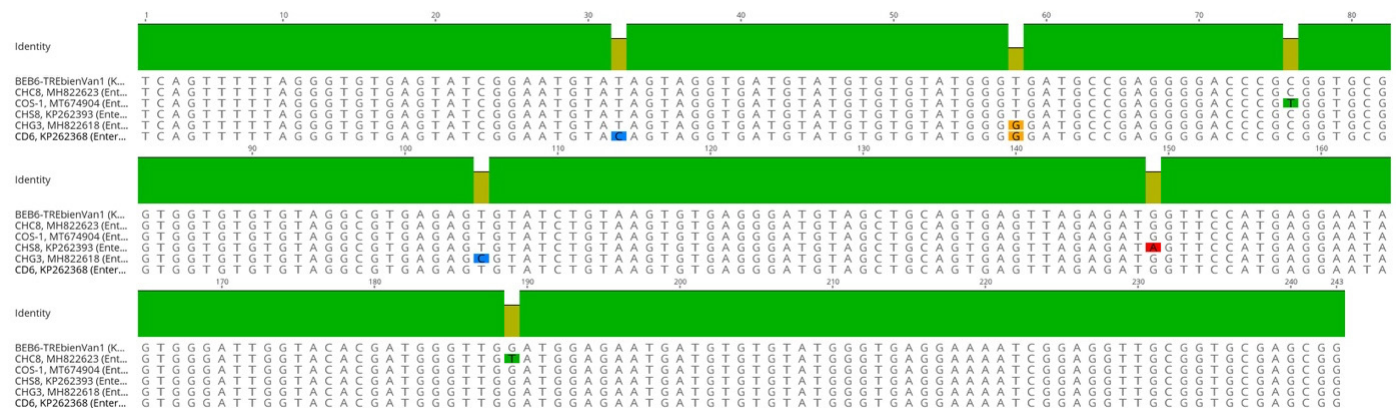
TARTIŞMA

E. bienersi insanlar ile evcil ve vahşi hayvanlarda enfeksiyona yol açan 17 microsporidia türünün içerisinde en yaygın tür olarak bilinmektedir (1). Türkiye'de son yıllarda çeşitli hayvan türleri üzerinde yapılan araştırmalar da *E. bienersi*'nin değişen oranlarda yaygınlık gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu çalışmalardan, Bilgin ve ark. (10) Sivas yöresinde incelenen 150 sığırdaki *E. bienersi* moleküler prevalansını %19,3 olarak tespit etmişlerdir. Yıldırım ve ark. (8) İç Anadolu yöresinde örneklenen 300 atta *E. bienersi*

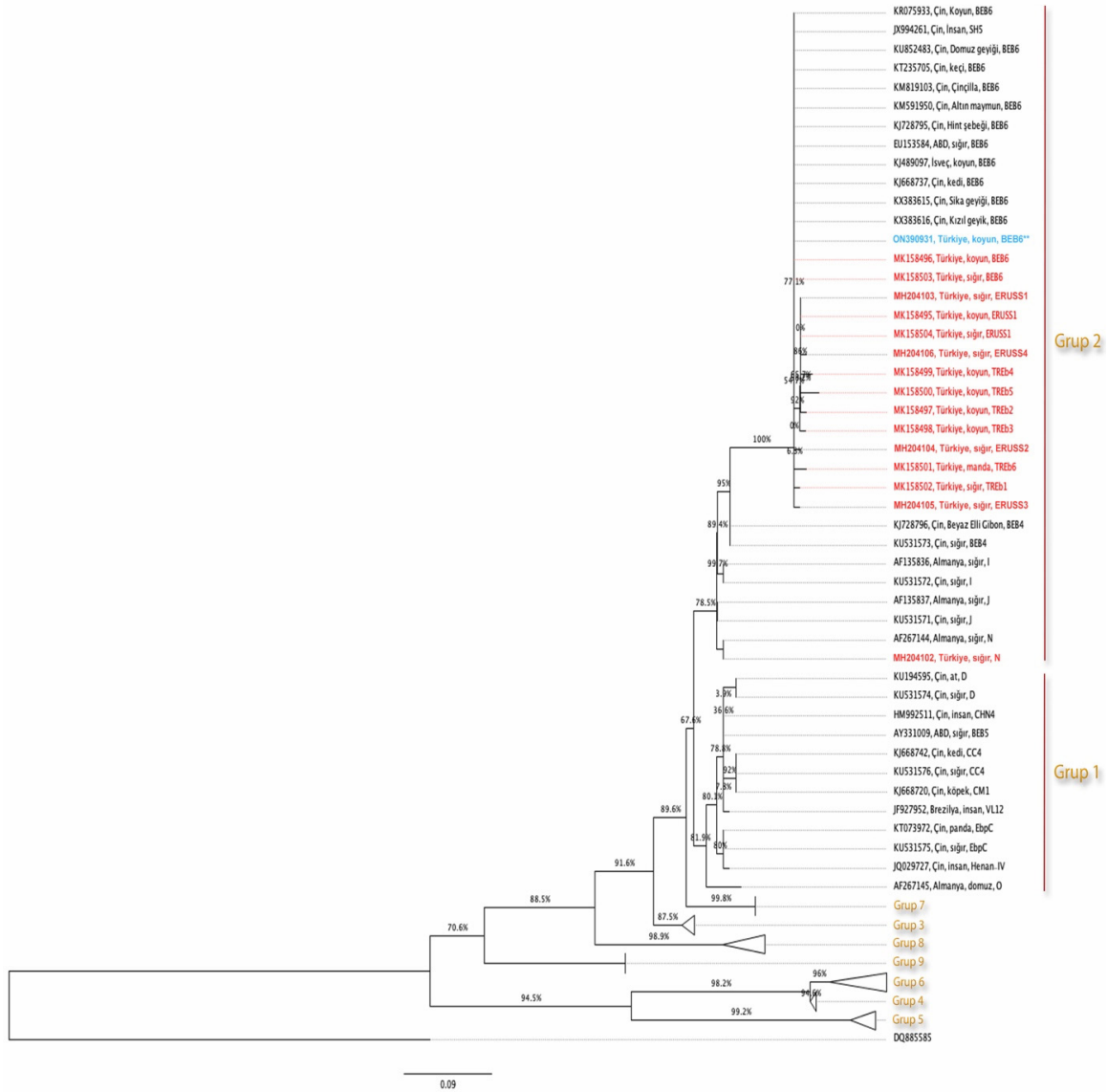
moleküler prevalansını %18,7 olarak bildirmişlerdir. Ercan ve ark. (26), İç Anadolu yöresinde örneklenen ve organik yetiştiriciliği yapılan toplam 300 tavukta *E. bienersi*'yi moleküler olarak %7,3 yaygın bulmuşlardır. Yıldırım ve ark. (9), çiftlik hayvanlarının çiğ süt örnekleri üzerinde yürüttükleri araştırmada *E. bienersi*'nin koyun, sığır ve manda sütlerinde sırasıyla %18,0, %4,5 ve %2,0 oranında bulunduğunu raporlamışlardır. Ayrıca *E. bienersi* Türkiye'de farklı bölgelerdeki köpek, kedi, güvercin ve muhabbet kuşlarında da bildirilmiştir (7,11,12). Yapılan bu çalışmada Van yöresinde incelenen Akkaraman ırkı koyunlarda *E. bienersi*'nin yaygınlığı %8,0 belirlenmiş olup Türkiye'de daha önce sığır ve at dışkıları ile koyun sütlerinde belirlenen oranlardan prevalansın daha düşük olduğu dikkati çekmiştir.

Diğer yandan günümüze kadar dünyada koyun ve keçilerde dışkı örnekleri üzerinde yürütülmüş olan toplam 21 çalışmanın sonuçları dikkate alındığında (13), farklı ülkelerde *E. bienersi* enfeksiyonlarının koyunlarda %3,4 ila %62,9; keçilerde ise %4,1 ila %29,7 arasında prevalans gösterdiği kaydedilmiştir. Yapılan bu çalışmada tespit edilen moleküler prevalans daha önce koyunlarda yapılan çalışmalarda bildirilen oranlar ile paralellik göstermiştir. Çeşitli coğrafyalardan bildirilen *E. bienersi* prevalans farklılıklarının, Qi ve ark.'nın (27) da vurguladığı gibi kullanılan teşhis yöntemi, çalışma tasarımı, örnekleme bölgesinin ekosistemi, hayvanların yaşları, çiftlik yönetimi ve mevsimsel varyasyonlar gibi çeşitli faktörlerle ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmada yaş grupları ve *E. bienersi* enfeksiyonunun prevalansı arasındaki ilişki incelendiğinde süt emen kuzular ve süttan kesilmiş kuzulardaki prevalansın erginlerdekine oranla istatistiksel olarak önemli düzeyde ($p < 0,05$) yüksek olduğu tespit edilmiştir. Benzer olarak çeşitli araştırmalarda da (28-32) kuzu ve oğlaklarda *E. bienersi* yaygınlığı erginlere oranla önemli düzeyde yüksek belirlenmiştir. Diğer yandan birkaç çalışmada ise yaşa bağlı enfeksiyonun prevalansında önemli bir farklılık bulunmamıştır (33-35). Sonuç olarak kuzuların koyunlara oranla *E. bienersi* enfeksiyonları için daha duyarlı olduğu ve muhtemel olarak da bu durumun bağışıklık sistemi ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Diğer yandan yaşa bağlı duyarlılık düzeyi üzerine daha kesin sonuçlar elde edilmesi için deneysel çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Bunun yanında yapılan çalışmada dişi ve erkek koyunlar arasında *E. bienersi* enfeksiyonunun prevalansında istatistiksel bir farklılık belirlenmemiştir. Cinsiyetin *E. bienersi* enfeksiyonu üzerine etkisinin olmadığı ayrıca sığırlar (36) ve atlar



Şekil 1. BEB6 genotipindeki TREbienVan1 ile koyunlardan bildirilen yaygın *E. bienersi* genotiplerine ait izolatların ITS rDNA nükleotid sekanslarının çoklu hizalaması. Sekanslar içerisindeki nükleotid varyasyonları çeşitli renklerle işaretlenerek gösterilmiştir



Şekil 2. *E. bienersi* izolatlarının ITS rRNA gen bölgesi Maximum Likelihood (ML) analizine göre filogenetik ilişkileri. Node'ların önündeki rakamlar ML bootstrap desteğini göstermektedir. Çalışmada belirlenen TREbienVan1 izolatu mavi, Türkiye'den bildirilmiş diğer izolatlar ise kırmızı karakterde gösterilmiştir. Dış grup olarak *E. bienersi* PtEb IX köpek izolatu (DQ885585) kullanılmıştır. Ölçek çizgisi yerleşim yeri başına nükleotid değişimini göstermektedir

(37) üzerinde yürütülen bazı araştırmalarda da gösterilmiştir. Diğer yandan köpek, kedi ve yabani memeliler üzerinde yürütülen birkaç çalışmada (38-40) erkeklerde dişilere oranla daha yüksek prevalans bildirilmiştir.

Çiftlik hayvanlarında *E. bienersi* enfeksiyonlarının prevalansının yetiştirme ve besleme koşulları ile ilişkili olduğu yoğun yetiştirme yapılan ve su ve atık sistemleri yeterli olmayan çiftliklerde enfeksiyon oranlarının yüksek olduğu bildirilmiştir (34,41). Aynı zamanda farklı çiftlik hayvanları ve köpek ve kedi gibi karnivor hayvanların birlikte bulunmasının farklı konaklara adaptasyon yeteneği olan genotiplerin yayılışını kolaylaştırdığı da bilinmektedir (41). Bu yönüyle araştırma kapsamında incelenen çiftliklerdeki koyunlarda belirlenen prevalans oranının örneklem sayısının artırılması veya benzer karakterdeki çiftliklerin de araştırılması sonucu daha yüksek oranlara ulaşabileceği düşünülmüştür.

Yapılan araştırmada ribozomal ITS sekans analizleri sonucu tüm izolatların BEB6 genotipine (sinonimler: SH5, CHS4, CHC9, CHHLJS1 ve JSS1) ait olduğu görülmüştür. Bu sonuç koyunlarla birlikte diğer ruminantlarda yapılan araştırma sonuçları (29) ile paralellik göstermiş olup BEB6 genotipinin ruminant hayvanlarda baskın genotip olduğuna dair destekleyici kanıt sağlamıştır. Diğer yandan koyun ve keçilerde CD6, CHG1, CHG3, CHG5, CHS8, CM7 ve SX1'in de yaygın genotipler olduğu ve aynı zamanda bu genotiplerin kuşlar, sığır, geyik, köpek, at, domuz, maymun ve yak gibi hayvanlarda da görüldüğü sınırlı sayıda araştırma ile gösterilmiştir (31). Günümüze kadar yapılan araştırmaların sonuçları dikkate alındığında Zhang ve ark.'nın (13) da vurguladığı gibi başta BEB6 olmak üzere yukarıda bahsi geçen genotiplerin ruminantlar arasında yayıldığı ve diğer konaklara geçiş gösterdiği söylenebilir.

Şu ana kadar koyunlarda belirlenen diğer genotiplerin aksine BEB6'nın daha geniş bir hayvan konak spektrumuna sahip

olduğu görülmektedir. BEB6'nın rölâtif olarak geniş konak çeşitliliği göstermesi türler arasında bulaşmanın yüksek olduğunun bir göstergesidir (13). Ayrıca BEB6 insanlarda da identifiye edilmiş olup (42), Zhang ve ark. (13) koyun ve keçilerde elde ettikleri sonuçlarla bu hayvanların insan enfeksiyonları için potansiyel bir kaynak oluşturdıklarına dikkat çekmiştir. Yapılan çalışmada koyunlarda yaygın ve tek genotip olarak belirlenen BEB6'nın araştırma yöresinde farklı konaklar arasında yayılım gösterilebileceği literatür bilgi ışığında yüksek olasılıktır. Ayrıca BEB6 genotipi doğal su kaynaklarında da tespit edilmiştir (43). Bu yönüyle başta insanlar olmak üzere araştırma yöresinde ilgili genotipin dağılımı ve oluşturduğu risk faktörleri üzerine ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Filogenetik analizler sonucunda çalışmada koyunlarda karakterize edilen BEB6 genotipinin diğer hayvanlardan izole edilen sinonimleri ile birlikte *E. bienersi* genogrup 2'de yer aldığı belirlenmiştir. Ülkemizde farklı hayvan konaklarda yapılan araştırmalarda BEB6 genotipinin yaygınlığı sığır ve koyun (süt örnekleri) (9) ile at (8) ve tavuklarda (26) da gösterilmiştir. Önceki yapılan birçok araştırmada grup 2'deki bazı genotiplerin (örneğin; BEB1, BEB2 ve BEB4) sığırlara özgü olduğu belirtilmiş olmasına karşın sonraki araştırmalarda bu genotiplerin bazılarının insanlarda da belirlenmiş olması (13) bu grupta yer alan genotiplerin ruminantlara özgü olmasından ziyade zoonotik bir grup olduğuna dair kanıtlar ortaya koymuştur. Ülkemizde şu ana kadar farklı hayvan konaklarda yapılan araştırma sonuçları da dikkate alındığında BEB6 genotipinin zoonotik risk potansiyeli taşıdığı ve koyunların da bu noktada bulaşma açısından önemli rezervuarlardan birisi olduğu çalışma ile ortaya konulmuştur.

SONUÇ

Sonuç olarak bu çalışma ile önemli zoonotik mikrosporidialardan biri olan *E. bienersi*'nin Van yöresindeki koyunlarda varlığı ve moleküler yaygınlığı ortaya çıkarılmıştır. Türkiye'de farklı hayvan konaklarda yürütülen araştırmaların sonuçları ile paralel olarak bu çalışmada elde edilen veriler BEB6 genotipinin Türkiye'deki baskın genotiplerden birisi olduğuna dair destekleyici kanıtlar sağlamıştır. Zoonotik karakterli olduğu bilinen BEB6 genotipinin yaygın tek genotip olarak tespit edilmesi, araştırma yöresinde *E. bienersi*'nin insanlara bulaşma açısından koyunların önemli bir rezervuar olduğunu ve risk potansiyeli taşıdığını göstermiştir. Türkiye'de *E. bienersi*'nin epidemiyolojisi ve bulaşma dinamikleri üzerine tek sağlık çerçevesinde insanlar, hayvanlar, su ve diğer çevresel kaynaklar üzerinde ileri araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

* Teşekkür

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TYL-2021-11003 kodla Yüksek Lisans Tez Projesi olarak desteklenmiştir.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Dışkı materyali hayvanların dışkılamalarını takiben hayvana temas edilmeden yerden alınmış olması nedeniyle etik kurul onayı alınmamıştır.

Hasta Onayı: Koyun dışkı örneklerinde çalışılması nedeniyle hasta onamı alınmamıştır.

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

* Yazarlık Katkıları

Konsept: M.H.A., A.Y., Dizayn: M.H.A., A.Y., Veri Toplama veya İşleme: M.H.A., G.Y., F.K., Analiz veya Yorumlama: M.H.A., A.Y., F.K., Literatür Arama: M.H.A., G.Y., Yazan: M.H.A., A.Y.

Çıkar Çatışması: Yazarlar arasında bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek: Çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TYL-2021-11003 no'lu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Li W, Xiao L. Ecological and public health significance of *Enterocytozoon bienersi*. One Health 2020; 12: 100209.
- Deng L, Yue CJ, Chai YJ, Wang WY, Su XY, Zhou ZY, et al. New genotypes and molecular characterization of *Enterocytozoon bienersi* in pet birds in Southwestern China. Int J Parasitol Parasites Wildl 2019; 10: 164-9.
- Pekmezci D, Pekmezci GZ, Yildirim A, Duzlu O, Inci A. Molecular Detection of Zoonotic Microsporidia in Domestic Cats in Turkey: A Preliminary Study. Acta Parasitol 2019; 64: 13-8.
- Zhang X, Wang Z, Su Y, Liang X, Sun X, Peng S, et al. Identification and genotyping of *Enterocytozoon bienersi* in China. J Clin Microbiol 2011; 49: 2006-8.
- Qin RL, Liu YY, Mei JJ, Zou Y, Zhang ZH, Zheng WB, et al. Molecular Identification and Genotyping of *Enterocytozoon bienersi* in Sheep in Shanxi Province, North China. Animals (Basel) 2022; 12: 993.
- Li J, Luo N, Wang C, Qi M, Cao J, Cui Z. Occurrence, molecular characterization and predominant genotypes of *Enterocytozoon bienersi* in dairy cattle in Henan and Ningxia, China. Parasit Vectors 2016; 9: 142.
- Pekmezci D, Yetismis G, Esin C, Duzlu O, Colak ZN, Inci A, et al. Occurrence and molecular identification of zoonotic microsporidia in pet budgerigars (*Melopsittacus undulatus*) in Turkey. Med Mycol 2020; myaa088.
- Yildirim A, Okur M, Uslu S, Onder Z, Yetismis G, Duzlu O, et al. First report on the molecular prevalence of *Enterocytozoon bienersi* in horses in Turkey: genotype distributions and zoonotic potential. Parasitol Res 2020; 119: 2821-8.
- Yildirim Y, Al S, Duzlu O, Onmaz NE, Onder Z, Yetismis G, et al. *Enterocytozoon bienersi* in raw milk of cattle, sheep and water buffalo in Turkey: Genotype distributions and zoonotic concerns. Int J Food Microbiol 2020; 334: 108828.
- Bilgin T, Uslu S, Karademir GK, Okur M, Yetismis G, Yildirim A. Molecular Prevalence and Phylogenetic Characterization of *Enterocytozoon bienersi* in Healthy Cattle. Türkiye Parazit Derg 2020; 44: 36-42.
- Pekmezci D, Yetismis G, Colak ZN, Duzlu O, Ozkilic GN, Inci A, et al. First report and molecular prevalence of potential zoonotic *Enterocytozoon bienersi* in Turkish tumbler pigeons (*Columba livia domestica*). Med Mycol 2021; 59: 864-8.
- Duzlu O, Yildirim A, Onder Z, Ciloglu A, Yetismis G, Inci A. Prevalence and Genotyping of Microsporidian Parasites in Dogs in Turkey: Zoonotic Concerns. J Eukaryot Microbiol 2019; 66: 771-7.
- Zhang Y, Mi R, Yang J, Wang J, Gong H, Huang Y, et al. *Enterocytozoon bienersi* genotypes in farmed goats and sheep in Ningxia, China. Infect Genet Evol 2020; 85: 104559.
- Buckholt MA, Lee JH, Tzipori S. Prevalence of *Enterocytozoon bienersi* in swine: an 18-month survey at a slaughterhouse in Massachusetts. Appl Environ Microbiol 2002; 68: 2595-9.
- Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. J Mol Evol 1980; 16: 111-20.
- Nei M. Phylogenetic analysis in molecular evolutionary genetics. Annu Rev Genet 1996; 30: 371-403.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. Mol Biol Evol 2016; 33: 1870-4.

18. Posada D. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Mol Biol Evol* 2008; 25: 1253-6.
19. Guindon S, Gascuel O. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Syst Biol* 2003; 52: 696-704.
20. Karim MR, Dong H, Li T, Yu F, Li D, Zhang L, et al. Predominance and new genotypes of *Enterocytozoon bienersi* in captive nonhuman primates in zoos in China: high genetic diversity and zoonotic significance. *PLoS One* 2015; 10: e0117991.
21. Karim MR, Rume FI, Rahman ANMA, Zhang Z, Li J, Zhang L. Evidence for Zoonotic Potential of *Enterocytozoon bienersi* in Its First Molecular Characterization in Captive Mammals at Bangladesh National Zoo. *J Eukaryot Microbiol* 2020; 67: 427-35.
22. Li J, Qi M, Chang Y, Wang R, Li T, Dong H, et al. Molecular Characterization of *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis*, and *Enterocytozoon bienersi* in Captive Wildlife at Zhengzhou Zoo, China. *J Eukaryot Microbiol* 2015; 62: 833-9.
23. Li W, Xiao L. Multilocus Sequence Typing and Population Genetic Analysis of *Enterocytozoon bienersi*: Host Specificity and Its Impacts on Public Health. *Front Genet* 2019; 10: 307.
24. Li W, Feng Y, Santin M. Host Specificity of *Enterocytozoon bienersi* and Public Health Implications. *Trends Parasitol* 2019; 35: 436-51.
25. Ding H, Zhao A, Wang L, Gao N, Sun Y, Li J, et al. Genotypes and zoonotic potential of *Enterocytozoon bienersi* in edible bullfrogs (*Lithobates catesbeiana*) in China. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 2020; 11: 103-7.
26. Ercan N, Duzlu O, Yildirim A. Molecular detection and genotyping of microsporidia species in chickens in Turkey. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2020; 72: 101516.
27. Qi M, Jing B, Jian F, Wang R, Zhang S, Wang H, et al. Dominance of *Enterocytozoon bienersi* genotype J in dairy calves in Xinjiang, Northwest China. *Parasitol Int* 2017; 66: 960-3.
28. Fiuza VRDS, Lopes CWG, Cosendey RIJ, de Oliveira FCR, Fayer R, Santin M. Zoonotic *Enterocytozoon bienersi* genotypes found in Brazilian sheep. *Res Vet Sci* 2016; 107: 196-201.
29. Chen D, Wang SS, Zou Y, Li Z, Xie SC, Shi LQ, et al. Prevalence and multi-locus genotypes of *Enterocytozoon bienersi* in black-boned sheep and goats in Yunnan Province, southwestern China. *Infect Genet Evol* 2018; 65: 385-91.
30. Yang H, Mi R, Cheng L, Huang Y, An R, Zhang Y, et al. Prevalence and genetic diversity of *Enterocytozoon bienersi* in sheep in China. *Parasit Vectors* 2018; 11: 587.
31. Zhang Q, Cai J, Li P, Wang L, Guo Y, Li C, et al. *Enterocytozoon bienersi* genotypes in Tibetan sheep and yaks. *Parasitol Res* 2018; 117: 721-7.
32. Peng JJ, Zou Y, Li ZX, Liang QL, Song HY, Li TS, et al. Occurrence of *Enterocytozoon bienersi* in Chinese Tan sheep in the Ningxia Hui Autonomous Region, China. *Parasitol Res* 2019; 118: 2729-34.
33. Jiang Y, Tao W, Wan Q, Li Q, Yang Y, Lin Y, et al. Zoonotic and Potentially Host-Adapted *Enterocytozoon bienersi* Genotypes in Sheep and Cattle in Northeast China and an Increasing Concern about the Zoonotic Importance of Previously Considered Ruminant-Adapted Genotypes. *Appl Environ Microbiol* 2015; 81: 3326-35.
34. Shi K, Li M, Wang X, Li J, Karim MR, Wang R, et al. Molecular survey of *Enterocytozoon bienersi* in sheep and goats in China. *Parasit Vectors* 2016; 9: 23.
35. Wegayehu T, Li J, Karim MR, Zhang L. Molecular Characterization and Phylogenetic Analysis of *Enterocytozoon bienersi* in Lambs in Oromia Special Zone, Central Ethiopia. *Front Vet Sci* 2020; 7: 6.
36. Fiuza VRDS, Lopes CWG, Cosendey RIJ, de Oliveira FCR, Fayer R, Santin M. Zoonotic *Enterocytozoon bienersi* genotypes found in Brazilian sheep. *Res Vet Sci* 2016; 107: 196-201.
37. Santin M, Vecino JA, Fayer R. A zoonotic genotype of *Enterocytozoon bienersi* in horses. *J Parasitol* 2010; 96: 157-61.
38. Sak B, Salát J, Horká H, Saková K, Ditrich O. Antibodies enhance the protective effect of CD4+ T lymphocytes in SCID mice perorally infected with *Encephalitozoon cuniculi*. *Parasite Immunol* 2006; 28: 95-9.
39. Sulaiman IM, Fayer R, Lal AA, Trout JM, Schaefer FW 3rd, Xiao L. Molecular characterization of microsporidia indicates that wild mammals Harbor host-adapted *Enterocytozoon* spp. as well as human-pathogenic *Enterocytozoon bienersi*. *Appl Environ Microbiol* 2003; 69: 4495-501.
40. Santin M, Cortés Vecino JA, Fayer R. *Enterocytozoon bienersi* genotypes in dogs in Bogota, Colombia. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 79: 215-7.
41. Dong H, Zhao Z, Zhao J, Fu Y, Lang J, Zhang J, et al. Molecular characterization and zoonotic potential of *Enterocytozoon bienersi* in ruminants in northwest China. *Acta Trop* 2022; 234: 106622.
42. Wang L, Xiao L, Duan L, Ye J, Guo Y, Guo M, et al. Concurrent infections of *Giardia duodenalis*, *Enterocytozoon bienersi*, and *Clostridium difficile* in children during a cryptosporidiosis outbreak in a pediatric hospital in China. *PLoS Negl Trop Dis* 2013; 7: e2437.
43. Ye J, Ji Y, Xu J, Ma K, Yang X. Zoonotic *Enterocytozoon bienersi* in raw wastewater in Zhengzhou, China. *Folia Parasitol (Praha)* 2017; 64: 2017.002.

Investigation of *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp. and *Cyclospora cayetanensis* in Samples Collected from Different Spring Waters Iğdır, Türkiye

Farklı Kaynak Sularından Alınan Örneklerde Giardia spp., Cryptosporidium spp. ve Cyclospora cayetanensis'in Araştırılması Iğdır, Türkiye

Önder Akkaş¹, Esra Gürbüz², Selahattin Aydemir³, Maksut Şahin⁴, Abdurrahman Ekici³

¹Erzincan University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Erzincan, Türkiye

²University of Health Sciences Türkiye, Van Training and Research Hospital, Clinic of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Van, Türkiye

³Van Yüzüncü Yıl University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Van, Türkiye

⁴Van Yüzüncü Yıl University Faculty of Medicine, Dursun Odabaş Medical Center, Van, Türkiye

Cite this article as: Akkaş Ö, Gürbüz E, Aydemir S, Şahin M, Ekici A. Investigation of *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp. and *Cyclospora cayetanensis* in Samples Collected from Different Spring Waters Iğdır, Türkiye. Türkiye Parazitoloj Derg 2023;47(2):71-7.

ABSTRACT

Objective: In this study, it was aimed to investigate the physical and chemical properties of different spring waters and parasitic factors with different methods.

Methods: This study was carried out on 69 water samples collected from different spring waters in and around Iğdır Province in April and June 2021. The samples were analyzed by native-Lugol, modified acid-fast staining, and nested polymerase chain reaction (nPCR). In addition, altitude (meter) and pressure (mmHg) measurements were made at the point where the water samples were taken.

Results: One or more parasites were detected in 27.5% of the 69 water samples examined. Only *C. cayetanensis* was found in 13% of the samples, only *Cryptosporidium* spp. in 10.1%, only *Giardia* spp. in 1.4%, only *C. cayetanensis* and *Giardia* spp. in 1.4%, only *C. cayetanensis*, *Cryptosporidium* spp., and *Giardia* spp. in 1.4%. Only *Giardia* spp. cyst (4.3%) was detected by the direct examination method. While *C. cayetanensis* and *Cryptosporidium* spp. oocysts were detected in 8.7% and 7.2% of the samples by the modified acid-fast staining method, *C. cayetanensis* was detected in 15.9% and *Cryptosporidium* spp. was detected in 11.6% of the samples by nPCR. When the *C. cayetanensis* and *Cryptosporidium* spp. positivity rates were compared according to the characteristics of the water, there was no statistical difference between the altitude, salinity, pH, mmHg, and temperature (kelvin) values, but a significant correlation was found between the amount of dissolved oxygen and *Cryptosporidium* spp. positivity ($p=0.047$).

Conclusion: *Cryptosporidium* spp., *C. cayetanensis*, and *G. intestinalis* are important waterborne pathogens that can cause epidemics. It is our belief that in order to reduce the risk of contamination of these parasitic factors with spring waters, public awareness should be raised, infrastructures should be improved, and new water treatment techniques, such as ultraviolet, ozonation and monitoring systems, should be used.

Keywords: Iğdır, water, parasite, native-Lugol, nested PCR

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada, farklı kaynak sularının fiziksel ve kimyasal özellikleri ile paraziter etkenlerin farklı yöntemlerle araştırılması amaçlandı.

Yöntemler: Bu çalışma, 2021 yılı Nisan ve Haziran aylarında Iğdır ili ve çevresinden farklı kaynak sularından toplanan 69 su örneği üzerinde yürütüldü. Su numunelerinin ısı, pH, çözünmüş oksijen ve tuzluluk gibi fiziksel ve kimyasal özellikleri ölçüldü.

Received/Geliş Tarihi: 04.08.2022 Accepted/Kabul Tarihi: 14.02.2023

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Abdurrahman Ekici, Van Yüzüncü Yıl University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Van, Türkiye

Phone/Tel: +90 507 704 24 00 **E-mail/E-Posta:** abdurrahman2400@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0001-6034-513X

Numuneler nativ-Lugol, modifiye asit fast boyama ve nested polimeraz zincir reaksiyon (nPCR) yöntemleri ile incelendi. Ayrıca su örneği alınan noktada rakım (metre) ve basınç (mmHg) ölçümleri yapıldı.

Bulgular: İncelenen 69 su örneğinin 19'unda (%27,5) bir veya birden fazla parazit saptandı. Örneklerin 9'unda (%13) sadece *C. cayetanensis*, 7'sinde (10,1) sadece *Cryptosporidium* spp., birinde (%1,4) sadece *Giardia* spp., birinde (%1,4) *C. cayetanensis* ve *Giardia* spp., birinde (%1,4) ise *C. cayetanensis*, *Cryptosporidium* spp. ve *Giardia* spp. saptandı. Direkt baki yöntemi ile sadece *Giardia* spp. kisti (%4,3) saptandı. Modifiye asit fast boyama yöntemi ile 6 (%8,7) örnekte *C. cayetanensis*, 5 (%7,2) örnekte *Cryptosporidium* spp. ookisti saptanırken, nPCR yöntemi ile 11 (%15,9) örnekte *C. cayetanensis*, 8 (%11,6) örnekte *Cryptosporidium* spp. DNA'sı saptandı. Suyun özelliklerine göre *C. cayetanensis* ve *Cryptosporidium* spp. pozitiflik oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak rakım, tuzluluk oranı, pH, mmHg ve sıcaklık (kelvin) değerleri arasında bir fark saptanmadı, ancak çözünmüş oksijen miktarı ile *Cryptosporidium* spp. pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki saptandı ($p=0,047$).

Sonuç: *Cryptosporidium* spp., *C. cayetanensis* ve *G. intestinalis*, salgınlara neden olabilen önemli su kaynaklı patojenlerdir. Bu parazitler etkenlerin kaynak suları ile bulaşma riskini azaltmak için toplumun bilinçlendirilmesi, alt yapıların iyileştirilmesi ile birlikte ultraviyole, ozonlama ve monitoring sistem gibi yeni su arıtma tekniklerinin kullanılması gerektiği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: İçdir, su, parazit, nativ-Lugol, nested PCR

INTRODUCTION

The safety of drinking water plays an important role in improving the quality of life in modern societies because water has a significant impact on public health. Water can be contaminated with viruses, pathogenic bacteria, parasites, and many other biological factors that are harmful to human health (1,2). In addition to the direct consumption of contaminated water, transmission to humans can occur, especially through the cleaning and preparation of raw vegetables and foods with contaminated water (3-5).

According to the World Health Organization, it is estimated that around 1.1 billion people worldwide use unsafe water. The vast majority (88%) of diarrhea cases worldwide are due to unsafe water, sanitation, and hygiene (6). About 3.1% (1.7 million) of annual deaths and 3.7% of annual health burden (disability, etc.) are due to unsafe water, hygiene, and sanitation (7).

Water has a major role in the transmission of parasitic agents *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium* spp., and *Cyclospora cayetanensis* to humans (1,2). The International Organization for Standardization (ISO) has specified a method (ISO 15553:2006) that is valid for the detection and enumeration of *Cryptosporidium* spp. oocysts and *G. intestinalis* cysts in surface and ground waters, treated waters, mineral waters, and swimming pool and recreational waters (8,9).

G. intestinalis are parasitic protozoans that are one of the leading agents of waterborne intestinal infection epidemics worldwide. *G. intestinalis* cysts spread to the environment through the feces of the hosts, causing the contamination of water and food with the cysts (5).

Cryptosporidiosis, which is generally zoonotic in character, is a worldwide infection. Contamination occurs as a result of the fecal-oral ingestion of oocysts excreted in the feces of infected animals and humans. Many vertebrate species, including humans, can be infected this way. The feces of domestic animals, especially calves, have a great role in transmission to humans. Contamination occurs as a result of the contamination of the environment and water by oocysts of human and animal origin. The oocysts of *Cryptosporidium* spp. can remain infective for months in both fresh and salt water. Routine chlorination or ozonation of drinking water has little or no lethal effect on the oocysts of *Cryptosporidium* spp. (10-12).

Cyclospora infections are a diarrheal disease that are especially seen in countries such as Nepal, Pakistan, and India (13). Transmission to humans occurs by fecal-oral ingestion of food and water contaminated with infective oocysts, which are highly

resistant to the external environment (14). How food and water become contaminated with *C. cayetanensis* is still unknown. The oocysts of this parasite become infective by sporulating in suitable environmental conditions a few days or weeks after they are excreted. This feature is of great importance in the epidemiology of infection (15-17). It has been reported that transmission and spread in *C. cayetanensis* outbreaks may be water-borne as well as food-borne and mostly fresh produce (3,18,19).

The aim of this study was to investigate *Giardia* spp. by microscopic method and *Cryptosporidium* spp., and *C. cayetanensis* by modified acid fast and molecular methods in different spring waters.

METHODS

This study was carried out on 69 water samples collected from different spring waters from İçdir Province and its surroundings in April and June 2021. The water samples taken were placed in clean 5-L plastic containers and brought to the laboratory. The samples were first filtered through a vacuum pump filtration device (Rocker-167400-22 Rocker 400 Model Vacuum Pump) equipped with a 0.22- μ m cellulose acetate membrane filter (Sortorius AG, Germany). After the filtering process was completed, the part of the filter that the water passed through was scraped thoroughly using a sterile scalpel, and the same 15-mL water sample was placed into falcon tubes. In addition, the filter was washed with 5% tween 80 and the washed solution was transferred to falcon tubes. The falcon tubes were centrifuged at 3500 rpm for 15 min and the supernatant was discarded. The underlying precipitate was first examined by native-Lugol, and then by modified acid-fast staining and nested polymerase chain reaction (nPCR). In addition, altitude (meter) and pressure (mmHg) measurements were made at the point where the water samples were taken (Model: Testo 511).

Water analysis: The physical and chemical characteristics of the monitored water samples included the temperature, pH, dissolved oxygen (DO), and salinity. The dissolved oxygen meter of the model, which was a Hanna HI9142, was used in measuring the dissolved oxygen and temperature. The pH was measured using a pH meter (model: Hanna Instrument model no. HI 8915 ATC) while the salinity was measured using a salinometer, model: S-200 IP67.

The probe end of the meter was dipped into the water samples while the value at the pointer of the scale was read and recorded. The DO was measured in milligrams per liter (mg/L), temperature was measured in Kelvin, and the salinity was measured in mg/L.

nPCR for *C. cayetanensis*

DNA extraction was performed as described in the GeneMATRIX Stool DNA Purification Kit (Gdańsk, Poland) manual from whole water samples. The Lyticase enzyme from *Arthrobacter luteus* (L2524; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) was used to weaken or break down the oocyst wall before extraction. Enzymes were added to the samples and incubated at 25 °C for 15 min. The samples were then incubated at 95 °C for 30 min in a dry block heater and vortexed at 5-min intervals during the incubation period. All of the other procedures were carried out according to the manufacturer's instructions in the kit.

nPCR was performed using the methods and primers specified by Orlandi et al. (20). In the first stage of the nPCR, F1E 5'-TACCAATGAAAACAGTTT-3' and R2B 5'-CAGGAGAAGCCAAGGTAGG-3' were the primers used to amplify the ~636 bp region of the 18S rRNA gene region of *Cyclospora* and *Eimeria* species. The reaction was adjusted to a total volume of 50 µL, containing 25 µL of Tag 2x Master Mix (12.5 mM MgCl₂), 0.5 mM MgCl₂ and 0.2 µM of each primer, and 1 µL of sample DNA. Next, 1 µL of the amplicon obtained for the second stage of the nPCR was used. In the second stage of the nPCR, the primers were used to amplify the region of ~298 bp from the 18S rRNA gene region of *Cyclospora* species. The second nPCR reaction was carried out under the conditions specified in the previous step.

Reactions were performed on an Applied Biosystems SimpliAmp Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). The first PCR was programmed for a total of 35 cycles, each at 94 °C for 30 s, then 53 °C for 30 s, and 72 °C for 90 s. The nPCR was adjusted for a total of 25 cycles, at 94 °C for 15 s and 66 °C for 15 s. Since the primary binding temperature in the nPCR phase was close to the activity temperature of the Tag polymerase, no extension temperature (72 °C) was required. In both PCR procedures, an additional administration was done at 95 °C for 15 min before the first cycle for the denaturation step. Following the last cycle, an extension step was performed at 72 °C (66 °C for nPCR) for 10 min.

To display the results of the nPCR procedure, 15 µL of PCR reaction products was run on agarose gel (1%) electrophoresis and visualized in a UVP Gel documentation system (Ultra-Violet Products Ltd., Upland, CA, USA).

nPCR for *Cryptosporidium* spp.

The GeneMATRIX stool DNA purification kit (EURx Ltd., Gdansk, Poland) was used for DNA extraction, which was performed in accordance with the instructions provided with the kit. However, before starting the purification procedures, the samples were incubated at 95 °C for 30 min in a dry block heater (Bio-TDB-100, BioSan) at 5-min intervals in order to effectively weaken the oocyst wall. nPCR was used for the molecular investigation. First, primers CryptoF 5'-TTCTAGAGCTAATACATGCG-3' and CryptoR 5'-CCCATTTCCTTCGAAACAGGA-3' were used, which amplified the DNA fragment, encoding the SSU rRNA as 1.325 bp in length (21). For the nPCR reaction, 25 µL of Solis Biodyne 5X Firepol (12.5 mM MgCl₂) master mix was used, which comprised 100 nM of each primer and 2 µL of the sample DNA, and 1 µL of these reaction products was later subjected to nPCR. During the nPCR, a base set of CryptoNF 5'-GGAAGGGTTGTATTATTAGATAAAG-3' and CryptoNR 5'-AAGGAGTAAGGAACAACCTCCA-3' was used, which amplified a region about 826–864 bp in length (21). The reactions were performed in a thermo thermal cycler with a

heater lid (SimpliAmp Thermal Cycler, Thermo Fisher). The first step of the PCR consisted of a total of 18 cycles (33 s at 95 °C, 45 s at 55 °C, and 45 s at 72 °C), and a 10-min extension period at 72 °C. The second step of the nPCR was performed the same as the first step, but with an annealing process that comprised 35 cycles. The nPCR products were run for 45 min at 90 V in 1% agarose gel with ethidium bromide, and the images were recorded. From the pool with positive results, 10 samples were randomly selected and subjected to sequence analysis, which confirmed *Cryptosporidium* spp.

