

# Türkiye

E-ISSN 2146-3077

Cilt/Volume: 48

Sayı/Issue: 1

Mart/March

2024

# PARAZİTOLOJİ Dergisi

— TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY —

## Özgün Araştırmalar / Original Investigations

### **Sensitivity of Rapid Diagnostic Tests in Malaria**

Sıtmada Hızlı Tanı Kitlerinin Duyarlılığı

Gülnaz Çulha, Yusuf Önen, Mehmet Çabalak, Tuğba Kaya, Burcu Küçükseker; Hatay, Türkiye

### **Congenital Toxoplasmosis**

Konjenital Toksoplazmozis

Ozlem Ozgur Gundeslioglu, Zeliha Haytoğlu, Ebru Esen, Derya Alabaz, Ummuhan Cay, Ferda Ozlu, Filiz Kibar, Salih Cetiner; Adana, Türkiye

### **Thermotolerant and Osmotolerant Characteristics of Acanthamoeba**

Acanthamoeba Türlerinin Termotolerant ve Osmotolerant Özellikleri

Merve Kahraman, Zübeyda Akın Polat; Kırşehir, Sivas, Türkiye

### **Anti-Trichomonas vaginalis Activity of Marine Tunicates**

Deniz Tunikatlarının Anti-Trichomonas vaginalis Aktivitesi

Hamideh Malekhayati, Afshar Bargahi, Soleiman Khorami, Mohsen Khataminejad, Moradali Fouladvand; Bushehr, Iran

### **Bağırsak Parazitleri Dağılımının Retrospektif Analizi**

Retrospective Analysis of Intestinal Parasites Distribution

Fatma Günbey, Zülal Aşçı Toraman; Bitlis, Elazığ, Türkiye

### **Çocuklarda Baş Biti ve Bağırsak Parazitleri**

Head Lice Intestinal Parasites in Children

Sevinç Çamdalı, Murat Teke, Mehmet Tugay Eren, Eren Yenidünya, Elif Akyol, Serpil Değerli; Sivas, Türkiye

### **Larvicidal Activities of Aromatic Thiosemicarbazone and Metal Complexes**

Aromatik Tiyosemikarbazonların Larvisidal Aktiviteleri

Fatma Bursalı, İlke Demirkaya, İknur Babahan Bircan, Fatih Mehmet Şimşek; Aydın, Türkiye

### **Bursa Köpeklerinde Uyuz Enfestasyonları**

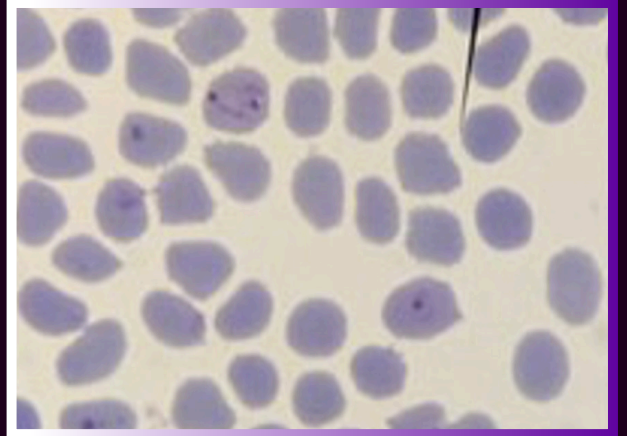
Scabies Infestations in Dogs in Bursa

Betül Saygın, Ahmet Onur Girişgin, Suna Aslı Zengin, Levent Aydın; Bursa, İstanbul, Türkiye

### **Analysis of Anisakis simplex Research**

Anisakis simplex Araştırmalarının Analizi

Mehmet Emin Aydemir, Selahattin Aydemir, Serap Kılıç Altun, Sevil Alkan; Şanlıurfa, Van, Çanakkale, Türkiye



## EDİTÖRDEN

2024 yılının ilk sayısını 9 özgün araştırma makalesi, 2 olgu sunumu ve 1 derleme ile çıkarmaktayız. Özgün araştırmalarda tıbbi ve veteriner parazitoloji alanlarından makaleler arasında; deprem bölgesinden sıtma tanısında hızlı testlerin duyarlılığı konusunda, konjenital toxoplasmosis ile ilgili bir makale, *Acanthamoeba*'nın patolojisi ile ilgili gösterge olabilecek karakteristiklerini irdeleyen bir makale, baş biti araştırması ile *Aedes* türlerinin larvalarına karşı kullanılabilecek yeni formülasyonlarla oluşturulan larvasitlerin etkinliğinin değerlendirilmesi, Bursa'da sokak köpeklerindeki uyuz sıklığının araştırıldığı bir makale sunulmaktadır.

Olgu sunumlarında ise *Plasmodium falciparum*/*Salmonella* Typhi birlikteliği ile nadir görülen bir kist hidatik olgusu verilmiştir. Derlemede ise memelilerdeki *Acanthocephala* türlerini inceleyen bir makaleye yer verilmiştir.

Dergimizin ESCI için de başvurusu yeniden yapılmış olup sonucu beklenmektedir. Bu sürece büyük katkısı olan ve gönderilen makalelere özveri ile hakemlik yapan, bu sayının sonunda da listesi yayınlanan akademisyenlerimize de teşekkür etmek ve minnetlerimi sunmak isterim.

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



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: Mart / March 2024

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****Ayşen Gargılı**

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

**Veli Yılığör 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

**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

**Ayşegül Taylan Özkan**

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

**Ayşegül 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 Göneç**

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 Kıvçak**

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  
Nigde 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

**Gülay 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 Öğüt**

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

**Hamza Avcioğlu**

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

**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 Arkan**

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

**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 Ölgen**

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 Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı,  
Kars, Türkiye  
Department of Parasitology, Faculty of 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**

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

**Murat Sevgili**

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

**Mustafa Açıç**

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 Gülkız 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 Sarımehtemöğlu**

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  
Institute of Biology/Zoology, Berlin University, Berlin, Germany

**Bülent Alten**

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

**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

**Zati Vatanserver**

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" and "Instructions to Authors".

The editorial and publication process of the Journal of the **Turkish Academy of Dermatology** are shaped in accordance with the guidelines of the **ICMJE, WAME, CSE, COPE, EASE, and NISO**. Turkish Journal of Parasitology is indexed in **PubMed/MEDLINE, BIOSIS-Zoological Record, EBSCO Host, 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**.

Journal is published online.

**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

- 1** Investigation of Sensitivity of Rapid Diagnosis Tests in Patients with Suspected Malaria  
*Sıtma Şüpheli Hastalarda Hızlı Tanı Kitlerinin Duyarlılığının Araştırılması*  
Gülnaz Çulha, Yusuf Önlen, Mehmet Çabalak, Tuğba Kaya, Burcu Küçükeser; Hatay, Türkiye
- 8** Congenital Toxoplasmosis and Long-term Outcomes  
*Konjenital Toksoplazmozis ve Uzun Dönem Sonuçları*  
Ozlem Ozgur Gundeslioglu, Zeliha Haytuglu, Ebru Esen, Derya Alabaz, Ummuhan Cay, Ferda Ozlu, Filiz Kibar, Salih Cetiner; Adana, Türkiye
- 15** Are Thermotolerant and Osmotolerant Characteristics of *Acanthamoeba* Species an Indicator of Pathogenicity?  
*Acanthamoeba Türlerinin Termotolerant ve Osmotolerant Özellikleri Patojenite Göstergesi midir?*  
Merve Kahraman, Zübeyda Akın Polat; Kırşehir, Sivas, Türkiye
- 21** Anti-*Trichomonas vaginalis* Activity of Marine Ascidians (Tunicates; Ascidiacea) from the Bushehr Province, Iran  
*İran'ın Buşehr Eyaletindeki Deniz Ascidianlarının (Tunikatlar; Ascidiacea) Anti-Trichomonas vajinalis Aktivitesi*  
Hamideh Malekhayati, Afshar Bargahi, Soleiman Khorami, Mohsen Khataminejad, Moradali Fouladvand; Bushehr, Iran
- 27** Üniversite Hastanesine Başvuran Hastalarda Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı: Dört Yıllık Retrospektif İnceleme  
*Distribution of Intestinal Parasites in Patients Admitted to University Hospital: Four Year Retrospective Review*  
Fatma Günbey, Zülal Aşçı Toraman; Bitlis, Elazığ, Türkiye
- 32** Sivas'ta İlkokul ve Ortaokul Öğrencilerinde Baş Biti ve Bağırsak Parazitlerinin Araştırılması  
*Investigation of Head Lice and Intestinal Parasites in Primary and Secondary School in Sivas*  
Sevinç Çamdalı, Murat Teke, Mehmet Tugay Eren, Eren Yenidünya, Elif Akyol, Serpil Değerli; Sivas, Türkiye
- 39** Larvicidal Activity of Some Aromatic Thiosemicarbazone and Metal Complexes [Ni (II), Cu (II), Co (II)] Against *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) and *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) Larvae  
*Aedes (Stegomyia) aegypti (Linnaeus, 1762) ve Aedes albopictus (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) Larvalarına Karşı Bazı Aromatik Tiyosemikarbazon ve Metal Komplekslerinin [Ni (II), Cu (II), Co (II)] Larvasidal Aktivitesi*  
Fatma Bursalı, İlke Demirkaya, İlknur Babahan Bircan, Fatih Mehmet Şimşek; Aydın, Türkiye
- 45** Bursa Yöresi Sokak Köpeklerinde Uyuz Enfestasyonlarının Yaygınlığı  
*Distribution of Scabies Infestations in Stray Dogs in Bursa Province*  
Betül Saygın, Ahmet Onur Girişgin, Suna Aslı Zengin, Levent Aydın; Bursa, İstanbul, Türkiye
- 51** Trends in *Anisakis simplex* Global Research: A Bibliometric Analysis Study  
*Anisakis simplex Araştırmalarında Küresel Trend: Bibliyometrik Bir Analiz*  
Mehmet Emin Aydemir, Selahattin Aydemir, Serap Kılıç Altun, Sevil Alkan; Şanlıurfa, Van, Çanakkale, Türkiye

## İÇİNDEKİLER/CONTENTS

### OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS

- 58** Tehlikeli Bir İlişki: Yurt Dışı Kaynaklı *Plasmodium falciparum* ve *Salmonella Typhi* Koenfeksiyonu Olgusu  
*A Dangerous Relationship: A Case of Imported Plasmodium falciparum and Salmonella Typhi Coinfection*  
Derya Tuna Ecer, Yener Özel, Oktay Yapıcı, Mehmet Ünlü; Balıkesir, Türkiye
- 62** Multiple Cerebral Hydatid Cyst Developed After Operation of Cardiac Hydatid Cyst: A Case Report  
*Kardiyak Hidatik Kist Operasyonu Sonrası Gelişen Multiple Serebral Kist Hidatik: Olgu Sunumu*  
İmren Mutlu, Ömer Ruşen Koyuncu, Yasemin Çakır; Ağrı, Sivas, Türkiye

### DERLEME / REVIEW

- 66** Acanthocephala Species of Mammals in Türkiye and A New Species Record from Foxes  
*Türkiye'de Memelilerde Acanthocephala Türleri ve Tilkilerden Yeni Bir Tür Kaydı*  
Mehmet Öztürk, Şinasi Umur; Samsun, Türkiye





# Investigation of Sensitivity of Rapid Diagnosis Tests in Patients with Suspected Malaria

## Sıtma Şüpheli Hastalarda Hızlı Tanı Kitlerinin Duyarlılığının Araştırılması

© Gülnaz Çulha<sup>1</sup>, © Yusuf Önlü<sup>2</sup>, © Mehmet Çabalak<sup>2</sup>, © Tuğba Kaya<sup>1</sup>, © Burcu Küçükkeser<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hatay Mustafa Kemal University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Hatay, Türkiye

<sup>2</sup>Hatay Mustafa Kemal University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Hatay, Türkiye

Cite this article as: Çulha G, Önlü Y, Çabalak M, Kaya T, Küçükkeser B. Investigation of Sensitivity of Rapid Diagnosis Tests in Patients with Suspected Malaria. Türkiye Parazitoloj Derg 2024;48(1):1-7.

### ABSTRACT

**Objective:** Malaria has been eradicated in Türkiye as of 2010, but there are imported cases. In this study, we aimed to compare the diagnostic value of two rapid tests; SD Bioline Malaria Ag Pf/Pan (SD-Pf/Pan) and SD Bioline Malaria Ag Pf/Pv (SD-Pf/Pv) with microscopy and real time-polymerase chain reaction (RT-PCR).

**Methods:** Blood samples were taken from all participants. Thick drop smears were prepared. Thick drop smears were examined for malaria positive/negative distinction under the light microscopy. Then, two rapid diagnostic tests (SD-Pf/Pan and SD-Pf/Pv) were performed. After DNA extraction from blood samples, RT-PCR was typed. The data were evaluated with SPSS 21 program of statistics.

**Results:** A total of 30 cases out of 66 suspected malaria cases were detected as positive with microscopy and RT-PCR. Twenty-seven patients were found positive with both SD-Pf/Pan and SD-Pf/Pv tests. Based on the microscopic results as a reference method, SD-Pf/Pan and SD-Pf/Pv rapid diagnostic tests had a 90% sensitivity, 100% specificity, 100% positive predictive value (PPV), and 92.86% negative predictive value (NPV). Based on the RT-PCR results as a reference method, for detection of *P. falciparum*, both tests had a 95.65% sensitivity, 100% specificity, 100% PPV, and 88.89% NPV. Moreover, while SD-Pf/Pv had a sensitivity, specificity, PPV, and NPV of 100% in detection of *P. vivax*; SD-Pf/Pan has a 77.78% sensitivity of, 61.90% specificity of, 46.67% PPV, and 86.67% NPV SD-Pf/Pan for detection of PAN.

**Conclusion:** As a result, high sensitivity and specificity were detected in both kits in the diagnosis of malaria infections caused by *P. falciparum* and *P. vivax*. Rapid diagnostic tests can be used safely in diagnosis however the diagnosis should be supported by microscopy and RT-PCR methods when they are applicable.

**Keywords:** Malaria, rapid diagnosis test, real-time polymerase chain reaction, Hatay

### ÖZ

**Amaç:** Sıtma, 2010'dan itibaren Türkiye'de eradike edilmiş ancak impoite olgular görülmektedir. Çalışmada, SD Bioline Malaria Ag P.f/Pan (SD-Pf/Pan) ile SD Bioline Malaria Ag P.f/P.v (SD-Pf/Pv) olmak üzere iki hızlı tanı kiti ile mikroskop inceleme ve gerçek zamanlı-polimeraz zincir reaksiyonu (GZ-PZR) yönteminin karşılaştırılarak hızlı tanı testlerinin tanı değerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Tüm katılımcılardan kan örnekleri alındı. Kalın damla yaymaları hazırlandı. Işık mikroskobu altında sıtma pozitif/negatif ayrımı açısından kalın damla yaymaları incelendi. Daha sonra SD-Pf/Pan ve SD-Pf/Pv olmak üzere iki hızlı tanı testi ile çalışıldı. Kan örneklerinden DNA ekstraksiyonu yapıldı ve GZ-PZR ile tiplendirildi. Veriler SPSS 21 programı ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Altmış altı sıtma şüpheli hastadan 30'unun mikroskop inceleme yöntemi ve GZ-PZR ile pozitif olduğu belirlendi. Yirmi yedi hastada hem SD-Pf/Pan hem de SD-Pf/Pv testlerinde pozitif bant elde edildi. Referans olarak mikroskop inceleme yöntemi baz alındığında SD-Pf/Pan ve SD-Pf/Pv hızlı tanı testleri %90 duyarlılığa, %100 özgüllüğe, %100 pozitif prediktif değerine (PPV) ve %92,86 negatif prediktif değerine (NPV) sahipti. Referans olarak GZ-PZR sonuçlarına göre, *P. falciparum* tespiti için her iki testin duyarlılığı %95,65, özgüllüğü %100, PPV %100 ve NPV %88,89'du. Ayrıca SD-Pf/Pv'nin *P. vivax* tespitinde duyarlılığı, özgüllüğü, PPV ve NPV'i %100 iken; SD-Pf/Pan'ın, PAN tespiti için duyarlılığı %77,78, özgüllüğü %61,90, PPV %46,67 ve NPV %86,67 olarak bulundu.



Received/Geliş Tarihi: 04.10.2023 Accepted/Kabul Tarihi: 14.02.2024

**Address for Correspondence/Yazar Adresi:** Tuğba Kaya, Hatay Mustafa Kemal University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Hatay, Türkiye

**Phone/Tel:** +90 507 490 26 07 **E-mail/E-Posta:** tugbakaya42@yahoo.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0001-7612-5414



©Copyright 2024 Turkish Society for Parasitology - Available online at [www.turkiyeparazitolog.org](http://www.turkiyeparazitolog.org)

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

**Sonuç:** Sonuç olarak *P. falciparum* ve *P. vivax*'ın neden olduğu sıtma enfeksiyonlarının tanısında her iki kitin de yüksek duyarlılık ve özgüllükte olduğu tespit edildi. Tanıda hızlı tanı testleri güvenle kullanılabilir ancak tanının uygun olduğu durumlarda mikroskop inceleme yöntemi ve GZ-PZR yöntemleri ile desteklenmesi gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Sıtma, hızlı tanı testi, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu, Hatay

## INTRODUCTION

Malaria, which transmitted to humans through *Anopheles* spp., remains an important disease today despite the implementation of many international and national control and elimination programs (1). Increased number of travels for touristic or business purposes, especially the round trips to endemic areas ensure the continuity of malaria (2). According to the World Health Organization (WHO) estimations, there are approximately 241 million malaria cases and 627,000 deaths in 2020 worldwide. African continent was reported to host 95% of these cases and 96% deaths (1).