Statistical Analysis

In the statistical analysis, the incidence of parasites according to the relevant categorical variables was expressed as numbers and percentages, and whether there was a relationship between categorical variables was determined by the chi-square (χ^2) test. The Z-test was used to compare the incidence of parasites and the calculations were made in the MINITAB (version: 14) statistical package program.

RESULTS

One or more parasites were detected in 19 (27.5%) of the 69 water samples examined. Of the samples, 9 (13%) contained only *C. cayetanensis*, 7 (10.1%) contained only *Cryptosporidium* spp., 1 (1.4%) contained only *Giardia* spp., 1 (1.4%) contained *C. cayetanensis* and *Giardia* spp., 1 (1.4%) contained *C. cayetanensis*, *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp.

Only *Giardia* spp. cyst (4.3%) was detected by direct examination method. While *C. cayetanensis* was detected in 6 (8.7%) samples and *Cryptosporidium* spp. oocyst was detected in 5 (7.2%) samples by modified acid-fast staining, *C. cayetanensis* (Figure 1) was detected in 11 (15.9%) samples and *Cryptosporidium* spp. (Figure 2) was detected in 8 (11.6%) samples by nPCR (Table 1).

When the *C. cayetanensis* and *Cryptosporidium* spp. positivity rates were compared according to the water sources, no statistically significant difference was found (Table 2). When the *C. cayetanensis* and *Cryptosporidium* spp. positivity rates were compared according to the characteristics of the water, there was no statistical difference between the altitude, salinity, pH, pressure (mmHg), and temperature (kelvin) values, but a significant correlation was found between the amount of DO and *Cryptosporidium* spp. positivity ($p=0.047$) (Table 3).

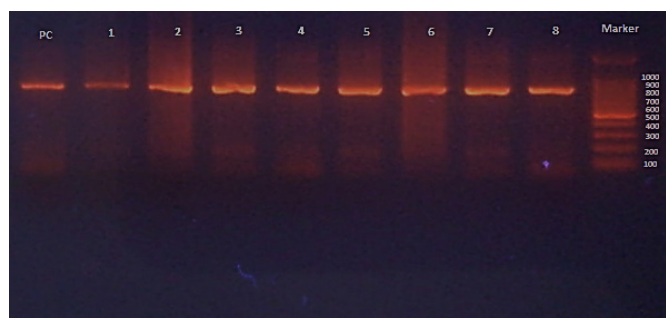


Figure 1. Band images of the *Cryptosporidium* spp. positive samples, which were amplified by PCR and visualized in gel electrophoresis (in the presence of 0.15% ethidium bromide and 1X tris boric acid-EDTA buffer) [Marker: 100 bp DNA marker (Grisp Mark), PC: Positive control]

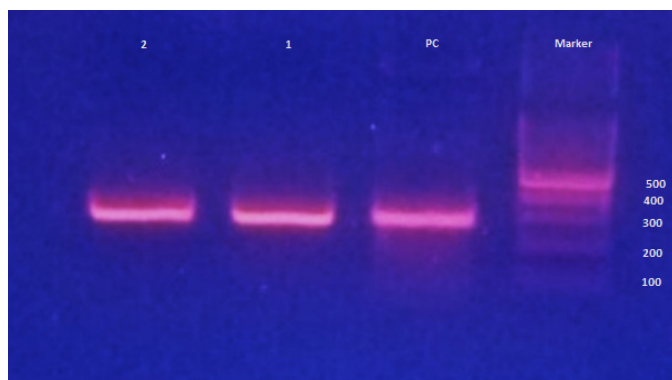


Figure 2. Band images of the *C. cayetanensis* positive samples, which were amplified by PCR and visualized in gel electrophoresis (in the presence of 0.15% ethidium bromide and 1X tris boric acid-EDTA buffer) [Marker: 100 bp DNA marker (Grisp Mark), PC: Positive control]

DISCUSSION

In the prevalence of infections caused by protozoa, Türkiye's location in a temperate geographical region, its inadequate infrastructure, and low education level of society, as well as the lack of adequate information about the transmission routes of parasitic diseases are also effective. In Türkiye, studies on parasitic infections that cause waterborne outbreaks are limited, since research on parasitic infections is mostly conducted with stool and blood samples from humans and animals.

It was reported that *Cryptosporidium* spp. oocysts were detected in 58 (39%) of 147 gastroenteritis patients in a gastroenteritis epidemic thought to affect 13,000 people in a town with a population of 64,900 in Georgia (22).

From 1986 to 1988, 50 disease outbreaks were reported in 24 the USA and Puerto Rico, affecting 25,846 people from drinking water sources. *G. intestinalis*, a protozoal parasite, is the most common cause of epidemics; most of these outbreaks have been associated with the consumption of chlorinated but unfiltered

Table 1. Distribution of parasites seen according to the methods used

Parasites seen	Native-Lugol n (%)	MAF staining n (%)	nPCR n (%)	Total n (%)
<i>Giardia</i> spp.	3 (4.3)	-	-	3 (4.3)
<i>C. cayetanensis</i>	-	6 (8.7%)	11 (15.9%)	11 (15.9%)
<i>Cryptosporidium</i> spp.	-	5 (7.2%)	8 (11.6%)	8 (11.6%)
Total	3 (4.3)	11 (15.9%)	18 (26.1%)	19 (27.5%)

Table 2. Prevalence of *C. cayetanensis* and *Cryptosporidium* spp. by type of water source

Source of water sample	<i>C. cayetanensis</i>		<i>Cryptosporidium</i> spp.		p-value*
	Positive n (%)	Negative n (%)	Positive n (%)	Negative n (%)	
Drilling-network (7)	1 (14.3)	6 (85.7)	-	7 (100)	a =0.975 b =0.296
Source-network (41)	7 (17.1)	34 (82.9)	7 (17.1)	34 (82.9)	
Stream (12)	2 (16.7)	10 (83.3)	-	12 (100)	
Well water (9)	1 (11.1)	8 (88.9)	1 (11.1)	8 (88.9)	

n: Number of samples, a: Significance value for *C. cayetanensis*, b: Significance value for *Cryptosporidium* spp., Significance levels according to the chi-square test

Table 3. Prevalence of *C. cayetanensis* and *Cryptosporidium* spp. according to water properties

	<i>C. cayetanensis</i>		<i>Cryptosporidium</i> spp.		p-value*
	Positive (mean ± SD)	Negative (mean ± SD)	Positive (mean ± SD)	Negative (mean ± SD)	
Altitude (meters)	1256.82±496.53	1216.14±462.27	1220.38±532.51	1222.92±459.64	a =0.792 b =0.989
Salinity (mg/L)	0.28±0.19	0.29±0.23	0.23±0.17	0.30±0.23	a =0.849 b =0.452
pH	7.51±0.59	7.34±0.58	7.48±0.54	7.35±0.59	a =0.380 b =0.554
DO (mg/L)	64.68±35.67	56.84±26.67	39.56±14.63	60.52±28.65	a =0.401 b =0.047
Pressure (mmHg)	652.00±38.84	653.21±37.07	655.50±41.27	652.69±36.85	a =0.922 b =0.842
Temperature (kelvin)	286.00±4.52	284.98±3.85	285.38±4.07	285.11±3.69	a =0.437 b =0.862

SD: Standard deviation, a: Significance value for *C. cayetanensis*, b: Significance value for *Cryptosporidium* spp., *Significance levels according to independent t-test

surface water. Moreover, during this period, one of the biggest epidemics affecting 13,000 people occurred as a result of the contamination of a chlorinated and filtered public water source with *Cryptosporidium* spp. (23).

In the 2-year period between 1989 and 1990, 26 outbreaks of drinking water were reported in 16 states, and an estimated 4288 people were affected in these outbreaks. *G. intestinalis* was cited as the etiologic agent in 7 of 12 outbreaks in which a single agent was identified. All outbreaks of giardiasis were associated with the consumption of filtered surface water or surface-affected groundwater (24).

G. intestinalis is the leading parasitic etiology of human enteric infections in the USA. About 1.2 million cases occur annually. Between 1971 and 2011, 242 outbreaks of giardiasis were reported to the CDC. These outbreaks, which affected approximately 41,000 people, were caused by waterborne (74.8%), foodborne (15.7%), person-to-person (2.5%), and animal contact (1.2%). Most waterborne outbreaks (74.6%) were associated with drinking water, followed by recreational water (18.2%) (25).

Diarrhea is one of the major factors that cause mortality and morbidity in children. While it causes the death of approximately 2.5 million people every year, it causes growth and developmental retardation in children in the long term. One of the important causes of diarrhea is intestinal parasitic infections (26).

Globally, cryptosporidiosis is estimated to be responsible for the majority of deaths among children under the age of five. In the Global E Haque Enteric Multicentre Study, a 3-year matched case-control study of more than 22,000 infants and children 0-59 months of age with moderate-to-severe diarrhea in seven regions in Africa and Asia, *Cryptosporidium* spp. was the second leading cause of severe diarrhea after rotavirus (27).

Diarrhea is a commonly reported disease in young animals and remains a major cause of productivity and economic loss for cattle producers worldwide. Diarrhea is a clinical condition that causes serious economic losses because it can cause high mortality, weight loss or even delayed growth in different animals and even humans (28).

Many pathogens are transmitted by water. Many studies have been conducted on pathogenic agents in waters. Many studies have been carried out around the world on the detection of parasitic agents in water samples.

In a study conducted with different methods on 166 water samples in Russia and Bulgaria, *G. intestinalis* was detected in 9.6% of the samples (29). Water samples taken from a total of six rivers, four in Washington and two in California, were examined and *Cryptosporidium* spp. oocysts were detected in all of the samples (30). In North America from 1985 to 1994, it was reported that 12 epidemics have occurred due to the contamination of drinking water sources by *Cryptosporidium* spp. In two of these 12 outbreaks (Milwaukee and Las Vegas), the mortality rate in immunocompromised individuals was between 52% and 68%, and the largest *Cryptosporidium* spp. epidemic was found in the USA, with 403,000 symptomatic cases (31). It was stated that 13,000 people were infected with *Cryptosporidium* spp. in 1987 in Carrolton, USA, due to the contamination of drinking water sources. It was also reported in 1992 that *Cryptosporidium* spp. Infection affected the health of 15,000 people in Jankson County

and Oregon, USA (32). Another study conducted in Las Vegas, USA, in 1998 reported that 20 AIDS patients died in 1994 due to drinking water contaminated with *Cryptosporidium* spp. (33).

The first parasitological study in waters in Türkiye was carried out between 1997 and 1999 at Kağıthane, Büyüçekmece, Ömerli and Elmalı dams in İstanbul. 40 raw water samples obtained from these dams were examined for *Cryptosporidium* spp. and *G. intestinalis* and it was reported that *Giardia* cyst and *Cryptosporidium* oocyst were not detected in any of them. In a study conducted in Mersin, the prevalence of *C. parvum* in water resources was determined as 5.2% (7/135) (16). In a study conducted in Samsun, 11% of *Cryptosporidium* spp. oocysts were detected in 100 water samples (34). In another study conducted in the environmental waters of Samsun Province and its districts, 142 of 228 water samples contained *Giardia* spp., 132 contained *Cryptosporidium* spp., 56 contained *Cyclospora* spp., 38 contained *Microsporidia*, 47 contained *Blastocystis* spp., 38 contained *Entamoeba coli* cyst, 18 contained *Dientamoeba*, 9 contained *Chilomastix*, 9 contained *Strongyloides* spp., and 6 contained hookworm (35). In a study carried out with 40 water samples in Isparta, *C. parvum* cyst was found in 13 (32.5%) samples and *G. intestinalis* cysts were found in 8 samples (20%) (36). In a study conducted by Çiçek et al. (37) in the Van region, it was reported that *Cryptosporidium* spp. oocysts were detected in 1.13% of 440 water samples. In another study conducted in Erzurum, it was reported that *Cryptosporidium* spp. oocysts were detected in 15% of 120 water samples (38).

Different results were obtained in studies conducted in Türkiye. *C. cayetanensis* was detected in 13%, *Giardia* spp. in 1.4%, and *Cryptosporidium* spp. in 10.1% of 69 water samples examined in this study. The rate of *Cryptosporidium* spp. in the study was compatible with the studies conducted in Erzurum and Samsun, and it was higher than the results of the studies conducted in Sivas, Mersin, and Van. The rate of *Giardia* spp. and *C. cayetanensis* in the study was less than the rates in other studies. It is known that epidemics originating from drinking water are important problems in terms of public health, and the contamination rate (27.5%) in this study supported this.

CONCLUSION

As a result, although the direct examination method is one of the most used methods in the investigation of parasitic agents, it was concluded that it is not sufficient alone in the detection of parasites and that different diagnostic methods should be used together. In the literature reviews conducted herein, it was concluded that since the research and methods used in this subject in Türkiye are very limited, they do not reflect the truth and there is a need for comprehensive research. It is our belief that the prevalence of parasitic agents in drinking water will be high if more comprehensive studies are conducted in Türkiye.

Cryptosporidium spp., *C. cayetanensis* and *G. intestinalis* are important waterborne pathogens that can cause epidemics. It is our belief that in order to reduce the risk of contamination of these parasitic factors with spring waters, public awareness should be raised, infrastructures should be improved, and new water treatment techniques, such as ultraviolet, ozonation, and monitoring systems, should be used.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank Iğdır University Scientific Research Projects Coordination Unit for providing financial support to this study (project number: 2020-SBE-AP01).

* Ethics

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval is not required for this study.

Informed Consent: No patients were included in the study.

Peer-review: Evaluated by the editorial board.

* Authorship Contributions

Concept: Ö.A., A.E., E.G., Design: Ö.A., A.E., S.A., Data Collection or Processing: S.A., Ö.A., M.Ş., A.E., Analysis or Interpretation: A.E., M.Ş., S.A., Ö.A., Literature Search: Ö.A., M.Ş., S.A., Posted by: Ö.A., M.Ş., S.A.

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

Financial Disclosure: This research has been refunded by Scientific Research Projects Unit of Iğdır University (project number: 2020-SBE-AP01).

REFERENCES

1. Franco RMB, Rocha-Eberhardt R, Cantusio NR. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in raw water from the Atibaia river, Campinas, Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2001; 43: 109-11.
2. Moreira NA, Bondelind M. Safe drinking water and waterborne outbreaks. J Water Health 2017; 15: 83-96.
3. Terzi G. Gıda kaynaklı protozoon enfeksiyonların insan sağlığı açısından önemi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2005; 16: 47-55.
4. Alemu G, Mama M, Misker D, Haftu D. Parasitic contamination of vegetables marketed in Arba Minch town, southern Ethiopia. BMC Infect Dis 2019; 19: 410.
5. Ahlinder J, Svedberg AL, Nystedt A, Dryselius R, Jacobsson K, Hagglund M, et al. Use of metagenomic microbial source tracking to investigate the source of a foodborne outbreak of cryptosporidiosis. Food Waterborne Parasitol 2022; 26: e00142.
6. WHO 2003a. Quantifying selected major risks to health. The World Health Report 2002. World Health Organization, Geneva (Chapter 4).
7. Ashbolt NJ. Microbial contamination of drinking water and disease outbreaks in developing regions. Toxicology 2004; 198: 229-38.
8. Schreiber C, Heinkel SB, Zacharias N, Mertens FM, Christoffels E, Gayer U, et al. Infectious rain? Evaluation of human pathogen concentrations in stormwater in separate sewer systems. Water Science & Technology 2019; 80: 1022-30.
9. Cirkovica V, Kluna I, Utaakerb KS, Uzelaca A, Tysnesb KR, Robertsonb LJ, et al. Surface waters as a potential source of *Giardia* and *Cryptosporidium* in Serbia. Experimental Parasitology 2020; 209: 1-6.
10. Casemore DP. Epidemiological aspects of human cryptosporidiosis. Epidemiol Infect 1990; 104: 1-28.
11. Ramirez NE, Ward LA, Sreevatsan S. A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. Microbes and Infection 2004; 6: 773-85.
12. Nasser AM. Removal of *Cryptosporidium* by wastewater treatment processes: a review. J Water Health 2016; 14: 1-13.
13. Hassan EM, Örmeci B, DeRosa MC, Dixon BR, Sattar SA, Iqbal A. A review of *Cryptosporidium* spp. and their detection in water. Water Research 2021; 83: 1-25.
14. Drenaggi D, Cirioni O, Giacometti A, Fiorentini A, Scalise G. Cyclosporiasis in a traveler returning from South America. J Travel Med 1998; 5: 153-5.
15. Yu RJ, Sohn WM. A case of human cyclosporiasis causing traveler's diarrhea after visiting Indonesia. J Korean Med Sci 2003; 18: 738-41.
16. Aslan G, Bayram G, Otağ F, Direkel Ş, Özkan At, Çeber K, et al. Mersin ilinde farklı su kaynaklarında *Cryptosporidium* spp. varlığının araştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni 2012; 46: 93-100.
17. Khudkowska M, Pielok L, Frackowiak K, Paul M. Intestinal coccidian parasites as an underestimated cause of travellers' diarrhoea in Polish immunocompetent patients. Acta Parasitol 2017; 62: 630-8.
18. Ortega YR, Sanchez R. Update on *Cyclospora cayetanensis*, a Food-Borne and Waterborne Parasite. Clin Microbiol Rev 2010; 23: 218-34.
19. Kahler AM, Mattioli MC, Silva AJ, Hill V. Detection of *Cyclospora cayetanensis* in produce irrigation and wash water using large-volume sampling techniques. Food and Waterborne Parasitology 2021; 22: 1-8.
20. Orlandi PA, Frazar C, Carter L, Chu D. BAM: detection of *Cyclospora* and *Cryptosporidium*. U.S. Food and Drug Administration 2004.
21. Sakarya Y, Kar S, Tanyüksel M, Karaer Z, Babur C, Vatansever Z. Detection of *Cryptosporidium* sp. in humans and calves through nested PCR and carbol fuchsin staining methods in Ankara, Turkey. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2010; 16: 977-80.
22. Hayes EB, Mat TD, O'Brien TR, McKinley TW, Logsdon GS, Gül JB, et al. Large community outbreak of cryptosporidiosis due to contamination of a filtered public water supply. N Engl J Med 1989; 320: 1372-6.
23. Levine WC, Stephenson WT, Craun GF. Waterborne disease outbreaks, 1986-1988. Journal of Food Protection 1991; 54: 71-8.
24. Herwaldt BL, Craun GF, Stokes SL, Juranek DD. Waterborne-Disease Outbreaks, 1989-1990. MMWR CDC Surveill Summ 1991; 40: 1-21.
25. Adam EA, Yoder JS, Gould LH, Hlavsa MC, Gargano JW. Giardiasis outbreaks in the United States, 1971-2011. Epidemiol Infect 2016; 144: 2790-801.
26. Haque R, Mondal D, Duggal P, Kabir M, Roy S, Farr BM, et al. Entamoeba histolytica infection in children and protection from subsequent amebiasis. Infect Immun 2006; 74: 904-9.
27. Ryan U, Zahedi A, Paparini A. *Cryptosporidium* in humans and animals-a one health approach to prophylaxis. Parasite Immunol 2016; 38: 535-47.
28. Haggag YN, Samaha HA, Nossair MA, Awad WK. Epidemiological Studies on Diarrhea in Some Dairy Cattle Farms AJVS 2016; 51: 282-9.
29. Karanis P, Sotiriadou B, Kartashev V, Kurenti C, Tsvetkova N, Stojanova K. Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in water supplies of Russia and Bulgaria. Environmental Research 2006; 102: 260-71.
30. Ilardi I, Leone F. Technics for identifying *Cryptosporidium* spp. in feces: synthetic review and personal experience on anti-HIV seropositive, AIDS-related complex and AIDS subjects. Quaderni Sclavo di diagnostica clinica e di laboratorio 1988; 24: 133.
31. Mac Kenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME, Gradus SM, Blair KA, Peterson DE, et al. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. N Engl J Med 1994; 331: 161-7.
32. Stein PL. The great Sydney water crisis of 1998. Water, air, and soil pollution 2000; 123: 419-36.
33. Steiner TS, Thielman NM, Guerrant RL. Protozoal agents: what are the dangers for the public water supply? Annu Rev Med 1997; 48: 329-40.
34. Çeber K, Aslan G, Otağ F, Delialioğlu N, Öztürk C, Babür C, ve ark. Mersin İlinde İçme Suyu, Kullanma Suyu, Atık Su ve Deniz Sularında *Cryptosporidium* spp. Ookistlerinin Araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2005; 29: 224-8.
35. Karaman Ü, Kolören Z, Seferoğlu O, Ayaz E, Demirel E. Samsun İl ve İlçelerinden Alınan Çevresel Sulara Parazitlerin Varlığı. Türkiye Parazit Derg 2017; 41: 19-21.

36. Rad AY, Aysal S, Taner M. Investigation of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia intestinalis* in Various Water Sources in Isparta Area, Turkey. Hacettepe J Biol & Chem 2007; 35: 209-17.
37. Çiçek M, Körkoca H, Akkaş Ö. Investigation for *Cryptosporidium* spp. oocysts of drinking water in Van. Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology 2011; 68: 122-6.
38. Yılmaz A, Akkaş Ö, Uslu H. Investigation of *Cryptosporidium* sp. Oocysts in Erzurum's Potable Water On Different Months. Middle Black Sea Journal of Health Science 2016; 2: 1-6.

Determination of *Aelurostrongylus abstrusus* Prevalence and Risk Factors in Cats from Balıkesir

Balıkesir İlindeki Kedilerde *Aelurostrongylus abstrusus* Prevalansı ve Risk Faktörlerinin Belirlenmesi

İlayda Yıldırım¹, Buse Öztürk², Damla Ekin Solmaz³, Ersoy Baydar³, Uğur Aydoğdu³

¹Kastamonu University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, Kastamonu, Türkiye

²Balıkesir University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics, Gynecology and Reproduction, Balıkesir, Türkiye

³Balıkesir University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Balıkesir, Türkiye

Cite this article as: Yıldırım İ, Öztürk B, Solmaz DE, Baydar E, Aydoğdu U. Determination of *Aelurostrongylus abstrusus* Prevalence and Risk Factors in Cats from Balıkesir. Türkiye Parazit Derg 2023;47(2):78-82.

ABSTRACT

Objective: The lungworms are nematodes that live as parasites in cat lungs. It is reported that the most common lungworm is *Aelurostrongylus abstrusus* in cats, and also *Capillaria aerophila* is observed. The lungworms can cause infection of the lower respiratory tract, often resulting in bronchitis and pneumonia. In this study, it was aimed to determine the prevalence and risk factors of *A. abstrusus* in cats in the Balıkesir province.

Methods: This study was carried out on 100 cats in Balıkesir province. Fresh stool samples (>15 g) were collected for detection of lungworms after recorded all cat information (breed, age, sex, etc.). Parasite-specific L1 forms were determined from the stool samples by the Baerman-Wetzel technique.

Results: *A. abstrusus* L1's were found in 5 of the 100 stool samples examined. While symptoms of respiratory system disease were observed in 2 of the cats with lungworm, no clinical finding of the presence of parasites was found in 3 of them.

Conclusion: *A. abstrusus* was observed at a level of 5% in this first prevalence study in cats in Balıkesir province.

Keywords: *Aelurostrongylus abstrusus*, clinical symptoms, diagnosis, prevalence

ÖZ

Amaç: Akciğer kurtları, kedilerin akciğerlerinde parazit olarak yaşayan nematodlardır. Kedilerde en sık görülen akciğer kurdunun *Aelurostrongylus abstrusus* olduğu ve ayrıca *Capillaria aerophila*'nın görüldüğü bildirilmektedir. Akciğer kurtları, alt solunum yollarında enfeksiyona neden olarak sıklıkla bronşit ve zatürreye neden olabilir. Bu çalışmada, Balıkesir ilindeki kedilerde *A. abstrusus* prevalansının ve risk faktörlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Bu çalışma Balıkesir ilinde 100 kedi üzerinde gerçekleştirilmiştir. Tüm kedi bilgileri (cins, yaş, cinsiyet vb.) kaydedildikten sonra akciğer nematodlarının tespiti için taze dışkı örnekleri (>15 g) toplanmıştır. Dışkı örneklerinde Baerman-Wetzel tekniği ile parazite özgü L1 formları aranmıştır.

Bulgular: İncelenen 100 dışkı örneğinin 5'inde *A. abstrusus*'a ait L1'ler bulundu. *A. abstrusus* larvası tespit edilen kedilerin 2'sinde solunum sistemi hastalığı belirtileri görülürken, 3'ünde parazit varlığına dair klinik bulguya rastlanmadı.

Sonuç: Balıkesir ilindeki kedilerde yapılan bu ilk prevalans çalışmasında *A. abstrusus* %5 düzeyinde gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Aelurostrongylus abstrusus*, klinik semptomlar, teşhis, yaygınlık

INTRODUCTION

Cat lungworms infect various parts of the respiratory system of domestic and wild felines (1). The nematode species in this group include members of the Metastrongyloidea superfamily, which are

characterized by an indirect life cycle and require intermediate (i.e., snails or slugs) and paratenic (i.e., amphibians, birds, reptiles, and rodents) hosts for their transmission (2). While *Aelurostrongylus abstrusus* (Strongylida: Angiostrongylidae) is considered the

Received/Geliş Tarihi: 09.09.2022 Accepted/Kabul Tarihi: 05.11.2022

Address for Correspondence/Yazar Adresi: İlayda Yıldırım, Kastamonu University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, Kastamonu, Türkiye

Phone/Tel: +90 531 728 10 93 E-mail/E-Posta: ilaydayildirim@kastamonu.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0001-5021-3088

©Copyright 2023 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.turkiyeparazitderg.org

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC-ND) 4.0 International License.

main species infecting domestic cats, other metastrongyloids such as *Troglostrongylus brevior* (Strongylida: Crenosomatidae) and *Oslerus rostratus* (syn. *Anafilaroides rostratus*) (Strongylida: Filar) have long been considered of minimal importance (3,4). Although publications on *Trongylostrongylus* species in cats have increased in recent years, *A. abstrusus* is in the first place among the parasitic agents that cause respiratory tract infections (5). *A. abstrusus*, uses various snails and slugs as intermediate hosts. Birds, rodents, frogs, and lizards are carrier hosts. The development of the parasite is completed by the cat's acquisition of intermediate or carrier hosts (6). *Capillaria aerophila*, another of the lungworms, shows direct growth. Cats become infected by ingesting stools containing *C. aerophila* eggs. The agents are located in the lung parenchyma, bronchioles, and alveoli of the cats, which are the definitive hosts, and occasionally in the pulmonary arteries (7). Although symptoms such as difficulty breathing, coughing after movement, and runny nose can be seen in infected cats, death can only be seen in very severe infections since it is a non-pathogenic factor (8). Diagnosis can be made by stool examination in live cats. The most reliable method is the Baermann-Wetzel method in diagnosis. In addition, can use the flotation method to determine the eggs. With these methods, the larvae and eggs of parasites are detected. The Baermann-Wetzel method is based on collecting and examining water-loving larvae in a narrow area by passing into the water.

Lungworm infections are found in many parts of the world. The prevalence of lungworm infection varies between regions. It has been recorded in almost all European countries, in Australia and the Americas, and occasionally in Asia and Africa. The presence of *A. abstrusus* has been reported as 0.38-50% in cats in European countries and clinical cases in Belgium, France, Ireland, Norway, Poland and Türkiye (9). The first report about the presence of *A. abstrusus* in Türkiye was reported by Oytun (6). Even though case reports related to *A. abstrusus* in Türkiye (10-15) were made, no prevalence studies were found.

This study, it was aimed to determine the prevalence of *A. abstrusus* in cats in Balıkesir province. While studies on the prevalence of lungworms in cats have been carried out in many European countries, it is thought that there is a deficiency in this regard in Balıkesir. For this reason, determining the prevalence of lungworms in cats will provide information on this subject. In this context, revealed the prevalence of *A. abstrusus* was for the first time in Türkiye.

METHODS

The study was designed to include indoor and outdoor, and was conducted on 100 cats living in shelters and privately owned properties in the Balıkesir province. Of the cats, 54 were owned and not connected to the outside environment, 13 were owned but connected to the external environment, and 33 were in the shelter environment. A total of 100 cats aged between 2 and 168 months in the same city centre and rural were analysed. While 40 of the cats included in the study were female and 27 were male, the records of 33 in the shelter could not be reached. Because the fecal samples of the cats shelters have been received after the cats are mass-released to a large area. However, the estimated ages have been registered as under 1 year of age and over, considering the time they stayed in the shelters. The examined cats had 4 Scottish Fold, 1 British Shorthair, 1 Angora, 5 Siamese, 2 Persian, and 87

Tabby and Crossbreeds. In addition, it was determined that 54 of them lived in the home environment. 46 cats were in contact with the outside environment or in shelters (Table 1). Thirty-three of the 46 cats in contact with the outdoors were in the same shelter. After all cat information (breed, age, sex, etc.) was recorded (Table 1), fresh fecal samples (>15 g) for detection of *A. abstrusus* were taken directly from the cages in which the animals were housed and collected in individual sterile plastic containers. Collected faeces were kept at 4 °C and examined as soon as possible (16). Stool samples were examined using the Baerman Wetzel technique to isolate first stage larvae (L1). A sample was considered positive when at least one L1 was identified. Specific morphological and morphometric identification of isolated *A. abstrusus* L1's and differentiation from L1's of other metastrongyloids was achieved by microscopic examination. L1 with the tails's characteristic notch and S-shaped tip was evaluated as *A. abstrusus*. Thorax radiographs were taken following the permission of their owners in 2 cats whose stools were found to contain parasite larvae. In addition, as a single dose applied antiparasitic treatment to 2 of the infected cats and showed symptoms, with a topical formulation (Brodline, Boehringer, New Zealand) containing Fipronil 74.7 mg/(S)-methoprene 90.0 mg/eprinomectin 3.60 mg/and praziquantel 74.7 mg.

Statistical Analysis

In the statistical analysis of the study, descriptive statistics were given for the variables. Variables are expressed as frequency (percentage). The chi-square test was applied to the importance of categorical variables. Analyzes were performed using SPSS Version 22. A value of $p < 0.05$ was considered significant.

Table 1. The positivity rates of *A. abstrusus* according to various variables in the cats examined in this study

Variables	Animals examined	Animals positive	P
Sex			*
Male	27	0	
Female	40	2	
No record	33	3	
Age			0.208 ^a
Over 1 year old	34	3	
Less than 1 year old	66	2	
Habitat			0.519 ^a
Indoor	54	2	
Outdoor (shelter and outdoor access)	46	3	
Antiparasitic therapy			0.100 ^a
Yes	61	0	
No	39	5	
Symptoms			**
Yes	11	2	
No	89	3	

^aChi-square significance level, chi-square test could not be performed because the gender of the cats in the shelter could not be determined. ^{**}chi-square test for symptoms has not been evaluated

RESULTS

Of the 100 cats included in the study, 11 had clinical symptoms such as pulmonary wheezing, coughing, and respiratory distress. However, these clinical symptoms were not observed in 89 of them. Sixty-one cats previously were treated with antiparasitic, but 39 were not treated with antiparasitic.

Specific and morphometric identification of 5 of the 100 cats included in the study and *A. abstrusus* L1's were determined by microscopic examination. In addition, with the specific morphological identification of *A. abstrusus* L1's, it was possible to distinguish them from L1's of other metastrongyloids. L1 with the tails's characteristic notch and S-shaped tip was evaluated as *A. abstrusus* (Figure 1).

Two of these five 5 cats were female and they lived in a different home environment from each other, but they were communicating with the outside environment. Two of the 5 cats had clinical symptoms such as pulmonary wheezing, coughing and respiratory distress, but these clinical symptoms were not observed in 3 of them. Considering the history of the 5 positive cats and the 2 owner cats included in this group, it was learned that they did not apply antiparasitic treatment. Radiographic images (Figure 2) were obtained from 2 of the cats in which larvae were detected in their stools. While detected a mild bronchiole pattern in one of



Figure 1. Appearance of Baermann-Wetzel sediment in cat of *A. abstrusus* first stage larvae (L1)

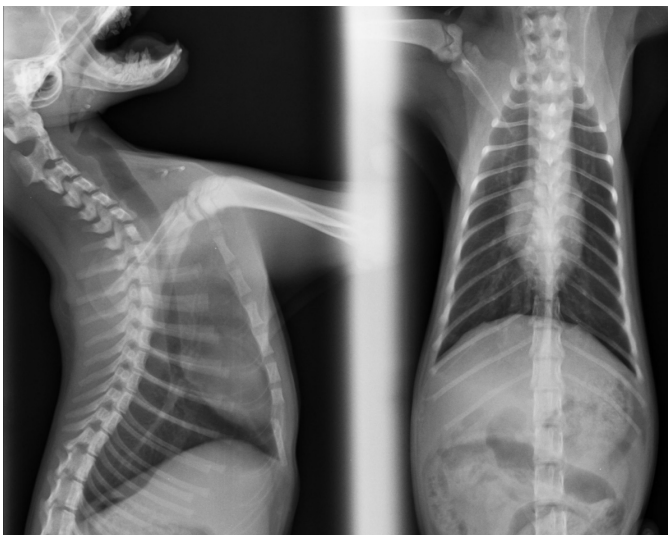


Figure 2. Thoracic radiographs of infected cat with *A. abstrusus*

the cats, no significant finding was found in the other. No parasite larvae were found at the fecal examination after 2 weeks of the cat being supplied with antiparasite treatment. At the same time, these cats did not show clinical symptoms after 2 weeks.

DISCUSSION

Aelurostrongylus abstrusus is the most common lungworm of domestic and wild felines and is found in many parts of the world, including Europe, the United States of America, South America, and Australia (1). This parasite has a significant impact on the health and welfare of cats. Moreover, regional endemism and geographic expansion are observed throughout Europe (5,17). In addition to *A. abstrusus*, other metastrongyloids have been detected in cats lungs in recent studies, such as *Troglostrongylus brevior* (Crenosomatidae) and *Oslerus rostratus* (Filaroididae) and the trichurid *Eucoleus aerophilus* (syn. *Capillaria aerophila*) (1,18). Biological and epidemiological factors appear to increase the risk of infection in cats in certain parts of the world, although some are yet to be confirmed (14-17). The prevalence of lungworm infection in many parts of the world varies considerably between the examined regions. Global prevalence rates range from 50% in free-range cats in Albania (19) to 1% in the mixed cat population in Spain (20). The first report about the presence of *A. abstrusus* in Türkiye was reported by Oytun (6). It was reported by Burgu and Sarimehmetoğlu (8) in 2004 that *A. abstrusus* was detected in two cats. Gökpinar and Yildiz (16), examined the lesions of *A. abstrusus* in the cat lung using scanning electron microscopy. In 2021, Baydar and Kaya (10), detected *A. abstrusus* larvae in a two-month-old cat who had been suffering from respiratory distress for fifteen days in Balıkesir. *A. abstrusus* has a cosmopolitan distribution and has been recorded in nearly all countries in Europe, frequently in Australia and the Americas, and occasionally in Asia and Africa. The presence of *A. abstrusus* has been reported in cats in European countries, 39.7-50% in Albania, 1.8-22.4% in Italy, 0.38-22% in Croatia, 0.5-15.3% in Germany, 3.6% in Great Britain 10.6, 2.6% in the Netherlands, 14.5% in Hungary, 17.4% in Portugal, 5.6% in Romania, 1% in Spain, and clinical cases in Belgium, France, Ireland, Norway, Poland and Türkiye (5). A recent study in England, it was reported that *A. abstrusus* was observed at a rate of 1.7% (21). In this study, it was determined that *A. abstrusus* was observed at a rate of 5% in cats in the Balıkesir province. This result was similar to the rates reported in Europe. However, since the results only include cats in the Balıkesir province, they do not provide information about the prevalence of *A. abstrusus* throughout Türkiye. Recently, the number of cases has been increased in various countries and in the frequency of detection by clinicians (22). This situation may be critical for us to know the general prevalence and to reveal the risk factors to determine the prevalence of lungworms such as *A. abstrusus*. Publications on *Trichostrongylus* species in cats have increased in recent years. In 2020, a case report about *T. brevior* was published in Balıkesir province (23). But *A. abstrusus* is in the first place among the parasitic agents that cause respiratory tract infections. Although cats infected with *A. abstrusus* may experience chronic wasting, coughing, difficulty breathing, pulmonary wheezing, and other signs of lower respiratory disease, asymptomatic cases can also occur with large numbers of larvae in the stools. Diagnosis and treatment delays can lead to severe lesions and even death in infected cats (5,14). Yildiz et al.

(24), reported that hypoventilation and respiratory acidosis were observed in cats with *A. abstrusus*. In this study, while clinical findings were observed in 2 of 5 cats, it was not observed in 3 of them. This supports the existence of cases that scatter larvae and show no symptoms.

It is stated that the access of cats to the outside causes an increased risk of infection (14,17,19). Elsheikha et al. (21), highlighted in their study that keeping cats indoors provides significant protection against infection and that infection is much more common in cats with outside access. In contrast, the same study found no significant difference between cats with outside access and stray cats, possibly due to the small number of cats in these categories (21). In our study, 3 of the 5 positive cats were living in the shelter, while 2 were indoors. However, both of the positive indoor cats were adopted from the street. These results support the view that being cared for in outdoor by cats increases the risk of infection. Although the chi-square test results were insignificant, it was evaluated that the habitat might be effective in the transmission of the parasite due to the fact that 5 cats were connected to the outside, and it was thought that the insignificant results might be related to the low number of cats in the study.

Elsheikha et al. (21), showed that there is no relationship between the history of antiparasitic treatment and the risk of infection. Although antiparasitic therapy is not associated with a significant reduction in the risk of infection, therapy is still an important factor influencing the frequency of infection with lungworm in cats. Whether repeated monthly treatments would increase the efficacy of the product in cats infected by *A. abstrusus* should be defined (25). In this study determined that there was no routine antiparasitic treatment in any of the infected cats. According to the chi-square ($p=0.100$) test results, it was determined that there was no significant relationship between the application of antiparasitic treatment and the risk of parasites.

Various drugs (fenbendazole and ivermectin) are used for the treatment of lungworms (24). A topical formulation containing fipronil, (S)-methoprene, eprinomectin, and praziquantel have been evaluated for efficacy against larvae and adult *A. abstrusus* in experimentally infected cats and are licensed for the treatment of *A. abstrusus* in some countries (26). In this study, applied antiparasitic treatment to 2 of the infected cats and showed symptoms, with a topical formulation (Brodline, Boehringer, New Zealand) containing Fipronil, (S)-methoprene, eprinomectin and praziquantel.

Naturally infected symptomatic cats may also show a mix of bronchial and interstitial pulmonary patterns on thoracic radiographs (27). In this study, radiographic findings of only 2 cats with aelurostrongylosis could be evaluated, while could not be perform radiographic examination of the other 3 positive cats. When evaluated the radiographic findings of 2 infected cats, a mild bronchial pattern was detected in 1, while no significant finding was found in the other.

In conclusion, it was determined that *A. abstrusus* was observed at a rate of 5% in this first prevalence study in cats in Balıkesir province and may be present without any clinical symptoms. In addition, it was concluded that the presence of lungworms in cats with pneumonia should also be considered.

Study Limitations

Molecular research could not be done in this study due to lack of budget. Since some cats were in the shelter environment, their

gender could not be determined. Therefore, statistical analysis could not be performed.

CONCLUSION

In this study, the stools of 100 cats in Balıkesir were evaluated by the Baermann-Wetzel method for diagnosing of *A. abstrusus* larvae. It is the first prevalence study conducted in Balıkesir for this agent, and *A. abstrusus* larvae at the level of 5% were detected microscopically. At the same time, observed respiratory system clinical symptoms in a few of the cats infected with the agent, and the cats showing these symptoms were examined radiographically. We believe that should evaluate clinical symptoms and radiography in addition to the Baermann-Wetzel diagnostic method for *A. abstrusus*. Antiparasitic treatment was applied to cats with clinical findings, and this treatment successfully eliminated the agent. Considering the history of five cats with positive results, it was determined that they were in contact with the street. This study showed that contacting cats on the street with each other is essential in terms of the risk factors of *A. abstrusus*.

* Acknowledgment

The authors thank Assistant Professor Mehmet Özüüçü (Balıkesir University, Faculty of Veterinary Medicine) for the parasitological evaluation.

* Ethics

Ethics Committee Approval: This study was approved by the Balıkesir University Animal Experiments Local Ethics Committee (2019-11-4).

Informed Consent: Not necessary.

Peer-review: Internally and externally peer-reviewed.

* Authorship Contributions

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

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

Financial Disclosure: This study was supported by the Scientific and Technological Research Council of Türkiye (TUBITAK BİDEB, 2209/A).

REFERENCES

- Giannelli A, Capelli G, Joachim A, Hinney B, Losson B, Kirkova Z, et al. Lungworms and gastrointestinal parasites of domestic cats: a European perspective. *Int J Parasitol* 2017; 47: 517-28.
- Bowman DD, Lynn R, Eberhard M. *Parasitology for Veterinarians*. Saunders Company, USA: Philadelphia; 1995.
- Losonsky JM, Thrall DE, Prestwood AK. Radiographic evaluation of pulmonary abnormalities after *Aelurostrongylus abstrusus* inoculation in cats. *Am J Vet Res* 1983; 44: 478-82.
- Gürler AT. Türkiye'de evcil hayvanlarda bulunan solunum sistemi helmintleri [Check list of the helminths in the respiratory system of domesticated animals in Turkey]. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2006; 30: 194-9.
- Elsheikha HM, Schnyder M, Traversa D, Di Cesare A, Wright I, Lacher DW. Updates on feline aelurostrongylosis and research priorities for the next decade. *Parasit Vectors* 2016; 9: 389.

6. Oytun H. Genel Parazitoloji ve Helmintoloji. 2. Baskı. Ankara: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları 1961; 55: 650-1.
7. Tüzer E, Toparlak M, Gargili A, Keleş V, Esatgil MU. A case of *Aelurostrongylus abstrusus* infection in a cat in Istanbul, Turkey and its treatment with moxidectin and levamisole. *Turk J Vet Anim Sci* 2002; 26: 411-4.
8. Burgu A, Sarimehmetoğlu O. *Aelurostrongylus abstrusus* infection in two cats. *Vet Rec* 2004; 154: 602-4.
9. Atasever A, Yazar S. Immun Sistemi Baskılanmış Bir Kedide *Aelurostrongylus abstrusus* Pnömonisi [Aelurostrongylus abstrusus pneumonia in an immunosuppressed cat]. *Türkiye Parazitol Derg* 2009; 33: 89-91.
10. Baydar E, Kaya F. *Aelurostrongylus abstrusus* infection and radiographic findings in a kitten. *Kocatepe Vet J* 2021; 14: 278-83.
11. Gericht CB. Studies on the nematodes parasitic in the lungs of Felidae in Palestine. *Parasitology* 1949; 39: 251-62.
12. Giannelli A, Ramos RA, Annoscia G, Di Cesare A, Colella V, Brianti E, et al. Development of the feline lungworms *Aelurostrongylus abstrusus* and *Troglostrongylus brevior* in *Helix aspersa* snails. *Parasitology* 2014; 141: 563-9.
13. Brianti E, Giannetto S, Dantas-Torres F, Otranto D. Lungworms of the genus *Troglostrongylus* (Strongylida: Crenosomatidae): neglected parasites for domestic cats. *Vet Parasitol* 2014; 202: 104-12.
14. Hansen AP, Skarbye LK, Vinther LM, Willesen JL, Pipper CB, Olsen CS, et al. Occurrence and clinical significance of *Aelurostrongylus abstrusus* and other endoparasites in Danish cats. *Vet Parasitol* 2017; 234: 31-9.
15. Beugnet F, Bourdeau P, Chalvet-Monfray K, Cozma V, Farkas R, Guillot J, et al. Parasites of domestic owned cats in Europe: co-infestations and risk factors. *Parasit Vectors* 2014; 7: 291.
16. Gökpınar S, Yıldız K. Çeşitli Sıcaklık Derecelerinin Kedi Dişkisindeki *Aelurostrongylus Abstrusus* 1. Dönem Larvasının Canlılığına Etkisi [The effect of different temperatures on viability of *Aelurostrongylus abstrusus* first stage larvae in faeces of cats]. *Türkiye Parazitol Derg* 2010; 34: 102-5.
17. Traversa D, Guglielmini C. Feline aelurostrongylosis and canine angiostrongylosis: a challenging diagnosis for two emerging verminous pneumonia infections. *Vet Parasitol* 2008; 157: 163-74.
18. Addie D, Belák S, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Frymus T, Gruffydd-Jones T, et al. Feline infectious peritonitis. ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg* 2009; 11: 594-604.
19. Knaus M, Kusi I, Rapti D, Xhaxhiu D, Winter R, Visser M, et al. Endoparasites of cats from the Tirana area and the first report on *Aelurostrongylus abstrusus* (Railliet, 1898) in Albania. *Wien Klin Wochenschr* 2011; 123(Suppl 1): 31-5.
20. Miró G, Montoya A, Jiménez S, Frisuelos C, Mateo M, Fuentes I. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and intestinal parasites in stray, farm and household cats in Spain. *Vet Parasitol* 2004; 126: 249-55.
21. Elsheikha HM, Wright I, Wang B, Schaper R. Prevalence of feline lungworm *Aelurostrongylus abstrusus* in England. *Vet Parasitol Reg Stud Reports* 2019; 16: 100271.
22. Gunn-Moore D, Elsheikha HM. Current status of feline lungworm in the UK. *Vet Rec* 2018; 182: 113-4.
23. Umur Ş, Barılı Ö, Gencay Topçu EB, Gürler AT. First Report of a *Troglostrongylus brevior* Case in a Domestic Cat in Turkey. *Türkiye Parazitol Derg* 2020; 44: 176-8.
24. Yıldız K, Duru SY, Gokpınar S. Alteration in blood gases in cats naturally infected with *Aelurostrongylus abstrusus*. *J Small Anim Pract* 2011; 52: 376-9.
25. Giannelli A, Brianti E, Varcasia A, Colella V, Tamponi C, Di Paola G, et al. Efficacy of Broadline® spot-on against *Aelurostrongylus abstrusus* and *Troglostrongylus brevior* lungworms in naturally infected cats from Italy. *Vet Parasitol* 2015; 209: 273-7.
26. Knaus M, Chester ST, Rosentel J, Kühnert A, Rehbein S. Efficacy of a novel topical combination of fipronil, (S)-methoprene, eprinomectin and praziquantel against larval and adult stages of the cat lungworm, *Aelurostrongylus abstrusus*. *Vet Parasitol* 2014; 202: 64-8.
27. Dennler M, Bass DA, Gutierrez-Crespo B, Schnyder M, Guscetti F, Di Cesare A, et al. Thoracic computed tomography, angiographic computed tomography, and pathology findings in six cats experimentally infected with *Aelurostrongylus abstrusus*. *Vet Radiol Ultrasound* 2013; 54: 459-69.

Retrospective Analysis of Serology and Radiology Results in Patients with Suspected Cystic Echinococcosis Through 3 Years Period

Kistik Ekinokkoz Şüphesiyle Serolojik ve Radyolojik Değerlendirme Yapılan Hastaların Üç Yıllık Periyotta Retrospektif Analizi

✉ Büşra Betül Özmen Çapın¹, ✉ Barış Can¹, ✉ Meltem Kurşun², ✉ Canan Cimşit², ✉ Ayşegül Karahasan¹

¹Marmara University Pendik Research and Training Hospital, Department of Medical Microbiology, İstanbul, Türkiye

²Marmara University Pendik Research and Training Hospital, Department of Radiology, İstanbul, Türkiye

Cite this article as: Özmen Çapın BB, Can B, Kurşun M, Cimşit C, Karahasan A. Retrospective Analysis of Serology and Radiology Results in Patients with Suspected Cystic Echinococcosis Through 3 Years Period. Türkiye Parazitoloj Derg 2023;47(2):83-7.

ABSTRACT

Objective: Cystic echinococcosis (CE), caused by the larval stage of *Echinococcus granulosus* sensu lato, is one of the neglected zoonotic infectious diseases and Türkiye is among the endemic countries. This study was designed to analyze serology results for patients who were diagnosed as CE by clinical symptoms and radiological methods over a three-year period.

Methods: Sera were analyzed for Anti-*E. granulosus* IgG by a chemiluminescence immunoassay (CLIA) (HYDATIDOSIS VIRCLIA® IgG MONOTEST, Vircell) using the VIRCLIA® (CLIA; Vircell, Granada, Spain) and results processed by the dedicated software. Cut-off for a positive test was ≥ 1.1 index value. Echinococcal cysts were detected based on ultrasonography, computed tomography, and magnetic resonance imaging.

Results: A total of 244 sera were analyzed from 109 patients, during three-year-period from January 2018 to December 2020. Anti-*E. granulosus* IgG was ordered twice in 89 patients, three times in 15 patients, four times in four patients, and five times in one patient. CLIA test was positive among 41 of 109 (37.6%) patients in whom 32 (76%) had only hepatic involvement, whereas in 5 (12%) hepatic and pulmonary involvement were coexisted. The mean age of seropositive patients was 39.8 (6-75 $\pm$ 2.72) and 61.9% of them (n=26) were female. Time intervals between sequential test orders varied from 1 day to 33 months. Eight seropositive patients turned out to be negative, and one of 66 seronegative patients became seropositive. Positive test results were converted to negative in the case of therapy or cyst inactivity.

Conclusion: We may conclude that CLIA could be used as a complementary tool for CE patient follow-up.

Keywords: Cystic echinococcosis, CLIA, serology, radiology

ÖZ

Amaç: *Echinococcus granulosus* sensu lato'nun larval evresinin neden olduğu kistik ekinokokkoz (CE), ihmal edilen zoonotik enfeksiyon hastalıklarından biridir. Türkiye CE açısından endemik ülkeler arasında yer almaktadır. Bu çalışma, klinik semptomlar ve radyolojik yöntemlerle CE tanısı konan hastaların seroloji sonuçlarını üç yıllık bir süre içinde analiz etmek için tasarlanmıştır.

Yöntemler: Serum örnekleri VIRCLIA® (CLIA; Vircell, Granada, İspanya) kullanılarak bir kemilüminesans immünoanaliz (CLIA) (HYDATIDOSIS VIRCLIA® IgG MONOTEST, Vircell) yöntemi ile anti-*E. granulosus* IgG için analiz edildi ve sonuçlar özel bir yazılım programı kullanılarak değerlendirildi. Pozitif sonuç için indeks değeri $\geq 1,1$ olarak belirlendi. Ekinokok kistlerinin tespitinde ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme kullanıldı.

Bulgular: Ocak 2018-Aralık 2020 tarihleri arasında 109 hastadan toplam 244 serum analiz edildi. Anti-*E. granulosus* IgG 89 hastada iki kez, 15 hastada üç kez, dört hastada dört kez ve bir hastada beş kez istendi. CLIA testi hastaların 41'inde (37,6) pozitif bulundu ve bu hastaların 32'sinde (%76) sadece karaciğer tutulumu var iken, 5'inde (%12) akciğer ve karaciğer tutulumu birlikte saptandı. Seropozitif hastaların yaş ortalaması 39,8 (6-75 $\pm$ 2,72) olup, %61,4'ü kadındı. Ardışık test istemleri arasındaki zaman aralıkları 1 gün ile 33 ay arasında değişiyordu. İzlem sürecinde 8 seropozitif hasta negatife dönerken 66 seronegatif hastadan biri seropozitif oldu. Pozitif serolojinin tedavi veya kist inaktivasyonu durumunda negatife dönüştüğü belirlendi.

Sonuç: CLIA'nın CE hasta takibi için tamamlayıcı bir tanı yöntemi olarak kullanılabileceği sonucuna varılabilir.

Anahtar Kelimeler: Kistik ekinokokkoz, CLIA, seroloji, radyoloji

Received/Geliş Tarihi: 25.08.2022 Accepted/Kabul Tarihi: 14.02.2023

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Ayşegül Karahasan, Marmara University Pendik Research and Training Hospital, Department of Medical Microbiology, İstanbul, Türkiye

Phone/Tel: +90 532 582 35 82 **E-mail/E-Posta:** aysegulkarahasan@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-1560-2624

INTRODUCTION

Cystic echinococcosis (CE) is a debilitating disease amongst neglected zoonotic infections and caused by the larval stage of the cestode *Echinococcus granulosus* sensu latu. The parasite is transferred from definitive hosts namely domestic dogs to livestock as its intermediate hosts (1). Human, in whom the larval stage occurs as hydatid cysts to a large extent in liver and lungs, acts as dead-end intermediate host (2). This infection has a chronic clinical course, and may cause serious morbidity, and over 1 million cases are reckoned all over the world (3). Several studies conducted among primary school population showed that CE prevalence in Türkiye is around 0.2 to 1.1% and these percentages expected to be increased with age (4-7). According to a cross-sectional, ultrasonography (US)-based, population study from the HERACLES project, the prevalence of abdominal CE was determined to be 0.59% in our country, and the calculated number of people who may be infected with CE was slightly over 100.000 in the rural areas (8).

Abdominal organs were affected in more than 70% of the cases and the diagnosis of CE primarily relies on radiology, namely US which is the reference method for staging of CE cysts. Serological methods including indirect hemagglutination assay, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), western blot (WB), chemiluminescence immunoassay (CLIA) basically act as complementary tools for spotting antibodies in sera of suspected individuals. These techniques maintain their significance in case imaging results are uncertain or there is no experienced radiologist in the diagnosis of CE (9). Multiple factors (individual-related, test-related, setting-related, and cyst-related components) may affect the result and interpretation of serological tests. Although cross-reactivity arising from other cestode or helminth infections, malignities, hepatic cirrhosis may decrease specificity of the tests, a study which compares nine different sero assays CLIA showed 100% specificity (9,10). Studies from different centers in Türkiye revealed that 15.2-32% of clinically CE-suspected patients were seropositive (11-13).

In this retrospective study, we analysed CLIA results of our patients who were diagnosed as CE by clinical symptoms and radiological methods over three-year-period in order to evaluate the diagnostic value of CLIA for patients' follow-up.

METHODS

Study Group

This study was conducted at a tertiary referral center in İstanbul during three-year-period from January 2018 to December 2020. Clinical and radiological features of 109 patients whose repetitive serum samples were sent to microbiology laboratory for serological analysis of CE were analyzed. Data in terms of patients' demographic features (age and sex), administrative information (referral department), and medical history were obtained from hospital database. The study was approved by Local Ethics Committee of Marmara University (approval number: 1.4.2022-09.2022.522).

Serological Investigation

Sera were analyzed by a CLIA (HYDATIDOSIS VIRCLIA® IgG MONOTEST, Viracell) using the VIRCLIA® (CLIA; Viracell, Granada, Spain) and results were interpreted according to the manufacturer's instructions. Briefly, each assay consists of three

reaction wells and five reagent wells [the conjugate containing anti-human IgG antibodies coupled with peroxidase, the serum dilution solution, the calibrator and two substrate components (peroxidase and luminol)]. The results are expressed as an "antibody index" [=sample relative light unit (RLU)/calibrator RLU], samples with indexes <0.9 are considered negative, while samples >1.1 are considered positive. Samples with an index between both values were considered equivocal and were retested.

Radiological Features

Echinococcal cysts were classified mainly based on US, computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) according to the WHO-IWGE classification (14). Cysts were grouped into active (CE1, CE2, CE3a, CE3b) or inactive (CE4, CE5) CE. When ≥2 CE cysts were present, the patient was grouped according the active cyst, and when more cysts of the same stage were present, the patient was grouped according to the cyst of largest diameter.

Statistical Analysis

A descriptive data set based on patients' records was prepared. Data were analysed in IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). Descriptive statistics such as frequency, percentage, mean ± standard error was used to evaluate the data set.

RESULTS

A total of 244 sera was sent from 109 patients with suspected CE. Majority of the tests (67%) were ordered by clinicians from general surgery, internal medicine, and infectious diseases departments. The mean age of the patients was 43.7 (6-81±1.8) and 61.4% was female. A total of 47 (43%) patients underwent surgery and PAIR was used in 25 (22%) patients.

Time interval between sequential test orders varied between one day to 33 months. Median time interval between two serological test orders was five months. Anti-*E. granulosus* IgG was ordered twice in 89 patients, three times in 15 patients, four times in four patients, and five times in one patient. CLIA test was positive among 41 of 109 (37.6%) patients (Table 1). Among seropositive patients, 32 (76%) had only hepatic involvement whereas in 5 (12%) hepatic and pulmonary involvement were coexisted. Mean age of seropositive patients was 39.8 (6-75±2.72) and 61.9% of them (n=26) were female.

During the given period, CLIA results of 11 patients showed a categorical change (Table 1). Eight of 41 seropositive patients turned to be negative and one of 66 seronegative patients became seropositive during follow-up. The patient who became seropositive was a 39-year-old female having multiple hepatic cysts under 5 cm and referred from department of general surgery. Her hydatid cysts were progressed with a dimension increase exceeding 5 cm and the patient turned positive 11 months later than the initial serum sample. Two children who had borderline samples became negative had hepatic cysts smaller than 5 cm. They were treated with drugs and no size change occurred during the follow-up. Among 41 initially seropositive patients, eight patients became seronegative (Table 2). Three patients (patients 1, 4, 5) underwent surgical resection. In 3 patients (patients 3, 7, 8) cysts became inactive during the follow-up although no dimensional change occurred. One patient's (patient 2) cyst size was the same as for both dimensional and activity however

the serum sample turned to be negative. There was no sequential radiological imaging in one patient (patient 6) and the reason for becoming seronegative is not clear.

DISCUSSION

According to the multicenter database of the European Register of Cystic Echinococcosis, the real burden of human CE remains

elusive, due to the peculiar characteristics of the disease, the heterogeneous and incomplete data recording of clinical cases and incomplete or inefficient official notification systems to compare different treatment outcomes (15). The expert consensus on the diagnosis and treatment of CE in humans underlines that diagnosis relies on clinical findings of patients, findings obtained from imaging tools and results of serological assays (9). Although there are different methods for radiological diagnosis like USG, CT

Table 1. Results of serological test of cystic echinococcosis patients during three-year-follow-up period

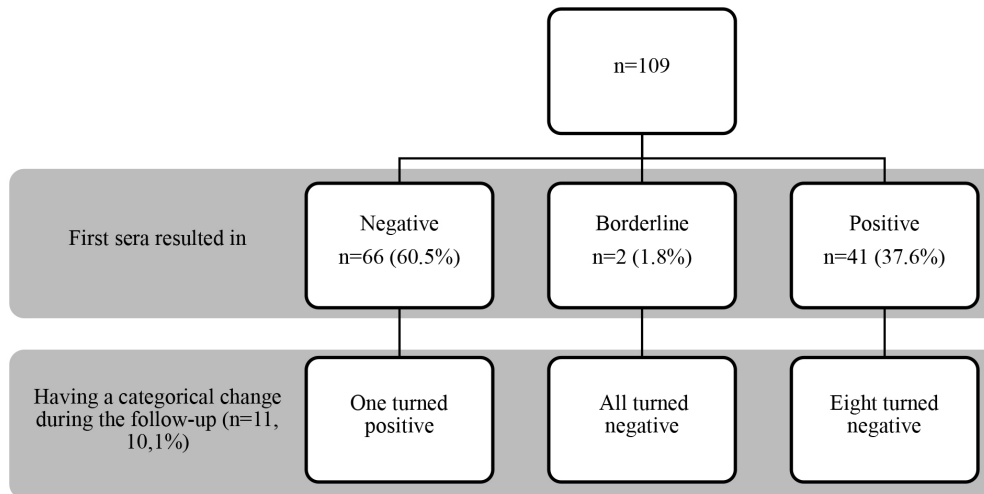


Table 2. Timeline of seropositive patients who become seronegative during the follow-up

Patient no.	Sex, age	Date and index value of serum	Imaging	Date and index value of serum	Imaging	Date and index value of serum	Imaging	Date and index value of serum	Imaging
1	Male, 35	November 2018 3,704	Hepatic CE* right, >10 cm	February 2020 0,858	Resected				
2	Female, 42	February 2018 1,816	Hepatic CE right, <5 cm	October 2018 0,966	Hepatic CE right, <5 cm	March 2019 0,249	Hepatic CE right, <5 cm		
3	Female, 40	December 2018 1,332	Hepatic CE 5-10 cm	September 2019 0,648	Hepatic CE 5-10 cm, inactive				
4	Female, 46	March 2019 7,915	Hepatic CE	August 2019 3,895	Resected	July 2020 0,841	Resected		
5	Male, 55	March 2018 1,949	Hepatic CE surgical treatment	July 2018 1,588	Resected	January 2019 1,152	Resected	January 2020 0,737	Resected
6	Female, 66	January 2019 2,355	Hepatic CL† 5-10 cm	September 2019 0,691	Not performed				
7	Male, 16	April 2018 1,295	Hepatic CE <5 cm	January 2020 0,237	Hepatic CE <5 cm, inactive				
8	Female, 55	October 2019 1,495	Hepatic CE right, 5-10 cm multiple cysts	December 2020 0,888	Hepatic CE right, 5-10 cm multiple cysts, inactive				

*CE: Cystic echinococcosis, †CL: Cystic lesion

and MRI, USG is the method of choice for the detection of both hepatic and extrahepatic echinococcal cysts and it is also helpful in the follow-up period and sensitivity ranges from 93-98%. CT or MRI can be used in small cysts and if USG is not appropriate in terms of anatomic location (16). Echinococcal cysts were classified mainly based on US in our study according to the WHO-IWGE classification.

The prevalence of CE is reported to be higher in women and in our study, women constitute 59.4% of the cases (17). In CE patients, the liver is the most commonly affected organ and involvement of the right lobe is more common than the left lobe (18). The lung is the next commonly affected organ (19). In our study, among seropositive patients, 32 (76%) had only hepatic involvement whereas in 5 (12%) hepatic and pulmonary involvement were coexisted.

The assessment of serum anti-*Echinococcus granulosus* antibodies is applied as a complementary tool when imaging is not pathognomonic, or radiologists are not experienced enough in CE diagnosis. Performance of serological tests depends on a variety of features related to both the assay and the patients. There is no hundred percent valid algorithm to comply for choosing or interpretation of serological test for the diagnosis of CE. Ideally, two assays, including a test with high sensitivity for the detection of serum antibody followed by confirmation with a high-specific serological test, are recommended. A possible case is defined when a patient is having a clinical or epidemiological characteristic, and radiological findings or seropositivity for CE, whereas a probable case is defined when a patient is having a combination of both clinical and epidemiological history, imaging findings, and seropositivity on two tests. In Türkiye, only one serological assay can be reimbursed to the hospitals as the current "health practice statement" and automated CLIA test was used as a single assay for detection *E. granulosus* IgG antibody.

CE is frequently diagnosed clinically and radiologically in Türkiye and sero epidemiological field studies are limited. Serum samples (n=2.390) of suspected Echinococcosis patients sent to the National Parasitology Reference Laboratories of the General Directorate of Public Health were investigated for the presence of antibodies and 388 (16.2%) samples were found to be positive (20). In this study, it is not clear if samples are unique or there were repetitive samples. We have detected seropositivity by CLIA test among 41 of 109 (37.6%) patients in our study. When nine commercial assays including five ELISA, two WB, one CLIA, and one immunochromatographic test (ICT), for 135 hepatic CE patients were compared, only CLIA Vircell reached to 100%, specificity (10). False negative antibody results were reported due to cyst stage, cyst size, localization, and even due to the medical treatment of CE with albendazole and rupture of cysts (21-24).

Treatment options for CE are surgery, percutaneous procedures, drug treatment and observation (watch and wait) (9). Although surgery is mainly indicated in the treatment of hydatid disease, less invasive methods may be preferred more because of their successful results (17). In our study, a total of 47 (43%) patients underwent surgery and PAIR was used in 25 (22%) patients. As a limitation of the retrospective structure of the study, we could not exactly say the number of patients who received different kinds of treatment in between repetitive sampling, since detailed anamnesis of all patients were not accessible. Patients were on follow-up because of either their laboratory results or radiological findings regarding CE or previously diagnosed-CE.

There are limited studies that analyse the sero reactivity survey among repeated patient samples. Among 41 initially seropositive patients, eight patients became seronegative in our group. Three patients underwent surgical resection, and three patients' cysts became inactive during the follow-up although no dimensional change occurred. Two children who had borderline samples were treated with drugs and although no size change occurred during the follow-up, the serum samples turned to be negative. One patient become seropositive and her hydatid cysts were progressed with a dimensional increase exceeding 5 cm, as a previous study implies that there is a positive correlation between serological response and increased cyst size among active cysts (22). Seroconversion of CE patients is suggested as an indicator of therapeutic success (23). Although it may depend on the serological assay used, a follow-up study showed that serological method fails to detect recurrence (25). Studies illustrated that stage-specific approach is crucial and serological methods have an additional role to imaging tools for CE follow-up (26).

CONCLUSION

Even though considerable progress has been made, uncertainties remain in the diagnosis and treatment of CE. Imaging techniques may not recognize early-stage cysts. Therefore new serodiagnostic tests that can be widely used and has high sensitivity and specificity should be defined. Serological methods can guide clinicians in the diagnosis of CE, although we have a small number of patients, we also suggest that CLIA could be used as a complementary tool for CE patients' follow-up.

* Ethics

Ethics Committee Approval: The study was approved by Local Ethics Committee of Marmara University (approval number: 1.4.2022-09.2022.522).

Informed Consent: Retrospective study.

Peer-review: Internally and externally peer-reviewed.

* Authorship Contributions

Surgical and Medical Practices: B.B.Ö.Ç., B.Ç., A.K., Concept: B.C., A.K., Design: B.B.Ö.Ç., B.C., A.K., Data Collection or Processing: B.B.Ö.Ç., B.C., M.K., C.C., A.K., Analysis or Interpretation: B.B.Ö.Ç., B.C., M.K., C.C., A.K., Literature Search: B.B.Ö.Ç., A.K., Writing: A.K.

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

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

REFERENCES

1. Romig T, Deplazes P, Jenkins D, Giraudoux P, Massolo A, Craig PS, et al. Ecology and Life Cycle Patterns of Echinococcus Species. *Adv Parasitol* 2017; 95: 213-314.
2. Kern P, Menezes da Silva A, Akhan O, Müllhaupt B, Vizcaychipi KA, Budke C, et al. The Echinococcoses: Diagnosis, Clinical Management and Burden of Disease. *Adv Parasitol* 2017; 96: 259-369.
3. World Health Organization (WHO) [Internet]. Echinococcosis. [cited 2022 June 10] Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/echinococcosis>.
4. Bakal U, Kazez A, Akyol M, Kocakoc E, Simsek S. A portable ultrasound based screening study on the prevalence and risk factors of cystic

- echinococcosis in primary school children in East Turkey. *Acta Trop* 2012; 123: 91-5.
5. Kilimcioglu AA, Ozkol M, Bayindir P, Girginkardeşler N, Ostan I, Ok UZ. The value of ultrasonography alone in screening surveys of cystic echinococcosis in children in Turkey. *Parasitol Int* 2006; 55: 273-5.
 6. Ok UZ, Ozkol M, Kilimcioglu AA, Dinç G, Bayindir P, Ostan I, et al. A province-based study using sampling method to investigate the prevalence of cystic echinococcosis among primary school children in Manisa, Turkey. *Acta Trop* 2007; 103: 116-22.
 7. Ozkol M, Kilimcioglu AA, Girginkardeşler N, Balcioglu IC, Sakru N, Korkmaz M, et al. A discrepancy between cystic echinococcosis confirmed by ultrasound and seropositivity in Turkish children. *Acta Trop* 2005; 93: 213-6.
 8. 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.
 9. Brunetti E, Kern P, Vuitton DA; Writing Panel for the WHO-IWGE. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta Trop* 2010; 114: 1-16.
 10. Tamarozzi F, Longoni SS, Vola A, Degani M, Tais S, Rizzi E, et al. Evaluation of Nine Commercial Serological Tests for the Diagnosis of Human Hepatic Cyst Echinococcosis and the Differential Diagnosis with Other Focal Liver Lesions: A Diagnostic Accuracy Study. *Diagnostics (Basel)* 2021; 11: 167.
 11. Esenkaya Taşbent F, Yağcı B, Kadiyoran C, İyisoy MS. Comparative Evaluation of the Efficacy of Indirect Hemagglutination Test and Radiological Methods in the Pre-diagnosis of Cystic Echinococcosis. *Türkiye Parazitol Derg* 2021; 45: 22-7.
 12. Samancı Aktar G, Ayaydın Z, Rahmanalı Onur A, Uzala Mızraklı A, Tekay F. Retrospective Evaluation of Cases with the Pre-diagnosis of Cystic Echinococcosis Admitted to the Microbiology Laboratory of Diyarbakır Health Sciences Gazi Yaşargil Training and Research Hospital Between 2014 and 2017. *Türkiye Parazitol Derg* 2020; 44: 207-10.
 13. Ertabaklar H, Yıldız İ, Malatyali E, Tileklioğlu E, Çalışkan SÖ, Ertuğ S. Retrospective Analysis of Cystic Echinococcosis Results in Aydın Adnan Menderes University Training and Research Hospital Parasitology Laboratory Between 2005 and 2017. *Türkiye Parazitol Derg* 2019; 43: 118-22.
 14. WHO Informal Working Group. International classification of ultrasound images in cystic echinococcosis for application in clinical and field epidemiological settings. *Acta Trop* 2003; 85: 253-61.
 15. Rossi P, Tamarozzi F, Galati F, Akhan O, Cretu CM, Vutova K, et al. The European Register of Cystic Echinococcosis, ERCE: state-of-the-art five years after its launch. *Parasit Vectors* 2020; 13: 236.
 16. Mandal S, Mandal MD. Human cystic echinococcosis: epidemiologic, zoonotic, clinical, diagnostic and therapeutic aspects. *Asian Pac J Trop Med* 2012; 5: 253-60.
 17. Pakala T, Molina M, Wu GY. Hepatic Echinococcal Cysts: A Review. *J Clin Transl Hepatol* 2016; 4: 39-46.
 18. Budke CM, Carabin H, Ndimubanzi PC, Nguyen H, Rainwater E, Dickey M, et al. A systematic review of the literature on cystic echinococcosis frequency worldwide and its associated clinical manifestations. *Am J Trop Med Hyg* 2013; 88: 1011-27.
 19. Wen H, Vuitton L, Tuxun T, Li J, Vuitton DA, Zhang W, et al. Echinococcosis: Advances in the 21st Century. *Clin Microbiol Rev* 2019; 32: e00075-18.
 20. Yücesan B, Babür C, Kılıç S, Dikmen AU. Evaluation of Echinococcosis Pre-Diagnosis Patients Admitted to the National Parasitology Reference Laboratory of Turkey from 2014-2019. *Iran J Parasitol* 2022; 17: 250-8.
 21. Li T, Ito A, Pengcui R, Sako Y, Chen X, Qiu D, et al. Post-treatment follow-up study of abdominal cystic echinococcosis in tibetan communities of northwest Sichuan Province, China. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5: e1364.
 22. Lissandrini R, Tamarozzi F, Piccoli L, Tinelli C, De Silvestri A, Mariconti M, et al. Factors Influencing the Serological Response in Hepatic Echinococcus granulosus Infection. *Am J Trop Med Hyg* 2016; 94: 166-71.
 23. Sarink MJ, van Genderen PJJ, Tielens AGM, van Hellemond JJ. Ruptured Echinococcus granulosus cysts in migrants: Is excessive antigen release causing false negative serology? *Travel Med Infect Dis* 2020; 35: 101412.
 24. Tamarozzi F, Silva R, Fittipaldo VA, Buonfrate D, Gottstein B, Siles-Lucas M. Serology for the diagnosis of human hepatic cystic echinococcosis and its relation with cyst staging: A systematic review of the literature with meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis* 2021; 15: e0009370.
 25. Stojkovic M, Adt HM, Rosenberger K, Boubaker G, Hernandez-Gonzalez A, Junghanss T, et al. Follow-up of surgically treated patients with cystic echinococcosis: can novel recombinant antigens compete with imaging? Analysis of a patient cohort. *Trop Med Int Health* 2017; 22: 614-21.
 26. Piccoli L, Tamarozzi F, Cattaneo F, Mariconti M, Filice C, Bruno A, et al. Long-term sonographic and serological follow-up of inactive echinococcal cysts of the liver: hints for a "watch-and-wait" approach. *PLoS Negl Trop Dis* 2014; 8: e3057.

Ağrı Yöresi Sığırlarında *Toxocara vitulorum*'un Yayılışı

Distribution of *Toxocara vitulorum* in Cattle of Ağrı Region

✉ Milad Torkamanian Afshar¹, ✉ Selahattin Aydemir¹, ✉ Hasan Yılmaz¹, ✉ Rahmi Yıldız²,
✉ Fethi Barlık³, ✉ Muhammed Yasul¹

¹Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye

²Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Gevâş Meslek Yüksekokulu, Van, Türkiye

³Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Van Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Van, Türkiye

Cite this article as: Afshar MT, Aydemir S, Yılmaz H, Yıldız R, Barlık F, Yasul M. Distribution of *Toxocara vitulorum* in Cattle of Ağrı Region. Türkiye Parazit Derg 2023;47(2):88-92.

ÖZ

Amaç: Sığır, manda ve bizonların ince bağırsaklarında parazitlenen *Toxocara vitulorum*, Türkiye dahil, nemli iklime sahip tropikal ve subtropikal iklim kuşağında bulunan ülkelerde görülmektedir. Erişkin parazitler özellikle buzağlarda iştahsızlık, zayıflama, ishal veya kabızlık gibi sindirim bozukluklarına ve bazen ölümlere neden olabilmektedir. Bu çalışma, Ağrı yöresi sığırlarında *T. vitulorum*'un yayılışını araştırmak amacıyla yapıldı.

Yöntemler: Bu çalışmada, Ağrı ili ve ilçelerinde 0-6 aylık 200 buzağı ve 1 yaştan büyük 200 sığır rektumundan bir ceviz büyüklüğünde dışkı örneği alınarak, doymuş çinko sülfat flotasyon yöntemi ile preparatlar hazırlandı ve preparatlar ışık mikroskopunda incelendi.

Bulgular: Dışkı örnekleri incelenen 0-6 aylık 200 buzağının 70'inde (%35), bir yaş üstü 200 sığırın 21'inde (%10,5) *T. vitulorum* yumurtası saptandı. Bir yaş üstü sığırlar ile buzağlar arasındaki pozitiflik farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,001$). Dışkı bakısı yapılan buzağların 22'sinde (%11) ise *Trichostrongylidae* spp. yumurtaları saptandı.

Sonuç: Ağrı iline bağlı Diyadin, Eleşkirt, Doğubayazıt, Hamur, Taşlıçay, Tutak ve Patnos ilçelerinde buzağlarda *T. vitulorum* yaygınlığının yüksek olduğu saptanmıştır. Sığır yetiştiriciliğinde önemli verim düşüklüğüne neden olan bu parazitin yayılışı ile ilgili daha büyük çaplı araştırmaların yapılması gerektiği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Ağrı, *T. vitulorum*, *Trichostrongylidae* spp.

ABSTRACT

Objective: Parasitizing in the small intestines of cattle, buffalo and bison, *Toxocara vitulorum* is seen in countries with humid tropical and subtropical climates, including Türkiye. Adult parasites can cause digestive disorders such as loss of appetite, weakness, diarrhea or constipation, and sometimes death, especially in calves. This study was planned to investigate the distribution of *T. vitulorum* in cattle of the Ağrı region.

Methods: In this study, stool samples of the size of a walnut were taken from the rectum of 200 calves 0-6 months old and 200 cattle older than 1 year in the province of Ağrı and its districts, and the preparations were prepared using the saturated zinc sulfate flotation method and the preparations were examined under a light microscope.

Results: *T. vitulorum* eggs were detected in 70 (35%) of 200 calves aged 0-6 months and 21 (10.5%) of 200 cattle over one year old. The difference in positivity between cattle over one year old and calves was statistically significant ($p=0.001$). With fecal examination in 22 of the calves (11%), *Trichostrongylidae* spp. eggs were detected.

Conclusion: It was determined that the prevalence of *T. vitulorum* in calves was high in Diyadin, Eleşkirt, Doğubayazıt, Hamur, Taşlıçay, Tutak and Patnos districts of Ağrı province. We believe that larger-scale studies should be conducted on the spread of this parasite, which causes significant low yields in cattle breeding.

Keywords: Ağrı, *T. vitulorum*, *Trichostrongylidae* spp.

Geliş Tarihi/Received: 18.07.2022 Kabul Tarihi/Accepted: 29.11.2022

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Milad Torkamanian Afshar, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye

Tel/Phone: +90 531 512 51 99 **E-Posta/E-mail:** mtamilad@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0003-1978-4127

©Telif hakkı 2023 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.turkiyeparazitderg.org web sayfasından ulaşılabilir.

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC-ND) 4.0 International License.

GİRİŞ

Toxocara vitulorum (*T. vitulorum*), Türkiye dahil nem oranı yüksek ılıman iklim kuşağına sahip tropikal ve subtropikal ülkelerde görülen ve özellikle altı aydan küçük buzağılarda ekonomik kayıplara yol açan intestinal bir askaritir. Bizon, manda, malak ve sığırların ince bağırsağında yaşayan bu solucanın dişisi 8-30 cm ve erkeği ise 6-25 cm uzunluğundadır (1-4).

T. vitulorum yumurtası kalın kabuklu olup çevre şartlarına karşı oldukça dirençlidir (5,6). Meralar ve sığır yetiştiriciliğinin olduğu yerleşim yerlerinde çevreye saçılan bu yumurtalar uzun yıllar enfeksiyon yapma yeteneklerini korurlar. Konaklar tarafından yutulan enfektif yumurtalar bağırsakta açılır. Yumurtalardan çıkan larvalar bağırsak duvarına nüfuz eder ve bağırsak duvarını delerek karaciğer ve akciğerlere ulaşır, buradan da tekrar bağırsağa döner. Larva göçü olarak adlandırılan bu dönemde larvalar bağırsak duvarında hasara, karaciğer ve akciğerde fokal nekroz odaklarına ve bölgesel lenf yumrularının yangısı sonucu eosinofiliye sebep olur (7-9).

T. vitulorum'un hem doğum öncesi intrauterin yolla hem de doğum sonrası süt ile bulaşp enfeksiyona yol açtığı bilinmektedir. Doğum sırasında meme bezlerine göç eden larvalar gebeliğin son aşamalarında aktivite kazanarak, plasenta yoluyla prenatal enfeksiyona neden olurken, kalan larvalar meme dokusunda kolostrum ve süt yoluyla yavruları enfekte etmeye devam eder. Doğum sonrası buzağı kolostrum veya süt emince, üçüncü dönem larva buzağının bağırsağına yerleşir ve gömlek değiştirerek erişkin solucana dönüşüp yumurtlamaya başlar. Yumurtalar dışkı ile dışarı atılır ve etrafa saçılmış olur (5-7,10-12).

Enfeksiyon buzağılarda genellikle subklinik seyreder. Ancak parazit yükünün fazla olduğu yoğun enfeksiyonlarda, karın ağrısı, ishal, yağlı ve pis kokulu dışkı, keskin ağız kokusu, bağırsaklarda tıkanma, burulma ve delinme, uzun süre devam etmesi durumunda sıklıkla 1-3 aylık buzağılarda, seyrek olarak altı aydan büyük sığırlarda kaşeksi ve ölümlere neden olarak önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır (5-9,12-14).

Türkiye genelinde sığır varlığı 2021 TÜİK verilerine (15) göre, 17 milyon 850 bin 543'tür. Bu verilere göre, ekonomik temeli hayvancılığa dayalı ve sığır yetiştiriciliğinin yoğun yapıldığı illerden biri de Ağrı'dır. Ağrı ili Türkiye toplam sığır varlığının yaklaşık olarak %2,2'sine sahiptir. Diğer yandan Ağrı yatırım destek ofisinin verilerine (16) göre, Türkiye'nin kuzey doğu bölgesinin çayır ve mera alanının %36'lık kısmı Ağrı sınırları içerisinde olup, çayır ve mera alanları Türkiye ortalaması olan 18,7'nin yaklaşık 2,5 katıdır. Bu çalışma, sığır yetiştiriciliğinin ve mera hayvancılığının yaygın olduğu Ağrı yöresinde *T. vitulorum*'un sığırlardaki yaygınlığını araştırmak amacıyla yapılmıştır.

YÖNTEMLER

Çalışma için Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay (tarih-karar no: 29/04/2021-2021/04-03) alındı. Mayıs-Eylül 2021 tarihleri arasında Ağrı merkez ile Diyadin, Doğubayazıt, Eleşkirt, Hamur, Patnos, Taşlıçay ve Tutak ilçelerinde yerleşim birimlerine gidilerek değişik yaş ve cinsiyette 0-6 aylık 200 adet buzağı ve bir (1) yaş üstü 200 sığır olmak üzere toplam 400 hayvan çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen hayvanlar kışları ahırda yazları merada beslenen sürülerden seçildi. Seçilen her bir hayvanın rektumundan yaklaşık bir ceviz büyüklüğünde dışkı örneği alınarak dışkı kaplarına

konuldu. Alınan örnekler Van Yüzüncü Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'na ulaştırıldı. Dışkılar önce makroskopik olarak incelendi. Daha sonra örneklerle doymuş çinko sülfat flotasyon yöntemi uygulanarak ıslak preparatlar hazırlandı. Preparatlar ışık mikroskobu altında 10 ve 40'lık objektiflerle incelendi.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için hayvanların yaş ve cinsiyet bilgileri kayıt altına alındı. Kategorik veriler arasındaki ilişki Z (t) oran testi kullanılarak belirlendi. Analizler Minitab (ver: 14) istatistik paket programı kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

Makroskopik olarak incelenen dışkı numunelerinin hiçbirinde *T. vitulorum* erişkinine rastlanmadı. Dışkı örnekleri incelenen 0-6 aylık 200 buzağının 70'inde (%35), bir yaş üstü 200 sığırın 21'inde (%10,5) *T. vitulorum* yumurtası saptandı. Bir yaş üstü sığırlar ile buzağılar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,001$).

T. vitulorum'un ilçelere göre yayılışı incelendiğinde en düşük oran Ağrı merkezde (%14), en yüksek oran ise Hamur ilçesinde (%32) görüldü. Ancak ilçelerdeki pozitiflik oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,314$). İlçelere göre *T. vitulorum*'un görülme sıklığı Tablo 1'de verilmiştir.