According to WHO data, although no autochthonous cases have been reported in Türkiye since 2010, imported malaria cases have been documented (3). The riskiest regions in Türkiye with respect to malaria are Southeastern Anatolia, Mediterranean, Marmara, and Aegean (4). The most common vector species in Türkiye are *Anopheles sacharovi* and *Anopheles superpictus* (5).

The malaria diagnosis is achieved through the detection of the parasite with microscopy in smear specimens prepared from the blood. The method called "thick drop" is the gold standard microscopic examination for malaria. However, commercially prepared rapid diagnostic tests (RDTs) and molecular methods are also utilized in the diagnosis of malaria (6,7).

RDTs, which have been developed to detect parasite-specific antigens found in the blood are one of the serological methods with supportive diagnosis that can give results in as short as 10-15 min, are easy to apply, and do not require experience (8).

Malaria RDTs contain antibodies targeting three parasitic antigens: histidine-rich protein (HRP2), Plasmodium lactate dehydrogenase (pLDH), and Pan-specific aldolase (9). HRP2 is a protein produced by only *P. falciparum* and secreted by young gametocytes and trophozoites. Hence it is used as a diagnostic marker in RDTs for detection of *P. falciparum* malaria infections (8). There are three types of pLDH used for diagnosis of one *P. falciparum*, *P. vivax*, and Pan species. This antigen shows more than 90% amino acid similarity among the four *Plasmodium* species. Since it uses monoclonal antibodies against common epitopes, pLDH-based RDT is able to detect four species. Pan-specific aldolase (Pan aldolase) is used for human-specific *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, and *P. malaria* (8,9). Although pLDH and aldolase are used for detection of four species, it was reported that currently available RDTs cannot specifically identify *P. malaria* and *P. ovale* (10).

The sensitivity (Se) and specificity (Sp) of the SD-Pf/Pan test were previously shown to be 99.5% and 98% for *P. falciparum* and 92.6% and 100% for non-*P. falciparum* respectively (11). As to SD-Pf/Pv test, these values were reported to be 93.9% and 98.7% for *P. falciparum* and 98.0% and 97.9% for *P. vivax* respectively (12)

The present study was planned; to draw attention to imported malaria cases in Hatay, to contribute to the treatment by subtyping the malaria cases, to determine the value of RDTs in the diagnosis of malaria cases in a short time during round trips, to analyze their practicality in the field, and to compare the performance of two different RDTs.

## METHODS

### Study Area and Experimental Plan

The study was carried out with the ethics committee's approval obtained from the Ethics Committee of Clinical Research at Tayfur Ata Sökmen Faculty of Medicine (approval no: 2018/86). An informed consent form was signed by all patients and documented for the current study. The patients with suspected malaria, who had round trips to malaria endemic areas between April 2019 and December 2020 and applied to the Infectious Diseases Outpatient Clinic of Hatay Mustafa Kemal University Faculty of Medicine, were included in the study. The gender and the history of the patients including the country they came from, were recorded. The patients were classified as positive and negative according to the findings of the microscopic examinations.

Inclusion criteria: Travelling to malaria endemic area, having clinical symptoms of malaria such as chills and fever.

Exclusion criteria: Age <18 year-old, pregnancy, lack of signed informed consent, no history of travel to malaria endemic region.

Blood samples from all patients were taken into anticoagulant containing biochemical tubes via venipuncture and sent to Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Medicine, Parasitology Research Laboratory. The blood samples were stored in three aliquots: One for thick drop smear preparation for the microscopic examination, another for RT-PCR analysis, and the last one for RDTs.

### Microscopic Examination

Thick drop smears were prepared with the blood samples. The thick drop smears were examined to assess the presence and density of parasite. Giemsa solution was prepared by diluting it with distilled water at 1:1 ratio. Thick drop smears were stained for 45 min. Then it was evaluated with a 100X objective under a light microscope. It was considered positive when there was at least one asexual blood-stage of the parasite. By counting the number of parasites per 200 white blood cells and assuming that each subject had 8000 white blood cells per microliter of blood, parasitaemia was calculated as described previously (13). All smears were read by blinded two experienced scientists.

### SD-Pf/Pan and SD-Pf/Pv Test Procedures

Two different rapid diagnosis tests were studied for all patients included in the study. One of them is SD-Pf/Pan (Product code 05FK60, Standard Diagnostics, Inc; Suwon City, Republic of Korea) (*P. falciparum*: histidine-rich protein 2 (HRP2) which can distinguish between *P. falciparum* and other types of *Plasmodium*; the other kit is SD-Pf/Pv (Product code 05FK80, Standard Diagnostics, Inc; Suwon City, Republic of Korea) which can distinguish between *P. falciparum* and *P. vivax*. The tests are in cassette format and based on the immunochromatographic antigen detection principle. Both kits were studied according to the manufacturer's protocol, and the data were recorded.

## DNA Isolation and Real-time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

DNA extraction was performed from the blood samples of the patients following the instructions of a commercial kit (Qiamp DNA Isolation kit, Qiagen, Germany). The obtained DNAs were stored at -20 °C until further experiments.

The isolated DNAs were genotyped by targeting the *18S ribosomal RNA* gene using a commercial species-specific qualitative RT-PCR *Plasmodium* species kit (Genesig® Std Real-time PCR detection kit for *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*; Primerdesign™ Ltd., Chandler's Ford, UK) (14). RT-PCR was applied according to manufacturer's protocol. Briefly, PCR mixture was prepared for each sample and *Plasmodium* species as follow: 10 µL of oasis lyophilised 2X qPCR Master Mix (Genesig® Primerdesign™ Ltd., Chandler's Ford, UK), 1 µL of *P. falciparum* primer/probe mix, 4 µL of nuclease free water, 5 µL of DNA. The RT-PCR reaction conditions are as follow (Qiagen Rotor-Gene): Enzyme activation at 95 °C for 2 min, 50 cycles of; denaturation at 95 °C for 10 s, annealing at 60 °C for 60 s (14). One positive control template corresponding to one malaria species was used for each PCR reaction supplied in the kit. Nuclease free water was used as the negative control. Amplification curves were assessed as positive or negative according to the amplification curves of target samples and positive controls. The most recent data were evaluated. All samples PCR reactions were run separately for each species.

## Statistical Analysis

In this study, the data were analyzed with the SPSS 21 package statistical software. The data were expressed as frequency and/or percentage. Se, Sp, accuracy, and positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) were used to determine the diagnostic measure of the kits. In addition, the associations between the gold standard tests were analyzed with Mc Nemar test. The Phi coefficient measures the correlation between two nominal variables and ranges from -1 to 1. In addition, the Kappa value of the consistency of both tests (microscopy and RDT) was calculated. The formula  $K = (\text{Observed consistency} - \text{Expected consistency}) / (1 - \text{Expected consistency})$  was used in the calculation. A Kappa value of 0.75 and above was considered to indicate excellent consistency.

Se, Sp, PPV, and NPV were calculated by using microscopy results as a reference, which is a gold standard method for malaria diagnosis, and by comparing with RT-PCR results at the species level.

## RESULTS

Of the 66 suspected malaria patients with a travelling history to abroad (Saudi Arabia and Africa continent such as Sudan, Ivory coast, Nigeria, Uganda, Ghana), 1 was female (1.52%), and 65 (98.48%) were male. Thirty (45.45%) of the patients were positively diagnosed with microscopy. All of the patients included in the current study had a round trip history to the countries in Africa continent. Twenty-seven patients out of 30 positive patients were positive in both RDTs. In the SD-Pf/Pv test, 21 patients were positive for *P. falciparum* and 6 were positive for *P. vivax*. In the SD-Pf/Pan test, 21 cases for *P. falciparum* and 15 cases for Pan were positive (Table 1). RT-PCR was used to confirm all 30 positive patients analyzed with microscopy. Of which, 21 patients were found to be positive for *P. falciparum*, 6 for *P. vivax*, 1 for *P. ovale*, 1 for *P. malariae*, and 1 for *P. falciparum/P. malariae* as a mixed species infection (Table 2, Figure 1).

While 6 of 15 patients who were positive with SD-Pf/Pan were infected with *P. vivax* and 1 patient was infected with mixed-species of *P. falciparum/P. malariae*, 8 samples gave false positive Pan-band. In addition, 3 samples (a *P. falciparum*, a *P. ovale*, a *P. malariae*), which were positive with both microscopy and RT-PCR, were found to have false-negative bands in the SD-Pf/Pan kit while it was only one sample (*P. falciparum*) for the SD-Pf/Pv kit.

After statistical analyses, it was determined. there was a significant difference among the results obtained with microscopic examinations, both RDTs (SD-Pf/Pan and SD-Pf/Pv), and RT-PCR ( $p < 0.001$ ). While significant difference was found between SD-Pf/Pv and RT-PCR methods ( $p < 0.001$ ), there was no significant difference between SD-Pf/Pan and RT-PCR ( $p > 0.05$ ).

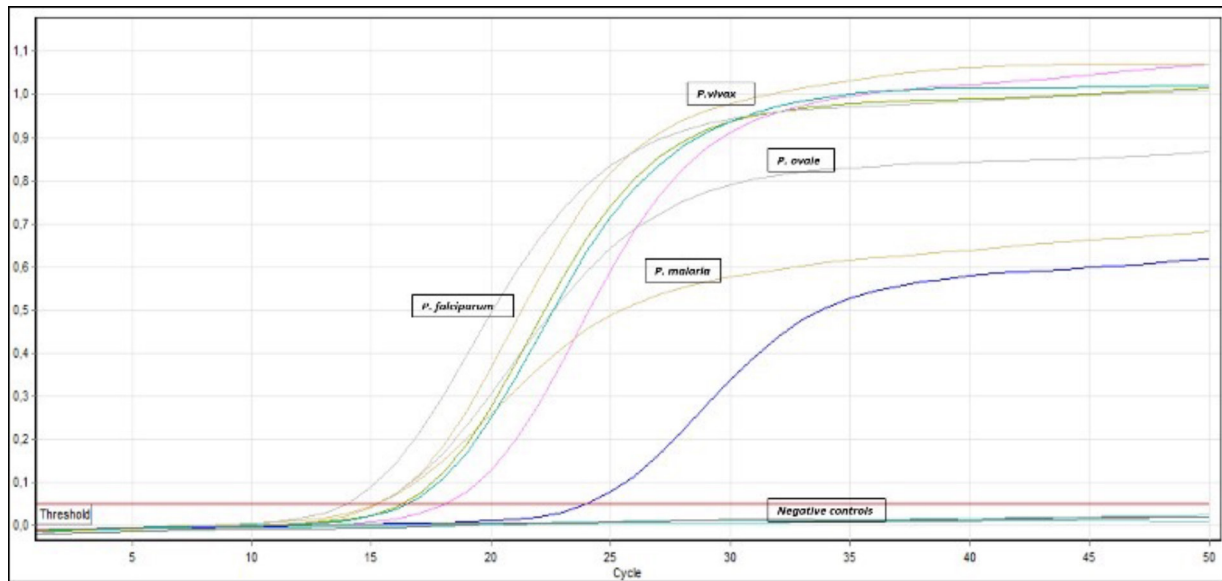
When microscopic results were used as the reference, SD-Pf/Pan ve SD-Pf/Pv RDTs exhibited 90% Se of, 100% Sp, 100% PPV, and 92.86% NPV (Table 3). When RT-PCR results were used as the reference, both RDTs for *P. falciparum* showed 95.65% Se, 100% Sp and PPV, and 88.89% NPV. Furthermore, although the SD-Pf/Pv for *P. vivax* had a 100% Se, Sp, PPV, and NPV, the SD-Pf/Pan for PAN had 77.78% Se, 61.90% Sp, 46.67% PPV, and 86.67% NPV (Table 4).

While 40.9% of the cases were diagnosed positively with the RDT test, 45.5% of the cases were diagnosed positively with microscopy. The difference was not statistically significant ( $p > 0.05$ ) (Table 5). Kappa value was calculated as 0.901.

**Table 1.** Comparison of microscopic examination results with the SD-Pf/Pan and SD-Pf/Pv tests in diagnosis of Plasmodium species

		SD-Pf/Pan				SD-Pf/Pv			
		Control band only	Pf band only	Pan band only	Pf and Pan band only	Control band only	Pf band only	Pv band only	Pf and Pv band only
<b>Microscopy results (n=30)</b>	Negative samples	39 (59.1%)	0	0	0	39 (59.1%)	0	0	0
	Positive samples	27 (40.9%)	12	6	9	27 (40.9%)	21	6 (22.2%)	0
	Total	66 (100.0%)	12 (44.4%)	6 (22.2%)	9 (33.3%)	66 (100.0%)	21 (77.8%)	6 (22.2%)	0 (0%)

SD: Standard deviation



**Figure 1.** A representative RT-PCR amplification curve including positive control and negative controls and patient samples  
RT-PCR: Real time-polymerase chain reaction

**Table 2.** Results obtained with microscopic examination, two rapid diagnostic tests, and RT-PCR methods

	Microscopy	SD-Pf/Pan		SD-Pf/Pv		RT-PCR				
		P.f.	Pan	P.f	P.y	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. malariae</i>	Mixed species infection**
Positive samples	30 (45.5%)	21 (31.8%)	15* (22.7%)	21 (31.8%)	6 (9.1%)	21 (31.8%)	6 (9.1%)	1 (1.5%)	1 (1.5%)	1 (1.5%)
Negative samples	36 (54.5%)	45 (68.2%)	51 (77.3%)	45 (68.2%)	60 (90.9%)	45 (68.2%)	60 (90.9%)	65 (98.5%)	65 (98.5%)	65 (98.5%)
Total	66 (100.0%)	66 (100.0%)	66 (100.0%)	66 (100.0%)	66 (100.0%)	66 (100.0%)	66 (100.0%)	66 (100.0%)	66 (100.0%)	66 (100.0%)

(15\*: 15=6+1+8; 6 samples *P. vivax*, 1 sample *P. falciparum/P. malariae* mix infection, 8 samples false positives; \*\**P. falciparum/P. malariae* mix infection), SD: Standard deviation

**Table 3.** Sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of RDTs based on the reference method of microscopy results

Reference method (microscopy)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Positive predictive value (%)	Negative predictive value (%)
SD-Pf/Pan	90	100	100	92.86
SD-Pf/Pv	90	100	100	92.86

RDTs: Prepared rapid diagnostic tests

**Table 4.** Sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of RDTs based on the reference method of RT-PCR results

	Reference method (RT-PCR)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Positive predictive value (%)	Negative predictive value (%)
SD-Pf/Pan	P.f	95.65	100	100	88.89
	Pan	77.78	61.90	46.67	86.67
SD-Pf/Pv	P.f	95.65	100	100	88.89
	P.v	100	100	100	100

RDTs: Prepared rapid diagnostic tests, RT-PCR: Real time-polymerase chain reaction, SD: Standard deviation



## DISCUSSION

According to WHO’s data for the last three years, there is an increase in the rate of malaria and malaria-caused deaths each year. It has been reported that almost half of the world’s population was at risk of malaria with about 14 million more cases and 69,000 more deaths in 2020 than in 2019. In the same reports, there were estimated numbers of 229 million cases and 409,000 deaths in 2019 and 228 million cases, and 405,000 deaths in 2018 (1,15).

A significant portion of malaria cases (95%) in 2020 were brought about by the countries in Africa continent and the most common malaria type was *P. falciparum*. In many countries other than sub-Saharan Africa, *P. vivax* is the primary agent in malaria infections (1).

While malaria has not been documented in Türkiye as of 2010, 81 imported malaria cases have been reported in the same year (16). Based on a report in 2019, while 75% of imported malaria cases in Türkiye originated from the African countries where the causative species was *P. falciparum*, 20% of them were caused by other Middle-East countries such as Iran, Pakistan, and Afghanistan where *P. vivax* was the causative agent. Besides among some of these malaria cases, there were mixed infections caused by multiple malaria species (17).

When we look at the imported cases reported from various provinces of Türkiye, it can be realized that the majority of these people travelled abroad for either business, e.g., drivers who transport to endemic regions, or for touristic visits. In previous studies that the following area-specific malaria cases have been reported; the 219 cases seen in Mardin in 2012 were imported cases caused by a truck drivers; between 2005 and 2015 in Gaziantep, 31 imported malaria cases; between 2012-2017 in Antalya based on Provincial Health Directorate reports 36 imported malaria cases caused by *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malaria*, and *P. falciparum*; 22 imported malaria cases in Ankara who made round trips to various countries such as Sudan, Uganda, Cameroon, Nigeria, and Mali between 2010 and 2018 (18-21).