TARTIŞMA

T. vitulorum, buzağılarda verim kaybına ve yoğun invazyonlarda bazen ölüme, dolayısı ile ekonomik kayıplara neden olabilen bir nematod olup, sığırlarda beslenme şekli ve iklim kuşağına bağlı olarak çeşitli oranlarda görülebilir (17,18).

Dünya'nın birçok yerinde ve farklı iklim kuşağına sahip ülkelerde, dışkı bakısına göre sığırlarda *T. vitulorum*'un yayılışının %0,3-78,57 oranlarında olduğu bildirilmiştir (19-33). Türkiye'de yapılan çalışmalarda bu oran %0,3-28,96 olarak bildirilmiştir (17,34-47). Ağrı yöresinde ilk defa yapılan bu çalışmada ise sığırların %31'inde *T. vitulorum* yumurtası saptanmış olup, bu oran Türkiye'de yapılan çalışmalarda belirlenen oranlardan yüksektir. Ağrı yöresinde sığır popülasyonunun yoğun olması (15) ve ortak mera alanlarının yaygınlığı (16) sebebiyle aynı yerde otlayan hayvanlar arasında enfeksiyonun kolayca yayılabildiği kanaatindeyiz. Ayrıca meraya çıkarılan sığırlara gerektiği şekilde antihelmantik tedavilerinin yapılmaması da *T. vitulorum* yaygınlığını artırabileceği kanaatindeyiz.

Türkiye'de *T. vitulorum* kaynaklı enfeksiyon, ilk kez Yozgat'a bağlı Yerköy Devlet Üretim Çiftliği'nde altı aylıktan küçük buzağılarda meydana gelen ölümlerin ihbarı sonucu yapılan nekropsi ile üç buzağının bağırsağında bu askaritin varlığı bildirilmiştir (48,49). Yapılan çalışmalarda bu askaritin yetişkin sığırlara oranla, 0-6 aylık buzağılarda daha sık görüldüğü bildirilmiştir (17,34,35,37,39,40,44,46). Tarafımızdan yapılan bu çalışmada da yukarıda belirtilen çalışmaların sonuçlarına benzer şekilde *T. vitulorum* sıklığı bir yaş üstü sığırlara oranla 0-6 aylık buzağılarda daha yüksek bulundu. Altı aylıktan küçük buzağılarda yüksek bulunması sebebi ise gebeliğin son aşamalarında aktivite kazanan larvaların plasenta yoluyla prenatal enfeksiyona veya larvalar meme dokusunda inhibe olup, kolostrum ve süt yoluyla yavruları enfekte etme olasılığını akla getirmektedir. Enfektif larva içeren

Tablo 1. *T. vitulorum*'ün ilçelere göre dağılımı

İlçeler	Değişken	Grup	<i>Toxocara vitulorum</i>		P
			Pozitif (sayı ve %)	Negatif (sayı ve %)	
Ağrı merkez (n=50)	Cinsiyet	Dişi	5	27	0,645
		Erkek	2	16	
	Yaş	0-6 aylık	6	19	0,036
		1 yaş üstü	1	24	
	Toplam		7 (14)	43 (86)	
Diyadin (n=50)	Cinsiyet	Dişi	7	32	0,242
		Erkek	4	7	
	Yaş	0-6 aylık	9	16	0,011
		1 yaş üstü	2	23	
	Toplam		11 (22)	39 (78)	
Eleşkirt (n=50)	Cinsiyet	Dişi	9	29	0,927
		Erkek	3	9	
	Yaş	0-6 aylık	11	14	0,001
		1 yaş üstü	1	24	
	Toplam		12 (24)	38 (76)	
Doğubeyazıt (n=50)	Cinsiyet	Dişi	7	27	0,454
		Erkek	2	14	
	Yaş	0-6 aylık	8	17	0,006
		1 yaş üstü	1	24	
	Toplam		9 (18)	41 (82)	
Hamur (n=50)	Cinsiyet	Dişi	11	22	0,776
		Erkek	5	12	
	Yaş	0-6 aylık	12	13	0,010
		1 yaş üstü	4	21	
	Toplam		16 (32)	34 (68)	
Taşlıçay (n=50)	Cinsiyet	Dişi	9	27	0,800
		Erkek	4	10	
	Yaş	0-6 aylık	11	14	0,001
		1 yaş üstü	2	23	
	Toplam		13 (26)	37 (74)	
Tutak (n=50)	Cinsiyet	Dişi	8	27	0,105
		Erkek	7	8	
	Yaş	0-6 aylık	9	16	0,350
		1 yaş üstü	6	19	
	Toplam		15 (30)	35 (70)	
Patnos (n=50)	Cinsiyet	Dişi	5	32	0,461
		Erkek	3	10	
	Yaş	0-6 aylık	6	19	0,114
		1 yaş üstü	2	23	
	Toplam		8 (16)	42 (84)	
Toplam (n=400)	Cinsiyet	Dişi	63	221	0,616
		Erkek	28	88	
	Yaş	0-6 aylık	70	130	0,001
		1 yaş üstü	21	179	
	Toplam		91 (22,75)	309 (77,25)	

n: Dışkı örneği incelenen hayvan sayısı

yumurtalar sığırlar tarafından ağız yolu ile alınınca bağırsağında açılan bu yumurtalardan açığa çıkan larvalar, gebe dişilerin doğumu ile birlikte harekete geçerek meme bezlerine göçtüğü ve ilk 18 günde en yüksek oranda görüldüğü, buzağının ağız sütünü emmesi ile buzağıya geçtiği bildirilmiştir (10,50).

SONUÇ

Ağrı yöresinde tarafımızdan yapılan bu çalışmada *T. vitulorum*'un prevalansı Türkiye'de yapılan çalışmalardan daha yüksek bulundu. Buzağılarda ileri derecede verim düşüklüğü ve bazen ölümlere yol açabilmesi nedeniyle bu askaritin tedavisi önemlidir. Bu nedenle yörede görev yapan veteriner hekimler tarafından bu parazitin yayılışı ile ilgili olarak hayvan sahiplerinin bilgilendirilmesi ve yörede daha geniş çaplı araştırmaların yapılması önerilmektedir.

***Bilgilendirme:** Bu çalışma VII. INSAC International Congress on Health Sciences (ICHES-2021) Kongresi'nde özet olarak sunulmuştur.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Araştırma öncesi Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 29.04.2021 tarihinde 2021/04-03 sayılı kararı ile izin alınmıştır.

Hasta Onayı: N/A.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulunda olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

* Yazarlık Katkıları

Konsept: M.T.A., H.Y., Dizayn: M.T.A., S.A., Veri Toplama veya İşleme: M.T.A., R.Y., M.Y., Analiz veya Yorumlama: H.Y., S.A., F.B., Literatür Arama: M.T.A., M.Y., R.Y., Yazan: M.T.A., S.A.

Çıkar Çatışması: Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

Finansal Destek: Herhangi bir kurum veya kuruluştan finansal destek alınmamıştır.

KAYNAKLAR

- Roberts JA. The extraparasitic life cycle of *Toxocara vitulorum* in the village environment of Sri Lanka. *Vet Res Commun* 1989; 13: 377-88.
- Starke WA, Machado RZ, Bechara GH, Zocoller MC. Skin hypersensitivity tests in buffaloes parasitized with *Toxocara vitulorum*. *Vet Parasitol* 1996; 63: 283-90.
- Euzeby J. Les Maladies Vermineuses des Animaux Domestiques et Leurs Incidences sur la Pathologie Humaine. Vigot Freres 1963; 1: 478-526.
- Klaus C, Conraths FJ, Schares G, Kampen H, Walther D, Dauschies A. Neglected, emerging and re-emerging parasitic diseases in Germany- are they important for large animal medicine. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 2017; 45: 377-L3.
- Kassai T. *Veterinary Helminthology*. Oxford: Butterworth- Heinemann 1999; 102.
- Schnieder T. "Veterinarmedizinische Parasitologie". vollstanding überarbeitete und erweiterte Auflage, Parey, Germany 2006; 521-33.
- Taylor MA, Coop RL, Wall RL. *Veterinary Parasitology*. 3rd Ed. London: Blackwell Publishing 2007; 65-6.
- Roberts JA. *Toxocara vitulorum* in ruminants. *Helminthological Abstracts* 1993; 62: 151-74.
- Arslan MÖ, Umur Ş, Özcan K. Buzağılarda ölümcül *Toxocara vitulorum* olgusu. *Türkiye Parazitoloj Derg* 1997; 21: 79-81.
- Roberts JA. The egg production of *Toxocara vitulorum* in Asian buffalo (*Bubalus bubalis*). *Vet Parasitol* 1990; 37: 113-20.
- Anderson RC. *Nematode Parasites of Vertebrates. Their Development and Transmission*. 3rd Ed. Wallingford CABI Publishing 2000; 307-8.
- Eckert J, Frdrehoff KT, Zahner H, Deplazes P. *Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin*. Stuttgart: Enke Verlag 2005; 291-6.
- Soulsby E.J.L. *Helminths, arthropods, and protozoa of domesticated animals*. London UK Bailliere Tindall 1986.
- Adanır R. Ankara yöresi sığırlarında *Toxocara vitulorum* prevalansının saptanması Doktora Tezi. Ankara: AÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2004.
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), Erişim adresi: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Hayvansal-Uretim-Istatistikleri-Aralik-2021-45593>
- Invest in Ağrı yatırım destek ofisi. Erişim adresi: <https://agri.serka.gov.tr/sektorler/gida-ve-tarim>
- Kozan E. Bartın yöresi sığırlarında dışkı bakışı ile tespit edilen helmintler [Helminths identified by coprological examination in cattle raised in Bartın region]. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2014; 38: 17-21.
- Van Der Steen L, Pardon B, Sarre C, Valgaeren B, Van Hende D, Vlaminck L, et al. Intestinal obstruction by *Toxocara vitulorum* in a calf. *Vlaams Diergen Tijds* 2014; 83: 299-305.
- El-Moukdad AR. Zur Helminthenfauna syrischer Rinder [Helminth fauna of Syrian cattle]. *Angew Parasitol* 1979; 20: 11-6.
- Gupta RP, Yadav CL, Ghosh JD. Epidemiology of helminth infections in calves of Hayrana state. *Agric Sci Diegest* 1985; 5: 33-56.
- Rekwot PJ, Ogunsusi RA. Prevalence of *Toxocara* (*Neoscaris*) *vitulorum* infection in cattle around Zaria, Nigeria. *J Anim Prod Res* 1985; 5: 201-7.
- Wen YL, Zhvang ZL, Lin BM, Pan YD, Gao BZ, Wang TJ. An epidemiologic survey of *Neoscaris* in calves. *Chin Vet Sci Technol* 1986; 8: 18-20.
- Scala A, Carfagna G, Uras P, Poglayen G, Giannetto S, Gaglio G. Parasitological survey about cattle reared in Gallura (Sardinia). *Atti della Societa Italiana Buiatria (Italy)* 2001; 33: 311-7.
- Kaur H, Kaur D. Prevalence of gastro intestinal parasites in domestic animals of Patiala and its adjoining areas. *J Vet Parasitol* 2008; 22: 25-8.
- Dorchies P. *Toxocara vitulorum* and *Strongyloides papillosus*: the enemies of very young calves. *Bulletin. GTV* 2010; 52: 55-62.
- Davila G, Irsik M, Greiner EC. *Toxocara vitulorum* in beef calves in North Central Florida. *Vet Parasitol* 2010; 168: 261-3.
- Degefu H, Abera C, Yohannes M, Tolosa T. Gastrointestinal helminth infections in small-scale dairy cattle farms of Jimma town, Ethiopia. *Ethiop J Appl Sci Technol* 2011; 2: 31-7.
- Rast L, Lee S, Nampanya S, Toribio JA, Khounsy S, Windsor PA. Prevalence and clinical impact of *Toxocara vitulorum* in cattle and buffalo calves in northern Lao PDR. *Trop Anim Health Prod* 2013; 45: 539-46.
- Raza MA, Murtaza S, Ayaz MM, Akhtar S, Arshad HM, Basit A, et al. *Toxocara vitulorum* infestation and associated risk factors in cattle and buffalo at Multan District, Pakistan. *Science International (Lahore)* 2013; 25: 291-4.
- Dorny P, Devleesschauwer B, Stoliaroff V, Sothy M, Chea R, Chea B, et al. Prevalence and Associated Risk Factors of *Toxocara vitulorum* Infections in Buffalo and Cattle Calves in Three Provinces of Central Cambodia. *Korean J Parasitol* 2015; 53: 197-200.
- Marskole P, Verma Y, Dixit AK, Swamy M. Prevalence and burden of gastrointestinal parasites in cattle and buffaloes in Jabalpur, India. *Vet World* 2016;9: 1214-7.
- Tavassoli M, Dalir-Naghadeh B, Valipour S, Maghsoudlo M. Prevalence of gastrointestinal parasites in water buffalo (*Bubalus bubalis*) calves raised with cattle in smallholder farming system in the northwest of Iran. *Acta Vet Eurasia* 2018; 44: 6-11.
- Sirbu C, Imre K, Darabus G, Sucu T, Mates B, Morariu S. Prevalence of gastrointestinal parasitic infections in cattle and sheep in two regions of Romania. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2020; 44: 581-7.

34. Güralp N, Tınar R, Doğanay A, Coşkun ŞZ. Türkiye sığırlarında *Toxocara vitulorum*'un yayılışı. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 1985; 41: 20-6.
35. Toparlak M, Değer S, Yılmaz H. Van yöresi sığırlarında *Toxocara (Neoascaris) vitulorum* enfeksiyonunun yayılışı. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 1989; 36: 404-12.
36. Tigin Y, Burgu A, Doğanay A, Öge H, Öge S. İç Anadolu Bölgesinde Sığır Mide Bağırsak Nematodları ve Mevsimsel Aktiviteleri. Turk J Vet Anim Sci 1993; 341-9.
37. Akyol CV. Epidemiology of *Toxocara vitulorum* in cattle around Bursa, Turkey. J Helminthol 1993; 67: 73-7.
38. Celep A, Açıcı M, Çetindağ M, Gürbüz İ. Samsun yöresi sığırlarında parazitler epidemiyolojik çalışmalar. Etlik Vet Mikrob Derg 1994; 6: 117-30.
39. Umur Ş, Gıcık Y. Kars yöresi sığırlarında *Toxocara vitulorum*'un yayılışı. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 1995; 42: 25-9.
40. Toparlak M, Arslan MÖ, Gargılı A, Tüzer E. Prevalence of *Toxocarosis vitulorum* in cattle in Thracia, Turkey. Doğa Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi 1996; 341-2.
41. Aydenizöz M, Aldemir OS, Güçlü F. Dışkı muayenesiyle sığırlarda tesbit edilen parazitler ve yayılışları. T Parazitoloj Dergisi 1999; 23: 83-8.
42. Yıldırım A, Kara M, Kozan E, ÖGE H. Kayseri bölgesinde kapalı sistemde yetiştirilen sığırlarda helmint enfeksiyonlarının durumu. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2000; 47: 333-7.
43. Altınöz F, Gökçen A, Uslu U. Konya yöresi sığırlarında *Toxocara vitulorum*'un yayılışı. Türkiye Parazitoloj Derg 2000; 24: 405-7.
44. Aydın A, Goz Y, Yüksek N, Ayaz E. Prevalence of *Toxocara vitulorum* in Hakkari eastern region of Turkey. BulletinVeterinary Institute in Pulawy 2006; 50: 51.
45. Arslan MÖ, Sarı B, Taşçı GT, Aktaş MS. Erzurum yöresinde buzağılarda *Toxocara vitulorum* yaygınlığı. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2008; 14: 37-40.
46. Avcioglu H and Balkaya I. Prevalence of *Toxocara vitulorum* in calves in Erzurum, Turkey. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2011; 17: 345-7.
47. Kozan E, Birdane F M, Erez M S, Göksu A. Prevalence of *Toxocara vitulorum* in Calves in Afyonkarahisar, Turkey. Kocatepe Vet J 2021; 14: 225-30.
48. Merdivenci A. Türkiye Parazitleri ve Parazitolojik Yayınları. Kutulmuş Matbaası İstanbul 1970.
49. Merdivenci A. *Neoascaris vitulorum*'un evrimi üzerine. Türk Vet. Hekim. Dem. Derg 1971; 41: 20-6.
50. Warren EG. Observations on the migration and development of *Toxocara vitulorum* in natural and experimental hosts. Int J Parasitol 1971; 1: 85-99.

Enterobius vermicularis Enfeksiyonu Olan Hastalarda Klinikopatolojik Değerlendirme

Clinicopathological Assesment in Patients with Enterobius vermicularis Infection

✉ Fatma Zeynep Özen¹, ✉ Gökçe Celep²

¹Amasya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Amasya, Türkiye

²Amasya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Amasya, Türkiye

Cite this article as: Özen FZ, Celep G. Clinicopathological Assesment in Patients with *Enterobius vermicularis* Infection. Türkiye Parazitol Derg 2023;47(2):93-9.

ÖZ

Amaç: *Enterobius vermicularis* sık görülen bir gastrointestinal sistem parazitidir. Akut apandisit en sık cerrahi girişim gerektiren klinik durumlardan bir tanesidir. Enterobiasis ve akut apandisit birlikteliği uzun zamandır araştırmacıların dikkatini çeken bir konudur. Bu yazıda üçüncü basamak bir sağlık kuruluşunda apendektomi örneklerinde saptanan enterobiasis olgularının özelliklerini tanımlamak amaçlanmıştır. Aynı zamanda enterobiasis olmadan akut apandisit tanısı alan olgularla kıyaslanarak farklılıkların ortaya konması hedeflenmiştir.

Yöntemler: Çalışma için 1 Ocak 2008-31 Aralık 2021 tarihleri arasında akut apandisit nedeniyle ameliyat edilen tüm olgular hastane kayıt sistemi üzerinden geriye dönük olarak incelenmiştir. Histopatolojik olarak *E. vermicularis* saptanan olgular yeniden gözden geçirilerek çalışma grubu oluşturulmuştur. Kontrol grubu yaş ve cinsiyet olarak çalışma grubuyla eşleştirilmiş enterobiasis dışı nedenlerle akut apandisit tanısı alan hastalardan oluşturulmuştur. Tam kan sayımı, C-reaktif protein (CRP) ultrasonografi değerlendirmeleri iki grup arasında karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Çalışma dönemi boyunca 3,650 apendektomi materyali incelenmiştir; %1,32 (n=48) olguda *E. vermicularis* saptanmıştır, olguların %33,33'ünde (n=16) akut apandisit mevcuttur. Lenfoid hiperplazi çalışma grubunda en sık görülen histopatolojik değişikliktir (n=25; %52,08). Kontrol grubu ile kıyaslandığında lökosit, nötrofil, CRP, ultrasonografik apendiks çapı değerleri kontrol grubunda; eozinofil yüzdesi çalışma grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (sırasıyla; p<0,0001; p<0,0001; p<0,0001; p<0,0001; p=0,001).

Sonuç: Enterobiasis özellikle çocuklarda sık görülen bir parazittir, akut apandisitli olgularda nadir olmakla birlikte görülebilir. Güvenli cerrahi işlemin sağlanması ve antihelmintik ilaçlarla tedavinin tamamlanması için histopatolojik değerlendirme gereklidir. Akut faz yanıtının beklenenden düşük olduğu olgularda enterobiasis akılda tutulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: *Enterobius vermicularis*, akut apandisit, lenfoid hiperplazi

ABSTRACT

Objective: *Enterobius vermicularis* is a common gastrointestinal parasite. Acute appendicitis is one of the most common clinical conditions requiring surgical intervention. The coexistence of enterobiasis and acute appendicitis has attracted the attention of researchers for a long time. In this article, it is aimed to present the characteristics of enterobiasis cases detected in appendectomy specimens in a tertiary healthcare institution. In addition, it is aimed to reveal the differences by comparing the cases diagnosed with acute appendicitis without enterobiasis.

Methods: All cases operated for acute appendicitis between January 1, 2008 and December 31, 2021 were retrospectively evaluated through the hospital registry system. The cases with histopathologically determined *E. vermicularis* were reviewed and a study group was formed. The control group consisted of patients diagnosed with acute appendicitis for reasons other than enterobiasis, matched with the study group in terms of age and gender. Complete blood count, C-reactive protein (CRP) ultrasonography evaluations were compared between the two groups.

Results: During the study period, 3,650 appendectomy materials were examined; *E. vermicularis* was detected in 1.32% (n=48) cases, and acute appendicitis was present in 33.33% (n=16) of the cases. Lymphoid hyperplasia was the most common histopathological change in the study group (n=25; 52.08%). When compared to the control group, leukocyte, neutrophil, CRP, ultrasonographic appendix diameter values were found to be significantly higher in the control group, and the percentage of eosinophils in the study group (p<0.0001; p<0.0001; p<0.0001; p<0.0001; p=0.001; respectively).

Geliş Tarihi/Received: 24.04.2022 Kabul Tarihi/Accepted: 30.01.2023

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Gökçe Celep, Amasya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Amasya, Türkiye

Tel/Phone: +90 532 608 25 77 **E-Posta/E-mail:** gokce4celep@yahoo.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0001-6250-5096

©Telif hakkı 2023 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.turkiyeparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC-ND) 4.0 International License.

Conclusion: Enterobiasis is a common parasite especially in children. Rarely, it can be seen in patients with acute appendicitis. Histopathological evaluation is necessary to ensure a safe surgical procedure and to complete the treatment with anthelmintic drugs. Enterobiasis should be kept in mind in cases when the acute phase response is lower than expected.

Keywords: *Enterobius vermicularis*, acute appendicitis, lymphoid hyperplasia

GİRİŞ

Enterobius vermicularis dünyada yaygın bir nematoddur. Sosyo-ekonomik düzeyden bağımsız olarak tüm yaş gruplarında görülebilir; ancak hijyen yetersizliği ve yakın temas sıklığı nedeniyle çocuk yaş grubunda daha sıktır. Anatomik yapı nedeniyle kadınlarda daha fazladır (1,2). Perianal kaşıntı başta olmak üzere, karın ağrısı, bulantı, iştahsızlık, uyku düzensizlikleri ve huzursuzluk gibi yakınmalara neden olur. Tanısı için özgün bir serolojik test yoktur. Selofan bant yöntemiyle mikroskopik olarak parazit yumurtalarının gösterilmesi en geçerli laboratuvar yöntemidir; ancak tanı genellikle klinik öyküye dayanır (1,2). Yaşam döngüsü sırasında apendikse de yerleşebilen *E. vermicularis* "apendikolit" adı verilen, sağ alt kadranda ağrısı ve hassasiyetiyle akut apandisit taktit edebilen bir klinik sendroma neden olabilir (3,4).

Apendiks embriyonik çekumun terminal parçasıdır, lenfoid doku özelliği olan kör bir boşluktur. Genellikle batın sağ alt kadranda yerleşir. Lümeninin fekalit, yabancı cisim, tümör veya parazitler ile tıkanması veya daralması sonucu gelişen enflamasyon ve enfeksiyon "apandisit" ile sonuçlanır (5). Tüm yaş gruplarında görülebilmekle beraber çocuk ve ergenlerde en sık cerrahi girişim nedenlerinden biridir (3). Karın ağrısı, iştahsızlık, bulantı, kusma ile başlayan akut apandisit fizik incelemede batın alt kadranda hassasiyeti, rebound, defans gibi muayene bulguları ile kendini gösterir (3). Genel durum bozukluğu, dehidratasyon tabloya eşlik eder. Lökositoz, C-reaktif protein (CRP) yüksekliği, total bilirubin artışı gibi laboratuvar değerlendirmeleri ile ultrasonografi (USG) ve bilgisayarlı tomografi görüntüleme yöntemleri olarak tanıya yardımcıdır. Tüm gelişmiş tanı yöntemlerine karşın akut apandisit tekrarlayan muayenelerle konulan klinik bir tanıdır ve cerrahi tedavi sonrasında incelenen ameliyat materyalinin histopatolojik değerlendirmesi ile doğrulanır (3,5).

Enterobiasis ve akut apandisit arasındaki ilişki tartışmalıdır, 19. yüzyıldan beri olgu sunumları, olgu serileri ve bilimsel çalışmalarla ortaya konmaya çalışılmıştır (4,5). Akut apandisit-enterobiasis birlikteliğinin fizyopatolojisine yönelik tam bir açıklamaya ulaşılamamıştır. Bazı yazarlar akut apendektomi örneklerinde saptanan *Enterobius*'un tesadüfi bir bulgu olduğunu, etkenin apendektomi sırasında hipoksi nedeniyle lümeneye yerleştiğini raporlamıştır (6). Bazı yayınlarda ise mukozal invazyon, enflamasyon ve ülserasyonun *Enterobius* kaynaklı olduğu bildirilmiştir (7). Etkenin tetiklediği lenfoid hiperplazinin veya kendisinin lümeninde obstrüksiyon oluşturarak mikroorganizmaların çoğalmasına neden olması da mümkündür (8). Operasyon sırasında paraziti tanımlamak her zaman mümkün değildir, tüm yayınların ortak görüşü *Enterobius* saptanan apendektomi olgularına ve ailelerine antihelmintik tedavi başlanması gerektiğidir (8). Bu bilgiler ışığında çalışmamızın amacı merkezimizdeki apendektomi olgularında *Enterobius* sıklığını saptamak ve bu olgularla parazit dışı akut apandisit olgularını kıyaslayarak etkenin tahmin edilmesine yönelik ipuçları saptanmasına katkıda bulunmaktır.

YÖNTEMLER

Hasta Seçimi

Çalışmamız Orta Karadeniz'de bir il merkezinde referans hastane olan üçüncü basamak bir sağlık kuruluşunda gerçekleştirilmiştir. 1 Ocak 2008-31 Aralık 2021 tarihleri arasında klinik ve laboratuvar olarak "akut apandisit" tanısıyla acil serviste değerlendirilen ve apendektomi yapılan tüm olgular dahil edilmiştir. Hastalara ait sosyo-demografik özellikler ve tüm tıbbi veriler geriye dönük olarak hastane kayıtları üzerinden incelenmiştir. Apendikte histopatolojik olarak muskularis propriada polimorfonükleer lökosit gözlenen olgular "akut apandisit" olarak tanımlanmıştır. Apendektomi materyalinde *E. vermicularis* bulunan olgular yeniden gözden geçirilmiştir. "Hasta grubu" olarak belirlenen bu grubun farklılıklarının analiz edilebilmesi için yaş ve cinsiyet açısından rastgele eşleştirilmiş enterobiasis dışı nedenlerle akut apandisit tanısı almış olgulardan "kontrol grubu" oluşturulmuştur. Tüm olgulara ait yaş ve cinsiyet bilgileri kayıt altına alınmıştır.

Laboratuvar Değerlendirme

Olguların başvuru anındaki tam kan sayımı incelenmiştir. Lökosit, nötrofil, eozinofil sayıları ile yüzdeleri, total bilirubin, CRP düzeyleri değerlendirilmiştir. Görüntüleme sonuçları olarak USG raporları kaydedilmiştir.

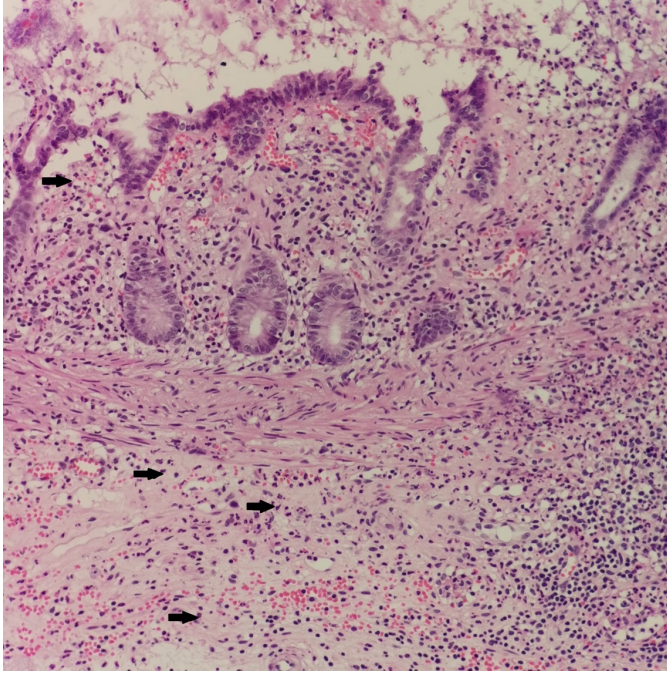
Histopatolojik Değerlendirme

Tüm apendektomi materyalleri %10'luk formalin çözeltisinde en az 24 saat fikse edilmiştir. Makroskopik olarak gelen doku örneğinin boyutları ve özellikleri kayıt altına alınmıştır. Otomatik takip sistemde takip işlemi gerçekleştirilmiştir. Her örnekten 5 µm kalınlığında en az 4 kesit elde edilip hematoksilen eozinle boyanmıştır. Hasta ve kontrol grubuna ait arşivlenmiş lamalar yeniden incelenmiştir. İncelenen preparatların almış olduğu "Akut apandisit (Fotoğraf 1), konjesyon, hemoraji, perforasyon, apse, flegmanöz apandisit (Fotoğraf 2), gangrenöz apandisit, nekrotizan apandisit (Fotoğraf 3), lenfoid hiperplazi (Fotoğraf 4) ve *E. vermicularis* (Fotoğraf 5-7)" tanıları tekrar gözden geçirilerek doğrulanmıştır. *E. vermicularis* tanısı alan birkaç olguda histopatolojik tanıda patognomik olan nematodun iki katmanlı kitin tabakasından oluşan kütiküler membranını, kalın kas tabakalı yemek borusunu, servikal alae'yı, bağırsak duvarlarını, uterus ve testis dokusunu değerlendirmek için PAS ile histokimyasal boyama yapılmıştır (Fotoğraf 6, 8).

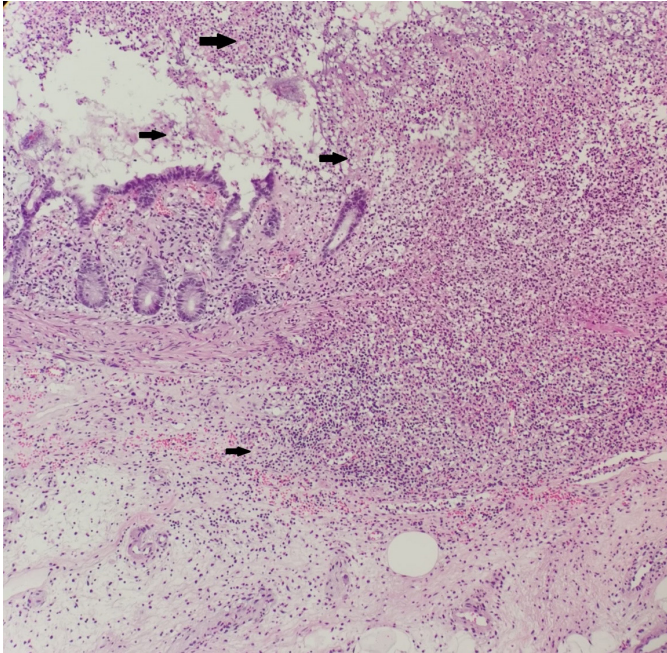
İstatistiksel Analiz

Tüm olgulara ait veriler SPSS® versiyon 21 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) paket programı ile analiz edilmiştir. Değişkenlerin normal dağılıma uyup uymadığı histogram, olasılık grafikleri ve Kolmogorov-Smirnov testleri ile değerlendirilmiştir. Tanımlayıcı analizler değişkenlerin normal dağılım özelliği göstermemesi nedeniyle ortanca ve frekans tabloları kullanılarak sunulmuştur.

İki grup arasındaki farkların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi ve çapraz tablolar kullanılmıştır. P-değerinin <0,05 olarak saptandığı durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

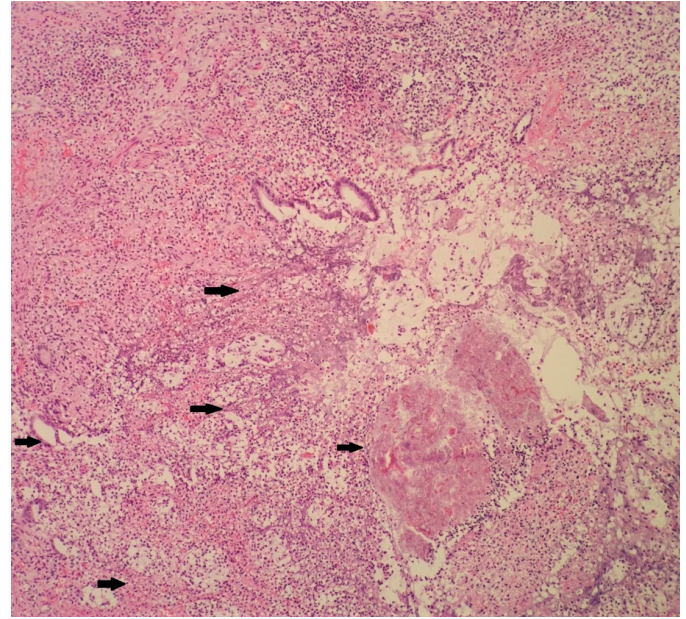


Fotoğraf 1. Hematoksilen eozin boyama, x200. Akut apandisit: Muskularis propria tabakasına doğru ilerleyen polimorfonükleer lökositlerin eşlik ettiği iltihap (siyah ok)

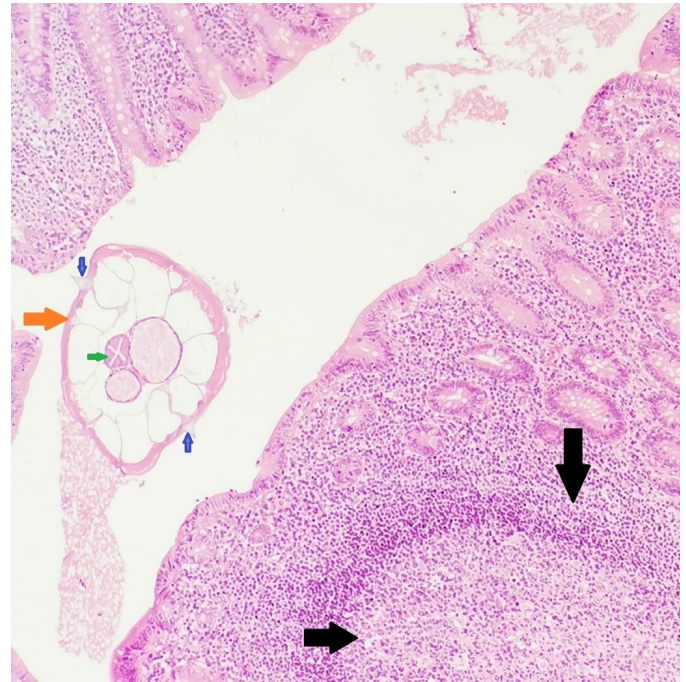


Fotoğraf 2. Hematoksilen eozin boyama, x100. Flegmanöz apandisit: Muskularis propria tabakasına doğru ilerleyen polimorfonükleer lökositlerin eşlik ettiği iltihap, mukozal yüzeyde belirgin erozyon, süpürasyon (siyah ok)

Etik onay: Çalışma için Amasya Üniversitesi Rektörlüğü, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (evrak no: E-30640013-050.01.04-67740, 07.04.2022).



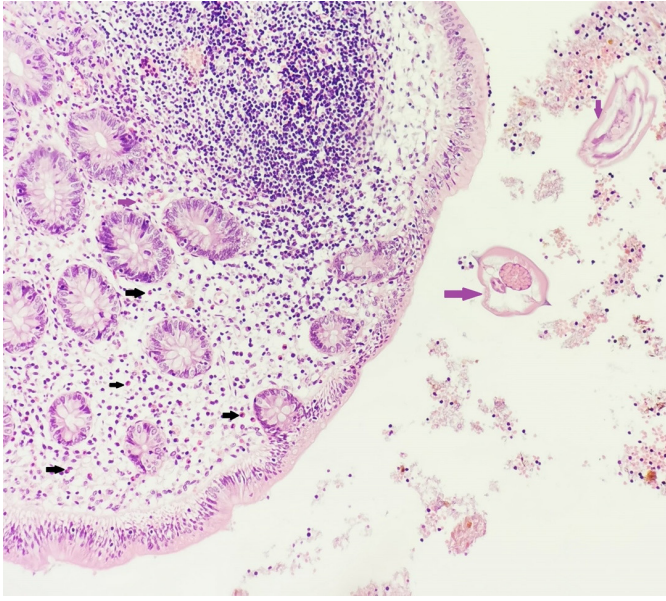
Fotoğraf 3. Hematoksilen eozin boyama, x100. Akut süpüratif, nekrotizan apandisit: Muskularis propria tabakasına doğru ilerleyen polimorfonükleer lökositlerin eşlik ettiği iltihap, mukozal yüzeyde belirgin ülserasyon, süpürasyon ve nekroz (siyah ok)



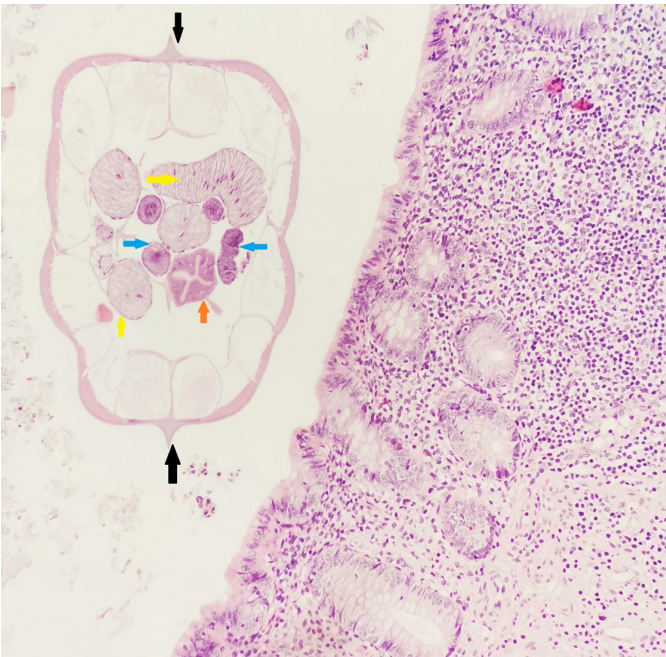
Fotoğraf 4. Hematoksilen eozin boyama, x200. Reaktif lenfoid hiperplazi: Muskularis propria tabakasına germinal merkezi belirginleşmiş lenfoid foliküller (siyah ok), mukozal yüzeyde serbest *E. vermicularis* horizontal kesiti (turuncu ok). Kalın kashı yemek borusu (yeşil ok), her iki yanında alae (mavi ok)

BULGULAR

On üç yıllık zaman diliminde incelen toplam akut apandisit olgusu sayısı 3,650 olarak bulunmuştur. Olguların %1,31'inde (n=48) enterobiasis saptanmıştır. Bunların %33,33'ü (n=16)



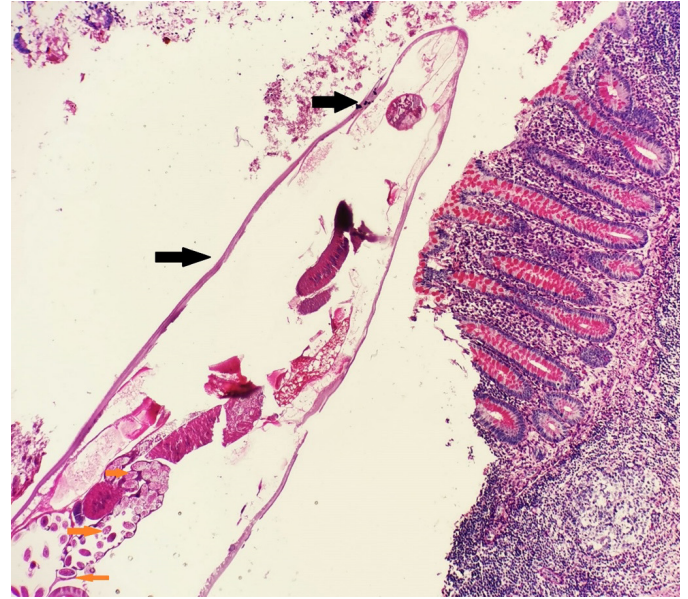
Fotoğraf 5. Hematoksilen eozin boyama, x100. Akut apandisit: Muskularis propria tabakasına doğru ilerleyen polimorfonükleer lökositlerin ve eozinofillerin (siyah ok) eşlik ettiği iltihap, mukozal yüzeyde serbest *E. vermicularis* horizontal kesiti (mor ok)



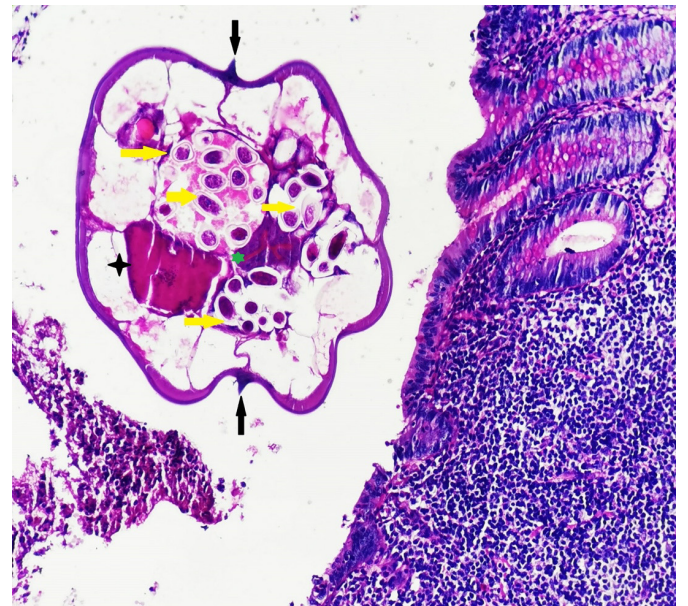
Fotoğraf 6. PAS boyama, x100. Akut apandisit: Muskularis propria tabakasına doğru ilerleyen polimorfonükleer lökositlerin ve eozinofillerin eşlik ettiği iltihap, mukozal yüzeyde 12 mm uzunluğunda erişkin dişi, gebe, kalın PAS pozitif hyalin dış kütikül tabakasına sahip *E. vermicularis* longitudinal kesiti (siyah ok). Uterus içinde çok sayıda yumurta (turuncu ok)

histopatolojik olarak akut apandisit ile uyumlu bulunmuştur. Tüm çalışma dönemi göz önüne alındığında enterobiasis-akut apandisit birlikteliği oranı %0,44'tür (Fotoğraf 5, 6).