Imported malaria cases coming from endemic regions were also filed in Hatay province. In 2007, 4 workers coming from abroad to Hatay were infected by *P. falciparum* (22). In another study, 75 imported malaria cases who had been in sub-Saharan Africa countries in 2008-2017 were followed up and treated (23). In a

study conducted with 30 imported malaria cases, who had been in malaria-endemic countries, nested-PCR method was utilized. And they found that *P. falciparum* in 16, *P. vivax* in 6, and *P. falciparum/P. vivax* mixed species in 8 cases were detected (6). In our study, 66 patients with suspected malaria, who have been in Saudi Arabia and Africa countries there and back such as Sudan, Ivory coast, Nigeria, Uganda, Ghana between April 2019 and December 2020, were included. Of the patients, 30 were found to be positive with both microscopy and RT-PCR methods, and 27 were diagnosed as positive with both RDTs. With RT-PCR, 21 cases were detected as infected by *P. falciparum*, 6 by *P. vivax*, 1 by *P. ovale*, 1 by *P. falciparum/P. malaria* mixed species, and 1 by *P. malaria* infections. Microscopy is a highly sensitive, inexpensive, and gold standard method in malaria diagnosis providing that experienced staff and convenient equipment are available (24). Although it varies depending on the species of infectious agent, geographical location, the Se of the microscopy in malaria diagnosis is estimated as more than 75% (25). In recent years, RDTs for diagnosis of malaria, which are easy to apply and interpret, do not require advanced experience, and give results in as early as 10-15 min, have been developed and used commonly in endemic countries (8). There are types of RDTs which can detect either a single species or multiple species of malaria by targeting malaria-specific antigens such as HRP-2, pLDH, and pan-specific aldolase. WHO recommends using RDTs before starting treatment in patients with suspected malaria especially in areas where there is no required equipment and experienced staff (26). According to WHO standards published in 2011, RDTs should give 10% fewer false positives results (27). Molecular biological methods, e.g., RT-PCR, are important tools that help accurate diagnosis even at low parasitemia loads such as 5 parasites/μL and provide differential diagnosis by casting out irrelevant malaria species. Despite their high Se and Sp rates, diagnostic utility of molecular biological techniques is restricted due to the necessity of costly technical equipment (8).

In a study conducted in the Rakhine state of Myanmar for a period of 14 months, 1248 of 2585 blood samples (531 *P. falciparum*, 587 *P. vivax*, 130 *P. fal/pan* mixed species infection) were found to be positive with microscopy. They reported that 13 samples with *P. falciparum* (2.5%) gave Pan positive with RDT, 15 (2.5%) of non-*P. falciparum* samples gave false positive results as just *P. fal* or both *P. falciparum* and Pan, and 12 non-*P. falciparum* samples

**Table 5.** Diagnostic consistency of RDT and microscopy

			Microscopy		Total	p*
			Negative	Positive		
RDT	Negative	Count	36	3	39	0.250
		% within RDT	92.3%	7.7%	100.0%	
		% within microscopy	100.0%	10.0%	59.1%	
	Positive	Count	0	27	27	
		% within RDT	0.0%	100.0%	100.0%	
		% within microscopy	0.0%	90.0%	40.9%	
Total	Count	36	30	66		
	% within RDT	54.5%	100.0%			
	% within microscopy	100.0%	100.0%			

\*Mc Nemar test, Observed Consistency =0.95; Expected consistency =0.49; Kappa value =0.901, RDT: Prepared rapid diagnostic test



(2%) gave positive bands together with *P. falciparum* and Pan. In addition, it was reported in the same study that the results of 122 samples out of 130 mixed-species infections corresponded with microscopic findings; 2 samples within the remaining 8 were Pan positive, and the last 6 samples were *P. falciparum* positive. The same study group concluded that based on the SD-Pf/Pan test results, while the Se and specificity for *P. falciparum* were 90.2% and 98.5% respectively, for Pan infection, the Se was 79.4% and the Sp was 98.7% (28). In India, 135 (20%) of 677 patients with fever were found to be positive with RDT (SD-Pf/Pan) and 86 (12.5%) with microscopy. In the same study, RDT's Se was 98.8%, specificity 91.5%, PPV 63%, and NPV 99.8%, and particularly the Se and specificity of RDT in detecting *P. falciparum* were 100% and 97.3% respectively. Moreover, they suggested that RDTs are acceptable in diagnosis of malaria as an alternative to microscopy (29). A study conducted in Africa stated that 53.8% of 437 patients were positive for *P. falciparum* caused malaria. It was also reported in the same study that while 57.8% of the samples were positive with SD-Pf/Pv, this ratio was 58% for SDPf/Pan. Although they found 92.3% compatibility with both RDTs when comparing the results of positive cases, among the negative results confirmed with microscopy, they detected 17.8% of cases as positive with SD-Pf/Pv and 18.8% cases positive with SD-Pf/Pan (30). In our present study conducted in Hatay province, a total of 30 cases out of 66 suspected malaria cases were detected as positive with microscopy and RT-PCR. Twenty-seven patients were found positive with both SD-Pf/Pan and SD-Pf/Pv tests. In the SD-Pf/Pv test, 21 patients were positive for *P. falciparum* and 6 were positive for *P. vivax*. In the SD-Pf/Pan test, 21 cases for *P. falciparum* and 15 cases for Pan were positive. With RT-PCR, 21 patients were found to be positive for *P. falciparum*, 6 for *P. vivax*, 1 for *P. ovale*, 1 for *P. malaria*, and 1 for *P. falciparum/P. malaria* as a mixed species infection.

## CONCLUSION

Malaria continues to be a fatal disease. Together with the increase in the travel frequency, malaria can also be seen in non-endemic countries due to imported cases. Although Türkiye is one of the countries where malaria is eradicated, the imported malaria cases still have been documented. In the present study, the performance of RDTs was analyzed to be able to diagnose the imported malaria cases in Hatay with the highest accuracy. As a result, we suggest that RDTs can be used safely in malaria diagnosis based on the microscopic examinations owing to their availability at lower costs with fewer required technical equipment compared to PCR method. Further studies with higher number of patients will help to obtain clearer and more significant outcomes.

### \* Acknowledgment

In statistical analysis, we want to thank to Assistant Professor Emre Dirican for his contributions.

As a part of this work, an abstract was presented at online KLİMİK congress on May 26-30, 2021.

### \* Ethics

**Ethics Committee Approval:** The study was carried out with the ethics committee's approval obtained from the Ethics Committee of Clinical Research at Tayfur Ata Sökmen Faculty of Medicine (approval no: 2018/86).

**Informed Consent:** An informed consent form was signed by all patients and documented for the current study.

### \* Authorship Contributions

Concept: G.Ç., T.K., B.K., Design: G.Ç., Y.Ö., M.Ç., T.K., Data Collection or Processing: Y.Ö., M.Ç., G.Ç., T.K., B.K., Analysis or Interpretation: G.Ç., T.K., B.K., Literature Search: G.Ç., T.K., Writing: G.Ç., T.K.

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

**Financial Disclosure:** This study was supported by Hatay Mustafa Kemal University Scientific Research Projects Coordination Unit (project number: 19.M.012).

## REFERENCES

1. World Health Organization. World Malaria Report; 2021. WHO: Geneva, Switzerland, Available from: <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2021>
2. Tartar AS, Akbulut A. Fırat Epidemiological, Clinical, and Laboratory Evaluation of *Plasmodium falciparum* Malaria Cases Followed in Fırat University Hospital: A 6-Year Retrospective Analysis. *Turkiye Parazit Derg* 2018; 42: 1-5.
3. World Health Organization. World Malaria Report; WHO: Geneva, Switzerland, 2020; Available online: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240015791>.
4. Akdur R. Sıtma Eğitim notları. Ankara 1997. TC Sağlık Bakanlığı, Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü Sıtma Savaş Dairesi. Erişim adresi: <http://www.netdata.com/UserFilesCenter3/613819aa-abf5-4ca0-b1556ba4ecd262/ProjectsCenter1/e903343c-0648-4473-9e7a-b0a55f9db737/FileCenter/302.pdf>
5. Alten B, Çağlar SS, Ozer N. Malaria and its vectors in Turkey. *Mosquito Bulletin* 2000; 7: 27-33.
6. Çulha G, Zeyrek F Y, Önlen Y, Doni NY. Determination of Imported Malaria Cases in Hatay by the Use of Molecular Methods. *Mikrobiyol Bul* 2018; 52: 206-13.
7. Zorbozan O, Pullukçu H, Şahar EA, Karakavuk M, Hüseyin CAN, Tunah V, et al. The Importance of the Contribution of Rapid Test, Serological and Molecular Methods in the Diagnosis of Two Imported Malaria Cases with Atypical Microscopy. *Mikrobiyol Bul* 2017; 51: 396-403.
8. Ardıç N, Kuru Ö. Sıtma Hızlı Tanı Testleri. *Nobel Med* 2012; 8: 10-5.
9. Mehlotra RK, Howes RE, Cramer EY, Tedrow RE, Rakotomanga TA, Ramboarina S, et al. *Plasmodium falciparum* Parasitemia and Band Sensitivity of the SD Bioline Malaria Ag Pf/Pan Rapid Diagnostic Test in Madagascar. *Am J Trop Med Hyg* 2019; 100: 1196-201.
10. Cunningham J, Gatton M, Kolaczinski K. Malaria rapid diagnostic test performance: Results of WHO product testing of malaria RDTs: round 7 (2015-2016). World Health Organization, Switzerland 2017.
11. Tadesse E, Workalemahu B, Shimelis T. Diagnostic performance evaluation of the sd bioline malaria antigen ag pf/pan test (05fk60) in a malaria endemic area of southern Ethiopia. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2016; 58: 59.
12. Herrera S, Vallejo AF, Quintero JP, Arévalo-Herrera M, Cancino M, Ferro S. Field evaluation of an automated RDT reader and data management device for *Plasmodium falciparum/Plasmodium vivax* malaria in endemic areas of Colombia. *Malar J* 2014; 13: 87.
13. Mfuh KO, Achonduh-Atijegbe OA, Bekindaka ON, Esemu LF, Mbakop CD, Gandhi K, et al. A comparison of thick-film microscopy, rapid diagnostic test, and polymerase chain reaction for accurate diagnosis of *Plasmodium falciparum* malaria. *Malar J* 2019; 18: 73.
14. Abamecha A, Yilma D, Addisu W, El-Abid H, Ibenthal A, Noedl H, et al. Therapeutic efficacy of artemether-lumefantrine in the treatment of

- uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in Chewaka District, Ethiopia. *Malar J* 2020; 19: 240.
15. World Health Organization. World Malaria Report 2019; WHO: Geneva, Switzerland Available from: <https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/world-malaria-report-2019>.
  16. World Health Organization. World Malaria Report 2017. Geneva: Available from: [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/Documents/world-malaria-report-2017.pdf?sfvrsn=8b7b573a\\_0](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/Documents/world-malaria-report-2017.pdf?sfvrsn=8b7b573a_0)
  17. Republic of Turkey, Ministry of Health, General Directorate of Public Health, Department of Zoonotic and Vectorial Diseases. Malaria Case Management Guide (Sitma Vaka Yönetim Rehberi), Ankara 2019. Available from: [https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/zoootik-vektorel-hastaliklar-db/zoootik-hastaliklar/4-Sitma/6-Rehberler/Sitma\\_Vaka\\_Ynetim\\_Rehberi\\_2019.pdf](https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/zoootik-vektorel-hastaliklar-db/zoootik-hastaliklar/4-Sitma/6-Rehberler/Sitma_Vaka_Ynetim_Rehberi_2019.pdf)
  18. Topluoğlu S, Aydın A, Taylan Ozkan A, Kapçak S. P. vivax malaria cases in Mardin province in 2012-2014. 25th Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 25 28 April 2015, Copenhagen, Denmark.
  19. Özkeklikçi A, Avcioglu F. The Epidemiology of Malaria in Gaziantep Between 2005 and 2015. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2019; 43: 102-6.
  20. Ser Ö. Evaluation of malaria cases detected in Antalya Province between 2012 and 2017. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2020; 44: 1-6.
  21. Kazancıoğlu S, Bodur H. Evaluation of Imported Malaria Cases: Experience of A Training and Research Hospital in Ankara. *Value Health Sci* 2022; 12: 1-5.
  22. Önlen Y, Çulha G, Ocak S, Savaş L, Güllü M. Yurtdışı kökenli *Plasmodium falciparum* sıtması: Dört olgu sunumu. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2007; 31: 256-9.
  23. Şahin S İ, Çabalak M, Bal T, Ocak S, Önlen Y, Çulha G. Hatay ilindeki impote sıtma olgularının retrospektif analizi: 10 yıl içerisinde 75 olgu. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2019; 43: 60-4.
  24. Sümer Ş. Sıtma Tanısı. *Türkiye Klinikleri J Inf Dis-Special Topics* 2012; 5: 20-9.
  25. Wilson ML. Laboratory diagnosis of malaria: conventional and rapid diagnostic methods. *Arch Pathol Lab Med* 2013; 137: 805-11.
  26. World Health Organization. Malaria, 2022. WHO: Geneva, Switzerland Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malaria>.
  27. World Health Organization. Malaria Rapid Diagnostic Test Performance. – Results of WHO product testing of malaria RDTs: Round 3 (2010-2011) Available from: <https://www.who.int/tdr/publications/documents/rdt3.pdf?ua=1>
  28. Kosack CS, Naing WT, Piriou E, Shanks L. Routine parallel diagnosis of malaria using microscopy and the malaria rapid diagnostic test SD 05FK60: the experience of Medecins Sans Frontieres in Myanmar. *Malar J* 2013; 12: 166.
  29. Vyas S, Puwar B, Patel V, Bhatt G, Kulkarni S, Fancy M. Study on validity of a rapid diagnostic test kit versus light microscopy for malaria diagnosis in Ahmedabad city, India. *East Mediterr Health J* 2014; 20: 236-41.
  30. Djallé D, Gody JC, Moyen JM, Tekpa G, Ipero J, Madji N, et al. Performance of Paracheck™-Pf, SD Bioline malaria Ag-Pf and SD Bioline malaria Ag-Pf/pan for diagnosis of *falciparum* malaria in the Central African Republic. *BMC Infect Dis* 2014; 14: 109.

# Congenital Toxoplasmosis and Long-term Outcomes

## Konjenital Toksoplazmozis ve Uzun Dönem Sonuçları

Özlem Ozgur Gundeslioglu<sup>1</sup>, Zeliha Haytoglu<sup>2</sup>, Ebru Esen<sup>3</sup>, Derya Alabaz<sup>1</sup>, Ummuhan Cay<sup>1</sup>, Ferda Ozlu<sup>4</sup>, Filiz Kibar<sup>5</sup>, Salih Cetiner<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Cukurova University Faculty of Medicine, Department of Pediatric Infectious Diseases, Adana, Türkiye

<sup>2</sup>Cukurova University Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Adana, Türkiye

<sup>3</sup>Cukurova University Faculty of Medicine, Department of Ophthalmology, Adana, Türkiye

<sup>4</sup>Cukurova University Faculty of Medicine, Department of Neonatology, Adana, Türkiye

<sup>5</sup>Cukurova University Faculty of Medicine, Department of Microbiology, Adana, Türkiye

<sup>6</sup>Cukurova University, Balcalı Hospital Central Laboratory, Adana, Türkiye

Cite this article as: Gundeslioglu OO, Haytoglu Z, Esen E, Alabaz D, Cay U, Ozlu F, Kibar F, Cetiner S. Congenital Toxoplasmosis and Long-term Outcomes. Türkiye Parazitoloj Derg 2024;48(1):8-14.

### ABSTRACT

**Objective:** Congenital toxoplasmosis (CT) can have severe early and late sequelae in children. In this study, we aimed to evaluate the demographic, clinical, treatment characteristics of patients diagnosed with congenital *Toxoplasma* infection and to highlight the long-term complications of the patients.

**Methods:** Patients with CT were included in this study who were followed between 2010 and 2022 in Cukurova University Medical Faculty Hospital. Demographic, clinical and treatment characteristics were searched retrospectively. In the diagnosis of maternal and CT, *Toxoplasma* IgM, IgG, IgG avidity, *T. gondii* polymerase chain reaction tests were used along with clinical and symptoms.

**Results:** Eighteen children (two twins) with CT and their mothers (n=16) were included in the study. Median age was 1 month. Ten (55.5%) of the children were male. CT diagnosis was made during pregnancy in 7 mothers (resulting in 8 babies) and postnatally in 9 mothers (resulting in 10 babies). The mothers of 5 (31.1%) babies with CT received spiramycin treatment during pregnancy. Three (60%) of 5 pregnant women who received spiramycin were diagnosed in the first trimester, 4 (80%) of the babies did not have any sequela and only 1 (20%) had microphthalmia. Ocular involvement was the most common presentation of the disease occurred in 10 patients (55.5%), hydrocephalus and intracranial calcification developed in five patients (27.7%). Hearing loss developed in 2 (11.1%) patients. During the follow-up period, seizures developed in 3 patients (16.6%), microcephaly in 2 patients (11.1%), and neurodevelopmental retardation in 7 patients (38.8%), two of the patients had severe mental retardation. One (5.5%) patient with hydrocephalus died at 36 months of age due to complications after ventriculoperitoneal shunt application.

**Conclusion:** In our study, we observed severe sequelae in vision, hearing, and neurodevelopmental aspects in children diagnosed with CT at birth and during follow-ups. Early diagnosis and treatment of infants, along with the detection of *Toxoplasma* infection during pregnancy, are essential in preventing severe sequelae that may arise due to CT.

**Keywords:** Congenital toxoplasmosis, children, chorioretinitis

### ÖZ

**Amaç:** Konjenital toksoplazma enfeksiyonu çocuklarda erken ve geç dönemde ağır sekellere neden olur. Biz bu çalışmada konjenital toksoplazma tanısı alan hastaların demografik, klinik, tanı, tedavi özelliklerini ve hastaların uzun dönemde gelişen komplikasyonlarını değerlendirmeyi amaçladık.

**Yöntemler:** Bu çalışmada Cukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2010-2022 yılları arasında konjenital Toksoplazma enfeksiyonu saptanan bebeklerin demografik, klinik, tanı, tedavi özellikleri ve prognozları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Maternal ve konjenital *Toxoplasma* enfeksiyonu tanısında, klinik belirti ve bulgularla birlikte *Toxoplasma* IgM, IgG ve IgG avidite, *T. gondii* polimeraz zincir reaksiyon testleri kullanıldı.

**Bulgular:** Bu çalışmaya medyan yaşı 1 ay olan 10'u (%55,5) erkek, ikisi ikiz olan 18 konjenital *Toxoplasma* tanısı alan bebek ve bu bebeklerin anneleri (n=16) dahil edildi. Konjenital *Toxoplasma* tanısı, 7 annede gebelik sırasında (bunların 8 bebeği) ve 9 annede doğum sonrasında (bunların 10 bebeği) konuldu. Konjenital toksoplazmalı bebeklerin 5'inin (%31,1) annesinin gebeliğinde



Geliş Tarihi/Received: 01.06.2023 Kabul Tarihi/Accepted: 28.01.2024

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Ozlem Ozgur Gundeslioglu, Cukurova University Faculty of Medicine, Department of Pediatric Infectious Diseases, Adana, Türkiye

Phone/Tel: +90 505 567 78 01 E-mail/E-Posta: ozlemozgur1978@yahoo.com ORCID ID: orcid.org/0000-0003-2202-7645



©Telif hakkı 2024 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.

spiramisin tedavisi aldığı belirlendi. Spiramisin alan 5 gebeden 3'ünün (%60) ilk trimesterde tanı almasına rağmen bebeklerin 4'ünde organ tutulumu olmayıp yalnızca 1'inde mikroftalmi mevcut idi. Konjenital *Toxoplasma* tanısı alan bebeklerin tanı anında en sık 10 (%55,5) hastada göz tutulumu olduğu ve hastaların 5'inde (%27,7) hidrosefali ve intrakraniyal kalsifikasyon olduğu saptandı. İki (%11,1) hastada işitme kaybı geliştiği belirlendi. İzlemede 3 hastada (%16,6) nöbet, 2 hastada (%11,1) mikrosefali ve ikisi ağır mental retardasyon olan 7 hastada (%38,8) nörogelişimsel gerilik olduğu saptandı. Bir (%5,5) hastanın 36 aylıkken hidrosefali ve ventriküloperitoneal şant uygulanması sonrası gelişen komplikasyonlar nedeniyle yaşamını yitirdiği saptandı.

**Sonuç:** Çalışmamızda, doğumda ve takiplerde konjenital *Toxoplasma* tanısı konulan çocuklarda görme, işitme ve nörogelişimsel alanlarda ciddi sonuçlar gözlemledik. Bebeklerin erken tanı ve tedavisi ile birlikte gebelikte *Toxoplasma* enfeksiyonunun tespiti, konjenital *Toxoplasma* kaynaklı ciddi sonuçların önlenmesinde esastır.

**Anahtar Kelimeler:** Konjenital toksoplazmozis, çocuk, koryoretinit

## INTRODUCTION

*Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) is one of the most common zoonotic agents seen in humans, and its incidence varies according to geography and socio-economic characteristics. It is especially common in Europe, Central America, Brazil and Central Africa (1). In a recent study in our country, anti-*T. gondii* IgG and IgM antibodies have been reported between 17.5-69.5%, and between 0-5.4% respectively (2).

In a study evaluating 817 pregnant women in our country, the seroprevalence of *Toxoplasma* was determined to be 36.2%. Among pregnant women from the Southeastern Anatolia region, 47.1% exhibited *Toxoplasma* IgG positivity, whereas in those from the West region, this rate was found to be 30.1% (3). In our country, data regarding the frequency of congenital toxoplasmosis (CT) in children, aside from case presentations, are limited.

Felidae family members; is the only definitive host of *T. gondii*. There are 3 forms of the parasite during infection. These; are called tachyzoite (stage where they are found in groups or individually), bradyzoite (stage where they are found in tissue cysts) and sporozoite (stage where they are found in oocysts outside the host). Ingestion of oocysts excreted in feces of cats and consumption of raw or undercooked meat containing bradyzoite forms are considered to be the most important transmission routes for *Toxoplasma* infection (4).

CT occurs as a result of *T. gondii* crossing the placenta and infecting the baby. Majority of the infection is due to primary infections during pregnancy. Infection during pregnancy can cause severe complications that can lead to fetal death. Even if the baby has no signs at birth, it may cause learning disabilities, seizures, hydrocephalus, hearing disorders, chorioretinitis, retinal scarring, and visual disturbances in the late period.

Vertical transmission varies depending on the gestational age, the trimester in which the pregnant woman had primary infection, and the antenatal treatment. While the rate of transmission to the baby in untreated pregnant women is 10-15% in the first trimester, it has been reported to be 70-80% in the third trimester (4-6).

The diagnosis of CT relies on the history and serology of the mother's exposure to *Toxoplasma* during pregnancy, the baby's *Toxoplasma* serology, and clinical features. *Toxoplasma* IgM may be negative in 20-50% of CT cases. Positive *Toxoplasma* IgG alone is not conclusive, as it may indicate maternal antibody transfer; thus, its value should be compared with the mother's IgG levels and evaluated based on follow-up values. Assessing avidity values of anti-*T. gondii* antibodies, along with IgG and IgM antibodies, in the first trimester of pregnancy can aid in distinguishing between past and recent infections (4,7,8). It has been reported that effective treatment during pregnancy reduces the rate of severe neurological sequelae by 75% in infants who develop CT (9).

Early diagnosis and initiation of effective treatment of CT play an important role in indicating the prognosis (7).

It was aimed to evaluate the demographic, clinical, diagnostic and treatment characteristics and long-term complications of patients diagnosed with CT.

## METHODS

### Study Population

Eighteen babies diagnosed with CT in Cukurova University Medical Faculty Hospital between 2010-2022 and their mothers (n=16) were included in the study. On February 4, 2023, at the 130<sup>th</sup> meeting of the Çukurova University Faculty of Medicine Ethics Committee, ethical approval was obtained for this study.

### Maternal Infection and Prenatal Diagnosis of CT

Diagnosis of maternal infection was based on detection of *Toxoplasma* IgM and IgG (toxoplasma IgM, toxoplasma IgG) antibodies. Acquisition of the *Toxoplasma* infection was based on seroconversion during pregnancy or on determination of IgG avidity and kinetics of antibodies (8). Toxoplasma IgG, toxoplasma IgM was studied by electrochemiluminescence method in Cobas e-601 Roche (Netherlands) device and microparticle enzyme immunoassay method in Abbott Architect I 2000 (USA) device. Toxoplasma IgG avidity test was studied by micro ELISA method (Diapromark kit, Milan/Italy).

### Postnatal Diagnosis of CT

Congenital infection was diagnosed by any of the following: 1) Increase in Toxoplasma IgG titer during the first year of life or increasing toxoplasma IgG titer compared with the mother's; 2) Positive toxoplasma IgG with positive toxoplasma IgM; 3) Positive *T. gondii* polymerase chain reaction (PCR) test in cerebrospinal fluid (CSF), blood or urine; 4) Positive Toxoplasma IgG beyond 12 months of age, and 5) Infants with characteristic clinical findings, positive toxoplasma IgG, but negative toxoplasma IgM (8).

Clinical and laboratory characteristics at birth and the results of eye examination and hearing test performed by specialist doctors were searched from the files of pediatric patients during the clinical follow-up, ocular findings, hearing findings, neurological complications and neurodevelopmental evaluation results were recorded.

### Statistical Analysis

Statistical analyses were completed using SPSS version 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Data are presented as medians (minimum-maximum) and as n (%). Correlation analysis was used to search the relation between treatment prophylaxis and outcomes.



## RESULTS

*Toxoplasma* IgM positivity was detected in 314 pregnant women in Cukurova University Hospital between 2010 and 2022. Eighteen infants, two of whom were twins, diagnosed with CT and their mothers (n=16) were included in the study. There were a total of 18 children born to 16 mothers who had experienced *Toxoplasma* infection. CT diagnosis was made during pregnancy in 7 mothers (resulting in 8 babies) and postnatally in 9 mothers (resulting in 10 babies). Demographic and clinical characteristics of mothers of infants with congenital *Toxoplasma* are demonstrated in Table 1.

The mothers of five of the babies diagnosed with CT used spiramycin during pregnancy, and three of these babies were diagnosed in the first trimester. Microphthalmia was detected in only one of five patients whose mothers used spiramycin during pregnancy, and there were no organ involvement in the other babies.

Ten (55.5%) of the infants with CT were male and eight (44.5%) were female. The median age at admission was one month. Fourteen of the patients (77.7%) were diagnosed in the first month, while the other four patients were diagnosed at 2, 5, 6, and 9 months of age. Demographic data of infants with CT are demonstrated in Table 2.

Clinical findings consistent with CT at birth was reported in 11 (61.1%) babies. Three patients presented with growth retardation and inability to gain weight, one patient had a deviation in the eyes, one patient had opacities in the eyes and one patient had muscle weakness. Ocular findings were reported in 10 (55.5%) of the patients. Chorioretinitis was present in eight patients (44.4%) in total, and active chorioretinitis was found in six of these patients. Retinal scar, which was thought due to chorioretinitis, was detected in seven patients, and five of these patients had macular involvement. The clinical findings of the patients at the time of diagnosis are demonstrated in Table 3.

Initial laboratory parameters and cranial imaging results of infants diagnosed with CT are demonstrated in Table 4. Although

8 (44.4%) patients had toxo IgM at the time of diagnosis, all patients (100%) had *Toxoplasma* IgG antibody. Nine of the toxoplasmosis-infected infants (50%) had mothers with available *Toxoplasma* avidity results, with 4% of these patients (44.4%) exhibiting high *Toxoplasma* avidity and 5% (55.5%) having low avidity. Evaluation of avidity results indicated that all these mothers likely experienced *Toxoplasma* infection during pregnancy. Among the eight infants who underwent lumbar puncture, *Toxoplasma* PCR was examined in four cases (50%), and it was determined to be negative in the CSF.

It was determined that 16 of the patients were evaluated by cranial ultrasound (USG), 14 of them by cranial tomography and 7 of them by cranial magnetic resonance imaging (MRI). Hydrocephalus was reported in 6 patients by cranial USG,

**Table 2.** Demographic data of infants with congenital toxoplasmosis

Data	
<b>Actual age (month), median (min-max)</b>	79 (5-153)
<b>Age at diagnosis (month), median (min-max)</b>	1 (1-9)
<b>Gender n (%)</b>	
Female	8 (44.5)
Male	10 (55.5)
<b>Prematurity rate, n, (%)</b>	7 (38.8%)
<b>Gestational age of premature babies, median (min-max)</b>	34 (32-37)
Small gestational age n, (%)	1 (5.5%)
Hospital admission at birth, n, (%)	9 (50%)
<b>The median follow-up period (years), median (min-max)</b>	6.3 (3 month-12.6 year)

**Table 3.** Clinical findings of infants with congenital toxoplasmosis at the time of diagnosis

Data	n=18	%
Ocular involvement, n, (%)	10	55.5
Chorioretinitis,	8	44.4
Active chorioretinitis,	6	33.3
Retinal scar	7	38.8
Microphthalmia	6	33.3
Cataract	2	11.1
Abnormal universal newborn screening, testing	4	22.2
Hearing loss [confirmed with auditory brainstem response (ABR)]	1	5.5
Macrocephaly	2	11.1
Microcephaly	1	5.5
Hydrocephaly	5	27.7
Seizure	2	11.1
Icterus	5	27.7
Cholestasis	1	5.5
Hepatomegaly	4	22.2
Splenomegaly	3	16.6
Hepatosplenomegali	3	16.6
Ascites	2	11.1
Rash	2	11.1

**Table 1.** Demographic and clinical characteristics of mothers of infants with congenital toxoplasmosis

	n=16	%
<b>Age, median (min-max)</b>	25 (19-37)	
<b>Raw meat consumption, n (%)</b>	5	31.2
<b>Animal exposures, n (%)</b>	5	31.2
<b>Gravida median (min-max)</b>	1 (1-4)	
<b>Abnormal fetal USG, n (%)</b>	5	31.2
<b>Toxo IgM positivity in pregnancy, n (%)</b>	7	43.7
<b>Flu-like symptom, n (%)</b>	3	18.7
<b>Time of diagnosis of <i>Toxoplasma</i> infection, n (%)</b>		
First trimester	3	18.7
Second trimester	0	0
Third trimester	4	25
Postnatal	9	56.2
<b>Spiramycin treatment, n (%)</b>	5	31.2

USG: Ultrasound



**Table 4.** Laboratory and cranial imaging findings in babies with congenital toxoplasmosis at the time of diagnosis

Data	
<b>White blood cell/<math>\mu</math>L</b> median, (min-max)	9775 (3000-15570)
Number of patients with high ALT	2 (11.1%)
Number of patients with high bilirubin	3 (16.6%)
Number of patients with cholestasis	2 (11.1%)
<b>Number of patients with <i>Toxoplasma</i> IgM positivity, n, (%)</b>	8 (44.4)
Toxo IgM value, median, (min-max)	0.39 (0.19-27.6)
<b>Number of patients with <i>Toxoplasma</i> IgG positivity n, (%)</b>	18 (100)
Toxo IgG value, median, (min-max)	650 (200-656)
<b>Cranial USG, n=16, (%)</b>	
Normal	7 (38.8)
Ventriculomegaly-hydrocephaly	6 (33.3%)
Intracranial calcification	3 (16.6%)
Increased echogenicity in basal ganglia	2 (11.1%)
<b>Cranial tomography, n=14, (%)</b>	
Normal	9 (50)
Intracranial calcification	5 (27.7%)
Serebral atrophy	2 (11.1%)
Hydrocephaly	5 (27.7%)
<b>Cranial MRI, n=7, (%)</b>	
Normal	5 (27.7)
Intracranial calcification	2 (11.1)
Hydrocephaly	2 (11.1)

MRI: Magnetic resonance imaging, ALT: Alanine transaminase, USG: Ultrasound

however there were 4 patients with hydrocephalus confirmed with cranial tomography 1 patient in cranial MRI during the follow-up. Intracranial calcification was present in 5 patients (27.7%) on cranial tomography.

Primetamine, sulfadiazine and folinic acid treatment was started in all diagnosed patients. Bactrim and clindamycin treatment was started in 2 patients until the drug was obtained. All patients were treated for 12 months, and 1 patient, who was 5 months old, was still under treatment. Steroid treatment was given patients with active chorioretinitis. In the follow-up period, one (5.5%) patient died at 36 months of age due to hydrocephalus and complications developed after ventriculoperitoneal shunt application.

The median follow-up period of babies diagnosed with congenital *Toxoplasma* was 6.3 years (minimum: 3 months-maximum: 12.6 years). In the follow-up, nystagmus developed in a patient with a history of previous ocular findings. Hearing tests of 4 patients were abnormal in the neonatal period, however confirmed hearing loss was diagnosed in 1 patient upon further examination. The second patient diagnosed with hearing loss complained of speech delay who had a normal newborn hearing screening test however developed hearing loss in the follow-up period. Hearing loss developed a total of two (11.1%) patients. During the follow-up, three (16.6%) patients developed seizures. Microcephaly occurred in two (11.1%) patients, and neurodevelopmental retardation was observed in seven (38.8%) patients, including severe mental retardation in two patients.

## DISCUSSION

Although a decrease in seropositivity for *T. gondii* has been reported in the past decades, it is estimated that one third of the world's population is infected with *T. gondii*. In a retrospective

study evaluating 1,037 pregnant women in 2022, *Toxoplasma* seroprevalence was reported as 52.6%, seroconversion rate as 3.4% and congenital infection rate as 0.2% (10).

In our study, it was determined that 314 pregnant women had toxo IgM positivity in a 12-year period and 18 babies were diagnosed with CT during this period. We consider that the number of babies with CT is higher because all of the pregnant women who were found to have seroconversion for *Toxoplasma* could not be followed up in our hospital and asymptomatic babies might not have been diagnosed during the follow-up.

Contact of pregnant women with oocysts excreted with feces of cats, ingestion of oocysts through food, and consumption of raw or undercooked meat and ingestion of bradyzoite forms are the most important ways of transmission of congenital *Toxoplasma*. Recipients can become infected by transfusion of blood and organs from donors infected with *T. gondii* (4,8). The high consumption of traditional food made with raw meat in our region increases the mother's exposure to toxoplasmosis. In our study, 31.2% of mothers of infants with congenital *Toxoplasma* had a history of eating uncooked or raw meat. In addition, 31.2% of the mothers had cat and animal contact.

Acute maternal infection is often (>50%) asymptomatic. Generally, there are flu-like findings such as mild fever, sweating, headache, myalgia, pharyngitis, which last 2-3 days in pregnant women. Hepatosplenomegaly, lymphadenopathy, and maculopapular rash may be present (4). In our study, 3 (18.75%) of the mothers had a flu-like finding in their pregnancy.

Although there are conflicting results that the use of spiramycin during pregnancy prevents the development of CT, today the recommendation to use spiramycin remains valid in the first 14 weeks when toxoplasma infection is detected in pregnant women. If there is a high risk for congenital *Toxoplasma* infection

after the 14<sup>th</sup> week, it is generally recommended to switch to the combination of pyrimethamine-sulfadiazine and folinic acid and to decide on the treatment according to the amniocentesis result at the 18<sup>th</sup> week (7,11).