Apendektomi materyalinde histopatolojik olarak *Enterobius* saptanan ve çalışma grubunu oluşturan 48 hastanın yaş ortancası 15'tir (4-66 yaş). Olguların 29'u (%60,42) kadındır; enterobiasis sıklığı açısından cinsiyetler arasında fark saptanmamıştır ($p=0,90$). Radyolojik değerlendirmede apandiks çapı medyan



Fotoğraf 7. Hematoksilen eozin boyama, x200. Erişkin, erkek kalın hyalin dış kütikül tabakasına sahip *E. vermicularis* horizontal kesit, her iki yanda alae (siyah ok). Yemek borusu (turuncu ok), bağırsakların kas tabakası longitudinal kesit (sarı ok) ve testis (mavi ok)



Fotoğraf 8. PAS boyama, x200. Erişkin, dişi, gebe, kalın PAS pozitif hyalin dış kütikül tabakasına sahip *E. vermicularis* horizontal kesit, her iki yanda alae (siyah ok). Yemek borusu

Tablo 1. Laboratuvar değerlendirme sonuçları

	Kontrol grubu ortanca (minimum-maksimum)	Çalışma grubu ortanca (minimum-maksimum)	P
Yaş (yıl)	14,5 (4-66)	15 (4-66)	p=0,84
Lökosit (mm ³)	14335 (5060-33100)	10230 (1200-25020)	p<0,0001
Nötrofil (mm ³)	11100 (2640-29300)	7755 (0-23480)	p<0,0001
Lenfosit (mm ³)	1880 (870-5000)	1895 (0-4550)	p=0,46
Eozinofil (mm ³)	95 (0-900)	100 (0-830)	p=0,08
Nötrofil (%)	77,6 (51,2-91,9)	70,85 (4-94,5)	p=0,02
Lenfosit (%)	13 (4,4-38)	6,5 (1-5,7)	p=0,05
Eozinofil (%)	0,65 (0-5,7)	1 (0-12,2)	p=0,01
CRP (mg/dL)	8,28 (0-147,6)	2 (0-136)	p<0,0001
Apendiks çapı (mm) USG	8,25 (4,5-15)	6,5 (4-12)	p<0,0001
Bilirubin (mg/dL)	0,5 (0,15-1,6)	0,4 (0,11-1,6)	p=0,07

CRP: C-reaktif protein, USG: Ultrasonografi

değeri 6,5 mm (4-12 mm) olarak hesaplanmıştır. Olgulara ait lökosit sayısının ortancası 10230 (1200-25020), nötrofil sayısı ortanca değeri 7,755/mm³ (1200-23.480/mm³), CRP ortancası ise 2 mg/dL (0-136) saptanmıştır (Tablo 1). Histopatolojik değerlendirilmede çalışma grubunun %52,08'inde (n=25) lenfoid hiperplazi bulunmuştur (Fotoğraf 4). Üç olguda (%6,25) apendektomi materyali "normal" olarak raporlanmıştır, diğer olgularda akut apandisit bulguları mevcuttur (Tablo 2).

Kontrol grubu histopatolojik olarak Enterobius dışı etkenlerle enflamasyon gelişen akut apandisit tanısı alan 50 olgudan oluşmuştur. Ortanca yaş 14,5'tir (4-66). Olguların tümünde enflamatuvar bulgularla karakterize apandisit ve %90'ında lökositoz mevcuttur (n=45) (Tablo 2). CRP ortancası 8,28 mg/dL (0-147,6) olarak hesaplanmıştır. Ultrasonografik olarak ölçülen apendiks çapları 4,5-15 mm (ortanca: 8,25) aralığındadır.

Kontrol grubunda lökosit (p<0,0001), nötrofil sayısı (p<0,0001) ve yüzdesi (p=0,02), CRP değerleri (p<0,0001) çalışma grubuna göre yüksektir, bu farklar istatistiksel olarak anlamlıdır. Aynı zamanda USG ile ölçülen apendiks çapı kontrol grubunda anlamlı olarak yüksektir (p<0,0001). Eozinofil yüzdesi ise çalışma grubunda daha yüksek bulunmuştur (p=0,01). Olguların bir kısmında hemotoksilen eozin boyalı kesitlerde dokuda eozinofil sayısında da artış izlenmiştir (Fotoğraf 5).

TARTIŞMA

E. vermicularis fekal oral yolla bulaşan ve varlığını insan gastrointestinal sisteminde sürdüren bir nematodur (9). Tüm iklim koşulları ve sosyo-ekonomik düzeylerde görülebilir, bizim çalışma grubumuzda da görüldüğü üzere çocuklarda ve kadınlarda daha sıktır. Enfeksiyon tüm gastrointestinal sistemi etkileyebilir, yaşam döngüsü ve göç sırasında apendikse uğradığında klinik ve laboratuvar olarak akut apandisit tablosunu taklit edebilir. Enterobiasisin apandisit ile ilişkisi uzun zamandır araştırılan; ancak tam olarak aydınlatılamamış bir konudur. Bu çalışma süresince akut apandisit olgularının %0,44'ü (n=16) enterobiasis ile ilişkili iken apendektomi materyallerinin %1,32'sinde (n=48) enterobiasis saptanmıştır. Literatürle uyumlu bulunan bu sonuç enterobiasisin sergilediği coğrafi ve sosyo-ekonomik dağılıma göre çeşitli çalışmalarda farklılık göstermektedir. Literatür

Tablo 2. Histopatolojik değerlendirme sonuçları

	Kontrol grubu (n=50) n (%)	Çalışma grubu (n=48) n (%)
Akut apandisit	26; (52)	16; (33,33)
Flegmanöz apandisit	10; (20)	1; (2,08)
Gangrenöz apandisit	2; (4)	0; (0)
Nekrotizan apandisit	4; (8)	0; (0)
Periapandisit	8; (16)	3; (6,25)
Lenfoid hiperplazi	0; (0)	25; (52,08)
Enflamasyon yok	0; (0)	3; (6,25)

taramamızda enterobiasis olgularındaki apandisit sıklığı %7,69-80 iken apendektomi olgularındaki enterobiasis sıklığı %0,21-9,81 olduğu görülmüştür (8,10-13). Çalışma grubunun yaş değişkeni de bu değişken sonuçlarda önemlidir; enterobiasis çocuklarda daha sık görülmektedir. Ülkemizde erişkin hastaların ağırlıklı olarak değerlendirdiği bir çalışmada akut apandisitli olguların %1,29'unda Enterobius saptanmıştır (14). Ortadoğu'da ise bu oran %2,7-2,9 olarak bildirilmiştir (15,16). İrlanda'da yapılan bir çalışmada sadece çocuk olgular incelenmiş ve çalışma süresince yapılan 182 apendektomi olgusunun %7'sinde *E. vermicularis* saptanmış; ancak bunların sadece dört tanesinde akut apandisit bulunmuştur (17). Başka bir çalışmada ise sıklık %0,74 olarak bildirilmiş ve enterobiasisin akut apandisit olgularında nadiren saptanan bir etken olduğu düşünülmüştür (18). Etkeni akut enflamasyon, ülserasyon, periapandisit ve perforasyon gibi ciddi durumlarla ilişkilendiren yayınlar da mevcuttur (7).

Enterobiasis saptanan apendektomi materyallerinde en sık raporlanan histopatolojik bulgu lenfoid hiperplazidir. Pehlivanoğlu ve ark.'nın (18) çalışmasında tüm olgularda saptanan bir bulgudur. Bizim çalışmamızda da ağırlıklı olarak görülmektedir, enterobiasisli olguların %52,5'inde saptanan bu bulgu kontrol grubunda hiç görülmemiştir (18). Lenfoid hiperplazinin apandisit semptomlarını taklit eden bir klinik duruma neden olduğu uzun yıllardır bilinmektedir (19). Akut apandisitten klinik ve radyolojik olarak ayrılması mümkün değildir. Batın içindeki herhangi bir enfeksiyon veya enflamatuvar süreçle tetiklenebilir; çünkü apendiks lenfoid doku içermesi nedeniyle

gastrointestinal sistem immünesinde önemli bir role sahiptir (20,21). "Apendikolit" tablosu çoğu zaman lenfoid hiperplazi ile ilişkili olarak raporlanmıştır (18,22). *E. vermicularis*'in etken olarak saptandığı akut enflamasyon durumunda ise olay, daha çok parazitin kendisinin veya uyardığı immün yanıtın apendiks lümenini daraltması ve fekalit birikimine, bakteriyel aşırı çoğalmaya neden olması ile açıklanmaktadır (16,23). Tüm koşullarda apandisitli olgularda *E. vermicularis* saptanması antihelmintik tedavinin de sağlanması için önemlidir (10).

E. vermicularis'li olguların apendikolit tablosu ile karşımıza çıkması araştırmacıları negatif apendektomi sıklığını azaltmak ve hastaların gereksiz cerrahi işlemlere maruz kalmasını önlemek için klinik ve laboratuvar kriterler aramaya yöneltmiştir. Ancak bununla ilgili veriler ve sonuçları değişkendir. Akut faz yanıtının sistemik enflamasyonla uyarılması; yani CRP yüksekliği, lökositöz, nötrofili beklenen bulgulardır (5). Bizim çalışmamızda kontrol grubunda lökosit, nötrofil sayısı ve yüzdesi, CRP düzeyleri çalışma grubuna göre anlamlı olarak yüksektir. Çalışma grubunda ise eozinofil yüzdesinin yüksekliği istatistiksel olarak anlamlıdır, eozinofili parazitik enfeksiyonlarda kesin kural olmamakla birlikte beklenen bir bulgudur (5). Apendiks çapı kontrol grubunda çalışma grubuna göre daha geniştir. Total bilirubin düzeylerinin komplike olgularda yüksek seyrettiği ve takipte yararlı olduğu bildirilmesine karşın bizim çalışmamızda gruplar arasında fark saptanmamıştır (3). Fleming ve ark.'ın (17) çalışmasında da lökosit, nötrofil, CRP ve eozinofil sayıları ile ilgili benzer sonuçlar elde edilmiştir; ancak Sousa ve ark. (8) bu laboratuvar değerlerinin hiçbirinin gerçek enflamasyonun tahmin edilmesine katkıda bulunmadığını bildirmiştir. Bu verilerin daha iyi yorumlanmasını sağlayacak geniş olgu sayılı çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Başta retrospektif tasarım ve yönetim olmak üzere bu çalışmanın önemli kısıtlılıkları mevcuttur. Veriler hastane bilgi kayıt sisteminden elde edilmiştir, tek bir merkeze aittir. Histopatolojik bulgularla birlikte laboratuvar değerleri sunulmasına rağmen klinik bilgilere değinilmemiştir. Ancak literatürdeki zengin olgu sayılı raporlardan bir tanesi olması çalışmanın güçlü yanıdır.

SONUÇ

Sık görülen bir durum olan enterobiasisin akut apandisit taklit edebilen apendikolit tablosuna neden olabileceği akılda tutulmalıdır. Klinik olarak akut apandisit tablosu olan hastalarda akut faz yüksekliği beklenen düzeyde değilse enterobiasis olasılığı akılda tutulmalıdır. Mikroskopik olarak selofan bant ve dışkı direk bakı incelemesi cerrahın antihelmintik tedavi de düzenlemesini sağlayacaktır. Ayrıca cerrahi işlem sırasında parazitin dağılması ve intraperitoneal kontaminasyonun önlenmesi açısından daha dikkatli olmasına yardımcı olacaktır.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Çalışma için Amasya Üniversitesi Rektörlüğü, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (evrak no: E-30640013-050.01.04-67740, 07.04.2022).

Hasta Onayı: Retrospektif çalışma.

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

* Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: F.Z.Ö., G.C., Konsept: F.Z.Ö., G.C., Dizayn: F.Z.Ö., G.C., Veri Toplama veya İşleme: F.Z.Ö., G.C., Analiz

veya Yorumlama: F.Z.Ö., G.C., Literatür Arama: F.Z.Ö., G.C., Yazan: F.Z.Ö., G.C.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

KAYNAKLAR

- Centers for Disease Control and Prevention. Enterobiasis (*Enterobius vermicularis*) from laboratory identification of parasites of public health concern: Centers for Disease Control and Prevention; 2009 Available from: URL: <https://www.cdc.gov/dpdx/enterobiasis/index.html>
- Juckett G. Common intestinal helminths. Am Fam Physician. 1995; 52: 2039-48, 2051-2.
- Türkiye Çocuk Cerrahisi Derneği. Çocuklarda Apandisit ve Ayrıcı Tanısı. Ege Üniversitesi Rektörlüğü Basımevi, İzmir, 2018.
- Budd JS, Armstrong C. Role of *Enterobius vermicularis* in the aetiology of appendicitis. Br J Surg 1987; 74: 748-9.
- Dunn James J Y: Appendicitis. In Coran AG, Adzick NS, Krummel TM, Laberge JM, Shamberger RC, Caldamone AA, editors. Pediatric Surgery. Elsevier Saunders, Philadelphia, 2012. p: 1255-78.
- Sinniah B, Leopairut J, Neafie RC, Connor DH, Voge M. Enterobiasis: a histopathological study of 259 patients. Ann Trop Med Parasitol 1991; 85: 625-35.
- Gialamas E, Papavramidis T, Michalopoulos N, Karayannopoulou G, Cheva A, Vasilaki O, et al. *Enterobius vermicularis*: a rare cause of appendicitis. Türkiye Parazitol Derg 2012; 36: 37-40.
- Sousa J, Hawkins R, Shenoy A, Petroze R, Mustafa M, Taylor J, et al. *Enterobius vermicularis*-associated appendicitis: A 22-year case series and comprehensive review of the literature. J Pediatr Surg 2022; 57: 1494-8.
- Cook GC. Parasitic Disease in Clinical Practice, Springer-Verlag, London, 1990, pp. 114e116.
- Ariyathenam AV, Nachimuthu S, Tang TY, Courtney ED, Harris SA, Harris AM. *Enterobius vermicularis* infestation of the appendix and management at the time of laparoscopic appendectomy: case series and literature review. Int J Surg 2010; 8: 466-9.
- Maloney C, Edelman MC, Bolognese AC, Lipskar AM, Rich BS. The Impact of Pathological Criteria on Pediatric Negative Appendectomy Rate. J Pediatr Surg 2019; 54: 1794-9.
- Zouari M, Louati H, Abid I, Trabelsi F, Ben Dhaou M, Jallouli M, et al. *Enterobius vermicularis*: A Cause of Abdominal Pain Mimicking Acute Appendicitis in Children. A Retrospective Cohort Study. Arch Iran Med 2018; 21: 67-72.
- Gorter RR, van Amstel P, van der Lee JH, van der Voorn P, Bakx R, Heij HA. Unexpected findings after surgery for suspected appendicitis rarely change treatment in pediatric patients; Results from a cohort study. J Pediatr Surg 2017; 52: 1269-72.
- Yabanoğlu H, Aytac HÖ, Türk E, Karagülle E, Çalışkan K, Belli S, et al. Parasitic infections of the appendix as a cause of appendectomy in adult patients. Türkiye Parazitol Derg 2014; 38: 12-6.
- Ramezani MA, Dehghani MR. Relationship between *Enterobius vermicularis* and the incidence of acute appendicitis. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2007; 38: 20-3.
- Hasan A, Nafie K, El-Sayed S, Nasr M, Abdulmohaymen A, Baheeg M, et al. *Enterobius vermicularis* in appendectomy specimens; Clinicopathological assessment: Cross sectional study. Ann Med Surg (Lond) 2020; 60: 168-72.
- Fleming CA, Kearney DE, Moriarty P, Redmond HP, Andrews EJ. An evaluation of the relationship between *Enterobius vermicularis* infestation and acute appendicitis in a paediatric population--A retrospective cohort study. Int J Surg 2015; 18: 154-8.

18. Pehlivanoglu B, Aydın Türk B, İşler S, Özdaş S, Abeş M. Findings in Appendectomies with *Enterobius vermicularis* Infection: Pinworm Is Not A Cause of Appendicitis. Türkiye Parazitol Derg 2019; 43: 21-5.
19. Smith TA. Lymphoid hyperplasia of the appendix in children; its relation to recurrent appendicitis. Ann Surg 1924; 79: 871-8.
20. Kooij LA, Sahami S, Meijer SL, Buskens CJ, Te Velde AA. The immunology of the vermiform appendix: a review of the literature. Clin Exp Immunol 2016; 186: 1-9.
21. Lamps LW. Infectious causes of appendicitis. Infect Dis Clin North Am. 2010; 24: 995-1018, ix-x.
22. Akkapulu N, Abdullazade S. Is *Enterobius vermicularis* infestation associated with acute appendicitis? Eur J Trauma Emerg Surg 2016; 42: 465-70.
23. Sodergren MH, Jethwa P, Wilkinson S, Kerwat R. Presenting features of *Enterobius vermicularis* in the vermiform appendix. Scand J Gastroenterol 2009; 44: 457-61.

COVID-19 Pandemisi Sürecinin Bağırsak Parazitlerinin Görülme Sıklığı Üzerindeki Etkisinin Araştırılması; Aydın İli Örneği

The Effect of the COVID-19 Pandemic Process on the Incidence of Intestinal Parasites; Aydın Province Example

● İbrahim Yıldız, ● Evren Tileklioğlu

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

Cite this article as: Yıldız İ, Tileklioğlu E. The Effect of the COVID-19 Pandemic Process on the Incidence of Intestinal Parasites; Aydın Province Example. Türkiye Parazit Derg 2023;47(2):100-4.

ÖZ

Amaç: Ülkemizde 2020 yılının Mart ayında başlayan Koronavirüs hastalığı-2019 (COVID-19) pandemi süreci bu zamana kadarki alışkanlıklarımızda ani ve dramatik bir değişime sebep olmuş, hayatın her aşamasında kendini hissettirmiştir. Parazitlerin bulaşmasında doğrudan etkili olan bu önlemler sonucunda bağırsak parazitlerin yaygınlığının incelenmesi ve COVID-19 pandemisi sürecinin bağırsak parazitlerinin görülme oranındaki etkisinin araştırılması önem kazanmıştır. Çalışmamızda COVID-19 pandemi sürecinin bağırsak parazitleri prevalansına olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Pandemi öncesi ve sonrası prevalansın incelenmesi amacıyla Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'nda 11 Mart 2018 tarihinden 11 Mart 2022 tarihine kadar incelenen tüm dışkı ve selofan bant test sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Olguların sosyo-demografik özellikleri, tanı aldıkları ay ve yıllara göre dağılımları ile parazit saptanma oranları arasındaki ilişki ayrıca değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışmada incelenen 13.036 dışkı örneğinin %67,42'si pandemi öncesi %32,58'i ise pandemi sonrası sürece aittir. Dışkı örneklerinin 1,959'unda en az bir tür parazit saptanmış olup bunların %71,41'i pandemi öncesi süreçte tanı almıştır. *Blastocystis* spp. hem pandemi öncesi (%14,63) hem de pandemi sonrası (%12,59) süreçte dışkıda en sık saptanan parazit olmuştur. Çalışmada incelenen 3,194 selofan bant örneğinin ise %72,32'si pandemi öncesi ve %27,68'i pandemi sonrası sürece ait olup tüm örneklerin 246'sında (%7,70) *Enterobius vermicularis* yumurtaları saptanmıştır. *Enterobius vermicularis* pozitif örneklerin çoğunluğunu (%82,11) pandemi öncesi süreçte incelenen olgular oluşturmuştur. Pandemi sonrası dönemde incelenen dışkı ve selofan bant örnek sayıları ile incelenen örneklerin pozitiflik oranları istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüş göstermiştir ($p<0,05$).

Sonuç: Yapılan bu çalışma ile COVID-19 pandemisinde bağırsak parazitlerinin görülme sıklığının önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Pandemi sürecindeki sosyal mesafe ve karantina gibi önlemler, kişisel hijyene olan duyarlılığın artması, halkın pandemi sürecinde çeşitli organlar vasıtasıyla bilgilendirilmesi gibi toplum sağlığı açısından önemli gelişmeler bağırsak parazitlerinin prevalansındaki düşüşün nedeni olarak düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Bağırsak parazitleri, COVID-19, pandemi

ABSTRACT

Objective: The Coronavirus disease-2019 (COVID-19) pandemic, which started in our country in March 2020, has caused a sudden and dramatic change in our habits. As a result of the pandemic measures directly effective in the transmission of parasites, it has become important to investigate the possible effect of the COVID-19 pandemic process on the incidence of intestinal parasites.

Methods: In order to examine the situation before and after the pandemic, all stool and cellophane tape test results examined from March 11, 2018 to March 11, 2022 in Aydın Adnan Menderes University Faculty of Medicine Parasitology Laboratory were evaluated retrospectively. The relationship between the socio-demographic characteristics of the cases, the distribution of the months and years of diagnosis and the prevalence of parasites were also evaluated.

Results: Of the 13,036 stool samples examined, 67.42% belong to the pre-pandemic and 32.58% belong to the post-pandemic period. In total, 1,959 stool samples were positive for at least one parasite, of which 71.41% were from the pre-pandemic. *Blastocystis* spp. was the most frequently detected parasite both before (14.63%) and after the pandemic (12.59%). Of the 3,194 cellophane tape examined, 72.32% belonged to the pre-pandemic and 27.68% post-pandemic period, and *Enterobius vermicularis*

Geliş Tarihi/Received: 13.06.2022 Kabul Tarihi/Accepted: 20.01.2023

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

Tel/Phone: +90 543 310 28 12 **E-Posta/E-mail:** dr.ibrahimyildiz@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0001-8525-6280

©Telif hakkı 2023 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.turkiyeparazitderg.org web sayfasından ulaşılabilir.

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC-ND) 4.0 International License.

eggs were detected in 246 (7.70%) of all. The majority of *E. vermicularis* positive samples (82.11%) were belonged to the pre-pandemic period. The number and positivity rates of stool and cellophane tape samples examined in the post-pandemic period showed a significant decrease ($p<0.05$).

Conclusion: It was observed that the incidence of intestinal parasites decreased significantly during the COVID-19 pandemic. Important developments in terms of public health, such as measures such as social distance and quarantine during the pandemic process, increased sensitivity to personal hygiene, and informing the public through various tools during the pandemic, are thought to be the reason for the decrease in the prevalence of intestinal parasites.

Keywords: Intestinal parasites, COVID-19, pandemic

GİRİŞ

Aralık 2019'da Çin'in Wuhan şehrinde yeni bir pnömoni etkeni tanımlanmış ve hastalık kısa sürede dünya geneline yayılarak büyük bir pandemiye sebep olmuştur (1). Virüs ilk olarak şiddetli akut solunum yolu sendromu-koronavirüs-2 (SARS-CoV-2) olarak isimlendirilmiş olsa da yaygın olarak Koronavirüs hastalığı-2019 (COVID-19) olarak bilinmektedir (2).

COVID-19 pandemisi hemen her devleti karantina, sosyal mesafe, maske zorunluluğu ve uzaktan eğitim gibi önlemler almak zorunda bırakmıştır. Zorunlu sokağa çıkma yasakları insanların günlük rutinlerini, eğitimlerini, işlerini, seyahatlerini veya eğlence alışkanlıklarını aniden ve dramatik şekilde değiştirmiştir. Öncesinde zararsız olarak gördüğümüz ve günlük hayatımızda sıkça yaptığımız tokalaşmak, sarılmak, konsere gitmek, sosyal etkileşimde bulunmak ve hatta akraba ziyareti gibi rutinlerimiz tehlikeli davranışlar olarak algılanmaya başlanmıştır (3).

Bağırsak parazit enfeksiyonları özellikle ülkemiz gibi gelişmekte olan toplumlarda en önemli sosyo-ekonomik ve halk sağlığı sorunlarından birini teşkil etmektedir. Dünya çapında bir milyardan fazla insanın *Giardia intestinalis*, *Entamoeba* spp., *Enterobius vermicularis*, *Ascaris lumbricoides*, *Blastocystis* spp. gibi çok yaygın görülen bağırsak parazitlerinden en az biriyle enfekte olduğu düşünülmektedir (4). Önemli halk sağlığı sorunlarından biri olan bağırsak parazitlerinin yaygınlığı ise özellikle COVID-19 sürecinde önem kazanan sanitasyon, kişisel hijyen, kalabalık ortamlarda geçirilen süre ve yaşam tarzı gibi başlıklarla doğrudan ilişkilidir. Özellikle okul, kreş, oyun alanları, kapalı spor salonları gibi parazitlerin salgınlar oluşturabildiği ortamların bu süreçte zarfında zaman zaman kapalı tutulması, açık olduğu süreçte maske ve sosyal mesafe gibi kuralların uygulanması, bağırsak parazitlerinin görülme oranında azalma olabileceğini akla getirmektedir. Bu nedenle çalışmamızda COVID-19 pandemisi öncesi ve sonrasında hastanemiz parazitoloji laboratuvarına gelen dışkı ve selofan bant test sonuçlarının retrospektif olarak incelenmesi ve bu sürecin bağırsak parazitlerinin görülme sıklığı üzerine muhtemel etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarı'nda 11 Mart 2018'den 11 Mart 2022'ye kadar çeşitli kliniklerden gönderilen selofan bant örnekleri ve dışkı örneklerinin sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Olguların sosyo-demografik özellikleri (yaş, cinsiyet), tanı aldığı yılların ve ayların incelenmesi hastane otomasyon sisteminden taranarak değerlendirme kapsamına alınmıştır. Pandemi başlangıcı olarak 11 Mart 2020 tarihi kabul edilmiştir. 11 Mart 2018 ile 11 Mart 2020 tarihleri arası pandemi öncesi, 11 Mart 2020 ile 11 Mart 2022 tarihleri arası ise pandemi sonrası dönem olarak kabul edilmiştir. Pandemi sürecinin parazitlerin prevalanslarına olan etkisi bu iki eşit süreçte incelenen olguların sonuçlarına göre değerlendirilmiştir.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS for Windows 26.0 programı ile yapılmıştır. Pandemi öncesi ve sonrasında incelenen dışkı örneklerinde saptanan parazit sayılarının, istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterip göstermediği, ki-kare testi uygulanarak araştırılmıştır. Ayrıca parazit saptanan olguların cinsiyetleri ve yaşları, parazit saptanan mevsimlerin ve yılların dağılımları ayrıntılı olarak incelenmiş ve bu verilerle bağırsak parazitlerinin görülme oranı arasında anlamlı bir ilişkinin olup olmadığı ki-kare testiyle değerlendirilmiştir. Analizlerin sonucunda $p<0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiştir.

Etik Kurul

Bu çalışma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 12.05.2022 tarih ve 2022/73 protokol no'lu kararıyla onaylanmıştır.

BULGULAR

Çalışmanın kapsadığı tarih aralığında 6126'sı erkek 6190'ı kadın toplam 13036 olgunun dışkı örneği incelenmiş ve olguların yaş ortalaması $38,67\pm22,40$ olarak saptanmıştır. İncelenen dışkı örneklerinden 8789'unun pandemi öncesi, 4247'sinin ise pandemi sonrası sürece ait olduğu belirlenmiştir. Aynı tarih aralığında selofan bant örneği incelenen toplam 3194 olgunun ise 1519'unu erkekler 1675'ini kadınlar oluşturmuş ve olguların yaş ortalaması $18,15\pm14,02$ olarak hesaplanmıştır. Selofan bant örneklerinin 2310'unun pandemi öncesi, 884'ünün ise pandemi sonrası süreçte alındığı belirlenmiştir.

Dışkı örneği incelenen tüm olguların %15,02'sinde en az bir bağırsak paraziti saptanmıştır. Bağırsak paraziti görülen olgularda en sık *Blastocystis* spp. (%92,95) saptanmış olup bunu sırasıyla *E. coli* (%3,42) ve *G. intestinalis* (%2,70) izlemiştir. Pandemi sonrası dönemde incelenen örneklerin pandemi öncesine göre daha az olması ve bu örneklerde parazit görülme oranının düşüklüğü istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Pandemi öncesi ve sonrası dönemde dışkı örneği incelenen tüm olguların cinsiyet, yaş, tanı aldıkları süreç ve tanı aldıkları parazite göre ayrıntılı incelemesi Tablo 1'de gösterilmiştir.

Çalışmada selofan bant test sonuçları değerlendirilen 3194 olgunun 246'sında (%7,70) *E. vermicularis* yumurtaları görülmüştür. Selofan bant örneği pozitif olguların yaş ortalaması $11,74\pm10,60$ 'tır. Pandemi öncesi dönemde incelenen 2310 olgunun 202'sinde (%8,74) *E. vermicularis* yumurtası görülmüş olup, pandemi sonrası dönemde ise 884 olgunun 44'ünde (%4,97) parazit yumurtaları saptanmıştır. Pandemi sonrası dönemde *E. vermicularis* saptanma oranındaki düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,00085$). *Enterobius vermicularis* pozitif olguların 129'unu (%52,43) erkek, 117'sini (%47,57) ise kadınlar oluşturmuştur. Cinsiyet ile *E. vermicularis* pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$).

Dışkı örneklerinin aylara göre dağılımları incelendiğinde en sık pozitiflik (%11,01) Mart ayında saptanmış olup bunu sırasıyla Ekim (%9,84) ve Ocak ayı (%8,53) izlemiştir. Aylara göre dışkıda parazit saptanma oranı arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$). Selofan bant örnekleri tanı aldıkları aylara göre incelendiğinde ise en sık aralık ayları eşit oranlarda (%9,75) takip etmiştir. Selofan bant yönteminin incelendiği ay ile parazit saptanma oranı arasında da anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$). Aylara göre olgularda saptanan parazit sayı ve oranları, pandemi öncesi ve pandemi sonrası olarak ayrıntılı olarak Grafik 1'de gösterilmiştir.

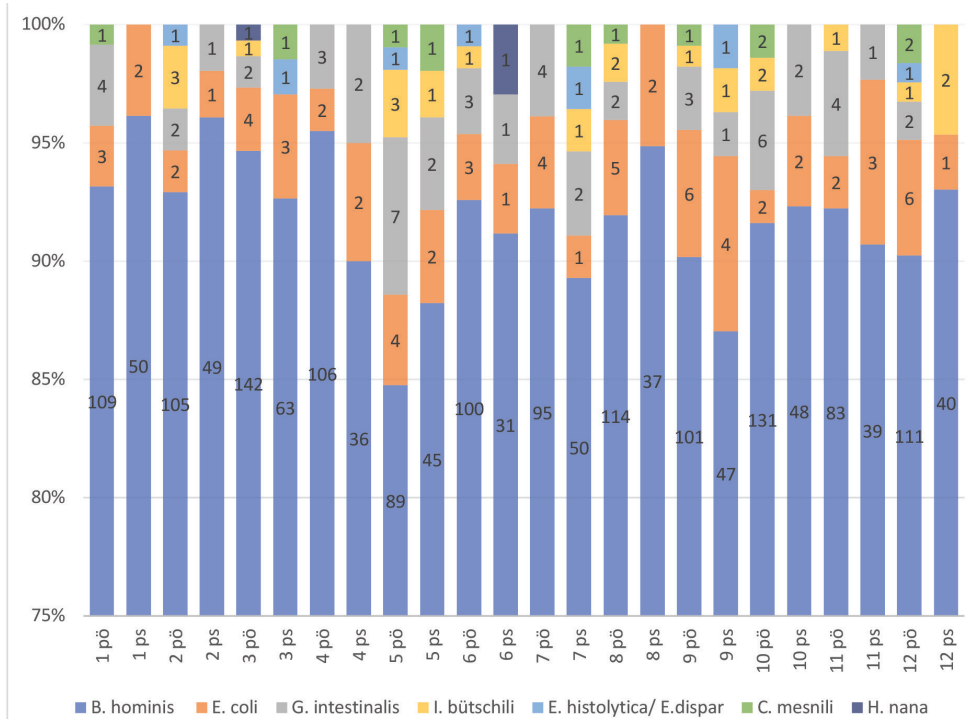
TARTIŞMA

Halk sağlığı açısından önem taşıyan bağırsak parazitlerinin yaygınlığının düzenli olarak rapor edilmesi ve değerlendirilmesi parazitler hastalıklarına karşı farkındalığın artırılması ve koruyucu önlemlerin geliştirilmesi açısından önem taşımaktadır. Özellikle okul çağındaki çocuklarda bu parazitler salgınlar oluşturabilmekte ve toplu yaşanan alanlarda kişiden kişiye kolayca bulaşabilmektedir. Pandeminin ilk iki yılında okulların büyük çoğunluğunun uzaktan eğitim modeline geçmesi, eğlence ve oyun alanlarının tedbirler kapsamında kapatılması, günlük yaşamın maske ve sosyal mesafe kurallarıyla yeniden dizayn edilmesi bu

Tablo 1. Dışkı örneği incelenen olguların karakteristik özellikleri ve tanı aldıkları sürecin değerlendirilmesi

		<i>B. hominis</i> n, (%)	<i>E. coli</i> n, (%)	<i>Giardia intestinalis</i> n, (%)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> n, (%)	<i>E. histolytica/dispar</i> n, (%)	<i>Chilomastix mesnili</i> n, (%)	<i>H. nana</i> n, (%)	Pozitif/ toplam
Cinsiyet	Erkek	972 (53,37)	25 (37,31)	30 (56,60)	8 (40,0)	4 (57,14)	5 (45,45)	2	1046/6126
	Kadın	849 (46,63)	42 (62,69)	23 (43,40)	12 (60)	3 (42,86)	6 (54,55)	0	935/6910
	p-değeri	0,00001	0,12939	0,14428	0,5556	0,57536	0,940453	-	0,00001
Yaş	Yaş ort.	40,56±20,79	37,29±20,78	28,30±19,46	38,26±22,28	34,28±22,28	41,8±24,71	46	40,01±19,3 /38,67±22,4
Test zamanı	Pandemi öncesi	1286 (70,62)	44 (65,67)	42 (77,77)	15 (75)	4 (57,14)	8 (72,72)	1	1399/8789
	Pandemi sonrası	535 (29,38)	23 (34,33)	12 (22,33)	5 (25)	3 (42,86)	3 (27,28)	1	582/4247
	p-değeri	0,00209	0,75126	0,10715	0,47368	0,55903	0,71089	-	0,00001

n: Olgu sayısı



Grafik 1. Saptanan bağırsak parazitlerinin tanı aldıkları aylara göre dağılımı

PÖ: Pandemi öncesi, PS: Pandemi sonrası

sürecin bağırsak parazitlerinin görülme oranında düşüşe neden olabileceğini akıllara getirmektedir (5). Bu amaç doğrultusunda çalışmamızda pandemi öncesi ve sonrası dönem iki yıllık eşit süreçler halinde incelenmiştir.

Çalışmamızda incelenen toplam dört yıllık süreçte dışkı örneklerinde en sık saptanan parazitlerin sırasıyla *Blastocystis* spp., *E. coli* ve *G. intestinalis* olduğu belirlenmiştir. Ülkemizde ve dünya genelinde yapılan birçok çalışmada da bu parazitlerin çalışmamızdaki benzer şekilde dışkı örneklerinde en sık saptanan parazitler arasında ilk üç sırada yer aldığı görülmektedir (6-10). Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarı'na dört yıllık süreçte (2006-2010 yılları) gönderilen 9421 olgunun dışkı sonucu retrospektif olarak irdelenmiştir. Sonuçlarımızla benzer olarak incelenen dışkı örneklerinde en sık *Blastocystis* spp. (%51), takiben *G. intestinalis* (%18,1) ve *E. coli* (%15,5) saptanmıştır. Ayrıca çalışmadaki pozitif saptanan olguların %7,5'inde *E. histolytica/dispar*, %2,4'ünde *Chilomastix mesnili*, %2'sinde *Hymenolepis nana* ve %0,8'inde *Dicrocoelium dentriticum* görüldüğü rapor edilmiştir (11). Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Parazitoloji Laboratuvarı'na 2011-2018 yılında gelen dışkı örnek sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirildiği başka bir çalışmada ise 18460 olgunun dışkı örneğinde en sık görülen bağırsak paraziti yine *Blastocystis* spp. olurken (%4,8) bunu sırasıyla *Entamoeba* spp. (%0,4) ve *G. intestinalis* (0,3) izlemiştir. Bu çalışma, popülasyonun seçimi ile, ilimize komşu bir coğrafyada gerçekleşmesi ve uzun bir süreci kapsaması açısından çalışmamızla benzerlikler içermektedir. Ayrıca saptanan parazit oranları ile çalışmamızda saptanan oranlar paralellik göstermektedir. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalardan farklı olarak çalışmamızda dikkat çeken nokta pandemi öncesi ve sonrası incelenen dışkı örneklerindeki parazitlerin saptanma oranında dikkate değer bir düşüş olmasıdır. Toplam dört yıllık süreçte incelenen 13036 dışkı örneğinin 8789'u pandemi öncesi iki yıllık dönemde, 4247'si ise pandemi sonrası iki yıllık dönemde laboratuvarımıza gönderilmiştir. Pandemi öncesi dönemdeki dışkı örneklerinin 1399'unda en az bir parazit saptanırken pandemi sonrası süreçte bu sayı 582'ye düşmüştür. İncelenen örnek sayısındaki yarı yarıya azalma dışında örnek başına saptanan parazit oranı da anlamlı oranda gerilemiştir ($p<0,05$).

Literatürde, çalışmamızda olduğu gibi, pandemi sürecinin bağırsak parazitlerinin görülme oranına etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmaya daha rastlanmıştır. İran'da yapılan bu çalışmada bağırsak parazitlerinin prevalansının pandemi süreciyle birlikte %5,8'den %2,8'e düştüğü belirtilmiştir (5). Ayrıca dışkı örneklerinde en sık saptanan parazitlerin (*Blastocystis* spp., *E. coli* ve *G. intestinalis*) çalışma sonuçlarımızla benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Ek olarak İran'da yapılan çalışmada parazitlerin tanı aldıkları yıllar ve olguların cinsiyetleri ile bağırsak paraziti görülmesi arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirtilmiştir ($p<0,05$). Çalışmamızda da cinsiyet ve tanı konulan yıllar ile bağırsak parazitleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Erkek olguların kadınlara oranla en az bir bağırsak parazite sahip olma oranı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca pandemi sürecinde bağırsak parazitlerinin prevalansındaki düşüş de Teimouri ve ark.'nın (5) yaptığı çalışmaya benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

Dışkı örneklerinde kesin tanısı olmayan bazı helmint türlerinin de pandemi sürecindeki sıklığının incelenmesi amacıyla, çalışmamızda selofan bant yöntemi sonuçları ayrıca değerlendirilmiştir. Sıklıkla *E. vermicularis* tanısı için kullanılan bu yöntem nadiren *Taenia* spp. ve *Ascaris* spp. gibi helmintlerin

tanısında da yardımcı olmaktadır. Özellikle okul çağı çocuklarında sık görülen bir helmint olan *E. vermicularis* prevalansının ülkemizdeki çalışmalarda %2,3 ile %16 arasında değişen oranlarda bildirildiği görülmektedir (6,12-14). İzmir'de yapılan bir çalışmada 10 yıllık hastane verileri incelenmiş ve selofan bant örneklerinin %4,6'sında *E. vermicularis* saptandığı belirtilmiştir (13). İlimizde yapılan eski tarihli bir çalışmada ise okul öncesi çocuklarda *E. vermicularis* sıklığı araştırılmış ve incelenen örneklerin %3'ünde parazit saptandığı belirtilmiştir (15). Diğer bir çalışmada ilimizde çalışan gıda işçilerinde selofan bant yöntemiyle *E. vermicularis* varlığı araştırılmış ve çalışmaya katılanların %8,6'sında parazit saptandığı bildirilmiştir (16). *Enterobius vermicularis* prevalansının bildirildiği çalışmalara paralel olarak bu çalışmada parazitin saptanma oranı %7,70 olarak belirlenmiş olup bu konuda yapılan diğer çalışmalarla benzerlik göstermiştir. Dışkı örneklerinde olduğu gibi selofan bant örneklerinde de pandemi sonrası süreçte incelenen örnek sayısı önemli oranda azalmış ve parazit prevalansı istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüş göstermiştir (%8,74'ten %4,97'ye, $p<0,05$).

Özellikle okul çağı çocuklarında saptanan *E. vermicularis*'in görülme sıklığının, pandemi sürecinde alınan önlemler ve okulların uzun süreçlerle kapalı tutulması nedeniyle düşüş gösterdiği düşünülmüştür. Bu konuda yapılan çalışmalar incelendiğinde *E. vermicularis* ile enfekte olguların büyük çoğunluğunun (%89) 18 yaş altındaki olgulardan oluştuğu bildirilmektedir (17,18). Çalışmamızda da selofan bant örneği incelenen olguların yaş ortalaması $18,15\pm14,02$ olarak belirlenmiş olup *E. vermicularis* yumurtası saptanan örneklerin yaş ortalaması ise $11,74\pm10,60$ olarak saptanmıştır.

Literatürde cinsiyet ile kıl kurdu arasındaki ilişkiyi inceleyen birçok çalışma bulunmaktadır. Sonuçları bakımından farklılıklar içeren bu çalışmaların bir kısmında erkeklerin diğer kısmında ise kadınların parazit ile daha fazla enfekte olduğunu bildirilmektedir (19,20). Çalışmamız da dahil olmak üzere sonuçları farklılıklar içeren bu araştırmalardaki ortak nokta ise cinsiyetle *E. vermicularis* görülmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış olmasıdır ($p>0,05$).

SONUÇ

Çalışmamız COVID-19 pandemi sürecinde bağırsak parazitlerinin görülme sıklığının düşüş eğilimine girdiğini göstermektedir. Bu süreçte sanitasyon konusunda alınan tedbirler, kişisel hijyene verilen önemin artması, sosyal mesafeye dikkat edilmesi gibi yaşantımıza direkt etki eden faktörler bu değişimin nedeni olarak düşünülmüştür. Kötü etkilerinin yanında pandemi süreci bulaşıcı hastalıkların önlenmesi konusunda halkın bilinçlenmesine olanak tanımış ve halk sağlığı sorunlarından biri olan bağırsak parazitleriyle mücadelede kazanımlar elde etmemize yardımcı olmuştur. Çalışmamız ilimizdeki bağırsak parazitlerinin görülme sıklığına dair hastane verilerini içermesinin yanında pandemi sürecinde elde edilen kazanımlara dikkati çekmiş ve bağırsak parazitleriyle mücadelenin devamına yönelik çalışmalar için temel bilgiler sağlamıştır.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 12.05.2022 tarih ve 2022/73 protokol no'lu kararıyla onaylanmıştır.

Hasta Onayı: Çalışmamızın retrospektif olmasından kaynaklı olarak hasta onay bilgisine gerek duyulmamıştır.

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

* Yazarlık Katkıları

Konsept: İ.Y., Dizayn: İ.Y., Veri Toplama veya İşleme: İ.Y., E.T., Analiz veya Yorumlama: İ.Y., Literatür Arama: İ.Y., E.T., Yazan: İ.Y., E.T.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek bildirilmemiştir.

KAYNAKLAR

- Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020; 395: 497-506.
- Sohrabi C, Alsafi Z, O'Neill N, Khan M, Kerwan A, Al-Jabir A, et al. World Health Organization declares global emergency: A review of the 2019 novel coronavirus (COVID-19). *Int J Surg* 2020; 76: 71-6.
- Presti G, McHugh L, Gloster A, Karekla M, Hayes SC. The Dynamics of Fear at the Time of Covid-19: A Contextual Behavioral Science Perspective. *Clin Neuropsychiatry* 2020; 17: 65-71.
- Pham Duc P, Nguyen-Viet H, Hattendorf J, Zinsstag J, Dac Cam P, Odermatt P. Risk factors for *Entamoeba histolytica* infection in an agricultural community in Hanam province, Vietnam. *Parasit Vectors* 2011; 4: 102.
- Teimouri A, Alimi R, Farsi S, Mikaeili F. Intestinal parasitic infections among patients referred to hospitals affiliated to Shiraz University of Medical Sciences, southern Iran: a retrospective study in pre- and post-COVID-19 pandemic. *Environ Sci Pollut Res Int* 2022; 29: 36911-9.
- Doğan N, Demirüstü C, Aybey A. Eskişehir Osmangazi Üniversitesinin Beş Yıllık Bağırsak Paraziti Prevalansının Türlerine ve Cinsiyetlere Göre Dağılımı [The prevalence of intestinal parasites according to the distribution of the patients' gender and parasite species for five years at the Osmangazi University Medical Faculty]. *Türkiye Parazitol Derg* 2008; 32: 120-5.
- Nasiri V, Esmailnia K, Karim G, Nasir M, Akhavan O. Intestinal parasitic infections among inhabitants of Karaj City, Tehran province, Iran in 2006-2008. *Korean J Parasitol* 2009; 47: 265-8.
- Abbaszadeh Afshar MJ, Barkhori Mehni M, Rezaeian M, Mohebbali M, Baigi V, Amiri S, et al. Prevalence and associated risk factors of human intestinal parasitic infections: a population-based study in the southeast of Kerman province, southeastern Iran. *BMC Infect Dis* 2020; 20: 12.
- Forsell J, Granlund M, Samuelsson L, Koskiniemi S, Edebro H, Evengård B. High occurrence of *Blastocystis* sp. subtypes 1-3 and *Giardia intestinalis* assemblage B among patients in Zanzibar, Tanzania. *Parasit Vectors* 2016; 9: 370.
- Pektaş B, Gökmen A, İnci A, Biten A, Keşli R, Ülker T. Three years of distribution of intestinal parasites in an Education and Research Hospital: A retrospective study. *J Clin Exp Invest* 2015; 6: 269-73.
- Çulha G, Gülkan B. Distribution of intestinal parasites in patients presented at the Parasitology Laboratory of the Medical School of Mustafa Kemal University during the Years 2006 and 2010. *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology* 2011; 68: 165-74.
- Kırkoyun Uysal H, Akgül O, Purisa S, Oner YA. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi'nde 25 Yıllık İntestinal Parazit Prevalansı: Retrospektif Bir Çalışma [Twenty-five years of intestinal parasite prevalence in İstanbul University, İstanbul Faculty of Medicine: a retrospective study]. *Türkiye Parazitol Derg* 2014; 38: 97-101.
- Uluslan O, Zorbozan O, Yetismis K, Töz S, Ünver A, Turgay N. The distribution of the intestinal parasites detected in Ege University Medical Faculty Parasitology Direct Diagnosis Laboratory; 10-years evaluation. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2019; 49: 86-91.
- Yazgan S, Çetinkaya Ü, Şahin İ. İlköğretim Çağı Çocuklarında *Enterobius vermicularis* (L.1758) Yaygınlığı ve Çeşitli Semptomlar ile İlişkisinin Araştırılması [The Investigation of Prevalence of *Enterobius vermicularis* (L.1758) in Primary School Age Children and Its Relation to Various Symptoms]. *Türkiye Parazitol Derg* 2015; 39: 98-102.
- Karadam SY, Ertabaklar H, Ertuğ S. Aydın'da Uç Farklı Kreş ve Anasınıfındaki Çocuklarda Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı [Distribution of intestinal parasites in children in two different day nurseries and a kindergarten in Aydın]. *Türkiye Parazitol Derg* 2008; 32: 257-60.
- Yazici V, Siriken F, Ertabaklar H, Ertuğ S. Aydın il merkezindeki hastanelerde çalışan mutfak personelinde bağırsak parazitlerinin araştırılması [Investigation of intestinal parasites in food workers in hospitals in Aydın, Turkey]. *Türkiye Parazitol Derg* 2007; 31: 136-8.
- Fan CK, Chuang TW, Huang YC, Yin AW, Chou CM, Hsu YT, et al. *Enterobius vermicularis* infection: prevalence and risk factors among preschool children in kindergarten in the capital area, Republic of the Marshall Islands. *BMC Infect Dis* 2019; 19: 536.
- Giray H, Keskinoglu P. İlkokul öğrencilerinde *Enterobius vermicularis* varlığı ve etkileyen etmenler [The prevalence of *Enterobius vermicularis* in schoolchildren and affecting factors]. *Türkiye Parazitol Derg* 2006; 30: 99-102.
- Laoraksawong P, Pansuwan P, Krongchon S, Pongpanitanont P, Janwan P. Prevalence of *Enterobius vermicularis* infections and associated risk factors among schoolchildren in Nakhon Si Thammarat, Thailand. *Trop Med Health* 2020; 48: 83.
- Keskin N, Ay Bektaş A. Ankara İli Sosyoekonomik Düzeyi Farklı İlköğretim Okullarında *Enterobius vermicularis*'in Görülme Sıklığı [The prevalence of *Enterobius vermicularis* in primary school which have different socioeconomic level in Ankara]. *Türkiye Parazitol Derg* 2014; 38: 159-65.

Determination of Parasitic Contamination in Vegetables Collected from Local Markets in İzmir Province, Türkiye

Türkiye'nin İzmir İlindeki Yerel Marketlerden Toplanan Sebzelerdeki Parazit Bulaşının Belirlenmesi

İ Fatma Bilgiç¹, İ Eylem Akdur Öztürk², İ Sefer Özer Babat^{3, 4}, İ Aylin Babaoğlu⁴,

İ Derya Dirim Erdoğan⁴, İ Metin Korkmaz⁴

¹İzmir Katip Çelebi University Faculty of Medicine, Department of Microbiology, İzmir, Türkiye

²Çukurova University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Adana, Türkiye

³Şırnak University Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics, Şırnak, Türkiye

⁴Ege University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, İzmir, Türkiye

Cite this article as: Bilgiç F, Akdur Öztürk E, Sefer Özer Babat SÖ, Babaoğlu A, Dirim Erdoğan D, Korkmaz M. Determination of Parasitic Contamination in Vegetables Collected from Local Markets in İzmir Province, Türkiye. Türkiye Parazitol Derg 2023;47(2):105-11.

ABSTRACT

Objective: Fresh vegetables are an important part of a healthy and nutrient-rich diet but the consumption of raw vegetables without proper washing is the main way for transmission of parasites. This study was aimed at determining the rate of parasitic contamination in prewashed fresh vegetables sold at randomly selected 10 retail markets which is the last step to reach the consumer in İzmir, Türkiye.

Methods: A total of 80 samples selected from eight types of vegetables including tomato, spinach, lettuce, rocket, mint, parsley, dill, and cucumber were examined for parasitic agents microscopically by sedimentation method after washing samples with normal saline. Statistical analysis was performed using SPSS software version 20.0.

Results: Protozoan cysts, helminth eggs, and larvae were detected in 21 (26.2%) of 80 samples from eight different vegetable species. Rhabditiform larvae 18.7%, *Blastocystis* spp. 5%, *Toxocara* spp. 2.5%; *Ascaris* spp., *Fasciola* spp., *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* and hooked worms were found in 1.2%. Spinach and mint samples were contaminated with parasites significantly more than other fresh vegetable samples ($p<0.008$, odds ratio =80.0; $p<0.017$, odds ratio =46.6 respectively). *Cruzanema* spp., a plant nematode, was found at the highest rate according to the results of culture, polymerase chain reaction and sequencing, respectively.

Conclusion: In this study, the parasitic contamination was found in approximately one of the four vegetables sold in randomly selected markets in İzmir. These findings show that vegetables sold in local markets can cause parasitic infections if they are consumed without adequate washing and awareness should be raised on this issue. In addition, it was concluded that morphological examinations should be confirmed by molecular studies and sequencing as much as possible in order to avoid misdiagnosis of rhabditiform larvae.

Keywords: Vegetable, parasitic contamination, İzmir, Türkiye

ÖZ

Amaç: Taze sebzeler sağlıklı beslenmenin önemli bir parçasıdır, ancak parazitlerle kontamine çiğ sebzelerin uygun şekilde yıkanmadan tüketilmesi, paraziter enfeksiyonların bulaşmasında en yaygın yollardan biri olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada Türkiye'nin İzmir ilinden rastgele seçilen 10 perakende markette satılan ön yıkama uygulanmış taze sebzelerdeki paraziter kontaminasyon oranının belirlenmesi amaçlandı.

Yöntemler: Domates, ıspanak, marul, roka, nane, maydanoz, dereotu ve salatalık olmak üzere sekiz çeşit sebzeden seçilen toplam 80 örnek, serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra sedimantasyon yöntemi ile mikroskopik olarak paraziter etkenler açısından incelendi. İstatistiksel analiz, SPSS yazılımının 20,0 sürümü kullanılarak yapıldı.

Received/Geliş Tarihi: 02.09.2022 Accepted/Kabul Tarihi: 03.03.2023

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Sefer Özer Babat, Şırnak University Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics; Ege University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, İzmir, Şırnak, Türkiye

Phone/Tel: +90 532 290 11 84 **E-mail/E-Posta:** sozerbabat@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-7665-1606

Bulgular: Sekiz farklı sebze türünde toplam 80 örneğin 21'inde (%26,2) protozoa kistleri, helmint yumurta ve larvaları saptandı. Rhabditidiform larva %18,7, *Blastocystis* spp. %5, *Toxocara* spp. %2,5; *Ascaris* spp., *Fasciola* spp., *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* ve çengelli solucan ise %1,2 oranlarında bulundu. Ispanak ve nane örnekleri diğer taze sebze örneklerine göre önemli ölçüde daha sık parazitlerle kontamine olduğu saptandı (sırasıyla $p < 0,008$, olasılık oranı =80,0; $p < 0,017$, olasılık oranı =46,6). Bu çalışmada sırasıyla kültür, polimeraz zincir reaksiyonu ve dizileme işlemleri sonucuna göre en yüksek oranda bir bitki nematodu olan *Cruzema* spp.'ye rastlandı.

Sonuç: Bu çalışmada, İzmir ilinde rastgele seçilen marketlerde satılan sebzelerden yaklaşık dört tanesinden birinde, paraziter kontaminasyon olduğu bulundu. Bu bulgular, yerel marketlerde satılan sebzelerin yeterince yıkanmadan tüketilmesi durumunda paraziter enfeksiyonlara neden olabileceğini ve bu konuda farkındalık oluşturulması gerektiğini göstermektedir. Ayrıca, rhabditid larvalarının yanlış tanımadan kaçınmak için morfolojik incelemelerin mümkün olduğunca moleküler araştırmalar ve dizileme yöntemi ile doğrulanması gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Sebze, paraziter kontaminasyon, İzmir, Türkiye

INTRODUCTION

Vegetables contain vitamins, minerals, and phytochemicals that are antioxidants, phytoestrogens, and anti-inflammatory agents, which make them a crucial part of a healthy diet (1). Consumption of a variety of vegetables has significant health benefits such as weight control, reduction of the risk of obesity, stroke, cardiovascular diseases and protection against certain types of cancer (2).

In the last decade, healthier lifestyle choices have changed people's eating habits to incorporate more vegetables into their diets. This has created an increase in demand for fresh vegetables (3). However, if these vegetables are consumed raw without adequate washing, they may be important vehicles for the transmission of enteric bacterial, viral, and parasitic pathogens (3-5).

Various factors can be associated with the contamination of vegetables with pathogens. Insufficient treatment of wastewater or human and/or animal feces contaminated water supplies used for irrigation at farmlands can result in contamination of vegetables. Similarly, the use of untreated night soil as a fertilizer can also result in contamination (4). Ignoring hygiene rules during and after the harvest when handling (transport, storage, preparation, and processing) vegetables is also considered a source of contamination (4-6). Recently, epidemics of intestinal parasitic infections related to consumption of raw vegetables have been reported from both developed and developing countries (3,7,8). Geographic spread of these pathogens has been facilitated by growing global trade and increase in the number of susceptible individuals.

Fresh produce, if consumed with no or minimal preparation, has been implicated in several studies as a potential vehicle of transmission. Indeed, several protozoal cysts (*Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*, *Giardia intestinalis*, *Entamoeba coli*, *Balantidium coli*, *Blastocystis* spp.), oocysts (*Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora* spp., *Isospora belli*, *Toxoplasma* spp.) and helminth eggs and larvae (*Strongyloides* spp., *Trichuris trichiura*, *Enterobius vermicularis*, *Fasciola hepatica*, *Ascaris lumbricoides*, *Toxocara* spp., *Hymenolepis diminuta*, *Taenia* spp.) have been documented in Nigeria (4, 9), Sudan (5), Libya (7), Cameroon (8), India (10), Ethiopia (6,11), Egypt (12,13), Ghana (14), Malaysia (15), Iran (16), South Korea (17), Türkiye (18-22), Italy (23), Switzerland (24), Poland (25), Brazil (26), and Canada (27).

To our knowledge, there are several studies conducted on helminthic contamination of fresh vegetables and fruits in Türkiye (18-22). However, there is no study performed to determine the parasitic contamination of vegetables specifically in İzmir province. Therefore, the main objective of the present study was to evaluate the parasitic contamination of vegetables that were

up for sale in İzmir's local markets for human consumption and the potential risks that these vegetables present to human health.

METHODS

Study Area

This study was carried out in İzmir city (38° 24' 45" N - 27° 8' 18" E), a province and metropolitan municipality of Türkiye in western Anatolia, situated along the Aegean coast. It is the third largest city in Türkiye in terms of population. Vegetables have an important place in the cuisine of the Aegean region of Türkiye.

Sample Collection

A total of 80 unwashed and pre-washed samples were purchased from randomly selected 10 wholesale markets and supermarkets in İzmir province. The commonly used samples consisted of tomato, spinach, lettuce, rocket, mint, parsley, dill, and cucumber. Only one sample was taken from each selected supermarket and the samples were chosen from readily found vegetables and then processed in raw condition.

Processing Samples for Parasitological Examination

The method used by Abougrain et al. (7) was slightly modified and used as follows: A sample of 100 g from each vegetable type was weighed and placed into a plastic bag. These samples were washed with 250 mL of physiological saline solution (0.85% NaCl) to detach the parasitic structures (ova, larvae and cysts) of protozoal and helminthic origin. Following an overnight sedimentation of the wash solution, the top layer was discarded and the remaining wash solution was centrifuged at 2000 rpm for 15 minutes. After centrifugation, supernatant was discarded. The sediment was examined in Lugol stained slides (six for each sample) under light microscope using x100 and x400 magnification. Identification of parasitic structures was based on their morphology (7).

Agar Plate Method and Molecular Diagnosis

Following microscopic examination, samples with nematodes were centrifuged and rhabditid larvae at the bottom were cultured by the modified Tahseen and Jairajpuri (28) method. Rhabditid larvae detected in sample sediments were cultured in autoclaved non-nutrient agar cultures of 1.5% concentration with human blood clot added as nutrient source for nematodes. The petri dishes were kept in a growth chamber at room temperature (28).

Larvae were obtained from agar cultures and stored in 70% ethanol at -20 °C prior to molecular processing. DNA extraction and rDNA amplification were carried out at the European Union Reference Laboratory for Parasites, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy. Genomic DNA was purified from larvae using the

DNA IQTM Tissue and Hair Extraction Kit (PROMEGA, DC6740) according to manufacturer's instructions and the obtained DNA was amplified by multiplex polymerase chain reaction (PCR) (29,30). Briefly two sets of primer pairs were used in a multiplex PCR to amplify the region the 18S ribosomal RNA and the ITS1, 5.8S, ITS2 target loci (Table 1) (31,32). Reactions were performed in a final volume of 30 µL using Hot StarTaq Master Mix (Qiagen, Germany), primers (10 pmol of each primer), and 10 µL of DNA purified from a single larva. The amplification was performed as follows: an initial denaturation and polymerase activation step at 95 °C for 15 min, then 35 amplification cycles (denaturation at 95 °C for 10 sec, hybridization at 55 °C for 30 sec, and elongation at 72 °C for 30 sec), and a final elongation step at 72 °C for 3 min. The PCR was performed in a Veriti 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems, USA). PCR products were run on a 2% agarose gel in TAE (2M Tris-acetate, 50 mM EDTA, pH 8.3) buffer. The PCR products were sequenced by GATC Biotech (Germany) and obtained sequences were compared with the biological sequences in terms of regions of local similarity using GenBank with the BLAST system.

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using SPSS software version 20.0 for windows spreadsheet (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Pearson chi-square test was used to determine the association between the presence of parasitic contamination of tomato and the presence of parasitic contamination of other vegetables. A p-value <0.0001 was considered statistically significant difference.

RESULTS

A total of 80 fresh vegetable samples were examined for the presence of parasitic contamination. Helminth eggs and larvae, and protozoal cysts were detected in 26.2% (21/80) of fresh

vegetables examined (Table 2). Vegetables that were found to be contaminated with at least one type of parasite included 80% (8/10) of the spinach samples, 30% (3/10) of lettuce samples, 70% (7/10) of mint samples, 10% (1/10) of parsley samples, and 20% (2/10) of dill samples. No parasitic structures were detected in the rest of the vegetable samples. Spinach and mint samples were contaminated with intestinal parasites significantly more often than other fresh vegetable samples ($p < 0.008$, odds ratio =80.0; $p < 0.017$, odds ratio =46.6 respectively).

The distribution of 25 parasites detected in 80 samples according to their species was detailed in Table 2; rhabditid larvae (18.7%) (Figure 1), *Blastocystis* spp. (5%), *Toxocara* spp. (2.5%) and *Ascaris* spp., *Fasciola* spp., *Entamoeba complex species* (*E. histolytica*/*Entamoeba dispar*/*Entamoeba moshkovskii*), hookworm with same incidence (1.2%).

Culturing of microscopically detected rhabditid larvae on standard blood agar plates resulted in the development of populations of rhabditid nematodes (Figure 2).

DNA amplification was successfully performed, targeting the ITS and *t* 18S *r*RNA gene. Edited sequences of ITS and 18S of these rhabditid nematodes were compared (BLAST) with the material

Table 1. PCR target genes and references used in the molecular investigations

Target gene	References	Primer pairs
18S ribosomal RNA	(31)	SSU18A AAAGATTAAGCCATGCATG SSU26R CATCTCTGGCAAATGCTTTTCG
ITS1, 5.8S, ITS2 region	(32)	NC2 TTAGTTTCTTTCTCCGCT NC5 GTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCAT

PCR: Polymerase chain reaction

Table 2. Overall distribution of parasitic contamination by species in fresh vegetables in İzmir

Vegetable (n=10)	Number positive (%)	No of detected parasites		Number of positivity							
		One	Two	Rhabditid larva	Hookworm egg	Toxocara spp. egg	Ascaris spp. egg	Fasciola spp. egg	Entamoeba complex species*	Blastocystis spp. cyst	Total
Tomato	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Spinach	8 (80)	6	2	8	0	0	0	1	0	1	10
Lettuce	3 (30)	2	1	0	0	2	1	0	0	1	4
Rocket	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mint	7 (70)	6	1	7	1	0	0	0	0	0	8
Parsley	1 (10)	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Dill	2 (20)	2	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Cucumber	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total (%)	21 (26.2)	17	4	15 (18.7%)	1 (1.2%)	2 (2.5%)	1 (1.2%)	1 (1.2%)	1 (1.2%)	4 (5%)	25 (30%)

*Entamoeba complex (*E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*)

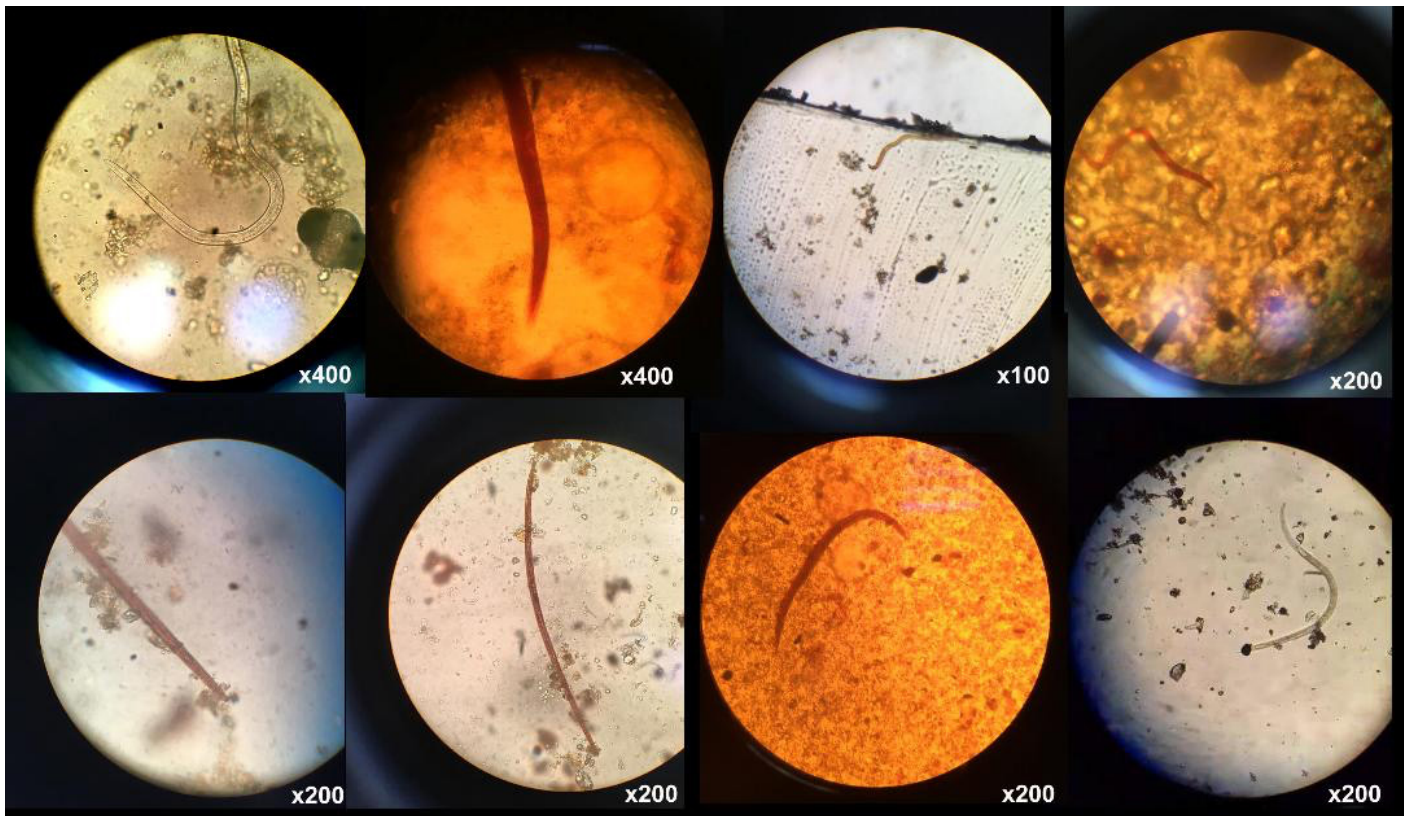


Figure 1. Microscopic appearance of rhabditiform larvae in preparations prepared with the native-Lugol method

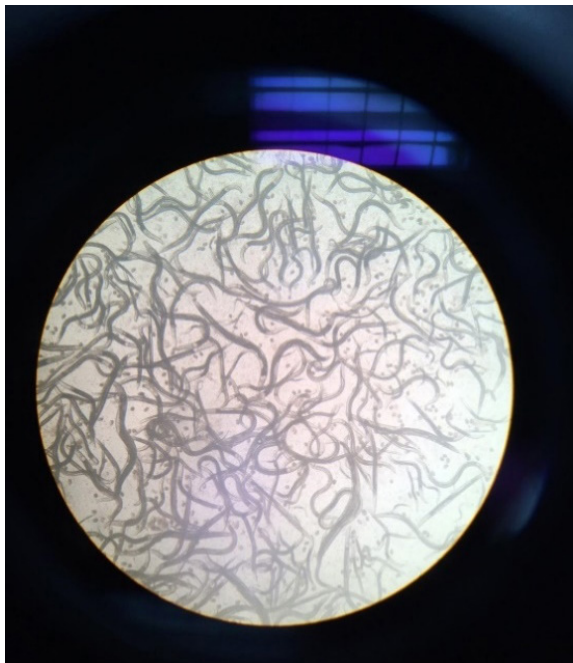


Figure 2. Microscopic appearance of rhabditiform larvae obtained by agar culture method

in GenBank and identified as *Cruzanema* spp. (100% similarity on 750 bp sequence of 18S; 99% similarity on 145 bp of ITS1, GenBank accession numbers: AY284655.1 18S and MW228469.1 ITS1/5.8S/ITS2) (Figure 3).

DISCUSSION

The present study has shown that eight of the commonly consumed fresh vegetables in İzmir, Türkiye were contaminated with several parasitic structures. Similarly, studies worldwide have shown that raw vegetables could be vehicles for the transmission of intestinal parasitic infections (8).

Overall protozoal and helminthic contamination rate (26.2%) of fresh unwashed or pre-washed vegetables in our study was relatively higher than 13.5% in Khartoum, Sudan (5), 6.3% in Burdur, Türkiye (18), and 11.0% in Maiduguri, Northeastern Nigeria (33). However, it was lower than the rates found in the majority of studies such as 31.7% in Egypt (15), 59.7% in Iran (16), 54.4% in Ethiopia (11), 56.25% in Nigeria (9), and 58% in Libya (7). These variations in contamination rates in different studies can be attributed to geographical location, type and number of samples examined, laboratory methods used, water source and type used to irrigate produce, hygiene practices during harvest, handling methods after harvest, and the type of water used to wash vegetables (5). In addition, it was thought that the relatively low level of parasite contamination in our study may be due to the use of pre-wash, which can remove parasites from vegetables in the markets, and the fact that İzmir is a cosmopolitan city with a developed infrastructure system.

It has been postulated by some authors that the extent of contamination of vegetables and fruits is affected by their shape and surface texture. Parasite eggs, cysts and oocysts attach more readily to vegetables with rough surfaces compared to those with leathery surfaces due to their greater contact with the

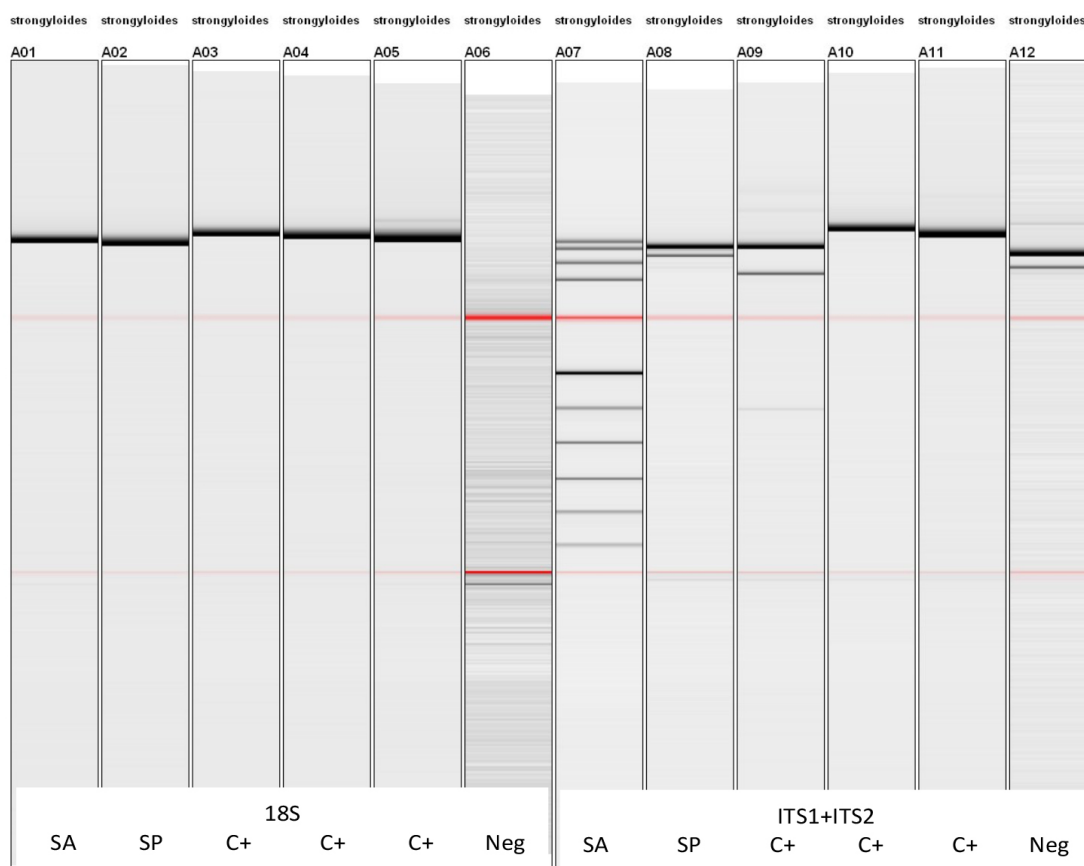


Figure 3. The agarose gel electrophoresis image of the PCR result [SA-Strongyloides from vegetables, SA 18S = *Cruzanema* sp. (common bacterivorous soil nematode), 100% identity on 750 bp sequence, SA ITS = *Cruzanema* sp. (common bacterivorous soil nematode), 99% similarity on 145 bp of ITS1]

PCR: Polymerase chain reaction, SP: Strongyloides from human stool

contaminated soil surface (4-6,13,34). This may explain why in the present study spinach, mint, and lettuce were contaminated the most (80%, 70%, and 30%, respectively), and tomato and cucumber had no contamination. It is also consistent with the results of other studies that showed the absence of parasites in leafy vegetables such as tomatoes, cucumbers and peppers (5,35,36).

In this study, the most frequently recovered parasite in vegetable samples was Rhabditid larvae (18.7%) which was initially thought to be *Strongyloides* spp. during superficial morphological examination. *Strongyloides* spp. infections are often at the forefront of diagnostic staff's minds because of their zoonotic potential. It is recommended that diagnosticians not to draw conclusions too rapidly, especially in unusual or unexpected infections (37). Since *Strongyloides* spp. infections are not endemic in Türkiye, we planned to perform further confirmatory tests before reporting rhabditid larvae as *Strongyloides* spp. After microscopic examination, agar plate culturing modified for the growth of pathogenic nematodes, PCR and sequencing were performed successfully and larvae was identified as *Cruzanema* sp., a plant nematode.

Similarly, Stachurska-Hagen (37) described two apparent cases of rhabditid infections in dog and piglet. After examination with culturing, PCR and sequencing, *Pelodera* sp. and *Rhabditis* spp., were identified in dog and piglet, respectively. Nevertheless, environmental contamination with free-living nematodes

following fecal shedding cannot be completely excluded (37). When molecular techniques are used for diagnosis or confirmation of morphological findings, it should be noted that sequencing of PCR products is the only way to ensure that other unexpected amplifications do not occur. Many publications (35,38-40) reported to have found *Strongyloides stercoralis* as a result of their morphological examination of the larvae but a non-pathogenic species cannot be definitively ruled out without sequencing.

Similar to our study, *Blastocystis* spp. was found in the studies performed by Yusof et al. (15) and Caradonna et al. (23). It is expected to find *B. hominis* since humans are affected by these pathogens worldwide. *Toxocara* spp. was the third most frequently detected parasite in this study with a contamination rate of 2.5%. This rate is lower than those found in Ethiopia (6), Libya (7), and Nigeria (4). In Türkiye, the contamination rate of vegetables with *Toxocara* spp. was 2.7% in Burdur (18), 1.48% in Ankara (19) and 1% in Bursa (20).

No taeniid egg was detected in the samples examined in the present study. However, *Taenia/Echinococcus* species have been reported to contaminate vegetables in other studies. Contamination rate of taeniid eggs in fresh vegetables was 1.25% in Nigeria (4), 2.7% in Burdur, Türkiye (20), 25% in Libya (7), and 3.75% in Ankara, Türkiye (19).

Federer et al. (24) reported that microscopic identification could not be done for all samples because the samples contained large amount of dirt and pollen particles same size as taeniid

eggs. However, when multiplex PCR was performed on these particulate-containing samples, *Taenia* spp. and *Echinococcus* spp. DNA was detected. A notable finding is that *T. saginata* was identified in one of the samples of this study, which indicates contamination with human feces. Although *T. saginata* eggs are not infective to humans, this finding indicates that the vegetables are grown in unhealthy hygiene conditions. Such conditions create an increased risk for transmission of geohelminths such as *Ascaris* spp. or *Trichuris* spp., protozoa such as *Giardia* spp. and other bacterial or viral pathogens (41). *Ascaris lumbricoides* is also often used as a parasitological indicator to determine the quality of hygiene (10).

In studies using predominantly morphological identification, as in our study, it was aimed to detect parasitic contamination rather than pathogenicity of the parasite. Large-scale studies using advanced techniques including staining, cultivating, molecular technique such as sequencing in addition to morphological detections are recommended for comprehensive identification of pathogenic parasitic contamination through subspecies identification. In addition, the risk factors associated with vegetable contamination are also needed to investigate in the further studies.

CONCLUSION

The current study has shown that 26.2% of the examined vegetables had some sort of parasitic contamination. This highlights that some of the vegetables purchased from the local markets may pose significant health risks. In order to reduce transmission of parasites from vegetables to humans, strict hygiene practices must be followed, and all vegetables must be thoroughly washed before consumption. Furthermore, wastewater must be adequately treated, and preventative measures should be implemented to prevent contamination of water supplies with animal and human feces. Farmers and personnel who are involved in harvesting and post-harvesting handling must be educated in proper collection, storage, and transport of the vegetables and fruits to minimize the risk of contamination. It must be remembered that prevention of contamination of vegetables is the most effective way to reduce food-borne parasitic infections. In addition, advanced molecular techniques such as sequencing after morphological identification, should be performed in order to avoid misdiagnosis which is important to public health data.

* Ethics

Ethics Committee Approval: Ethics committee was not taken because no human or animal samples or data were used in our study.

Informed Consent: N/A.

Peer-review: Internally and externally peer-reviewed.

* Authorship Contributions

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

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

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

REFERENCES

1. Liu RH. Health-promoting components of fruits and vegetables in the diet. *Adv Nutr* 2013; 4: 384S-92S.
2. WHO. Increasing fruit and vegetable consumption to reduce the risk of non-communicable diseases. 2019.
3. Losio MN, Pavoni E, Bilei S, Bertasi B, Bove D, Capuano F, et al. Microbiological survey of raw and ready-to-eat leafy green vegetables marketed in Italy. *Int J Food Microbiol* 2015; 210: 88-91.
4. Adenusi AA, Abimbola WA, Adewoga TO. Human intestinal helminth contamination in pre-washed, fresh vegetables for sale in major markets in Ogun State, southwest Nigeria. *Food Control* 2015; 50: 843-9.
5. Mohamed MA, Siddig EE, Elaagip AH, Edris AM, Nasr AA. Parasitic contamination of fresh vegetables sold at central markets in Khartoum state, Sudan. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2016; 15: 17.
6. Tefera T, Biruksew A, Mekonnen Z, Eshetu T. Parasitic Contamination of Fruits and Vegetables Collected from Selected Local Markets of Jimma Town, Southwest Ethiopia. *Int Sch Res Notices* 2014; 2014: 382715.
7. Abougrain AK, Nahaisi MH, Madi NS, Saied MM, Ghenghesh KS. Parasitological contamination in salad vegetables in Tripoli-Libya. *Food Control* 2010; 21: 760-2.
8. Akoachere JTK, Tatsinkou BF, Nkengfack JM. Bacterial and parasitic contaminants of salad vegetables sold in markets in Fako Division, Cameroon and evaluation of hygiene and handling practices of vendors. *BMC Res Notes* 2018; 11: 100.
9. Idahosa OT. Parasitic contamination of fresh vegetables sold in Jos markets. *Glob J Med Res* 2011; 11: 21-5.
10. Gupta N, Khan D, Santra S. Prevalence of intestinal helminth eggs on vegetables grown in wastewater-irrigated areas of Titagarh, West Bengal, India. *Food Control* 2009; 20: 942-5.
11. Bekele F, Tefera T, Biresaw G, Yohannes T. Parasitic contamination of raw vegetables and fruits collected from selected local markets in Arba Minch town, Southern Ethiopia. *Infect Dis Poverty* 2017; 6: 19.
12. Eraky MA, Rashed SM, Nasr Mel-S, El-Hamshary AM, Salah El-Ghannam A. Parasitic contamination of commonly consumed fresh leafy vegetables in benha, egypt. *J Parasitol Res* 2014; 2014: 613960.
13. Said DES. Detection of parasites in commonly consumed raw vegetables. *Alexandria Med J* 2012; 48: 345-52.
14. Duedu KO, Yarnie EA, Tetteh-Quarcoo PB, Attah SK, Donkor ES, Ayeh-Kumi PF. A comparative survey of the prevalence of human parasites found in fresh vegetables sold in supermarkets and open-air markets in Accra, Ghana. *BMC Res Notes* 2014; 7: 836.
15. Yusof AM, Mohammad M, Abdullahi MA, Mohamed Z, Zakaria R, Wahab RA. Occurrence of Intestinal Parasitic Contamination in Select Consumed Local Raw Vegetables and Fruits in Kuantan, Pahang. *Trop Life Sci Res* 2017; 28: 23-32.
16. Ezatpour B, Chegeni AS, Abdollahpour F, Aazami M, Alirezai M. Prevalence of parasitic contamination of raw vegetables in Khorramabad, Iran. *Food Control* 2013; 34: 92-5.
17. Hong S, Kim K, Yoon S, Park WY, Sim S, Yu JR. Detection of *Cryptosporidium parvum* in environmental soil and vegetables. *J Korean Med Sci* 2014; 29: 1367-71.
18. Adanir R, Tasci F. Prevalence of helminth eggs in raw vegetables consumed in Burdur, Turkey. *Food Control* 2013; 31: 482-4.
19. Kozan E, Gonenc B, Sarimehmetoglu O, Aycicek H. Prevalence of helminth eggs on raw vegetables used for salads. *Food Control* 2005; 16: 239-42.
20. Avcioglu H, Soykan E, Tarakci U. Control of helminth contamination of raw vegetables by washing. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2011; 11: 189-91.
21. Erdogru Ö, Şener H. The contamination of various fruit and vegetable with *Enterobius vermicularis*, *Ascaris* eggs, *Entamoeba histolyca* cysts and *Giardia* cysts. *Food control* 2005; 16: 557-60.