In a European observational study of a cohort of 293 infected fetuses of whom two-thirds received prenatal treatment, prenatal treatment was estimated to reduce the risk of serious neurologic sequelae or death by three-quarters (odds ratio: 0.24, 95% confidence interval: 0.07-0.71). After maternal seroconversion at 10 weeks of gestation, the estimated absolute risk of serious neurologic sequelae or death in treated and untreated pregnancies was 25.7 and 60.0 percent, respectively (9). In congenital *Toxoplasma* infection, the development of infection in the first trimester causes severe sequelae and even intrauterine death, while the risk of transmission of *Toxoplasma* to the baby increases in the advancing gestational week, the risk of developing severe infection decreases. Detection of congenital infection in the early period and initiation of antiparasitic treatment during pregnancy, can prevent the severe complications that may develop (8,9).

Among our patients with CT spiramycin treatment was initiated in 31.5% (5 of 16) of the mothers. In our study, when the babies of pregnant women who received spiramycin were evaluated although three of five pregnant women were infected in the first trimester, only one baby had microphthalmia and the other babies did not have any organ involvement.

Intrauterine *Toxoplasma* infection has been associated with decreased gestational age. In the study of Freeman et al. (12), the prematurity rate in the babies of mothers with *Toxoplasma* infection during pregnancy was 25%, while this rate was 9% in babies of uninfected mothers. In our study, prematurity rate was 38.8%.

Approximately 10-30% of infants with congenital infection have clinical signs and symptoms at birth and in early infancy. Clinical findings vary according to the organ involved in the congenital infection. Chorioretinitis, intracranial calcification, and hydrocephalus, also known as the classical triad, is the most common finding in the diagnosis of CT (4,13).

In our study, 11 (61.1%) patients had clinical signs and symptoms at the time of diagnosis. Since our study is not a prospective study including the follow-up of pregnant women, we consider that asymptomatic and mild cases have not been fully determined. Similar to the literature, the most common presentation in patients diagnosed with CT was (55.5%) eye involvement, and 44.4% of the eye involvement was chorioretinitis. In addition hydrocephalus. Hepatomegaly, intracranial calcification was found in 27.7%, 22.2% and 27.7% of the patients respectively.

The eye is the most frequently involved organ in children with CT. In the 15-year follow-up of children with CT diagnosed in a national reference laboratory in the USA, chorioretinitis was reported in 92% of the infants. Chorioretinitis was the most common complication in the late period. The rate of development of new lesions in untreated children was reported in 90% of the patients (8,14).

In a study conducted in Brazil, 71.4% of the cases had chorioretinitis in early infancy, and the probability of developing new lesions in patients treated in the first two months of life, and the severity of the disease was lower than those treated after 4 months of life (15).

In our study, eye involvement was found in 55.5% of our patients in the early infancy period and chorioretinitis was found in 44.4%. Active lesion was present in 6 of the patients with chorioretinitis. Retinal scar was present in 7 of the patients with chorioretinitis, and 5 of these patients had scars in the macula. In this study, the median age of the patients was one month and the treatment was started within the first two months, of age in 15 babies. Among the patients with CT complicated with chorioretinitis no new lesions were observed during the follow-up.

In addition to chorioretinitis, patients may have involvement such as microphthalmia, macular atrophy, macular scar, cataract, and strabismus. Macular involvement has been reported in 54% of children with CT in North America (16). In our study, microphthalmia was occurred in 6 (33.3%) patients, macular atrophy and scarring in 5 (27%), and cataract in 2 (11.1%) patients. In the follow-up of period nystagmus developed in 1 (5.5%) patient. In view of the fact that chorioretinitis can develop up to time of adolescence, eye examination and follow-up were performed at regular intervals.

Congenital *Toxoplasma* is a known cause of hearing loss in infants. However, data related to its frequency and type of hearing loss are limited in the literature. It is recommended to perform the more sensitive auditory brainstem response (ABR) test instead of routine hearing tests in symptomatic newborns. Early diagnosis and appropriate treatment reduce its poor prognosis and rarely develop hearing loss (17). In a study which evaluated 24 children with CT hearing loss was identified in patients between 22 and 30% (18).

In a study in which 30 infants with CT were evaluated in the first two months of their lives, sensorineural hearing loss was not identified in the patients, but conductive hearing loss associated with otitis media was identified in 20% of the patients (19). In the evaluation of 106 infants with CT central hearing impairment was identified in 27.4% of the infants, conductive and sensorineural hearing loss was identified in 12.3% and 3.8% of the patients respectively (20). In our study, a total of 2 (11.1%) patients were identified to have hearing loss one of the patient developed hearing loss after birth during follow-up period. The exact ratio of the number of patients with hearing loss is not known, as routine ABR testing was not performed on the patients in our study.

The incidence of hydrocephalus has been reported between 30 and 68% in infants with CT.

In a study conducted in 120 infants with CT, 96 of whom had severe clinical findings it was reported that intracranial calcification with hydrocephalus was detected at a rate of 50% hydrocephalus can develops more likely in untreated patients with CT (21). In our study, hydrocephalus occurred in 5 (27.7%) patients, ventriculoperitoneal shunt was placed in three patients and one patient died due to ventriculoperitoneal shunt complication.

In our study, microcephaly observed in 1 patient at the time of diagnosis, and microcephaly developed in 2 more patients during the follow-up, and microcephaly was detected in total of 3 (16.6%) patients. In the literature, the incidence of microcephaly in infants with CT has been reported to be 15% (8).

It has been reported that 20% of children with CT may develop seizures, 30-35% hepatosplenomegaly, 25% rash and 60% jaundice (21). In our study, seizures reported in total of 5 (27.7%) patients, 2 (11.1%) patients at the diagnosis and 3 patients developed during follow-up period, 4 patients (22.2%) developed hepatomegaly and 3 patients (16.6%) hepatosplenomegaly, 2

(11.1%) patients developed rash in the neonatal period and 5 (27.7%) patients developed jaundice. Cholestasis was determined in 2 (11.1%) patients who jaundice.

The diagnosis of CT is based on the mother's history and serology of toxoplasmosis during pregnancy, the infant's *Toxoplasma* serology and clinical features. Toxo IgM antibodies can be detected about 1 week after infection and remain elevated for several months or years. Congenital and acquired acute *Toxoplasma* infections can be diagnosed with the detection of IgM antibodies of *T. gondii*. Negative IgM antibody may be present in 20-50% of patients with CT. Negative IgM antibody was reported more frequently in patients whose mothers received treatment before delivery. *Toxoplasma* IgG antibodies are usually detected 1-2 weeks after infection, reach their highest value within 1-2 months, and usually remain at a certain level for life (8). In newborns CT is mostly asymptomatic. It is hard to make a diagnosis without information on maternal serologic profile. Positive IgG and negative IgM antibodies in the first and second trimesters represents that the infection was acquired before the current pregnancy. If the initial testing is done in the third trimester, a negative IgM result will not rule out an infection acquired early in pregnancy (8). For the proper diagnosis of CT it is essential to determine paired control of antibodies both maternal and neonatal sera. IgG antibodies in infants up to one year or their increase in the first months, lead to diagnosis of CT. In our study, 8 (44.4%) of the babies had positive *Toxoplasma* IgM antibody at the time of initial diagnosis, and 18 (100) patients had positive IgG antibody.

In the diagnosis of CT, the evaluation of the avidity values of anti-*T. gondii* antibodies in conjunction with IgG and IgM antibodies in the first trimester of pregnancy can assist in distinguishing between past and recent infections. Depending on the method used, an individual with a high avidity value is presumed to have acquired the infection at least 3-5 months ago, while a low avidity value is considered indicative of a recent infection (4,7,8). In our study, the *Toxoplasma* avidity results were available for mothers of 9 (50%) CT infants, with 4% (44.4%) showing high avidity and 5% (55.5%) showing low avidity. Due to the examination of mothers at different trimesters and even postpartum in our study, the role of avidity in diagnosis was limited. However, avidity results indicate that all these mothers likely experienced *Toxoplasma* infection during pregnancy.

Lumbar puncture and cranial imaging are recommended in patients with clinically suspected CT. In the CSF examination, increase in bos protein, lymphocytes and monocytes count may be present in severe cases, CSF protein may be >1 gram. Positive *Toxoplasma* PCR can be detected (4). In our study, lumbar puncture was performed in 8 patients. Median CSF protein was 309 mg/dL. *Toxoplasma* PCR was negative in 4 patients.

While hydrocephalus and ventriculomegaly can be evaluated with cranial USG, calcification, focal brain lesions can be evaluated more sensitively with cranial tomography cranial MRI is also a sensitive imagine method in the diagnosis of CT however as a disadvantage it requires anesthesia. Intracranial calcification was reported in 50-85%, hydrocephalus in 30-68% of the patients with CT (8,21). In our study, hydrocephalus was determined in 5 (27.7%) of our patients and intracranial calcification was found in other 5 (27.7%) of our patients.

It is recommended to use a combination of pyrimethamine, sulfadiazine and folinic acid for 12 months in the treatment of CT.

It has been reported that severe sequelae that may develop with early treatment can be prevented (16). The prognosis is generally poor in infants with obvious signs at birth. In the follow-up of 156 untreated infants with CT, 152 of whom had obvious signs, the reported mortality rate was 12%, mental retardation was 93%, seizure development was 81%, severe visual impairment (60%), hydrocephalus or microcephaly (33%), and deafness was 15%. In children with subclinical infection, sequelae may develop in the follow-up. However, there is insufficient data on the frequency and severity of these sequelae (23).

In our study, all patients diagnosed with congenital *Toxoplasma* received treatment consisting of pyrimethamine, sulfadiazine, and folinic acid. Two patients were treated with bactrim and clindamycin until the drug was obtained. In our study, the mortality rate of the patients in 12 years was 5.5%, the incidence of chorioretinitis-retinal scar was 44%, mental retardation was 38.8%, seizures was 27.7%, the rate of microcephaly development was 16.6%, and the rate of hearing loss was 11.1%.

## CONCLUSION

Our investigation highlighted that the majority of congenital *Toxoplasma* cases were diagnosed post-pregnancy and during the third trimester. Beyond the initial severe impacts, infants with CT exhibited subsequent complications, including vision and hearing disorders, along with enduring severe mental effects during follow-ups. To effectively prevent congenital *Toxoplasma* infection, it is crucial to prioritize early diagnosis and treatment for infants, detect *Toxoplasma* infection during pregnancy, and ensure timely and appropriate treatment for pregnant women.

### \* Ethics

**Ethics Committee Approval:** On February 4, 2023, at the 130<sup>th</sup> meeting of the Cukurova University Faculty of Medicine Ethics Committee, ethical approval was obtained for this study.

**Informed Consent:** Retrospective study.

### \* Authorship Contributions

Concept: O.O.G., Z.H., E.E., D.A., U.C., F.O., F.K., S.C., Design: O.O.G., Z.H., E.E., D.A., U.C., F.O., F.K., S.C., Data Collection or Processing: O.O.G., Z.H., E.E., D.A., U.C., F.O., F.K., S.C., Analysis or Interpretation: O.O.G., Z.H., E.E., D.A., U.C., F.O., F.K., S.C., Literature Search: O.O.G., E.E., Writing: O.O.G., Z.H.

**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

- Berger F, Goulet V, Le Strat Y, Desenclos JC. Toxoplasmosis among pregnant women in France: risk factors and change of prevalence between 1995 and 2003. *Rev Epidemiol Sante Publique* 2009; 57: 241-8.
- Malatyalı E, Yıldız İ, Tileklioğlu E, Ertabaklar H, Ertuğ S. Retrospective Analysis of *Toxoplasma gondii* Serology Results from Adnan Menderes University Faculty of Medicine Parasitology Laboratory from 2007 to 2017. *Turkiye Parazitoloj Derg* 2019; 43: 1-4.
- Varlı C, Türköz İ, Aydemir S, Emre S, Şimşek F, Yıldırım MT. Toksoplazmoz. *Okmeydanı Tıp Dergisi* 2016; 32: 24-8.
- American Academy of Pediatrics. *Toxoplasma gondii* Infections. In: Red Book: 2021-2024 Report of The Committee on Infectious Diseases, 32nd



- ed, Kimberling DW, Barnett ED, Lynfield R, Sawyer MH (eds), American Academy of Pediatrics, Itasca, IL 2021, p. 767-75.
5. Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckham C, Gilbert R. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. *Lancet* 1999; 353: 1829-33.
  6. Wallon M, Peyron F, Cornu C, Vinault S, Abrahamowicz M, Kopp CB, et al. Congenital toxoplasma infection: monthly prenatal screening decreases transmission rate and improves clinical outcome at age 3 years. *Clin Infect Dis* 2013; 56: 1223-31.
  7. Peyron F, Lollivier C, Mandelbrot L, Wallon M, Piarroux R, Kieffer F, et al. Maternal and Congenital Toxoplasmosis: Diagnosis and Treatment Recommendations of a French Multidisciplinary Working Group. *Pathogens* 2019; 8: 24.
  8. Maldonado YA, Read JS; Committee On Infectious Diseases. Diagnosis, Treatment, and Prevention of Congenital Toxoplasmosis in the United States. *Pediatrics* 2017; 139: e20163860.
  9. Cortina-Borja M, Tan HK, Wallon M, Paul M, Prusa A, Buffolano W, et al. Prenatal treatment for serious neurological sequelae of congenital toxoplasmosis: an observational prospective cohort study. *PLoS Medicine* 2010; 7: 1-11.
  10. Dambrun M, Dechavanne C, Guigue N, Briand V, Candau T, Fievet N, et al. Retrospective study of toxoplasmosis prevalence in pregnant women in Benin and its relation with malaria. *PLoS One* 2022; 17: e0262018.
  11. SYROCOT (Systematic Review on Congenital Toxoplasmosis) study group; Thiébaud R, Leproust S, Chêne G, Gilbert R. Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients' data. *Lancet* 2007; 13: 115-22.
  12. Freeman K, Oakley L, Pollak A, Buffolano W, Petersen E, Semprini AE, Salt A, Gilbert R; European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis. Association between congenital toxoplasmosis and preterm birth, low birthweight and small for gestational age birth. *BJOG* 2005; 112: 31-7.
  13. Couvreur J, Desmonts G, Tournier G, Szusterkac M. A homogeneous series of 210 cases of congenital toxoplasmosis in 0 to 11-month-old infants detected prospectively. *Ann Pediatr (Paris)* 1984; 31: 815-9.
  14. Koppe JG, Loewer-Sieger DH, de Roeve-Bonnet H. Results of 20-year follow-up of congenital toxoplasmosis. *Lancet* 1986; 1: 254-6.
  15. Lago EG, Endres MM, Scheeren MFDC, Fiori HH. Ocular Outcome of Brazilian Patients With Congenital Toxoplasmosis. *Pediatr Infect Dis J* 2021; 40: 21-7.
  16. McAuley J, Boyer KM, Patel D, Mets M, Swisher C, Roizen N, et al. Early and longitudinal evaluations of treated infants and children and untreated historical patients with congenital toxoplasmosis: the Chicago Collaborative Treatment Trial. *Clin Infect Dis* 1994; 18: 38-72.
  17. Corrêa CC, Maximino LP, Weber SAT. Hearing Disorders in Congenital Toxoplasmosis: A Literature Review. *Int Arch Otorhinolaryngol* 2018; 22: 330-3.
  18. Wilson CB, Remington JS, Stagno S, Reynolds DW. Development of adverse sequelae in children born with subclinical congenital Toxoplasma infection. *Pediatrics* 1980; 66: 767-74.
  19. McGee T, Wolters C, Stein L, Kraus N, Johnson D, Boyer K, et al. Absence of sensorineural hearing loss in treated infants and children with congenital toxoplasmosis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1992; 106: 75-80.
  20. Resende LM, Andrade GMQ, Azevedo MF, Perissinoto J, Vieira ABC. Congenital toxoplasmosis: Auditory and language outcomes in early diagnosed and treated children. *Sci Med (Porto Alegre)* 2010; 20: 13-9.
  21. McLeod R, Boyer K, Karrison T, Kasza K, Swisher C, Roizen N, et al. Toxoplasmosis Study Group. Outcome of treatment for congenital toxoplasmosis, 1981-2004: the National Collaborative Chicago-Based, Congenital Toxoplasmosis Study. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 1383-94.
  22. Hutson SL, Wheeler KM, McLone D, Frim D, Penn R, Swisher CN, et al. Patterns of Hydrocephalus Caused by Congenital *Toxoplasma gondii* Infection Associate With Parasite Genetics. *Clin Infect Dis* 2015; 61: 1831-4.
  23. Eichenwald HF. A study of congenital toxoplasmosis with particular emphasis on clinical manifestations, sequelae and therapy. In: Human Toxoplasmosis, Siim JC (Ed), Munksgaard, Copenhagen; 1959.

# Are Thermotolerant and Osmotolerant Characteristics of *Acanthamoeba* Species an Indicator of Pathogenicity?

## *Acanthamoeba* Türlerinin Termotolerant ve Osmotolerant Özellikleri Patojenite Göstergesi midir?

© Merve Kahraman<sup>1</sup>, © Zübeyda Akın Polat<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kırşehir Ahi Evran University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Kırşehir, Türkiye

<sup>2</sup>Sivas Cumhuriyet University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Sivas, Türkiye

Cite this article as: Kahraman M, Akın Polat Z. Are Thermotolerant and Osmotolerant Characteristics of *Acanthamoeba* Species an Indicator of Pathogenicity?. Türkiye Parazitoloj Derg 2024;48(1):15-20.

### ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study was to evaluate the pathogenicity of *Acanthamoeba* strains with T4, T5, T11, and T12 genotypes by comparing the osmotolerance and thermotolerance characteristics of *Acanthamoeba* strains isolated from genotype groups, within species with the same genotype, and from environmental and keratitis cases.

**Methods:** In this study, after axenic cultures of 22 *Acanthamoeba* strains with T4 (Neff, A, B, D, E), T5, T11, and T12 genotypes isolated from clinical and environmental samples, thermotolerance (37 °C, 39 °C and 41 °C) and osmotolerance (0.5 M, 1 M) tests were performed.

**Results:** All strains showed growth ability at 37 °C and 0.5 M osmolarity. While all five strains isolated from patients with *Acanthamoeba* keratitis showed growth ability at 37 °C and 0.5 M osmolarity, no growth was detected at 41 °C and 1 M osmolarity. When the tolerance characteristics of the strains with the same genotype were evaluated, the strains with the T5 and T4E genotypes showed the same characteristics. When *Acanthamoeba* strains with the T4 genotype were evaluated in general, 31.25% of the strains were found to grow at 39 °C and 6.25% at 41 °C. Of the T4Neff strains, only one strain did not show the ability to reproduce at 39 °C and showed a different feature from the other strains. While the strain with the T11 genotype grew at all temperatures, the strain with the T12 genotype did not grow at 41 °C.

**Conclusion:** According to our research results, we believe that tolerance to 39 °C and 1 M mannitol is not an indicator of pathogenicity. More studies with *Acanthamoeba* strains are required to clarify this issue.

**Keywords:** *Acanthamoeba*, osmotolerance, thermotolerance, genotype, pathogen

### ÖZ

**Amaç:** T4, T5, T11 ve T12 genotipine sahip *Acanthamoeba* suşlarında genotip grupları arasında, aynı genotipe sahip türler içerisinde ve çevresel ve keratit olgularından izole edilen *Acanthamoeba* suşlarının osmotolerans ve termotolerans özelliklerini karşılaştırarak patojenlikle ilişkisini değerlendirmektir.

**Yöntemler:** Bu çalışmada, klinik ve çevresel örneklerden izole edilmiş T4 (Neff, A, B, D, E), T5, T11 ve T12 genotipine sahip 22 tane *Acanthamoeba* suşunun aksenik kültürleri yapıldıktan sonra termotolerans (37 °C, 39 °C ve 41 °C) ve osmotolerans (0,5 M, 1 M) testleri yapılmıştır.

**Bulgular:** Bütün suşlar 37 °C ve 0,5 M osmolaritede üreme yeteneği göstermiştir. *Acanthamoeba* keratitli hastalardan izole edilen beş suşun tamamı 37 °C'de ve 0,5 M osmolaritede üreme yeteneği gösterirken, 41 °C ve 1 M osmolaritede üreme saptanmamıştır. Aynı genotipe sahip suşların tolerans özellikleri değerlendirildiğinde T5 ve T4E genotipine sahip suşlar aynı özellikte bir durum sergilemiştir. T4 genotipine sahip *Acanthamoeba* suşları genel olarak değerlendirildiğinde 39 °C'de suşların %31,25, 41 °C'de %6,25 suşta üreme saptandı. T4Neff suşlarından sadece bir suş 39 °C'de üreme yeteneği göstermeyerek gruptan ayrı bir özellik göstermiştir. T11 genotipine suş bütün ısı derecelerinde ürerken, T12 genotipine sahip 41 °C'de ürememiştir.

**Sonuç:** Araştırma sonuçlarımıza göre özellikle 39 °C ve 1 M mannitol toleransın patojenlik göstergesi olmadığı kanısındayız. Bu konunun açıklığa kavuşabilmesi için daha çok *Acanthamoeba* suşu ile çalışmaya ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** *Acanthamoeba*, osmotolerans, termotolerans, genotip, patojen



Received/Geliş Tarihi: 06.04.2023 Accepted/Kabul Tarihi: 08.01.2024

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Merve Kahraman, Kırşehir Ahi Evran University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Kırşehir, Türkiye

Phone/Tel: +90 544 942 08 18 E-mail/E-Posta: mervekahraman23@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0001-7942-9595



©Copyright 2024 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.



## INTRODUCTION

Species in the genus *Acanthamoeba*, an amoeba, can live in natural ecosystems such as soil, freshwater resources and seas, as well as in artificial areas such as pools, ventilation systems, operating rooms. Simultaneously, it has also been isolated from contact lenses, lens cases, and solutions (1,2). These opportunistic pathogens can cause *Acanthamoeba* keratitis (AK), granulomatous amoebic encephalitis (GAE), *Acanthamoeba* pneumonia, and cutaneous acanthamoebiasis (3). The global incidence rate of AK cases continues to increase and is associated with contact lens wear as a major factor (4,5). Different strains of *Acanthamoeba* spp. cause amoebic encephalitis, which causes fatal brain damage in immunocompromised individuals (3,6). Simultaneously, *Acanthamoeba* species act as endosymbionts for viruses, yeasts, protists, and bacteria that are highly virulence and antibiotic resistant (7).

In the life cycle of *Acanthamoeba* spp., there is a trophozoite form that actively feeds, grows, multiplies and moves, and a cyst form, which is more resistant to external environmental conditions (1,8,9). In the trophozoite form, they can survive if the temperature and pH are suitable and the food is sufficient (7). However, in the absence of these factors, it turns into a double-walled cyst consisting of an endocyst and ectocyst. Cysts resistant to harsh conditions can survive for a long-time and are antibiotics-resistant, chlorine, and disinfectants (10). When the conditions are favorable again, it can return to the trophozoite stage with excystation (11).

The genus *Acanthamoeba* has been named as more than 20 species, consisting of three different groups based on features of cyst morphology (12). However, it is very difficult to differentiate *Acanthamoeba* species at the species level using morphological criteria (1). To overcome this problem, in parallel with the developments in molecular biology and bioinformatics, a new solution proposal has been developed using the *18S ribosomal RNA* gene (*18S rRNA*) sequence (13). In this approach, called the genotype system, strains with a total of less than 5% differences in the partial sequence of the *18S rRNA* gene were collected under a single genotype (2). In this method, known as the genetic approach, only the amount of total difference or similarity is evaluated (14). As a result, although it is divided into three groups morphologically, it has been divided into 23 genotypes called T1-T23, until today, by using molecular methods (15,16). AK is predominantly caused by genotype T4 (17,18). In this genotype, it consists of T4A, T4B, T4C, T4D, T4E, T4F, and T4Neff subgroups according to the defined sequence characteristics (2).

In the genus *Acanthamoeba*, both the ability to reproduce at high salt concentrations where amoebae in tear fluid can survive and body physiological temperatures may also be important factors in pathogenicity (19). In studies, positive *Acanthamoeba* strains that reproduced in thermotolerance and osmotolerance experiments isolated from environmental and clinical specimens were accepted as potentially pathogenic species (20). Studies have suggested that *Acanthamoeba* strains, which are in the same genotype groups and isolated from various sources, show different osmotolarity and thermotolarity, thus showing different pathogenic potentials (9,19,21-27). There is no study comparing both *Acanthamoeba* genotypes and pathogen and environmental isolates in terms of osmotolerance and thermotolerance in studies on strains generally isolated from environmental sources. The aim of this study was to

compare the osmotolerance and thermotolerance characteristics of *Acanthamoeba* strains with T4 (Neff, A, B, D, E), T5, T11, and T12 genotypes both between genotype groups and within species with the same genotype, and to compare environmental and keratitis cases and to compare the osmotolerance and thermotolerance characteristics of isolated *Acanthamoeba* strains and evaluate their relationship with pathogenicity.

## METHODS

### 1. *Acanthamoeba* Strains and Culture

In the study, 22 strains of *Acanthamoeba* with T4A, T4B, T4D, T4E, T4Neff, T5, T11 and T12 genotypes isolated from various sources such as soil, water sources, the mouse brain, cornea, contact lens case containers were used (Table 1). While 5SU, 9GU, 3ST, 1BU, 2HH, 11DS, 72/2, Pat06, Z009, and BUD9 of these strains were obtained from Julia Walochnick, SVS12, SVS6, SVS11, SVS16, SVS3, SVS5, SVS7, SVS8, SVS10, X2, 4A, and Ac strains were isolated from various water sources and soil from Sivas/Türkiye and genotyped.

*Acanthamoeba* species used in the study were grown monoxenically on 1.5-2% non-nutritive agar (BDOA) plates smeared with heat-killed *Escherichia coli*. After ensuring monoxenic growth of all strains, axenic culture was performed. PPYG medium [0.75% (wt/vol)] protease peptone, 0.75% (wt/vol) yeast extract, and 1.5% (wt/vol) glucose was used for axenic culture. After the axenically produced *Acanthamoeba* trophozoites were washed twice in sterile phosphate buffered saline solution, counted with a

**Table 1.** Amoeba strains, genotypes, isolation sources used in the study

	Genotype	Strain name	Isolation
1.	T4A	5SU	Contact lens case (38)
2.	T4A	SVS12	Water
3.	T4A	9GU	Contact lens case (31)
4.	T4B	3ST	Keratitis patient, cornea (38)
5.	T4B	1BU	Keratitis patient, cornea (38)
6.	T4D	SVS6	Water
7.	T4D	SVS11	Water
8.	T4D	SVS16	Water
9.	T4E	2HH	Keratitis patient, cornea (38)
10.	T4E	11DS	Keratitis patient, cornea (31)
11.	T4Neff	SVS3	Water
12.	T4Neff	SVS5	Water
13.	T4Neff	SVS7	Water
14.	T4Neff	SVS8	Water
15.	T4Neff	SVS10	Water
16.	T4Neff	X2	Water
17.	T5	72/2	Mouse brain (21)
18.	T5	Pat06	Keratitis patient, cornea (21)
19.	T5	4A	Soil
20.	T5	Ac	Soil
21.	T11	Z009	Anaconda tissue (21)
22.	T12	BUD9	Hot tub (21)

thoma slide, counting as  $1 \times 10^5$  amoebae/mL (99% trophozoites) and used for tolerance tests.

## 2. Tolerance Assays

### Thermotolerance assay

10  $\mu$ L (103 amoeba) of amoeba suspensions prepared from axenic cultures were inoculated into the BDOA center on which *E. coli* was smeared, and the plates were incubated in 37 °C, 39 °C and 41 °C ovens. Amoeba growth was followed under the inverted microscope and at 10<sup>th</sup> day, strains with and without growth were evaluated as positive (+) and negative (-), respectively. Positive results were considered to be thermotolerance. Experiments were performed in four repetitions.

### Osmotolerance assay

Inoculating 10  $\mu$ L (103 amoeba) of amoeba suspensions prepared in the center of 1.5-2% BDOA plates containing 0.5 M and 1 M mannitol, on which *E. coli* was applied, were incubated at 25 °C. Amoeba growth was monitored 10 days later under an inverted microscope, and strains with and without growth ability were evaluated as positive (+) and negative (-), respectively. Positive results were considered as osmotolerance. Experiments were performed in four repetitions.

### Statistical Analysis

No statistical analysis was required in the study.

## RESULTS

Tolerance tests were performed on 22 strains of T4 (T4A, T4B, T4D, T4Neff), T5, T11, and T12 genotypes isolated from clinical and environmental samples. Of these isolates, 22.72% (5/22) were from keratitis cases, 45.45% (10/22) from water samples, 9.09% (2/22) from contact lens case, 4.5% (1/22) from anaconda tissue, 4.5% (1/22) from mouse brain, 4.5% (1/22) from a hot tub, 9.09% (2/22) from soil isolated. T4 genotype was dominant in 72.72% (16/22) of the samples, and 4 of the samples in the subgroups of this genotype were clinical and 12 were environmental samples.

All strains in T4 (T4A, T4B, T4D, T4Neff), T5, T11, and T12 genotypes showed growth ability in both at 37 °C and 0.5 M osmolarity. While growth was observed in 72.72% (16/22) of the isolates at 39 °C, only 9% (2/22) of the isolates grew at 41 °C and showed high thermotolerance. In the osmotolerance test, 40.9% (9/22) showed strong osmotolerance properties by growing in 1 M mannitol (Table 2).

Tolerance tests were applied to 5 strains (3ST, 1BU, 2HH, 11DS, Pat06) isolated from patients with AK. As all of these strains showed growth ability at 37 °C and 0.5 M osmolarity, but no growth was detected at 41 °C and 1 M osmolarity. Two of these strains (1BU, Pat06) showed growth ability at 39 °C (Table 2).

When the osmotolerance and thermotolerance characteristics of the strains with the same genotype were evaluated, the strains with the T5 and T4E genotypes exhibited the same characteristics.

When *Acanthamoeba* strains with the T4 genotype were evaluated in general, 31.25% (5/16) of the strains grew at 39 °C, while growth was found in 6.25% (1/16) of the strains at 41 °C. Of the T4Neff strains isolated from environmental samples, because of only one strain (SVS3) did not show the ability to grow at 39 °C, showed a different characteristic from the group (Table 2).

While the Z009 strain with the T11 genotype grew at all temperatures, the BUD9 strain with the T12 genotype did not grow at 41 °C. These two strains could grow in 0.5 M mannitol but not in 1 M mannitol (Table 2).

## DISCUSSION

*Acanthamoeba* species are isolated from many sources and are free-living amoebae, commonly in soil and water. Disease-causing potentials of these amoebae, which are widely found in nature and have many species, are being investigated *in vitro* and *in vivo*, but there is no definitive method on this subject. The thermotolerance and osmotolerance properties of amoebae are used to determine the potential pathogenicity of these amoeba (25,27). According to these studies, it is thought that for an amoeba to be considered as potentially pathogenic, it must exhibit thermotolerant and osmotolerant properties, as well as various factors. Demonstrating thermotolerant properties, resisting high temperatures, and exhibiting osmotolerance in the same way means resisting high concentration osmolarity. Since these features show the behavior of the amoeba under stressful conditions, they are considered as findings pointing to the pathogen effect (25).

In this study, two different tolerance experiments were applied to 22 different strains as those that tolerate different temperatures (thermotolerants) and different concentrations of mannitol (osmotolerants). Subgroups of the T4 genotype, most isolated from environmental sources, and all strains in the T5, T11, and T12 genotypes grew at 37 °C and 0.5 M mannitol. A few strains

**Table 2.** Thermotolerance and osmotolerance test results of *Acanthamoeba* strains

	Genotype	Strain name	37 °C	39 °C	41 °C	0.5 M	1 M
1.	T4A	5SU	+	-	-	+	-
2.	T4A	SVS12	+	+	-	+	+
3.	T4A	9GU	+	-	-	+	+
4.	T4B	3ST	+	-	-	+	-
5.	T4B	1BU	+	+	-	+	-
6.	T4D	SVS6	+	+	-	+	-
7.	T4D	SVS11	+	+	-	+	+
8.	T4D	SVS16	+	+	+	+	-
9.	T4E	2HH	+	-	-	+	-
10.	T4E	11DS	+	-	-	+	-
11.	T4Neff	SVS3	+	-	-	+	+
12.	T4Neff	SVS5	+	+	-	+	+
13.	T4Neff	SVS7	+	+	-	+	+
14.	T4Neff	SVS8	+	+	-	+	+
15.	T4Neff	SVS10	+	+	-	+	+
16.	T4Neff	X2	+	+	-	+	+
17.	T5	72/2	+	+	-	+	-
18.	T5	Pat06	+	+	-	+	-
19.	T5	4A	+	+	-	+	-
20.	T5	Ac	+	+	-	+	-
21.	T11	Z009	+	+	+	+	-
22.	T12	BUD9	+	+	-	+	-

grew at 39 °C and 1 M mannitol, only two strains were observed to grow at 41 °C. In previous studies, for tolerance tests applied to *Acanthamoeba* strains, those that tolerate 37-41 °C temperature and 0.5 M-1 M mannitol were accepted as potential pathogenic species (9,20). In a different study, it was reported that all the strains isolated from the soil in South Florida grew at 37 °C (19). Booton et al. (19) in 2004 showed that 22.2% of the strains isolated from tap water in Cairo, Egypt were osmotolerant and 50% thermotolerant, but these rates reached 15.2% and 58% in the Delta region (28). In different studies, it has been shown that 66% of the strains isolated from the soil in Ankara, Türkiye are both osmotolerant and thermotolerant (29). This inconsistency in the results of all tolerance studies is thought to be related to the fact that different *Acanthamoeba* species isolated from various sources from each study may have different physiological characteristics. Additionally, although there are many studies on tolerance tests, there is no study comparing the osmotolerance and thermotolerance characteristics of *Acanthamoeba* strains with T4 (Neff, A, B, D, E), T5, T11, and T12 genotypes, both between genotype groups and within species with the same genotype.

It is thought that the *in vitro* growth of *Acanthamoeba* samples may be associated with virulence, partially under high temperature and osmotic stress. Because the virulence of an isolate is relatively related to its ability to adapt to and survive the tissues of the mammalian host (8). It is thought that *in vivo* experiments are needed to determine the pathogenic potential of samples isolated from environmental sources (30). Simultaneously, a higher ambient temperature is thought to increase the growth of the thermotolerant *Acanthamoeba* (30). It has been suggested that these tolerant strains have evolved through natural selection to adapt to heat stress in their niche (30).