22. Yeşilçayır HE. Aydın yöresinde salata malzemesi olarak kullanılan çiğ sebzelerdeki helmint yumurtalarının tespiti: Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü 2017.
23. Caradonna T, Marangi M, Del Chierico F, Ferrari N, Reddel S, Bracaglia G, et al. Detection and prevalence of protozoan parasites in ready-to-eat packaged salads on sale in Italy. *Food Microbiol* 2017; 67: 67-75.
24. Federer K, Armua-Fernandez MT, Gori F, Hoby S, Wenker C, Deplazes P. Detection of taeniid (*Taenia* spp., *Echinococcus* spp.) eggs contaminating vegetables and fruits sold in European markets and the risk for metacestode infections in captive primates. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 2016; 5249-53.
25. Lass A, Pietkiewicz H, Szostakowska B, Myjak P. The first detection of *Toxoplasma gondii* DNA in environmental fruits and vegetables samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; 31: 1101-8.
26. Silva SR, Maldonado IR, Ginani VC, Lima SA, Mendes VS, Azevedo ML, et al. Detection of intestinal parasites on field-grown strawberries in the Federal District of Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2014; 47: 801-5.
27. Dixon B, Parrington L, Cook A, Pollari F, Farber J. Detection of *Cyclospora*, *Cryptosporidium*, and *Giardia* in ready-to-eat packaged leafy greens in Ontario, Canada. *J Food Prot* 2013; 76: 307-13.
28. Tahseen Q, Jairajpuri M. Effect of agar concentration on matricidal hatching in *Cruzema tripartitum*. *Nematol Mediterr* 1991: 235-6.
29. Pozio E, La Rosa G. PCR-derived methods for the identification of *Trichinella* parasites from animal and human samples. *Methods Mol Biol* 2003; 216: 299-309.
30. Zarlenga DS, Chute MB, Martin A, Kapel CM. A multiplex PCR for unequivocal differentiation of all encapsulated and non-encapsulated genotypes of *Trichinella*. *Int J Parasitol* 1999; 29: 1859-67.
31. Blaxter ML, De Ley P, Garey JR, Liu LX, Scheldeman P, Vierstraete A, et al. A molecular evolutionary framework for the phylum Nematoda. *Nature* 1998; 392: 71-5.
32. Gasser RB, LeGoff L, Petit G, Bain O. Rapid delineation of closely-related filarial parasites using genetic markers in spacer rDNA. *Acta Trop* 1996; 62: 143-50.
33. Shehu M, Amina R. Helminths contaminants of fruits and vegetables sold in rural areas of Zamfara States, Nigeria. *J Zool Biosci Res* 2014; 1: 15-9.
34. Hajipour N, Soltani M, Ketziş J, Hassanzadeh P. Zoonotic parasitic organisms on vegetables: Impact of production system characteristics on presence, prevalence on vegetables in northwestern Iran and washing methods for removal. *Food Microbiol* 2021; 95: 103704.
35. Obebe OO, Aluko OO, Falohun OO, Akinlabi KB, Onyiche TE. Parasitic contamination and public health risk of commonly consumed vegetables in Ibadan-Nigeria. *Pan Afr Med J* 2020; 36: 126.
36. Adejumo A, Morenikeji O. Prevalence of Intestinal parasites in vegetables sold in major markets in Ibadan city, south-west Nigeria. *Global journal of pure and applied sciences* 2015; 21: 7-12.
37. Stachurska-Hagen T, Johnsen OH, Robertson LJ. Non-Strongyloides rhabditida identified in fecal samples—two case reports: lessons learned from morphological and molecular diagnostic approaches. *Parasitol Open* 2016; 2.
38. Alemu G, Nega M, Alemu M. Parasitic Contamination of Fruits and Vegetables Collected from Local Markets of Bahir Dar City, Northwest Ethiopia. *Res Rep Trop Med* 2020; 11: 17-25.
39. Nyirenda S, Bukowa K, Banda W, Mbewe J, Hamankolo F, Banda F, et al. Parasitic Contamination of Common Vegetables Sold in Lusaka, Zambia. *J Food Qual Hazards Control* 2021.
40. El Bakri A, Hussein NM, Ibrahim ZA, Hasan H, AbuOdeh R. Intestinal Parasite Detection in Assorted Vegetables in the United Arab Emirates. *Oman Med J* 2020; 35: e128.
41. Dewaal CS, Hicks G, Barlow K, Alderton L, Vegosen L. Foods associated with foodborne illness outbreaks from 1990 through 2003. *Food Prot Trends* 2006; 26: 466-73.

Assessment of the Prevalence of Head Lice Infestation and Parents' Attitudes Towards Its Management: A School-based Epidemiological Study in İstanbul, Türkiye

Baş Biti Enfestasyonu Prevalansının ve Ebeveynlerin Tedaviye İlişkin Tutumlarının Değerlendirilmesi: İstanbul'daki Bir Okulda Yürütülen Epidemiyolojik Bir Çalışma

Özben Özden¹, İnci Timur², Hale Ezgi Açma², Duygu Şimşekli², Barış Gülerman², Özgür Kurt³

¹Acıbadem University Institute of Health Sciences, Department of Medical Biotechnology, İstanbul, Türkiye

²Acıbadem University Faculty of Medicine, İstanbul, Türkiye

³Acıbadem University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, İstanbul, Türkiye

Cite this article as: Özden Ö, Timur İ, Açma HE, Şimşekli D, Gülerman B, Kurt Ö. Assessment of the Prevalence of Head Lice Infestation and Parents' Attitudes Towards Its Management: A School-based Epidemiological Study in İstanbul, Türkiye. Türkiye Parazitoloj Derg 2023;47(2):112-6.

ABSTRACT

Objective: Head lice infestation (HLI), caused by *Pediculus humanus capitis*, is an important public health problem worldwide, especially in primary school children. The aim of this study is to investigate HLI level, related factors, and families' knowledge levels and attitudes about HLI in two primary schools in a relatively low socio-economic region in İstanbul.

Methods: A questionnaire on HLI was developed initially and delivered to all children and parents in the school. A total of 340 primary school students, aged between 6-12, were enrolled in the study after the consent of their parents. Their hair were examined for HLI with special combs at their schools, and free anti-lice shampoos were given to parents of positive children. A total of 951 completed questionnaires were received and evaluated with chi-square test using the SPSS® 17.0 program, and the differences of $p < 0.05$ were considered significant.

Results: Number of boys in the study was slightly higher than the girls (176 vs. 164). HLI was detected in 32 (9.4%) of 340 children; seven had live adult lice on their hair while 25 had only the nits. HLI was obviously more common in girls (16.4%), compared to boys (2.8%). Analysis of 951 questionnaires revealed a statistically significant difference between HLI and infrequent bathing ($p < 0.05$). The differences between HLI and the education levels of parents, income, the number of siblings and in contact with animals were not found to be significant ($p > 0.05$).

Conclusion: HLI is still a common health problem, especially in girls in primary schools. Parents are aware of the relationship between the hygiene and prevention against HLI, but low socio-economic resources seem to be important determinants. Regular combing and training activities in primary schools, in coordination with the local authorities and parents are no doubt useful in reducing the incidence of HLI among the children.

Keywords: *Pediculus humanus capitis*, infestation, public health, primary school, questionnaire

ÖZ

Amaç: *Pediculus humanus capitis*'in neden olduğu baş biti enfestasyonu (BBE), dünya çapında, özellikle ilköğretim çağı çocuklarında önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bu çalışmanın amacı, İstanbul'da sosyo-ekonomik düzeyi düşük bir bölgeden iki ilköğretim okulunda BBE düzeyini, ilişkili etmenleri ve ailelerin BBE ile ilgili bilgi düzeyleriyle tutumlarını araştırmaktır.

Yöntemler: Çalışma öncesi çocuklar ve velilere yönelik bir anket formu oluşturulmuş okuldaki tüm çocukların velilerine ulaştırılmıştır. Çalışmaya katılması ailelerince onaylanan 6 ila 12 yaş arası toplam 340 ilkököl öğrencisi, okullarında özel taraklarla taranarak BBE yönünden incelenmiştir. Cevaplanmış 951 ankete verilen cevaplar SPSS® 17.0 programı kullanılarak ki-kare testiyle değerlendirilmiş ve $p < 0,05$ düzeyi farklar anlamlı kabul edilmiştir.

Received/Geliş Tarihi: 14.06.2022 Accepted/Kabul Tarihi: 29.03.2023

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Özben Özden, Acıbadem University Institute of Health Sciences, Department of Medical Biotechnology, İstanbul, Türkiye

Phone/Tel: +90 216 547 26 72 **E-mail/E-Posta:** ozbenozdennn@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-6224-804X

Bulgular: Çalışmaya katılan erkek çocuk sayısı kızlardan biraz daha yüksekti (176'ya 164). Özel taraklarla yapılan incelemede, 340 çocuğun 32'sinde (%9,4) BBE saptandı; bunların 7'sinde erişkin bitler, 25'inde ise sadece yumurtalar tespit edildi. Kızlardaki BBE oranı erkeklerden çok daha yüksek bulundu (%16,4'e karşılık %2,8). Velilerce doldurulup gönderilen toplam 951 anketin analizinde, BBE ile anlamlı fark sadece, ters yönlü olarak, haftalık banyo sayısı arasında saptandı ($p<0,05$). Anne veya babanın eğitimi, gelir durumu, çocuk sayısı, hayvanlarla temas etme ile saç biti enfestasyonu arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Sonuç: BBE, özellikle ilköğretim çağındaki kız çocuklarında halen sık görülen bir sağlık sorunudur. Aileler BBE'nin önlenmesinde hijyenin rolünün farkındalar, ancak düşük sosyo-ekonomik kaynaklar bu konuda önemli birer belirleyici durumundadır. İlköğretim okullarında, yöneticiler ve ailelerle iş birliği yapılarak düzenli aralıklarla gerçekleştirilecek BBE kontrolleri ve eğitim çalışmaları şüphesiz çocuklarda BBE insidansını düşürmekte yararlı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Pediculus humanus capitis*, enfestasyon, toplum sağlığı, ilköğretim, anket

INTRODUCTION

Pediculus humanus capitis (*P. capitis*) is an obligate human ectoparasite which causes persistent and easily communicable infestations, particularly in school-aged children between 5 years and 13 years. *P. capitis* is one of the oldest human parasites, and is a worldwide public health problem that affects mostly the school-aged children. Lice infestation which dates back to 25 million years ago is still prevalent (1). The prevalence of head lice infestation (HLI) is associated with many factors such as the characteristics of the living conditions, socio-economic level, education level of the parents, and environmental conditions (2). This ectoparasite is most often transmitted between these hosts through direct "hair-to-hair" contact. *P. capitis* lives on the scalp surface, which supplies food, warmth, shelter and moisture to the arthropode (3). Papular itchy lesions can be observed on the feeding site, and may end up with excoriations on the skin. Secondary bacterial infections due to *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus* spp. may occur on the skin lesions, as well. Local enlargement of cervical lymph nodes has been observed in some patients. Severe and chronic infestation may lead to anemia and alopecia (4). HLI may also be associated with life-threatening conditions, rarely; recently, severe iron deficiency anemia resulting from a massive infestation of head lice was reported as a secondary cause of death, after cardiac arrest in a 12-year-old patient (5).

Prevalences of head lice among primary school children in the world have been reported. Many studies have been carried out in different cities to determine the prevalence of *Pediculus humanus*

capitis in Türkiye. Previous studies indicated that it as a prevalent infection among school children in Türkiye, with infestation rates ranging between 0.3-34.1% (2).

P. capitis has long been described as an ectoparasite without any correlation with vectorship for infectious agents. However, many studies from different regions of the world were published in the last decade, indicating a firm association between the HLI and their vectorship of various bacteria, including *Borrelia recurrentis*, *Bartonella quintana*, *Yersinia pestis* and *Acinetobacter* spp. (6-10). These bacteria are associated with serious, life-threatening clinical cases; therefore prevention of individual cases and outbreaks, especially in primary schools, is essential against HLI (8).

Despite its potential threats to both individual and public health, HLI is unfortunately still not one of the leading concerns of the health authorities. In addition to its direct effects on the somatic health, HLI is associated with a serious social stigmatization and thus may cause psychological problems, especially in school children (11).

The number of studies on the diagnosis, prevention, transmission of head lice, compliance to treatment, related factors and difficulties should be increased and public health professionals should prioritize this issue. The aim of the present study is to investigate the prevalence of *Pediculus humanus capitis* infestation in two primary schools in İstanbul city centre (Figure 1) and assess parent's attitudes and previous experiences on HLI using a questionnaire.



Figure 1. Kadıköy and Sancaktepe districts where HLI research was conducted in İstanbul
HLI: Head lice infestation

METHODS

Initially, official permission to conduct a school-based study was received from the Ministry of Health's İstanbul Asia Office, where the schools with high HLI were also chosen for the study. In addition, the study was reviewed and approved by the Ethics Board of Acibadem University (2014-1/2) as well. Information booklet and informed consent forms were given to all parents of primary school children over the teachers. School directorate and students were initially informed about the study content and purpose, and school visits were then scheduled in coordination with the school director. Free anti-lice shampoo were given to parents of all *P. capitis*-positive children for treatment, through the teachers after the study.

This study was carried out in two primary school with lower socio-economic status in Kadıköy and Sancaktepe districts (Figure 1). A total of 340 primary school children (164 girls and 176 boys) aged between 6-12 years in two different primary schools were given consent by their parents and enrolled in the study, and examined with specially-designed anti-lice combs for the nits, nymphs or adults of *P. capitis*. Combing was made in a standard fashion for all participants: Combing from the front head to neck three times. Girls were initially combed with regular combs to free their hair before combing with special combs. In addition, a questionnaire was developed for the present study, having questions on personal details of the children such as the age, gender, parents' education level, income of the household, the number of the children in the family and staying in the same room, the number of having bath per week, contact with animals and any previous experience on HLI and questions with "true/false" answers that measure the parents' knowledge and attitudes on HLI. This questionnaire was delivered to all parents of primary school children, on the first visit to school, over the teachers.

Statistical Analysis

The answers of the parents to the questions in the questionnaire were evaluated by SPSS® 17.0, using chi-square test with a significance cut-off value of 0.05. Frequency distributions and percentages were used as descriptive statistics in summarizing the results.

RESULTS

A total of 340 children with consents of their parents were enrolled in the study. HLI was detected in 32 (9.4%) of 340 children in the study, after the standard combing protocol. Among these, seven children had live adult lice on their hair while the remaining 25 had only the nits. Almost all girls had long hair, while all boys had short hair, and HLI rate was predominantly higher in girls, compared to boys (16.4% vs. 2.8%).

A total of 951 completed questionnaire forms were received from the parents. Evaluation of the answers revealed statistically non-significant differences between HLI and the parameters below: Education levels of parents; monthly income of the family, number of siblings and contact with animals (Table 1).

Analysis of the answers of the true/false questions in the questionnaire revealed that more than 70% of parents considered HLI in close relationship with poor personal hygiene, and another 70% approved washing the hair of their children with an anti-lice shampoo once a week as an effective prevention against HLI,

without considering the side effects of the shampoo. Indeed almost 9 of 100 parents reported burning oil/kerosene could be used in the treatment of HLI.

The only statistically significant difference identified in the study was as a negative correlation between HLI and the number of baths in a week ($p=0.013$).

DISCUSSION

This study is one the biggest field studies on different aspects of HLI in İstanbul, which is one of the biggest cities of the world, with its 18 million population. It aimed to unveil not only the prevalence of HLI in two primary schools in neighborhoods with lower socio-economic status, but also the factors associated with HLI as well the parents' knowledge and attitudes against HLI.

The control of HLI is still a difficult problem due to the uncontrolled modes of transmission of the lice and the relative deficiency of the available treatments to all people with different socio-economic levels (12).

In Türkiye, HLI has been a common public health problem, especially among primary school children. Several studies have been conducted on school children in Türkiye, and the prevalence of HLI has varied within 5.4% and 30.4% in different provinces (13-15). Since girls have long and boys have short hair mostly, it is common to identify HLI predominantly more common among girls; indeed Kaya et al. (15) have found a statistically significant correlation between HLI incidence and gender ($p=0.000$). This has been demonstrated in many other studies as well, where HLI in girls are within the range of 3.1 to 12.0% more common than boys, which is a significant difference ($p<0.05$) (2,16-18). Therefore, treatment of HLI is more difficult and sometimes longer among girls. We found a rate of 9.4% of HLI in the present study, which is concordant with similar studies. Indeed, HLI was found to be almost six times more common among girls in our cohort, as well.

It is well-known that lower hygiene is closely associated with higher HLI levels in people. In a study conducted with primary school students from low ($n=88$) and middle socio-economic status ($n=126$), HLI was found to be five times more common among students from the lower status (17). Our study cohort is comprised predominantly of children from lower socio-economic level families (95.3%), which is also concordant with the findings of similar studies (19,20).

As *P. capitis* is transmitted easily with close contact, family members are at risk, mostly after the child is positive for HLI. In a study from Kocaeli, 414 primary school students and 267 family members were examined, and similar levels of HLI (14.3% and 13.0% for children and families, respectively) were identified. It was also reported that there was a statistically significant difference between HLI prevalence and the education level of the parents, family's proximity to healthcare services, and gender (19).

Parents' education level is a leading indicator that may affect the attitudes and knowledge of children for HLI. Knowing more about the risks of HLI will improve personal attitudes of children and parents, such as more cleaning of hands, hair and body of children; this will no doubt lower the infestation rates in classrooms and all neighborhood. In our study, a significant difference was identified between HLI and low body cleaning activities in children. To keep

Table 1. The results obtained from the answers of the parents to the questionnaire

Variable percentage	Did your child experience HLI before?			
	Number of parents	Yes	Percentage	p-value
Father's education level				
No graduate degree	10	1.1	3	30
Primary school	480	54.2	73	15.2
Secondary school	203	22.9	40	19.7
0.204				
High school	162	18.2	21	13
University	30	3.4	7	23.3
Mother's education level				
No graduate degree	25	2.9	3	12
Primary school	557	63.5	87	15.6
Secondary school	157	17.9	25	15.9
0.270				
High school	126	14.4	29	23
University	12	1.4	1	8.3
Monthly income*				
0-1000 TL	524	60	93	17.7
1000-3000 TL	308	35.3	49	15.9
3000-5000 TL	31	3.6	2	6.5
0.358				
5000+ TL	10	1.1	1	10
Any contact with animals (pets, farm animals, etc.)				
Yes	105	12.4	19	18.1
0.371				
No	739	87.6	109	
14.7				
* HLI: Head lice infestation, The monthly income can be read in today's rates as follows: 0-4.250 TL 4.250-7.000 TL 7.000-10.000 TL >10.000 TL				

HLI under control and with lower infestation rates, providing more information to parents and children about more hygienic life style seems to be essential.

In a study from Saudi Arabia, both the prevalence of *P. capitis* and daily hygienic practices of individuals were investigated on the demographic data of 750 participants. Women/girls constituted almost 95% of all participants, which was a remarkable data of the study. A lack of knowledge about HLI was noted especially among participants with no school graduations raised from their socio-economic levels (p-value =0.001). Lice infestation reached higher rates in children aged less than 20 years with itching of the hair scalp. According to the results of the study, every 6 of 10 participants (59.3%) described improvement of personal hygiene and frequent bathing were the best methods to prevent HLI. On the other hand, only 14.3% of participants preferred anti-lice agents for treatment (p-value =0.020), which was an interesting finding (21). In our study, no parents of HLI-positive

children rejected our free anti-lice shampoo; however, almost 9% of the participants reported burning oil/kerosene, which was a hazardous agent for human health, as a treatment choice against HLI.

CONCLUSION

The results of the present study highlighted many aspects of the HLI problem among school children in İstanbul. Almost every one of 10 children was found to be positive for *P. capitis*, and girls were found to be more vulnerable to HLI, as expected, probably due to their longer hair than the boys. Effective control of HLI requires interdisciplinary approach to the current problem, involving the children, school directorates, teachers and parents, as well. Regular combing of the hair of primary school children with special combs and improvement of personal hygiene are the leading measures to lower HLI rates in public.

* Acknowledgements

We would like to thank to all teacher and the managers of the two primary schools of the study, for their sincere collaboration throughout the study. This study was planned and executed as a year 2-Student Research Project in the context of CMPS (Clinical Medicine and Professional Skills) Training Programme of Acibadem University School of Medicine. It was presented in the 25th ECCMID (European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases), in Copenhagen between 25-28th April, 2015.

* Ethics

Ethics Committee Approval: In addition, the study was reviewed and approved by the Ethics Board of Acibadem University (2014-1/2) as well.

Informed Consent: Information booklet and informed consent forms were given to all parents of primary school children over the teachers.

Peer-review: Internally peer-reviewed.

* Authorship Contributions

Concept: Ö.Ö., Ö.K., Design: Ö.Ö., Ö.K., Data Collection or Processing: İ.T., H.E.A., D.Ş., B.G., Ö.K., Analysis or Interpretation: İ.T., H.E.A., D.Ş., B.G., Ö.K., Literature Search: Ö.Ö., İ.T., H.E.A., D.Ş., B.G., Ö.K., Writing: Ö.Ö., İ.T., H.E.A., D.Ş., B.G., Ö.K.

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

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

REFERENCES

1. Reed DL, Light JE, Allen JM, Kirchman JJ. Pair of lice lost or parasites regained: the evolutionary history of anthropoid primate lice. *BMC Biol* 2007; 5: 7.
2. Özkan Ö, Hamzaoglu O, Yavuz M. Türkiye'de Pedikulozis Kapitis Prevalansı ve Yönetimi: Sistematik Derleme [The Prevalence and Management of Pediculosis Capitis in Turkey: A Systematic Review]. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2015; 39: 135-46.
3. Cummings C, Finlay JC, MacDonald NE. Head lice infestations: A clinical update. *Paediatr Child Health* 2018; 23: e18-e24.
4. Medina Á, López D, Vásquez LR. Severe pediculosis capitis in a nursery school girl. *Biomedica*. 2019; 39: 631-8.
5. Lowenstein EJ, Parish LC, Van Leer-Greenberg M, Hoenig LJ. The darker side of head lice infestations. *Clin Dermatol* 2022; 40: 81-4.
6. Amanzougaghene N, Akiana J, Mongo Ndombe G, Davoust B, Nsana NS, Parra HJ, et al. Head Lice of Pygmies Reveal the Presence of Relapsing Fever *Borrelia* in the Republic of Congo. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; 10: e0005142.
7. Boutellis A, Mediannikov O, Bilcha KD, Ali J, Campelo D, Barker SC, et al. *Borrelia recurrentis* in head lice, Ethiopia. *Emerg Infect Dis* 2013; 19: 796-8.
8. Boumbanda-Koyo CS, Mediannikov O, Amanzougaghene N, Oyegue-Liabagui SL, Imboumi-Limoukou RK, Raoult D, et al. Molecular identification of head lice collected in Franceville (Gabon) and their associated bacteria. *Parasit Vectors* 2020; 13: 410.
9. Piarroux R, Abedi AA, Shako JC, Kebela B, Karhemere S, Diatta G, et al. Plague epidemics and lice, Democratic Republic of the Congo. *Emerg Infect Dis* 2013; 19: 505-6.
10. Sunantaraporn S, Sanprasert V, Pengsakul T, Phumee A, Boonserm R, Tawatsin A, et al. Molecular survey of the head louse *Pediculus humanus capitis* in Thailand and its potential role for transmitting *Acinetobacter* spp. *Parasit Vectors* 2015; 8: 127.
11. Ozkan O, Sikar-Aktürk A, Mert K, Bilen N, Mumcuoğlu KY. Difficulties experienced by families following unsuccessful treatment of *Pediculosis capitis*: the mothers' perspective. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2012; 36: 82-6.
12. Combescot-Lang C, Vander Stichele RH, Toubate B, Veirron E, Mumcuoglu KY. Ex vivo effectiveness of French over-the-counter products against head lice (*Pediculus humanus capitis* De Geer, 1778). *Parasitol Res* 2015; 114: 1779-92.
13. Polat ZA, Saygı G. Screening the Students of Primary Schools for Ectoparasites for the Second Time after One Year. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2004; 28: 110-2.
14. Acıöz M, Öztürk T. Investigation of the Prevalence of *Pediculus humanus capitis* and Risk Factors in a Village in Isparta. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2018; 42: 202-6.
15. Kaya OA, Elmacioğlu S, Önlen C, Çelik E, Zerek A. Frequency of *Pediculus capitis* in a primary school students in Hatay. *Mustafa Kemal University Medical Journal* 2017; 8: 1-5.
16. Değerli S, Malatyalı E, Mumcuoğlu KY. Head lice prevalence and associated factors in two boarding schools in Sivas. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2013; 37: 32-5.
17. Karakuş M, Arıcı A, Töz SÖ, Özbel Y. Prevalence of head lice in two socio-economically different schools in the center of Izmir City, Turkey. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2014; 38: 32-6.
18. Karaaslan S, Yılmaz H. Van İli Türkiye Odalar ve Borsalar Birliği İlköğretim Okulu Öğrencilerinde *Pediculus humanus capitis*'in Yayılışı [The Distribution of *Pediculus humanus capitis* Among Primary School Pupils of the Turkish Chamber of Commerce and Stock Exchange Organisation in Van]. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2015; 39: 27-32.
19. Aktürk AŞ, Özkan Ö, Gökdemir M, Tecimer S, Bilen N. The Prevalence of *Pediculosis Capitis* and Factors Related to The Treatment Success in Primary School Children and Their Family Members in Kocaeli. *TAF Preventive Medicine Bulletin* 2012; 11: 181-90.
20. Balcıoğlu İC, Yereli K, Tabak T, Girginkardeşler N, Oyur T, Muslu H, ve ark. Okullarda Düzenli Aralıklarla Gerçekleştirilen Kontroller Saç Biti (*Pediculus capitis*) İnsidansını Düşürmekte Yeterli Olabilir mi? *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2012; 18: A151-54.
21. Baghdadi HB, Omer EOM, Metwally DM, Abdel-Gaber R. Prevalence of head lice (*Pediculus humanus capitis*) infestation among schools workers in the Eastern Region, Saudi Arabia. *Saudi J Biol Sci* 2021; 28: 5662-6.

Distribution of *Aedes (Stegomyia) cretinus* in Türkiye

Türkiye’de *Aedes (Stegomyia) cretinus*’un Dağılımı

© Fatih Mehmet Şimşek, © Sare İlknur Yavaşoğlu

Aydın Adnan Menderes University Faculty of Science, Department of Biology, Aydın, Türkiye

Cite this article as: Şimşek FM, Yavaşoğlu Sİ. Distribution of *Aedes (Stegomyia) cretinus* in Türkiye. Türkiye Parazitoloj Derg 2023;47(2):117-23.

ABSTRACT

Objective: *Aedes cretinus*, a white and black striped *Aedes* species, shares morphological similarities with *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* which are among the most important vectors and invasive species in the world. Due to its limited distribution and low population density, information on the biology and ecology of the species has been limited so far. This study aimed to determine distribution of *Ae. cretinus* in Türkiye.

Methods: Field works have been carried out in the Mediterranean, Aegean and Marmara Regions of Türkiye. Larval samples were collected by larval dippers while adult mosquito catches were performed using the human landing catch method and CDC-light traps.

Results: A total of 44 different *Ae. cretinus* populations were identified in the Mediterranean, Aegean and Marmara Regions of Türkiye. The larval specimen collected from small containers, tires, tree holes and natural small habitats. A plane (*Platanus orientalis*), walnut (*Juglans regia*), Türkiye oak (*Quercus cerris*), chestnut (*Castanea sativa*) and cedar (*Cedrus libani*) tree holes are the main larval habitats in which the specimen collected. In some localities, larvae were found together with *Anopheles plumbeus*, *Anopheles claviger* and *Aedes geniculatus* larvae in tree holes. Human landing catch method captured a greater number of females than CDC-light traps.

Conclusion: This study determined the distribution of *Ae. cretinus* in Türkiye for the first time. Information on respective geographic distribution of *Ae. cretinus* is fundamental for effective control programmes. Further studies are needed to understand the biology and ecology of these species.

Keywords: *Aedes cretinus*, distribution, Mediterranean, Aegean, Marmara

ÖZ

Amaç: Beyaz ve siyah çizgili bir *Aedes* türü olan *Aedes cretinus*, dünyadaki en önemli ve istilacı türler arasında yer alan *Aedes albopictus* ve *Aedes aegypti* ile morfolojik benzerlikler göstermektedir. Sınırlı yayılış alanı ve düşük popülasyon yoğunluğu nedeniyle türün biyolojisi ve ekolojisi ile ilgili bilgiler şimdiye kadar sınırlı kalmıştır. Bu çalışma, *Ae. cretinus*’un Türkiye’deki dağılımını belirlemeyi amaçlamıştır.

Yöntemler: Türkiye’nin Akdeniz, Ege ve Marmara Bölgeleri’nde arazi çalışmaları yapılmıştır. Larva örnekleri larva kepçeleri ile toplanırken, ergin örnekleri toplamak için insan tuzakları ve CDC-ışık tuzakları kullanılmıştır.

Bulgular: Türkiye’nin Akdeniz, Ege ve Marmara Bölgeleri’nde toplam 44 farklı *Ae. cretinus* popülasyonu tespit edilmiştir. Larvalar küçük kaplardan, lastiklerden, ağaç kovuklarından ve doğal küçük habitatlardan toplanmıştır. Çınar (*Platanus orientalis*), ceviz (*Juglans regia*), Türkiye meşesi (*Quercus cerris*), kestane (*Castanea sativa*) ve sedir (*Cedrus libani*) ağaç kovukları örneklerin toplandığı başlıca larva habitatlarıdır. Bazı lokalitelerde larvalar ağaç kovuklarında *Anopheles plumbeus*, *Anopheles claviger* ve *Aedes geniculatus* larvaları ile birlikte bulunmuştur. İnsan tuzağı yöntemiyle CDC-ışık tuzaklarından daha fazla sayıda dişi yakalanmıştır.

Sonuç: Bu çalışma ile ilk kez Türkiye’deki *Ae. cretinus* popülasyonlarının dağılımı belirlenmiştir. *Ae. cretinus*’un coğrafi dağılımına ilişkin bilgiler etkili kontrol çalışmalarının gerçekleştirilmesi için çok önemlidir. Bu türün biyolojisini ve ekolojisini anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: *Aedes cretinus*, dağılım, Akdeniz, Ege, Marmara

Received/Geliş Tarihi: 16.03.2022 Accepted/Kabul Tarihi: 15.01.2023

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Sare İlknur Yavaşoğlu, Aydın Adnan Menderes University Faculty of Science, Department of Biology, Aydın, Türkiye

Phone/Tel: +90 506 464 44 78 E-mail/E-Posta: sarecilingir@adu.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0002-9055-1556

INTRODUCTION

Mosquito-borne diseases are an increasing global health challenge, threatening over 40% of the world's population (1). Approximately 40% of the world's population are at risk of dengue transmission, with an estimated 400 million infections per year resulting in 50-100 million clinical cases and 3.6 million hospitalisations (2,3).

The subgenus *Stegomyia* which is classified under the genus *Aedes* contains important human disease vector species such as *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762), *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1895) and *Aedes (Stegomyia) cretinus* (Edwards 1921) (4). There are some microscobic differentiations related to scaling patterns of the scutum. The scutum is lyre-shaped marking of white scales and also clypeus are with scales in *Ae. aegypti*. *Ae. cretinus* has submedian narrow lines of pale scales extending from posterior of the scutal angle to the scutum with a lateral line of pale scales while *Ae. albopictus* has not got this lateral line. (5). The remarkable morphological features and bio-ecological resemblance of *Ae. cretinus*, *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* may sometimes cause confusions among public (Figure 1) (6).

Ae. cretinus is described as an anthropophilic and aggressive day time biter causing serious irritation to humans when it is around the people (7). The larvae may be found in natural habitats such as tree holes or even man-made containers such as used tyres (8,9). The distribution of *Ae. cretinus* is limited in the Mediterranean and has low population density (6). The first record of the Mediterranean representatives of "*Ae. albopictus*" in the words of Edwards (1921) was reported from Greece in 1921 (6,10,11). In the following years, *Ae. cretinus* was reported from Cyprus (12), Türkiye (Antalya) (13,14), Crete, Macedonia and some parts of Attica (7,10,15), Lebanon (16), South Ukraine, Russia (8) and Georgia (12). As it is understood from its limited distribution and low population density of *Ae. cretinus*, little is known about the bio-ecological characteristics of the species and vectorial capacity of the species is even still unknown (17). However, in the regions where it spreads, its aggressive behaviour causes discomfort and concern among the people due to its close morphological similarity to Asian tiger mosquito *Ae. albopictus*. As a result, understanding the current distribution of *Ae. cretinus* populations in Türkiye could be of importance. Understanding the distribution of the species and conducting studies on its bio-ecological characteristics have become especially important as the entry and rapid invasions of *Ae. albopictus* in to Türkiye continues in recent years. After the first detection of *Ae. albopictus* in Edirne in 2011, its distribution spread larger areas in the Marmara Region (18,19), Black Sea Region (20) and finally Aegean Region (21). However, studies on the distribution of *Ae. cretinus* have not been reported in Türkiye after it was reported in Antalya (13,14). In this study, we, for the first time, reported the distribution of *Ae. cretinus* populations in Türkiye. We believe that the information gathered by this study, is fundamental for the goal of reducing the impact of vector-borne diseases in Türkiye and managing vector control studies.

METHODS

Field works have been performed in the Mediterranean (Adana, Mersin, Antalya, Burdur, Isparta, Osmaniye, Kahramanmaraş, Hatay), Aegean (Aydın, İzmir, Manisa, Denizli, Uşak, Muğla) and Marmara (Balıkesir, Bursa, Birecik, Çanakkale) Regions of Türkiye

between May-October in 2012-2021 (Figure 2). Every possible natural (tree holes, puddles) and artificial containers (human-made plastic cups, ceramic pots, used tyres) water habitats have been checked for the presence of larval samples. Larval dippers have been used for the collection of larval samples and transferred to plastic bottles. Adult specimens were caught in outdoor and indoor areas (animal stables) with CDC light traps and Human Landing Catch Method (HLCM). Collected samples were brought to vector insects laboratory of Biology Department in Aydın Adnan Menderes University. Larval samples were reared to adults under standard conditions at 26-28 °C, 12:12 h photoperiod and 70-80% relative humidity in an insectarium. Morphological identifications have been performed under stereomicroscope using an identification key (11,22).

Statistical Analysis

Statistical analysis has not been performed for this study.

RESULTS

As a result of long-term sampling studies in the Mediterranean, Aegean and Marmara Regions, *Ae. cretinus* larvae were obtained from a total of 43 localities and adult samples were collected from 31 localities (Table 1). The larvae were sampled in four different breeding habitats: Small containers, tires, tree holes and natural small habitats (Figure 3). Results obtained from the larvae sampling do not show the habitat preference of the species since the research is based on the presence/absence detection of *Ae. cretinus*. However, it has been determined that small containers and tires in urban areas, tree holes and natural small habitats in rural areas are frequently used as breeding habitats. The tree hole larvae of *Ae. cretinus* were sampled from tree holes on plane (*Platanus orientalis*), walnut (*Juglans regia*), Türkiye oak (*Quercus cerris*), chestnut (*Castanea sativa*) and cedar (*Cedrus libani*) trees. Of the 22 tree holes sampled, 13 were detected in plane, 4 in walnut (Akçatekir, Ödemiş, Yiğitalı, Ayvacık), 2 in cedar (Hisarçandır, Ovacık), 2 in Turkish oak (Honaz, Uzunyurt) and 1 in chestnut tree (Tire). While *Ae. cretinus* larvae were sampled alone in all of the small container and tire habitats, they were found together

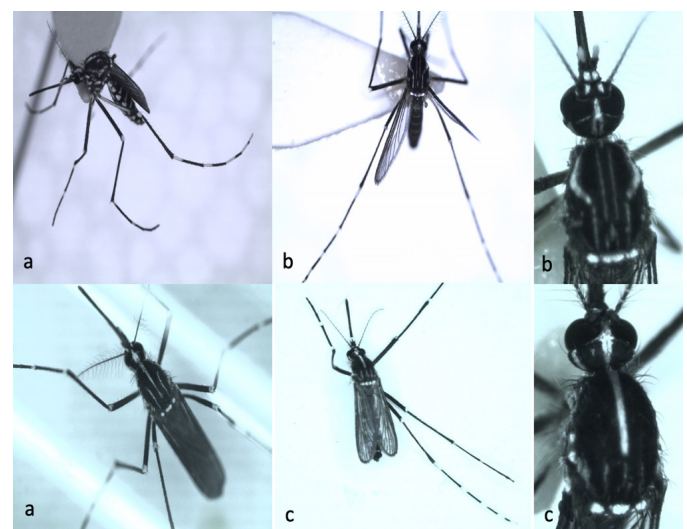


Figure 1. Female scutum patterns (a: *Aedes cretinus*, b: *Aedes aegypti*, c: *Aedes albopictus*)

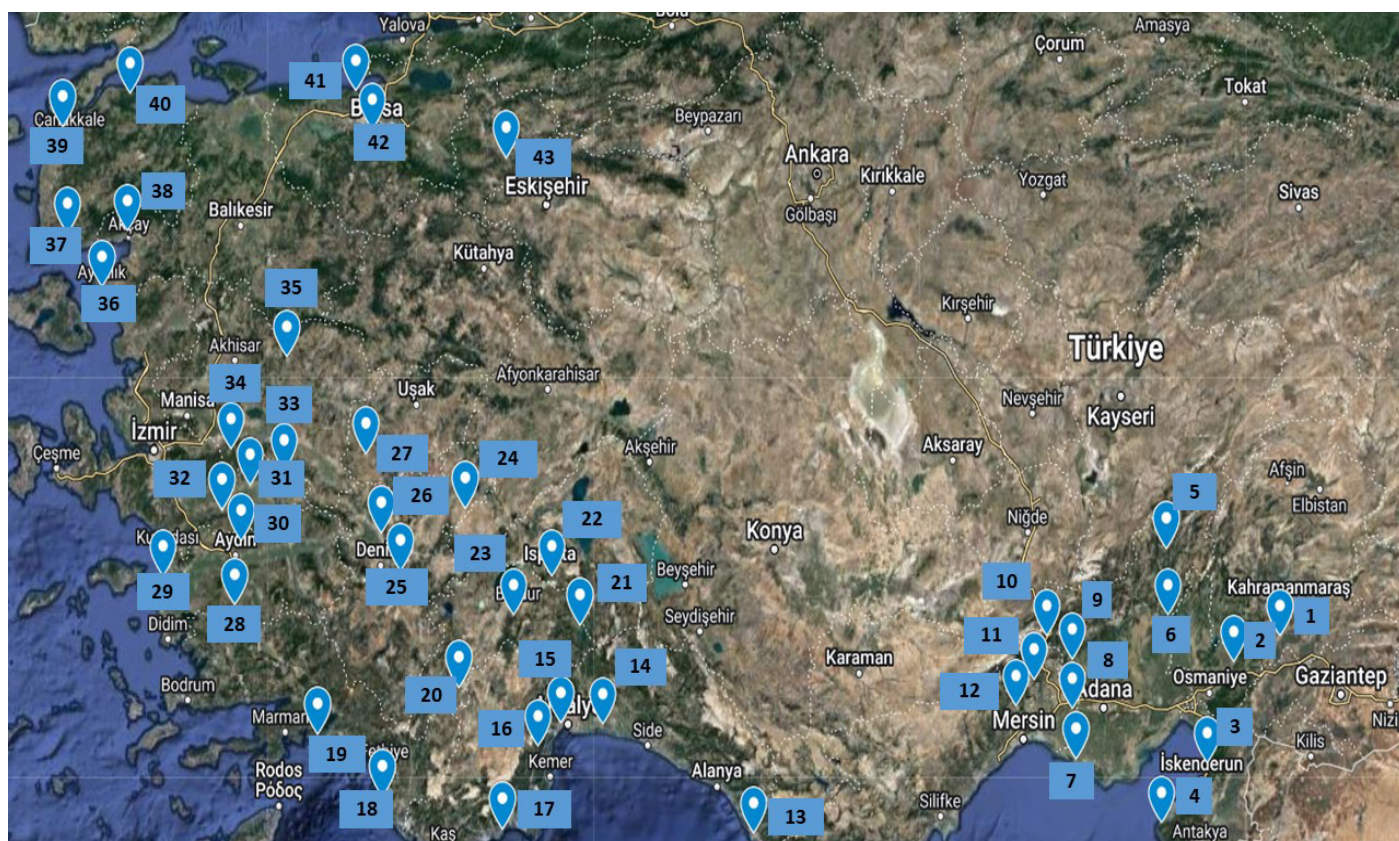


Figure 2. Sampling localities (1. Kahramanmaraş-Türkoglu, 2. Osmaniye-Düziçi, 3. Hatay-Sarıseki, 4. Hatay-Tatarlı, 5. Adana-Feke, 6. Adana-Ferhatlı, 7. Adana-Tuzla, 8. Mersin-Yenice, 9. Adana-Karaisalı, 10. Adana-Akçatekir, 11. Mersin-Darıpınarı, 12. Mersin-Gözne, 13. Antalya-Gazipaşa, 14. Antalya-Kadriye, 15. Antalya-Pınarbaşı, 16. Antalya-Hisarçadır, 17. Antalya-Finike, 18. Muğla-Uzunyurt, 19. Muğla-Ekincik, 20. Burdur-Bölmepınar, 21. Burdur-Elsazi, 22. Isparta-Darıderesi, 23. Isparta-Yeşildağ, 24. Denizli-Bozdağ, 25. Denizli-Honaz, 26. Denizli-Karahayit, 27. Uşak-Eşme, 28. Aydın-Karpuzlu, 29. Aydın-Güzelçamlı, 30. Aydın-Karaköy, 31. İzmir-Ödemiş, 32. İzmir-Tire, 33. Manisa-Ovacık, 34. Manisa-Ayvacak, 35. Manisa-Gördes, 36. Balıkesir-Ayvalık, 37. Çanakkale-Ayvacak, 38. Balıkesir-Kızılköy, 39. Çanakkale-Eceabat, 40. Çanakkale-Güreci, 41. Bursa-Mudanya, 42. Bursa-Yığıtali, 43. Bilecik-Söğüt) (Map was created using Google maps)

with other mosquito larvae in some tree holes and small natural habitats. *Ae. cretinus* larvae were found together with *Anopheles plumbeus* larvae in tree holes in Gazipaşa, Darıpınarı, Ekincik (Plane) and Akçatekir (Walnut); It has been sampled together with *Anopheles claviger* larvae in small natural habitats in Kadriye, Pınarbaşı, Gözne and Darıpınarı and with *Aedes geniculatus* larvae in cedar tree hollows in Ovacık.