For an amoeba to be considered potentially pathogenic, it must exhibit thermotolerant and osmotolerant properties, among several factors. Because these features show the behavior of the amoeba under stressful conditions (25). It has been reported that the growth of *Acanthamoeba* at 37 °C and above is evidence of its pathogenic potential (25). It is known that the strains that can cause AK can grow at 37 °C because the temperature of the human eye is 34 °C on average (31). Since all strains in the thermotolerance experiments in this study grew at 37 °C, they may cause AK. Two of the five *Acanthamoeba* isolates isolated from keratitis cases were higher temperature thermotolerant, whereas the other three isolates were less thermotolerant and osmotolerant. Ledee et al. (32) suggested that this may be due to the exposure of keratitis cornea samples to drugs that may alter physiological properties. Since the human body temperature is 37 °C in GAE infection, it has been widely accepted that thermotolerance is a prerequisite for pathogenicity (31). In the study by Pumidonming et al. (21), it was emphasized that strains that did not grow at this temperature most likely did not cause disease, and even did not cause infection in strains that reproduced.

The T4 genotype is the most common genotype in both keratitis and central nervous system infections (23). Potential pathogenicity may be in question in this genotype since both in this study and in the cases where *Acanthamoeba* infections, which are the most common in the world and more than 90% of isolated cases, gave positive results in tolerance tests (16,23). In the literature, it has been supported by these studies that T4 strains, which have a very high growth rate at 37-42 °C and 1 M mannitol, reproduce both in clinical and environmental sources (21-24,30).

Although not directly related to pathogenicity, the thermotolerant properties of the genus *Acanthamoeba* can reproduce at 37 °C or higher for some clinical specimens (16). However, as a result of this research, T4D (SVS16) and T11 (Z009) genotypes obtained from environmental sources showed reproduction at high temperature. While all subgroups of the T4 genotype were grown in 0.5 M mannitol, only 56.25% (9/16) of them were grown in 1 M mannitol. Its tolerant state at 0.5 M mannitol is the result of its growth in both environmental and clinical strains. However, the most important finding in this study was that there was no growth in 1 M mannitol in the T4B and T4E genotypes. The strains in these two subgenotypes could not tolerate 1 M mannitol as they were isolated from keratitis cases. Simultaneously, since there are no tolerance experiments for subgroups of the T4 genotype in the literature, this study will shed light on the studies to be done on this subject.

The T5 genotype is the second most common genotype after the T4 genotype (33). This genotype has been isolated from both environmental and clinical cases (7,34). Of the four isolates of the T5 genotype in this study, only one was isolated from the clinical case. It has been shown in the literature that T5 isolates can grow at high temperatures (19,21,26). In the studies, none of the strains that were thermotolerant at 40 °C could tolerate 1 M mannitol (21). In this study, these strains of both clinical and environmental origin could grow up to a maximum of 39 °C and 0.5 M mannitol in tolerance experiments. Additionally, the 72/2 strain isolated from the T5 genotype mouse brain is the same as the strain used in the study by Walochnik et al. (21,31). The 72/2 strain exhibited thermotolerant properties up to 42 °C in thermotolerance experiments (21,31). However, in the thermotolerance tests in this study conducted in 2022, the 72/2 strain tolerated a maximum temperature of 39 °C. In the study by Pumidonming et al. (21), in 2010, it was reported that a decrease in the pathogenicity of *Acanthamoeba* strains maintained in long-term axenic cultures was observed. One of the important findings in this study is to support the view that pathogenicity is weakened by the decrease in thermotolerance tests of the same strain after 22 years.

The T11 genotype is among the genotypes found both in environmental sources and considered as causative agents of keratitis (19,21). It has been reported that strains with this genotype can grow at 37-40 °C and tolerate 0.5 M mannitol (19,26,27,35). Additionally, Hajialilo et al. (35) showed that strains with the T11 genotype did not grow at 37 °C and 0.5 M mannitol, while Possamai et al. (26) showed that they tolerated 1 M mannitol. In our study, only one isolate of the T11 genotype was used, and this strain was isolated from an environmental source. This isolate could tolerate all temperatures, but only 0.5 M mannitol in osmotolerance experiments.

Because the T12 genotype is the genotype that causes encephalitis in humans, it is more common in clinical cases, while its environmental niche is unknown (16,34,36). Simultaneously, this genotype, which has the most different genotype, is known to be quite lethal (36,37). In the literature, a thermotolerance test was applied to this genotype on a strain isolated from a keratitis case, and it was determined that it could reproduce at 42 °C (18). In our study, it showed growth ability at 37 °C and 39 °C and 0.5 M mannitol in tolerance tests performed on a single and environmental strain. Compared to the study by Satitpitakul et al. (18), the clinical strain showed very high growth



in thermotolerance tests, indicating that different results were obtained with the growth of the environmental isolate in this study at a lower temperature. Additionally, thermotolerance tests for the T12 genotype are quite limited in the literature. To the best of our knowledge, this is the first study to apply osmotolerance tests.

## CONCLUSION

The temperatures used in the thermotolerance tests in this study were 37 °C, 39 °C, and 41 °C, respectively, and the concentrations used in the osmotolerance tests were 0.5 M and 1 M mannitol. According to the results of tolerance studies in the literature, for *Acanthamoeba* to be considered a potential pathogenic species, it must be able to tolerate both these high temperatures and high mannitol concentrations. However, in our study, three of the four strains (3/4) in T4B and T4E genotypes isolated from keratitis cases had no growth at both 39 °C-41 °C and 1 M mannitol, we think the classification as insignificant according to high temperature and high mannitol concentrations for researchers to associate these studies with pathogenicity.

**\*Information:** It is an article produced from the Master's Thesis of Merve Kahraman at Sivas Cumhuriyet University, Institute of Health Sciences, Department of Medical Parasitology.

**\*Acknowledgments:** The authors thank Julia Walochnik, Department of Medical Parasitology, Clinical Institute of Hygiene, University of Vienna, Vienna, Austria, for providing *Acanthamoeba* strains.

### \* Ethics

**Ethics Committee Approval:** Not applicable. The five strains of AK isolated are those sold in the ATCC culture collection. Ethics committee and patient approval were not required as it was not isolated from AK patients.

**Informed Consent:** Informed consent were not required as it was not isolated from AK patients.

### \* Authorship Contributions

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

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

**Financial Disclosure:** This study was supported by the Scientific Research Project Fund of Sivas Cumhuriyet University under the project number T-938.

## REFERENCES

- Marciano-Cabral F, Cabral G. *Acanthamoeba* spp. as agents of disease in humans. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 273-307.
- Fuerst PA, Booton GC. Species, Sequence Types and Alleles: Dissecting Genetic Variation in *Acanthamoeba*. *Pathogens* 2020; 9: 534.
- Kot K, Łanocha-Arendarczyk N, Kosik-Bogacka D. Immunopathogenicity of *Acanthamoeba* spp. in the Brain and Lungs. *Int J Mol Sci* 2021; 22: 1261.
- Walochnik J, Duchêne M, Eibl H, Aspöck H. Die Behandlung der Acanthamoeba-Keratitis: Möglichkeiten, Probleme und neue Wege [Treatment of Acanthamoeba keratitis: possibilities, problems, and new approaches]. *Wien Klin Wochenschr* 2003; 115(Suppl 3): 10-7.
- Kim MJ, Chu KB, Lee HA, Quan FS, Kong HH, Moon EK. Detection of *Acanthamoeba* spp. using carboxylesterase antibody and its usage for diagnosing Acanthamoeba-keratitis. *PLoS One* 2022; 17: e0262223.
- Walochnik J, Scheikl U, Haller-Schober EM. Twenty years of acanthamoeba diagnostics in Austria. *J Eukaryot Microbiol* 2015; 62: 3-11.
- Siddiqui R, Khan NA. Biology and pathogenesis of Acanthamoeba. *Parasit Vectors* 2012; 5: 6.
- Khan N. Acanthamoeba: Biology and Increasing Importance in Human Health. *FEMS Microbiol Rev* 2006; 30: 564-95.
- Tawfeek GM, Bishara SA, Sarhan RM, ElShabrawi Taher E, ElSaady Khayyal A. Genotypic, physiological, and biochemical characterization of potentially pathogenic Acanthamoeba isolated from the environment in Cairo, Egypt. *Parasitol Res* 2016; 115: 1871-81.
- de Lacerda AG, Lira M. Acanthamoeba keratitis: a review of biology, pathophysiology and epidemiology. *Ophthalmic Physiol Opt* 2021; 41: 116-35.
- Bouheraoua N, Labbé A, Chaumeil C, Liang Q, Laroche L, Borderie V. Kératites amibiennes [Acanthamoeba keratitis]. *J Fr Ophtalmol* 2014; 37: 640-52.
- Pussard M, Pons R. Morphologies de la paroi kystique et taxonomie du genre Acanthamoeba (Protozoa Amoebida). *Protistologica* 1977; 13: 557-610.
- Fuerst PA. Insights from the DNA databases: Approaches to the phylogenetic structure of Acanthamoeba. *Exp Parasitol* 2014; 145(Suppl): S39-45.
- Schroeder JM, Booton GC, Hay J, Niszl IA, Seal DV, Markus MB, et al. Use of subgenic 18S ribosomal DNA PCR and sequencing for genus and genotype identification of acanthamoebae from humans with keratitis and from sewage sludge. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 1903-11.
- Corsaro D, Walochnik J, Köhler M, Rott MB. Acanthamoeba misidentification and multiple labels: redefining genotypes T16, T19, and T20 and proposal for Acanthamoeba micheli sp. nov.(genotype T19). *Parasitol Res* 2015; 114: 2481-90.
- Putaporntip C, Kuamsab N, Nuprasert W, Rojrung R, Pattanawong U, Tia T, et al. Analysis of Acanthamoeba genotypes from public freshwater sources in Thailand reveals a new genotype, T23 Acanthamoeba bangkokensis sp. nov. *Sci Rep* 2021; 11: 17290.
- Berrilli F, Di Cave D, Novelletto A, Di Filippo M. PCR-based identification of thermotolerant free-living amoebae in Italian hot springs. *Eur J Protistology* 2021; 80: 125812.
- Satitpitakul V, Putaporntip C, Jongwutiwes S. Severe Keratitis Caused by Acanthamoeba Genotype T12 in Thailand: A Case Report. *Am J Trop Med Hyg* 2021; 106: 681-4.
- Booton GC, Rogerson A, Bonilla TD, Seal DV, Kelly DJ, Beattie TK, et al. Molecular and physiological evaluation of subtropical environmental isolates of Acanthamoeba spp., causal agent of Acanthamoeba keratitis. *J Eukaryot Microbiol* 2004; 51: 192-200.
- Vijayakumar R. Isolation, identification of pathogenic *Acanthamoeba* from drinking and recreational water sources in Saudi Arabia. *J Adv Vet Anim Res* 2018; 5: 439-44.
- Pumidomning W, Koehsler M, Leitsch D, Walochnik J. Protein profiles and immunoreactivities of Acanthamoeba morphological groups and genotypes. *Exp Parasitol* 2014; 145: 50-6.
- Retana-Moreira L, Abrahams-Sandí E, Castro-Artavia E, Fernández-Sánchez A, Castro-Castillo A, Reyes-Batlle M, et al. Isolation and molecular characterization of Acanthamoeba strains from dental units in Costa Rica. *J Eukaryot Microbiol* 2015; 62: 733-6.
- Rocha-Cabrera P, Reyes-Batlle M, Martín-Navarro CM, Dorta-Gorrín A, López-Arencibia A. et al. Detection of Acanthamoeba on the ocular surface in a Spanish population using the Schirmer strip test: pathogenic potential, molecular classification and evaluation of the sensitivity to chlorhexidine and voriconazole of the isolated Acanthamoeba strains. *J Med Microbiol* 2015; 64: 849-53.



24. Behniafar H, Niyiyati M, Lasjerdi Z. Molecular characterization of pathogenic *Acanthamoeba* isolated from drinking and recreational water in East Azerbaijan, Northwest Iran. *Environ Health Insights* 2015; 9: 7-12.
25. Todd C, Reyes-Batlle M, Martín-Navarro C, Dorta-Gorrín A, López-Arencibia A, Martínez-Carretero E, et al. Isolation and genotyping of *Acanthamoeba* strains from soil sources from Jamaica, West Indies. *J Eukaryot Microbiol* 2015; 3: 416-21.
26. Possamai CO, Loss AC, Costa AO, Falqueto A, Furst C. *Acanthamoeba* of three morphological groups and distinct genotypes exhibit variable and weakly inter-related physiological properties. *Parasitol Res* 2018; 117: 1389-400.
27. Milanez GD, Masangkay FR, Scheid P, Dionisio JD, Somsak V, Kotepui M, et al. *Acanthamoeba* species isolated from Philippine freshwater systems: epidemiological and molecular aspects. *Parasitol Res* 2020; 119: 3755-61.
28. Al-Herrawy A, Bahgat M, Mohammed A, Ashour A, Hikal W. Morpho-physiological and biochemical criteria of *Acanthamoeba* spp. isolated from the Egyptian aquatic environment. *Iran J Parasitol* 2013; 8: 302-12.
29. Kilic A, Tanyuksel M, Sissons J, Jayasekera S, Khan NA. Isolation of *Acanthamoeba* isolates belonging to T2, T3, T4 and T7 genotypes from environmental samples in Ankara, Turkey. *Acta Parasitologica* 2004; 49: 246-52.
30. Landell MF, Salton J, Caumo K, Broetto L, Rott MB. Isolation and genotyping of free-living environmental isolates of *Acanthamoeba* spp. from bromeliads in Southern Brazil. *Exp Parasitol* 2013; 134: 290-4.
31. Walochnik J, Obwaller A, Aspöck H. Correlations between morphological, molecular biological, and physiological characteristics in clinical and non-clinical isolates of *Acanthamoeba* spp. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66: 4408-13.
32. Ledee DR, Hay J, Byers TJ, Seal DV, Kirkness CM. *Acanthamoeba griffini*. Molecular characterization of a new corneal pathogen. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: 544-50.
33. Wopereis DB, Bazzo ML, de Macedo JP, Casara F, Golfeto L, Venancio E, et al. Free-living amoebae and their relationship to air quality in hospital environments: characterization of *Acanthamoeba* spp. obtained from air-quality in hospital environments: characterization of *Acanthamoeba* spp. obtained from air-conditioning systems. *Parasitology* 2020; 147: 782-90.
34. Booton GC, Visvesvara GC, Byers TJ, Kelly DJ, Fuerst PA. Identification and distribution of *Acanthamoeba* species genotypes associated with nonkeratitis infections. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 1689-93.
35. Hajialilo E, Behnia M, Tarighi F, Niyiyati M, Rezaeian M. Isolation and genotyping of *Acanthamoeba* strains (T4, T9, and T11) from amoebic keratitis patients in Iran. *Parasitol Res* 2016; 115: 3147-51.
36. Gavarāne I, Trofimova J, Mališevs A, Valciņa O, Kirjušina M, Rubeniņa I, et al. DNA extraction from amoebal isolates and genotype determination of *Acanthamoeba* from tap water in Latvia. *Parasitol Res* 2018; 117: 3299-303.
37. Yu HS, Hwang MY, Kim TO, Yun HC, Kim TH, Kong HH, et al. Phylogenetic relationships among *Acanthamoeba* spp. based on PCR-RFLP analyses of mitochondrial small subunit rRNA gene. *Korean J Parasitol* 1999; 37: 181-8.
38. Walochnik J, Haller-Schober E, Kolli H, Picher O, Obwaller A, Aspöck H. Discrimination between clinically relevant and nonrelevant *Acanthamoeba* strains isolated from contact lens-wearing keratitis patients in Austria. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3932-6.

# Anti-*Trichomonas vaginalis* Activity of Marine Ascidiaceans (Tunicates; Ascidiaceae) from the Bushehr Province, Iran

## *İran'ın Buşehr Eyaletindeki Deniz Ascidianlarının (Tunikatlar; Ascidiaceae) Anti-Trichomonas vajinalis Aktivitesi*

✉ Hamideh Malekhayati<sup>1</sup>, ✉ Afshar Bargahi<sup>2,3</sup>, ✉ Soleiman Khorami<sup>1</sup>, ✉ Mohsen Khataminejad<sup>3</sup>,  
✉ Moradali Fouladvand<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>Bushehr University of Medical Sciences Faculty of Paramedical Sciences, Department of Laboratory Sciences, Bushehr, Iran

<sup>2</sup>Bushehr University of Medical Sciences Faculty of Medicine, Department of Biochemistry, Bushehr, Iran

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

<sup>4</sup>Bushehr University of Medical Sciences Faculty of Medicine, Department of Microbiology and Parasitology, Bushehr, Iran

<sup>5</sup>The Persian Gulf Tropical and Infectious Diseases Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

Cite this article as: Malekhayati H, Bargahi A, Khorami S, Khataminejad M, Fouladvand M. Anti-*Trichomonas vaginalis* Activity of Marine Ascidiaceans (Tunicates; Ascidiaceae) from the Bushehr Province, Iran. Türkiye Parazitoloj Derg 2024;48(1):21-6.

### ABSTRACT

**Objective:** The aim of the current research is to evaluate the antiparasite effects of compounds isolated from marine ascidian tunicates on *Trichomonas vaginalis*.