Only female *Ae. cretinus* specimens were caught by outdoor and indoor CDC light traps and HLCM applied in different localities in the study area. A total of 127 females were caught with HLCM while 89 females were caught by CDC light traps. Totally 69 females were caught by CDC light traps in outdoor while 20 females were caught by the traps deployed indoor. It can be stated that the species exhibits exophilic and anthrophilic tendencies based on the results. Although *Ae. cretinus* female specimens were caught with HLCM in 28 localities in the study area, it was determined that the females caught in all localities did not show aggressive biting behaviour.

DISCUSSION

Information on respective geographic distribution of mosquito species is so precious for planning effective mosquito control

strategies (23). This study determined the distribution of *Ae. cretinus* in the Mediterranean, Aegean and Marmara Regions of Türkiye. The first report of *Ae. cretinus* population in Türkiye was determined in Antalya by Şahin (13). In the following years, Alten et al. (14) also reported the distribution of the *Ae. cretinus* populations in the same area in Antalya in 2000. The incidence of *Ae. cretinus* was calculated as 9% of mosquito fauna of İstanbul between 2019-2020 (24). Since then, this study is the first report of distribution of *Ae. cretinus* populations in the Mediterranean, Aegean and Marmara Regions of Türkiye. Larval samples were collected from both tree holes, natural small habitats, small containers and tires in the study. Similarly, larvae were collected from tree holes in the South Ukraine and Russia (8) and Cyprus (12,25). Other possible breeding sites were reported as forests, open areas, potholes and small hollows in forests as well as tree holes (14) and containers such as tyres (9). In addition to tree holes and tyres in those studies, small containers were also containing *Ae. cretinus* larvae in this study. This result demonstrates that *Ae. cretinus* is not only well adapted to natural habitats but also spreads in domesticated environment. This situation refers to ability of *Ae. cretinus* to colonize habitats where it occurs (15). Interestingly, larvae were found in tree holes together with *Ae. geniculatus* in Ovacık; with *An. plumbeus* in Gazipaşa, Darıpınarı,

Table 1. Sampling localities, breeding habitats, larval and adult sampling of *Aedes cretinus*

Province	No	Locality	Altitude (m)	Co-ordinates	Larvae sampling						Adult sampling			
					Breeding habitats						CDC light traps			Human landingcatch
					Small containers	Tires	Treeholes				Natural small habitats	In door	Out door	
							Po	Jr	Cl	Qc	Cs			
Adana	1	Feke	840	37°48' N, 35°55' E							5			4
	2	Ferhath	580	37°29' N, 35°43' E			11							2
	3	Akçatekir	1120	37°26' N, 34°52' E	4			5				1	3	2
	4	Karaisalı	664	37°15' N, 35°00' E	4	5								
	5	Tuzla	5	36°42' N, 35°05' E	12	4						2	5	5
	6	Kadriye	4	36°49' N, 30°02' E	5	3					4	2	4	3
Antalya	7	Pınarbaşı	750	36°14' N, 29°39' E		12	10				5		4	5
	8	Hisarçandır	1230	36°45' N, 30°28' E	4				19		6			4
	9	Finike	678	36°30' N, 30°03' E			12							
Burdur	10	Gazipaşa	1090	36°17' N, 32°26' E	3		16				3		4	6
	11	Elsazi	280	37°26' N, 30°42' E		13					4			2
	12	Bölmepınar	915	37°05' N, 29°18' E	5		12				2		2	4
Hatay	13	Tatarlı	190	36°20' N, 35°49' E	8								2	
	14	Sarıseki	5	36°37' N, 36°17' E	22									3
Isparta	15	Yeşildağ	1120	37°37' N, 31°27' E	8									
	16	Darıderesi	1157	37°43' N, 30°33' E			5							
K. Maraş	17	Türkoglu	680	37°23' N, 36°48' E		12					3	1	2	6
	18	Yenice	710	36°18' N, 33°23' E	8								3	
Mersin	19	Gözne	720	37°04' N, 34°13' E	4		10				2		5	3
	20	Darıpınarı	710	37°08' N, 34°42' E			17				5			
Osmaniye	21	Düziçi	380	37°16' N, 36°12' E	10							2	4	2
	22	Güzelçamlı	210	37°41' N, 27°11' E	8									4
Aydın	23	Karpuzlu	195	37°33' N, 27°49' E	10								2	6
	24	Karaköy	794	37°54' N, 27°53' E			8						3	2
Denizli	25	Honaz	773	37°44' N, 29°16' E						11			1	
	26	Karahayıt	358	37°57' N, 29°06' E		8								
İzmir	27	Bozdağ	1150	38°20' N, 28°04' E	2		5					2	3	6
	28	Ödemiş	1067	38°18' N, 28°01' E				7					2	3
	29	Tire	936	38°03' N, 27°46' E	3						18	4	4	8

Table 1. Sampling localities, breeding habitats, larval and adult sampling of *Aedes cretinus*

Province	No	Locality	Altitude (m)	Co-ordinates	Larvae sampling						Adult sampling				
					Breeding habitats										
					Small containers	Tires	Treeholes				Natural small habitats		CDC light traps		Human landingcatch
							Po	Jr	Cl	Qc	Cs	In door	Out door		
Manisa	30	Gördes	585	38° 56' N, 28° 16'E											
	31	Ayvack	1008	38° 33' N, 27° 26'E	6										
	32	Ovacık	1370	36° 32' N, 29° 11'E									3		12
Muğla	33	Uzunyurt	136	36° 28' N, 29° 07'E	8						15		4	5	8
	34	Ekincik	50	36° 50' N, 28° 32'E	5		12							3	7
Uşak	35	Eşme	936	38° 24' N, 28° 56'E	6										
Balıkesir	36	Kızılköçü	153	39° 37' N, 26° 54'E	3		6							2	4
	37	Ayvalık	58	39° 17' N, 26° 40'E											4
Birecik	38	Söğüt	824	40° 00' N, 30° 11'E	3		8								
	39	Yığıtali	570	40° 10' N, 29° 06'E				12					3	3	5
Bursa	40	Mudanya	90	40° 21' N, 28° 56'E		14									3
	41	Ayvack	280	39° 37' N, 26° 25'E	4			17							
Çanakkale	42	Eceabat	90	40° 09' N, 26° 21'E		6									
	43	Güreci	230	40° 21' N, 26° 57'E	4	6									4

Do: *Platanus orientalis*, Jr: *Juglans regia*, Qc: *Quercus cerris*, Cs: *Castanea sativa*, Cl: *Cedrus libani*

Po: *Platanus orientalis*, Jr: *Juglans regia*, Qc: *Quercus cerris*, Cs: *Castanea sativa*, Cl: *Cedrus libani*

Ekincik and Akçatekir; with *An. claviger* in Kadriye, Pınarbaşı, Gözne and Darıpınarı. This is similar to the fact that *Ae. cretinus* larvae was found in tree holes with *Ae. geniculatus*. They were also found together with *Anopheles plumbeus* and *Orthopodomyia pulcralpalis* in the South of Ukraine and Russia (8).

In the study, larvae were collected from the tree holes of plane (*Platanus orientalis*), walnut (*Juglans regia*), Türkiye oak (*Quercus cerris*), chestnut (*Castanea sativa*) and cedar (*Cedrus libani*) trees. Although, there have been no relationship between larval habitat preference and tree species in the literature, bamboo grove has been reported to be related with larval development by Gutsevich et al. (8). In addition to that, it was stated that the study area where *Ae. cretinus* was rediscovered after 66 years in Cyprus, was dominated by old and high plane trees (*Platanus orientalis*) (25). The HLCM and CDC-light traps were used to detect adult mosquitoes in this study. While few females obtained from light traps, a greater number of females were caught by HLCM. It was reported that CO₂ and New Jersey light traps were also useful to catch exophilic *Ae. cretinus* in Antalya (26). Standard New Jersey light trap, Heavy duty EVS, CO₂ Mosquito traps caught adult *Ae. cretinus* specimen at very low density in outdoors and indoors and accounted for 0.07% of the catches in monitored houses in Lebanon (16).

In this study specimen collection were carried out in a 10-year period including 2012-2021 and between May and September. Caglar et al. (26) reported that population growth was rapid during May and June but disappearance was rapid during July and *Ae. cretinus* were not found after July in Belek (Antalya). However, both larvae and adults were sampled from May to September in many localities in this study. For instance, the Sariseki population were collected in the end of September in 2021.

Today, *Ae. albopictus* pose a great risk because it threatens public health with mainly dengue and other viral factors that it carries and it is known to invade our country rapidly (21). *Ae. cretinus* and *Ae. albopictus* shares some morphological characters in their developmental stages (11). These characteristics might be distinguished by skilled and experienced taxonomists when the specimens are not damaged and collected properly. Another way to differentiate the species is molecular techniques using reliable molecular markers such as internal transcribed spacer 2 of nuclear genome or mitochondrial cytochrome oxidase I fragments (4). The morphological resemblance between *Ae. cretinus* and *Ae. albopictus* might cause undue anxiety and concern among the public if the species distinction is not made properly based on either morphological characters or molecular techniques. Thus, this situation caused undue panic among Greek people (6).

This study is the first to reveal the distribution of *Ae. cretinus* populations in Türkiye. The study both shows the populations of *Ae. cretinus* and serves as a warning not to cause unnecessary anxiety since it



Figure 3. Larval habitats of *Aedes cretinus* (a. Mersin-Darıpınarı, b. Burdur-Bölmepınar, c. Muğla-Ovacık, d. Antalya-Hisarçadır)

can be confused with *Ae. albopictus*. Information on geographic distribution of mosquito species is an important component of controlling vector species. This study also highlights the importance of surveys and the need for mosquito identification. Further studies are needed to determine bio-ecological features of *Ae. cretinus* populations since detailed information are crucial in order to run a successful management mosquito control programmes.

CONCLUSION

This study is a clear proof of that *Ae. cretinus* rapidly invades Türkiye. As it is known, intense human mobility, passenger transportation, airports, ships, port routes, trade ships are the primary factors in the transportation of mosquito species to areas where it has not been spread before. It is also very clear that once *Ae. cretinus* enters in a new area, it will facilitate the distribution of the species due to the very favorable climatic conditions in Türkiye as well as its adaptability to man-made containers as we determined some larvae from man-made containers. We also proved the existence of the species in Osmaniye, Kahramanmaraş, Adana, Hatay, Mersin, Antalya, Burdur, Isparta, Muğla, Denizli, Aydın, İzmir, Manisa, Uşak, Bilecik, Bursa, Balıkesir and Çanakkale. It is very important to carry out field studies at regular intervals in many risky regions in other regions of Türkiye to prevent the invasion of this species. In a conclusion, it should be clearly emphasized that it is of the utmost importance to continue *Aedes* surveillance for early detection of new *Aedes*-borne disease outbreaks and prevent the invasion of the invasive species. Additionally, further studies on *Aedes* behaviour and possible role in the transmission of dengue and other *Aedes*-borne disease are needed.

* Ethics

Ethics Committee Approval: This article does not contain any studies with animals performed by any of the authors.

Informed Consent: This article does not contain any studies with animals performed by any of the authors.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

* Authorship Contributions

Concept: F.M.Ş., Design: F.M.Ş., Data Collection or Processing: F.M.Ş., Analysis or Interpretation: S.İ.Y., Literature Search: S.İ.Y., Writing: S.İ.Y.

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

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

REFERENCES

1. Jones RT, Ant TH, Cameron MM, Logan JG. Novel control strategies for mosquito-borne diseases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2021; 376: 20190802.
2. Cattarino L, Rodriguez-Barraquer I, Imai N, Cummings DAT, Ferguson NM. Mapping global variation in dengue transmission intensity. *Sci Transl Med* 2020; 12: eaax4144.
3. Stanaway JD, Shepard DS, Undurraga EA, Halasa YA, Coffeng LE, Brady OJ, et al. The global burden of dengue: an analysis from the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet Infect Dis* 2016; 16: 712-23.
4. Patsoula E, Samanidou-Voyadjoglou A, Spanakos G, Kremastinou J, Nasioulas G, Vakalis NC. Molecular and morphological characterization of *Aedes albopictus* in northwestern Greece and differentiation from *Aedes cretinus* and *Aedes aegypti*. *J Med Entomol* 2006; 43: 40-4.
5. Samanidou VA, Harbach, RE. Keys to the adult female mosquitoes (Culicidae) of Greece. *Europ Mosq Bull* 2001; 10: 13.
6. Samanidou, A. *Aedes cretinus*: Is it a threat to the Mediterranean countries? *Europ Mosq Bull* 1998; 1: 8.
7. Samanidou VA, Koliopoulos G. Some notes on *Aedes (Stegomyia) cretinus* Edwards (Culicidae) in northern Athens, Attiki, Greece. In: Fourth International Congress of Dipterology; 1998 Sept 6-13; Oxford, United Kingdom. P. 194-5.
8. Gutsevich AV, Monchadskii AS, Shtakel'berg AA. Fauna SSSR Vol 3(4), Family Culicidae; 1974. p.384. Leningrad Akad Nauk SSSR Zool Inst N S No. 100. English translation: Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem. (Original in Russian printed in 1971).
9. Schaffner F. Mosquitoes in used tyres in Europe: species list and larval key. *Europ Mosq Bull* 2003; 16: 7-2.
10. Edwards FW. A revision of the mosquitoes of the Palaearctic region. *Bull. Entomol. Res* 1921; 12: 263-351.
11. Darsie RF Jr, Samanidou-Voyadjoglou A. Keys for the identification of the mosquitoes of Greece. *J Am Mosq Control Assoc* 1997; 13: 247-54.
12. Lane J. *Aedes (Stegomyia) cretinus* Edwards 1921 (Diptera: Culicidae). *Mosq System* 1982; 14: 81-5.
13. Sahin İ. Antalya ve çevresindeki sivrisinekler (Diptera: Culicidae) ve filariose vektörü olarak önemleri üzerinde araştırmalar. II. Sivrisinek faunasını belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar. *Doga Bilim Dergisi* 1984; 8: 385-96.
14. Alten B, Bellini R, Caglar SS, Simsek FM, Kaynas S. Species composition and seasonal dynamics of mosquitoes in the Belek region of Turkey. *J Vector Ecol* 2000; 25: 146-54.
15. Giatropoulos AK, Michaelakis AN, Koliopoulos GT, Pontikakos CM. Records of *Aedes albopictus* and *Aedes cretinus* (Diptera: Culicidae) in Greece from 2009 to 2011. *Hell Plant Prot J* 2012; 5: 49-56.
16. Knio KM, Markarian N, Kassis A, Nuwayri-Salti N. A two-year survey on mosquitoes of Lebanon. *Parasite* 2005; 12: 229-35.
17. Becker N, Petric D, Zgomba M, Boase C, Madon M, Dahl C, et al. Mosquitoes and Their Control. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Second edition, 2010.

18. Oter K, Gunay F, Tuzer E, Linton YM, Bellini R, Alten B. First record of *Stegomyia albopicta* in Turkey determined by active ovitrap surveillance and DNA barcoding. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2013; 13: 753-61.
19. Şakacı Z. Contribution to mosquito (Diptera: Culicidae) fauna of Sakarya province and the first record of the invasive vector *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) for Kocaeli province. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2021; 23: 10-21.
20. Akiner MM, Demirci B, Babuadze G, Robert V, Schaffner F. Spread of the Invasive Mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in the Black Sea Region Increases Risk of Chikungunya, Dengue, and Zika Outbreaks in Europe. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; 10: e0004664.
21. Yavaşoğlu SI. First report on mild insecticide resistance in newly established Aegean *Aedes albopictus* populations of Turkey. *Turk J Zool* 2021; 45: 223-34.
22. Schaffner E, Angel G, Geoffroy B, Hervy JP, Rhaïem A, Jacques B. The Mosquitoes of Europe [CD-ROM]. Paris: IRD Edition, 2021.
23. Ahmed J, Bouloy M, Ergonul O, Fooks A, Paweska J, Chevalier V, et al. International network for capacity building for the control of emerging viral vector-borne zoonotic diseases: ARBO-ZOONET. *Euro Surveill* 2009; 14: 19160.
24. Dede AR, Öztemiz S. İstanbul'da Sivrisinek Türleri ile İnvaziv *Aedes* Türlerinin Tespiti ve Bulunma Oranları. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi* 2021; 9: 321-7.
25. Martinou AF, Vaux AG, Bullivant G, Charilaou P, Hadjistyllis H, Shawcross K, Violaris M, Schaffner F, Medlock JM. Rediscovery of *Aedes cretinus* (Edwards, 1921) (Diptera; Culicidae) in Cyprus, 66 years after the first and unique report. *J Eur Mosq Control Assoc* 2016; 34: 10-3.
26. Caglar SS, Alten B, Bellini R, Simsek FM, Kaynas S. Comparison of nocturnal activities of mosquitoes (Diptera: Culicidae) sampled by New Jersey light traps and CO2 traps in Belek, Turkey. *J Vector Ecol* 2003; 28: 12-22.

Sarcophaga sp.'nin Sebep Olduğu Nazofarengeal Miyaz Olgusu

A Case of Nasopharyngeal Myiasis Caused by Sarcophaga sp.

✉ Motalip Çiçek¹, ✉ Fatih Çakır¹, ✉ Duygu Neval Sayın İpek², ✉ Alican Bilden¹, ✉ Eşref Akıl³

¹Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Kırşehir, Türkiye

²Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Veterinerlik Parazitolojisi Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

³Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

Cite this article as: Çiçek M, Çakır F, Sayın İpek DN, Bilden A, Akıl E. A Case of Nasopharyngeal Myiasis Caused by *Sarcophaga* sp. Türkiye Parazitol Derg 2023;47(2):124-6.

ÖZ

Miyazis, *Diptera* sınıfı larvaların omurgalı doku ve vücut boşluklarını istila etmesi anlamına gelen bir terimdir. Nazal miyaz çoğunlukla *Sarcophagidae* ve *Calliphoridae* ailesi üyelerinin neden olduğu bir enfestasyondur. Bulaşında birçok predispozan faktörün rol aldığı hastalığın tedavisinde mekanik temizleme ile beraber antiseptiklerin kullanımı tavsiye edilmektedir.

Bu olguda, 75 yaşında yoğun bakımda yatan bir hastada görülen nazofarengeal miyaz sunuldu. Hastanın burnunda dokuz adet larva tespit edilmiştir. Larvalar bölgeden uzaklaştırılarak üç gün boyunca bölge %5'lik iodin solüsyonuyla temizlendi. Makroskopik ve mikroskopik incelemeler sonunda etkenin *Sarcophaga* sp.'nin üçüncü evre larvaları olduğu belirlendi. Miyaz enfestasyonlarını engellemek için yoğun bakım ünitelerini gibi hastanın bilincinin kapalı olduğu yerlerde görev yapan personeller hastaların burun, ağız ve kulak boşluğu gibi vücut boşluklarını günlük olarak kontrol etmeli, bakım ve temizliğini en uygun şekilde yapmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Miyazis, *Sarcophaga* sp., nazofarengeal miyaz, yoğun bakım

ABSTRACT

Myiasis is a parasitic infestation of tissues and body cavities of vertebrates by *Diptera* larvae. Nasal myiasis is mostly caused by the *Sarcophagidae* and *Calliphoridae* families. Many predisposing factors play a role in the appearance of nasal myiasis. In the treatment of the disease, the use of antiseptics together with mechanical cleaning is recommended.

In this report, a case of nasopharyngeal myiasis in a 75-year-old patient hospitalized in the intensive care unit is presented. Nine larvae were detected in the patient's nose. Larvae were removed from the area and were cleaned with iodine solution for three days. As a result of macroscopic and microscopic examination, the larvae were identified as the third stage of *Sarcophaga* sp. in order to prevent myiasis infestations, personnel working in places where the patient is unconscious, such as intensive care units, should daily check the patient's body cavities such as nose, mouth and ear cavities, and perform their care and cleaning.

Keywords: Myiasis, *Sarcophaga* sp., nasopharyngeal myiasis, intensive care

GİRİŞ

Miyaz, *Diptera* sınıfı larvalarının omurgalı doku ve vücut boşluklarının istila etmesi anlamına gelen bir terimdir. Miyazise neden olan larvalar dünyanın her bölgesinde görülmekle beraber sıcak ve nemli ortamları tercih ettikleri için tropikal ve subtropikal bölgelerde daha sık görülür (1). Birkaç *Diptera* türü, hayvanlar ve insan gibi omurgalı konakçılarda zorunlu veya fakültatif miyazise neden olabilir.

Miyazise neden olan en önemli insectalar *Calliphora*, *Lucilia*, *Chrysomyia* ve *Cochliomyia* cinslerini içeren *Calliphoridae* ailesine aittir (2).

İnsan miyazisinde tesadüfi konakçıdır ve insalarda miyazis görülmesi nadirdir. En yaygın istila yeri burun, gözler, kulaklar, anüs, vajina ve konakçının yaralanmış derisi gibi açıklıklardır (3). Nazal miyaz ise çoğunlukla *Sarcophagidae* ve *Calliphoridae* ailesi üyelerinin neden olduğu bir enfestasyondur (4). Nazal miyaz için predispozan faktörler lokal veya sistemik

Geliş Tarihi/Received: 24.08.2022 Kabul Tarihi/Accepted: 14.02.2023

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Fatih Çakır, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Kırşehir, Türkiye
Tel/Phone: +90 505 624 81 00 **E-Posta/E-mail:** sfcakir@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-9808-4366

olabilir; yerel faktörler arasında kötü hijyen, burun içi travma, atrofik rinit, burun içi granüloamatöz lezyonlar ve burnu tutan malignite yer alır (5). Sistemik faktörler arasında ise, bilişsel güçlükler, demans, serebral palsi, diyabet, alkol tüketimi ve kötü beslenme gösterilebilir (6).

Larvalar, burun boşluklarına ve paranasal sinüslere göç eder, burada gelişir, lezyonlardan gelen salgılarla beslenir, burun boşluklarını, kıkırdığı ve kemiği kaplayan mukoza zarını tahrip eder. İleri evrelerde, larvalar meninkslere ve kafatasını istila edebilir ve sonuçta ölüme yol açabilir (7).

Bu çalışmada da insan hayatını tehdit edebilecek riskler taşıyan bu konuya dikkat çekmek amacıyla yoğun bakım ünitesinde yatan bir hastada meydana gelen nazal miyaz olgusuna yer verilmiştir.

OLGU SUNUMU

Birçok *Diptera* türleri insanların değişik organlarında miyazis oluşturmaktadır. Bunlardan biri olan *Sarcophaga* cinsine ait sineklerin neden olduğu miyazis zaman zaman insanlarda olgu olarak rapor edilmektedir. Bu olguda, 75 yaşındaki bir kadında *Sarcophaga* sp.'nin sebep olduğu nazofarengeal miyazis sunuldu.

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi'nin Genel Cerrahi Servisi'ne ileus ön tanısıyla yatırılan olguya; sağ hemikolektomi, ileokolik anastomoz operasyonları yapıldı. Yatıştan 10 gün sonra bilinç bulanıklığı gelişmesi üzerine yapılan tetkikleri sonrasında iskemik serebrovasküler inme tanısı konulan hasta nöroloji yoğun bakım ünitesine transfer edildi. Bu üniteye takibinin ikinci gününde burunda larvalar görülmesi üzerine enfeksiyon hastalıkları kliniğinden hasta konsülte edildi. Yapılan fizik muayenede hastanın burnunda beyaz-krem renkli hareketli çok sayıda larva görüldü. Hastanın burnundan 9 adet larva çıkarılarak serum fizyolojik içerisine bırakıldı.

Parazitoloji laboratuvarına yapılan makroskobik incelemede, larva uzunluklarının 8-9 mm arasında olduğu belirlendi. Etkenin tür tayini stereo mikroskop ve ışık mikroskobu altında spirakül yapısı, segmentleri ve posterior dikenleri incelenerek yapıldı. Larvaların 12 segmentli olduğu ve ağız dorsalinde bir çift çengel taşıdığı gözlemlendi. Stigmalar ve cephalopharyngeal iskelet yapısında bulunan oral sklerit yapısı ışık mikroskobu altında incelendiğinde hastadan çıkarılan larvalarda peritremin kapandığı, düğme yapısının tamamen geliştiği ve slit yapısının da gelişimini tamamladığı görüldü (Resim 1).

Bu gözlemler sonucunda yapılan literatür taramasında her iki örneğin de *Diptera* takımı, *Sarcophagidae* ailesinde yer alan *Sarcophaga* sp.'nin üçüncü evre larvaları olduğu belirlendi. Larvalar bölgeden uzaklaştırıldı, üç gün boyunca bölge %5'lik iodin solüsyonuyla temizlendi. Üçüncü günün sonunda yapılan fiziki muayenede larvaların tamamen kaybolduğu saptandı.

TARTIŞMA

Nazal miyazis, ev sineği de denilen *Diptera* türü sineklerin larvalarının burun boşluğunu istila etmesi sonucu oluşan bir hastalıktır. Nazal miyazis tropikal ve subtropikal bölgelerde özellikle sosyo-ekonomik durumu kötü olan ülkelerde daha sık görülmektedir (1). Hastalığın oluşmasında felç, bilinç bulanıklığı, burun boşluğunda travma ve nazal rinit gibi predispozan faktörler etkilidir (6). Kurtçukların intrakraniyal alana penetre olması en tehlikeli ve ölümcül komplikasyondur. Larvalar buradan



Resim 1. *Sarcophaga* sp.'nin üçüncü dönem posterior stigmaları

kafatasına ve meninkslere yayılabilir veya ikincil enfeksiyonlara bağlı olarak menenjitte yol açabilir (8).

Bizim olgumuzda hasta, yoğun bakımda yatan bilinci kapalı bir hastadır. Hastalığa *Sarcophaga* sp. larvalarının neden olduğu belirlenmiştir. Literatürde *Sarcophaga* cinsine ait sinek larvalarına bağlı kutanöz, nazal, oral, aural, intestinal ve ürogenital miyazis olguları bildirilmiştir (9-13).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda *Sarcophaga* sp. larvalarının miyaz enfestasyonlarına neden olduğu gösterilmiştir. Polat ve ark. (9) yaptıkları bir çalışmada kronik otitis media ve kulakta ağrı, kaşıntı ve akıntı şikayeti ile başvuran iki farklı hastada *Sarcophaga* spp. larvalarının neden olduğu orta kulak enfestasyonu tespit etmişlerdir. Demirel Kaya ve ark. (10) yaptıkları bir çalışmada 68 yaşında diyabetik ayak tanısıyla incelenen bir hastada kutanöz miyazis tespit etmişlerdir. Türk ve ark.'larının (13) yapmış olduğu bir çalışmada ise 16 yaşında kafa travması nedeniyle reaminasyon bölümüne yatırılan bir hastada *Sarcophaga* sp. larvalarına bağlı nazal miyaz tespit edilmiştir.

Ülkemizde *Sarcophaga* sp.'ye bağlı nazal miyaz olguları nadiren saptanmış olup, daha sıklıkla *Lucilia sericata* türü dipteraların neden olduğu nazal miyaz enfestasyonları tespit edilmiştir. Karakuş ve ark. (4) 2015 yılında yapmış olduğu bir çalışmada, Ege Üniversitesi Anestezi Yoğun Bakım Servisi'nde yatan 69 yaşındaki bir hastada *Lucilia sericata* larvalarına bağlı nazal miyaz olgusu saptanmıştır. Miman ve ark. (14) tarafından 2014 yılında yapılan bir çalışmada yoğun bakım servisinde yatan bilinci kapalı 57 yaşındaki bir hastada *Lucilia sericata* larvalarına bağlı oro-nazal miyaz tespit edilmiştir.

SONUÇ

Ülkemiz, özellikle Güney Doğu Anadolu Bölgesi, iklim koşulları ve hayvancılığın yaygın olması gibi sebeplerden ötürü miyazis açısından risk altındadır. Miyaz enfestasyonu hastanelerde yatan bilinci kapalı hastalarda çok daha sık görülmektedir. Bunu engellemek için yataklı tedavi kurumları kliniklerde sineklerle aktif şekilde mücadele etmelidir. Pencereler insectaların içeriye girmesini engelleyici sinekliklerle kapatılmalıdır. Bilincin kapalı olduğu yoğun bakım ünitelerinde görev olan personeller yatan

hastalarda larvaların yerleşmesi açısından risk oluşturan burun, ağız ve kulak boşluğu gibi vücut boşluklarını günlük olarak kontrol etmeli, bakım ve temizliğini en uygun şekilde yapmalıdır.

* Etik

Hasta Onayı: Makalede geçen olguya ait hastadan onay alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulunda olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

* Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: M.Ç., D.N.S.İ., E.A., Dizayn: F.Ç., A.B., Veri Toplama veya İşleme: A.B., F.Ç., Analiz veya Yorumlama: M.Ç., D.N.S.İ., Literatür Arama: M.Ç., E.A., Yazan: F.Ç., M.Ç.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

KAYNAKLAR

- Francesconi F, Lupi O. Myiasis. Clin Microbiol Rev 2012; 25: 79-105.
- Salmanzadeh S, Rahdar M, Maraghi S, Maniavi F. Nasal Myiasis: A Case Report. Iran J Public Health 2018; 47: 1419-23.
- Droma EB, Wilamowski A, Schnur H, Yarom N, Scheuer E, Schwartz E. Oral myiasis: a case report and literature review. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2007; 103: 92-6.
- Karakuş M, Ünver A, Turgay N, Töz S Ö, Özbel Y. Ege Üniversitesi Hastanesi'nde yatmakta olan bir hastada nazal miyaz. Ege Tıp Dergisi 2015; 54: 36-8.
- Singh K, Prepageran N, Mohd Nor K. Nasal cavity myiasis presenting with preseptal cellulitis. Acta Oto-Laryngologica 2017; 2: 26-8.
- Rana AK, Sharma R, Sharma VK, Mehrotra A, Singh R. Otorhinolaryngological myiasis: the problem and its presentations in the weak and forgotten. Ghana Med J 2020; 54: 173-8.
- Serafim RA, do Espírito Santo RB, de Mello RAF, Collin SM, Deps PD. Case Report: Nasal Myiasis in an Elderly Patient with Atrophic Rhinitis and Facial Sequelae of Leprosy. Am J Trop Med Hyg 2020; 102: 448-50.
- Thomas S, Nair P, Hegde K, Kulkarni A. Nasal myiasis with orbital and palatal complications. BMJ Case Rep 2010; 2010: bcr0820103219.
- Polat E, Sirekbasan S, İnan HC. Two Cases of Myiasis of Middle Ear Caused by Sarcophaga. Türkiye Parazitoloj Derg 2016; 40: 176-8.
- Demirel Kaya F, Orkun O, Cakmak A, Inkaya AC, Erguven S. Diyabetik bir hastada *Sarcophaga* spp. larvalarının neden olduğu kutanöz miyazis [Cutaneous myiasis caused by *Sarcophaga* spp. larvae in a diabetic patient]. Mikrobiyol Bul 2014; 48: 356-61.
- Graffi S, Peretz A, Wilamowski A, Schnur H, Akad F, Naftali M. External Ophthalmomyiasis Caused by a Rare Infesting Larva, *Sarcophaga argyrostoma*. Case Rep Ophthalmol Med 2013; 2013: 850865.
- Dincer S, Tanyuksel M, Kuçuk T. Two cases of human urogenital myiasis caused by *Psychoda* spp. (Diptera: Nematocera) and *sarcophaga* spp. (Diptera: Cyclorrhaga) in Ankara. Türkiye Parazitoloj Derg 1995; 19: 402-8.
- Türk M, Afşar I, Özbel Y, Sener AG, Uner A, Türker M. A case of nasomyiasis whose agent was *Sarcophaga* sp. Türkiye Parazitoloj Derg 2006; 30: 330-2.
- Miman Ö, Ulu Ş, Yılmaz S, Ayçiçek A, Dik B. Cerrahi Müdahale Gerektiren Bir Paraziter Enfestasyon: Miyaz. Klinik Tıp Bilimleri Dergisi 2014; 2.

Disseminated Scabies During Induction Chemotherapy for Acute Promyelocytic Leukemia

Akut Promyelositik Löseminin İndüksiyon Tedavisi Sırasında Gelişen Yaygın Scabies

Ali Zahit Bolaman, Ayşe Hilal Eroğlu Küçükçiler, İrfan Yavaşoğlu

Aydın Adnan Menderes University Faculty of Medicine, Department of Internal Diseases, Division of Adult Hematology, Aydın, Türkiye

Cite this article as: Bolaman AZ, Eroğlu Küçükçiler AH, Yavaşoğlu İ. Disseminated Scabies During Induction Chemotherapy for Acute Promyelocytic Leukemia. Türkiye Parazitol Derg 2023;47(2):127-8.

Dear Editor,

A 34 years-old woman was admitted to the hematology department with complaints of fatigue and pancytopenia. On physical examination, she was pale and there was sternal tenderness. There was no evidence of skin lesions. Her white blood cells count was $2100 \times 10^3/\mu\text{L}$, hemoglobin level was 8.5 gr/dL platelet count was $54000 \times 10^9/\text{L}$. The differential counts revealed blasts 8%, promyelocytes 42%, metamyelocytes 8%, bands 6%, neutrophils 28%, and lymphocytes 8%. Coagulation parameters were normal. Leukemic promyelocytes rates were 42% and blastic cells 46% in the bone marrow. The leukemic promyelocytes contained multiple Auer rods (Phaggot cells) (Figure 1, x100). Flow cytometer analysis marked myeloid leukemia. FISH analysis showed t(15;17)(q22;q11-12) positivity. The patient

was diagnosed with acute promyelocytic leukemia (APL). We started patient as induction treatment trans retinoic acid (ATRA) 45 mg/m² until remission, cytosine arabinoside (Ara-C) 200 mg/m² for 7 days, and daunorubicine 60 mg/m² for 3 days (1).

On the seventh day, prominent multiple cutaneous erythematous papules appeared on the thigh and periumbilical region with a diameter of 2-3 mm (Figure 1B). The lesions progressed on the body on day 9. Firstly, we thought of them as chemotherapy toxicity. Some papules had typical burrows suggesting scabies. The aspiration of dermal papules showed that live *Sarcoptes Scabiei* forms and egg in the evaluation under the microscope. Aspiration from dermal papules was made with standard syringe 25G. Diagnosis of disseminated scabies was confirmed by visualization of mites in aspiration material (Figure 1C x10). Topical permethrin as scabicide is applied



Figure 1. A: Superficial erythematous scabetic lesions of 0.2-0.4 mm in diameter on the skin of the thigh. B: Faggot cells (black arrows) and blast cells (red arrows) at bone marrow aspiration (May-Grunwald and Giemsa), C: Alive *sarcoptes scabiei* with 0.3 mm length which oval, ventrally flattened, tortoise-like bodies and multiple cuticular spines (blue arrow) and its egg in size 0.7 mm (green arrow) in aspiration fluide from dermal papules

Received/Geliş Tarihi: 14.11.2022 Accepted/Kabul Tarihi: 15.02.2023

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Ali Zahit Bolaman, Aydın Adnan Menderes University Faculty of Medicine, Department of Internal Diseases, Division of Adult Hematology, Aydın, Türkiye

Phone/Tel: +90 532 275 30 05 E-mail/E-Posta: zahitb@yahoo.com ORCID ID: orcid.org/0000-0003-0651-5462

©Copyright 2023 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.turkiyeparazitolog.org

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC-ND) 4.0 International License.

from the jawline down after bathing and is removed 12-16 hours later with soap (2). Treatment repeated after 1 week. The papules began to disappear after 5th day. The patient was discharged from our clinic after induction treatment with complete remission. Then she completed consolidation and maintenance treatment. Now, she has been living a normal life leukemia-free for 5 three years.

The skin lesions can develop during the treatment of patients with leukemia and they can be evaluated for leukemia cutis and drug adverse effects (3,4). Cutaneous papules are not usual with intermediate-dose Ara-C treatment in leukemic patients. Leukemia cutis is a cutaneous infiltration with leukemic cells. It can appear as papules, nodules, plaques and bullae on the skin (5). The patient had no signs of scabies at the time of admission, and it was thought that the scabies was in the incubation period during this time. We believe that induction therapy with Ara-C and ATRA of APL accelerates the emergence of disseminated scabies.

Information about the coexistence of acute myeloid leukemia (AML) and scabies is very limited in the literature. The association of AML and scabies has been reported in only two cases so far. The first case was reported 52 years ago in a case with monocytic leukemia (4). The second case is the disseminated scabies case, which developed during antileukemic chemotherapy, similar to our patient (6).

In conclusion, scabies should be remembered in the development of papular lesions during induction therapy in patients with AML.

Keywords: Leukemia, scabies, skin

Anahtar Kelimeler: Lösemi, skabies, deri

* Ethics

Peer-review: Internally peer-reviewed.

* Authorship Contributions

Design: A.Z.B., İ.Y., Data Collection or Processing: A.Z.B., İ.Y., A.H.E.K., Analysis or Interpretation: A.Z.B., İ.Y., A.H.E.K., Literature Search: A.Z.B., İ.Y., A.H.E.K., Writing: A.Z.B., İ.Y.

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

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

REFERENCES

1. Kelaidi C, Chevret S, De Botton S, Raffoux E, Guerci A, Thomas X, et al. Improved outcome of acute promyelocytic leukemia with high WBC counts over the last 15 years: the European APL Group experience. *J Clin Oncol* 2009; 27: 2668-76.
2. Gunning K, Pippitt K, Kiraly B, Sayler M. Pediculosis and scabies: treatment update. *Am Fam Physician* 2012; 86: 535-41.
3. Astudillo L, Loche F, Reynish W, Rigal-Huguet F, Lamant L, Pris J. Sweet's syndrome associated with retinoic acid syndrome in a patient with promyelocytic leukemia. *Ann Hematol* 2002; 81: 111-4.
4. Morio K, Mizuki M, Sozu T, Uejima E. Risk factors for cytarabine-induced cutaneous toxicity in patients with haematological malignancies. *Chemotherapy* 2014; 60: 168-73.
5. Haidari W, Strowd LC. Clinical characterization of leukemia cutis presentation. *Cutis* 2019; 104: 326-30.
6. Trendelenburg M, Büchner S, Passweg J, Rätz Bravo AR, Gratwohl A. Disseminated scabies evolving in a patient undergoing induction chemotherapy for acute myeloblastic leukaemia. *Ann Hematol* 2001; 80: 116-8.