**Methods:** Ascidian tunicates after collection were cut into small pieces, freeze-dried, and powdered. The resulting material was subjected to extraction in double-distilled water, ethanol, n-hexane, and dichloromethane. To fractionate the extracts and identify the most bioactive compound, silica gel column chromatography and GC-M/S analysis were used.

**Results:** Fraction 18 of silica gel column chromatography of ethanol extract was the most effective against *T. vaginalis*. The respective IC<sub>50</sub>, CC<sub>50</sub>, and SI values for fraction 18 were 28.62 µg/mL, >800 µg/mL, and >27.95. GC-M/S analysis of this fraction identified a major phenolic compound (2, 4-bis (1, 1-dimethyl ethyl), whose toxicity against *vero* cells was only 10.15%.

**Conclusion:** The ethanolic fraction containing phenol-2,4-bis (1,1-dimethylethyl), which has a potent lethality effect on *T. vaginalis*, may be considered as an antiparasite drug candidate.

**Keywords:** *Trichomonas vaginalis*, tunicate, ascidians, chromatography, GC-MS, metronidazole

### ÖZ

**Amaç:** Mevcut araştırmanın amacı, deniz ascidian tunikatlarından izole edilen bileşiklerin *Trichomonas vajinalis* üzerindeki antiparazit etkilerini değerlendirmektir.

**Yöntemler:** Ascidian tunikatlar toplandıktan sonra küçük parçalar halinde kesildi, dondurularak kurutuldu ve toz haline getirildi. Nihai malzeme, çift damıtılmış su, etanol, n-heksan ve diklorometan içerisinde ekstraksiyona tabi tutuldu. Ekstraktları parçalara ayırmak ve en biyoaktif bileşiği belirlemek için silika jel kolon kromatografisi ve GC-M/S analizi kullanıldı.

**Bulgular:** Etanol ekstraktının silika jel kolon kromatografisinin 18. fraksiyonu *T. vajinalis*'e karşı en etkili olanıydı. Fraksiyon 18 için ilgili IC<sub>50</sub>, CC<sub>50</sub> ve SI değerleri 28,62 µg/mL, >800 µg/mL ve >27,95 idi. Bu fraksiyonun GC-M/S analizi, *vero* hücrelerine karşı toksisitesi yalnızca %10,15 olan önemli bir fenolik bileşiği (2,4-bis (1,1-dimetil etil) tanımladı.

**Sonuç:** *T. vajinalis* üzerinde güçlü öldürücü etkiye sahip olan fenol-2,4-bis (1,1-dimetil etil) içeren etanolik fraksiyon antiparazit ilaç adayı olarak değerlendirilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** *Trichomonas vajinalis*, tunikat, ascidianlar, kromatografi, GC-MS, metronidazol



Received/Geliş Tarihi: 16.01.2023 Accepted/Kabul Tarihi: 25.12.2023

**Address for Correspondence/Yazar Adresi:** Moradali Fouladvand, Bushehr University of Medical Sciences Faculty of Medicine, Department of Microbiology and Parasitology; The Persian Gulf Tropical and Infectious Diseases Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

**Phone/Tel:** +0098917722394 **E-mail/E-Posta:** mfouladvand35@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-3406-1624



©Copyright 2024 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.turkiyeparazitoloj.org

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

## INTRODUCTION

*Trichomonas vaginalis* (*T. vaginalis*) as a parasitic protozoan is pathogenic agent of trichomoniasis. It is the most common sexually transmitted non-viral disease with worldwide spread. This infection is asymptomatic in some women and most men, but it can cause various side effects in women, such as unhealthy pregnancy, infertility, pelvic inflammatory disease and cervical malignancy. Men with trichomoniasis are mostly asymptomatic but symptomatic infected women have a wide range of clinical symptoms from mild to severe (1-3). The global incidence of Trichomoniasis is 276 million cases per year and is more common than gonorrhea, syphilis and chlamydia infections (4). Trichomoniasis causes at least a two-fold increase in the risk of HIV transmission as well as a four-fold increase in the spread of the virus (5,6). Studies in Iran have reported the prevalence of trichomoniasis as follows: 9.2% in Tabriz, 3.3% in Zanjan, 3.2% in Tehran, 2% in Yazd and Kashan, and 1.2% in Hamadan city (7-12).

Metronidazole and tinidazole are the only FDA-approved drugs for the treatment of trichomoniasis, but there have been reports of drug resistance and treatment failure against these medications (13-15).

Although research on the effects of the natural substances against *T. vaginalis* is scarce in scientific databases but some studies have published reports on the effects of marine organisms such as seaweeds, microorganisms and marine fungi against *T. vaginalis* (16-20). Tunicates are a diverse group of marine invertebrate animals and members of the phylum chordata and subphylum tunicata (21).

To date, 3051 species of tunicates have been identified. These marine organisms were classified into four major classes: Ascidiacea, thaliacea, apendicularins and sorberacea, consisting of 2800 species in ascidiacea, 72 species in thaliacea and 69 species in appendicular (21,22). Ascidiaceans have various chemical defenses to combat predators in the marine ecosystem, most of which are synthesized by symbiotic bacteria. These marine organisms are the deposits of various chemical compounds such as didemnin, apellidin and trabectedin which are effective against many types of cancers. In addition, various studies indicate the presence of antimicrobial compounds in isolated compounds from Ascidiaceans (23,24).

Most of the compounds extracted from Tunicates have antibiotic, antitumor, antiviral and immunosuppressive activities (25). The aim of the current study was to evaluate the effect of the isolated compounds from the ascidian tunicates on *T. vaginalis* viability.

## METHODS

### Sample Collection

Ascidian tunicates were collected on ice from the Haleh shure of, Bushehr province, Iran. The samples were washed with tap water and distilled water to remove the contaminants and stored at -70 °C until used.

### Extraction

To prepare the aqueous, ethanol, n-hexane and dichloromethane ascidiaceans extracts, the samples were cut into small pieces, chopped and were freeze-dried. The dried samples were powdered by a home grinder. The samples were extracted in double distilled

water and in ethanol 70% (V/V) at 40 °C by overnight maceration with interval shaking. Also, the n-hexane and dichloromethane extractions were performed using Soxhlet extractor. All extracts were filtered with filter paper (Watman, no.1, Merk, Germany) and the filtrate was concentrated under vacuum to eliminate the solvent using a rotary evaporator apparatus (Laborota 4000, Heidolph, Germany), dried, powdered and reserved at -20 °C as the crude ascidian extracts.

### TLC and Silica Gel Column Chromatography

Thin-layer chromatography (TLC Silica gel 60 F<sub>254</sub>) was used to choose the appropriate solvent and pre-evaluation of sample solubility for next silica gel G-60 column chromatography. After each column chromatography the TLC were performed for identity and composition analysis of the obtained fractions.

### Column Chromatography

The silica gel G-60 column chromatography was performed using (5×70 cm) glass column and ethanol as the mobile phase. Then, the ethanolic crude extract which having more anti parasitic activity was loaded on the column and every 15 minutes the 2.5 mL fractions were recovered. The resulting fractions were concentrated, dried and refrigerated until used.

### GC-MS Analysis

The ascidian F18 fraction with the most cytotoxic effect on *T. vaginalis* was subjected to the Gas chromatography-mass spectroscopy (GC-M/S) analysis equipped with Chemstation software. For this purpose, 1 µL of samples was injected to the GC-MS instrument equipped with HP-5MS and mass detector, placed at 50 °C for 1 min with a heating rate of 1 °C/min. Then, used 300 °C with a heating rate of 15 °C/min, hold time of 20 min, run time of 66/37 min, injector temperature of 120 °C, MS detector temperature of 230 °C, ion source and quadrupole temperature of 230 and 150 °C, respectively. Helium gas with flow of 21.7 mL/min and pressure of 4 psi at a ratio of 30:1 ratio were used as the carrier. In this experiment, a quadrupole mass spectrometer with ionization energy of 70eV was used. The corresponding chemical structure of each peak was identified by comparing the mass spectra obtained from the chromatogram with the National Institute of Standards and Technology (NIST) library and by searching the PubChem database. After detecting the name, molecular formula and chemical structure of each compound, the biological and industrial applications of each compound were determined using the aforementioned database.

### Evaluation of Ascidian Effects on *T. vaginalis*

The *T. vaginalis* was obtained from Pasteur Institute of Iran. It was cultured in diamond medium (Merk, Germany) at 37 °C. After the parasite reached the logarithmic phase, 125 µL of the culture medium containing 1×10<sup>6</sup> trophozoites were transferred to the 96 well flat bottom microplate and 125 µL of 20, 40, 80, 100, 200, 400 and 800 µg/mL doses from aqueous and organic extracts, silica gel G-60 column chromatography fractions, (as tests) were added to the wells containing *T. vaginalis* and incubated at 37 °C (two test sets, 24 and 48 h) The metronidazole as positive control was used.

For cell viability evaluations, the trypan blue dye exclusion and MTT assay tests were used. All experiments were performed in triplicate.

## Cytotoxicity Assay

For cytotoxicity evaluations on mammalian cells, the *vero* cells were affected by the obtained ascidian fractions. Ten thousand of *vero* cells were cultured (DMEM medium, Gibco, USA) at 37 °C and 5% CO<sub>2</sub> for 48 h in pre- trypsinized, PBS washed micoplate in the presence of 20, 40, 80, 100, 200, 400, 800 µg/mL of ascidian fractions. Also, the wells containing only *vero* cells (as negative control) and cell-free wells (as blank) were considered. The cell viability was performed by the trypan blue exclusion and MTT assay test.

## Statistical Analysis

The experiments were replicated three times. Statistical analysis was performed using SPSS Software version: 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) for data analysis, Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney U test were used and p-value <0.05 was considered significant.

## RESULTS

The results showed that the ascidian extracted in water, ethanol, n-hexane and dichloromethane solvents have increasing lethal

effect on *T. vaginalis* in dose and time dependent approach. The lowest percentage of lethality was recorded for the water extract at the concentration of 20 µg/mL after 24 h incubation, which almost had no lethal effect. But, the highest lethal effect was for the ethanolic extract, which at dose of 800 µg/mL caused 60% of *T. vaginalis* trophozoites to be killed after 48 hours (Table 1).

Separation and identification of ethanolic extract by silica gel G-60 column chromatography resulted in the fractions which subjected to subsequent bioassays. The evaluation of cytotoxic effects of obtained fractions (tests) and the metronidazole (positive control) at 20, 40, 80, 100, 200, 400 and 800 µg/mL doses on the *T. vaginalis* viability by trypan blue dye exclusion and MTT cytotoxicity assay revealed that fraction 18 was more active against target cells (Table 2).

Fraction 18 at a dose of 80 µg/mL showed 100% toxicity (Table 2) which the IC<sub>50</sub> was 28.62 µg/mL (Table 3).

The GC-M/S analysis was used to identify the chemical composition of the bio-active fractions. The analysis of GC-M/S peaks and searching in the NIST library and PubChem database led to the identification of the phenol-2, 4-bis (1,1-dimethylethyl) compound in Fraction 18 (Table 4).

**Table 1.** Time and dose dependent screening of Ascidian crude extracts on *T. vaginalis*

Solvent		Water (%)		Ethanol (%)		n-Hexane (%)		Dichloromethane (%)	
Incubation time		24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
Concentrations (µg/mL)	20 µg/mL	0	0	3	6.7	0	2	0	0
	40 µg/mL	2	3.2	5	10	1	2.40	0	2
	80 µg/mL	3.4	5.5	7.5	18.50	2.24	3	1	3.2
	100 µg/mL	4	6.2	11.45	24.50	3.33	5	3	6.50
	200 µg/mL	5.75	7.62	26	33.56	6.67	8.60	6	0
	400 µg/mL	6.55	8	31	51	9.57	12.34	7.20	13.25
	800 µg/mL	8	10	49	60	14.50	18.50	10	15

**Table 2.** Lethality effects of silica gel G-60 column chromatography fractions on *T. vaginalis*

Fraction		F14		F15		F16		F17		F18		Metronidazole	
Incubation time		24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
Concentration (µg/mL)	20	15	17.3	18	20	20	21	25.11	47.19	22.16	41.33	61.18	82
	40	27	30	33	35.20	34.5	36.50	49.1	69.74	44.73	78.14	88.29	100
	80	38.3	41	41.36	43.74	46	48.63	86.33	100	89.07	100	100	100
	100	47	50	56.23	56.50	62.38	65	93.42	100	94.66	100	100	100
	200	59.28	64	70.5	71	76	79.30	100	100	100	100	100	100
	400	80	81.28	80	83.40	83.04	87.64	100	100	100	100	100	100
	800	90	95	95	99	97	99	100	100	100	100	100	100

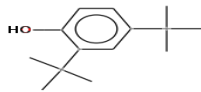
**Table 3.** Cytotoxicity effects of silica gel G-60 column chromatography fractions on *T. vaginalis*

Fraction		F14		F15		F16		F17		F18	
Incubation time		24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
CC <sub>50</sub> against <i>vero</i> cells		800>	800>	800>	800>	800>	800>	800>	800>	>800	>800
IC <sub>50</sub> against <i>T. vaginalis</i>		122.50	100	93.34	81.70	76.24	82.46	42.09	28.83	44.08	28.62
Selectivity index		6.53>	8.00>	8.57>	9.79>	10.49>	>9.70	>19.00	27.75>	>18.15	>27.65

CC<sub>50</sub>: Cytotoxic concentration, IC<sub>50</sub>: Inhibitory concentration



**Table 4.** GC-MS compositional analysis of Ascidian F18 fraction

Fraction	Compound	Molecular formula	Structure
F18	phenol-2, 4-bis (1,1-dimethylethyl)	C14H22O	

**Table 5.** Toxicity effects of silica gel G-60 column chromatography fractions on *vero* cells

Fraction		F14		F15		F16		F17		F18	
Incubation time		24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
Concentration (µg/mL)	20	2.67	1.87	0.11	1.00	0.00	0.49	1.00	1.87	0.21	0.77
	40	2.79	2.89	0.70	1.58	0.33	1.00	0.67	1.00	1.00	1.41
	80	3.00	3.65	1.00	1.63	1.89	4.66	1.00	1.91	1.91	2.91
	100	3.51	4.00	1.74	2.00	7.67	6.00	1.49	5.00	2.00	3.69
	200	5.00	6.00	2.37	2.81	9.00	11.00	4.00	10.80	4.63	6.29
	400	6.00	6.51	14.00	15.00	9.30	13.89	4.06	11.00	5.89	9.67
	800	10.50	13.89	14.50	17.93	10.00	16.88	7.00	16.89	10.00	10.15

Also, the results showed that the metronidazole (as positive control) at dose of 80 µg/mL caused 100% toxicity after 24-h incubation and at 40 µg/mL after 48 h incubation (Table 2).

The *vero* cell line was used to evaluate the toxicity of ascidian compounds on mammalian cells. Incubation of *vero* cells in the presence of fraction 18 at doses of 20-800 µg/mL showed, that this fraction has the most inhibition effect on *T. vaginalis* growth with very low toxicity against *vero* cells although at high doses (Table 5).

## DISCUSSION

Trichomoniasis is the most common non-viral sexually transmitted infection. There have been many reports of a relatively high incidence of this infection especially, in developing countries (4,7-11). On the other hand, there are frequent and reliable reports of the underlying cause of this infection for cervical and prostate malignancies in men, as well as facilitating HIV transmission (1-6).

Given that no approved vaccine has been available to prevent this infection so far, we need to think about a new drug to treat this infection effectively. The current treatments of choice for trichomoniasis are metronidazole and tinidazole. Studies have shown that metronidazole not only has significant side effects, but also there are reports of many cases of treatment failure and drug resistance (13-15). So, finding an effective and low-cost drug to treat this infection is one of the priorities.

In the past few decades, marine organisms have been one of the promising sources for finding medicinal and nutritional compounds. Among the wide range of marine organisms, Tunicates, especially the Ascidians, have received special attention, and promising reports have been published on the efficacy of secondary metabolites extracted from these marine organisms against bacteria, viruses, fungi, and malignancies, but there are few studies to evaluate the effect of these metabolites against *T. vaginalis* (26-35). Our study showed that among the solvents used to achieve the extracts from ascidians, ethanol as

a suitable solvent was able to extract more effective compounds (60% parasite death at 800 µg/mL dose). The silica gel G-60 column chromatography resulted in the separation of 18 different fractions and, the bioassay against *T. vaginalis* revealed that fraction 18 showed significant dose and time dependent lethal effects. The IC<sub>50</sub>, CC<sub>50</sub> and SI values were 28.62 µg/mL, >800 µg/mL and, 27.95 respectively. Cytotoxic analysis of F18 against *vero* cells showed that this fraction at the concentration of 800 µg/mL had the lethality rate of 10.15% and the maximum concentration of this fraction (800 µg/mL) could not have a 50% inhibitory effect against *vero* cells, so, it was not possible to calculate the CC<sub>50</sub> definitive values for this fraction. Therefore, the CC<sub>50</sub> values for all fractions were estimated as >800 µg/mL. Due to the very low toxicity of all fractions against *vero* cells, especially the fraction18 that have shown high toxicity against *T. vaginalis*, the calculated SI value for this fraction was >27.95.

The GC-M/S analysis of fraction 18 showed that, phenol-2,4-bis (1,1-dimethylethyl) with the chemical formula of C14H22O; is a phenolic compound. Some studies confirmed the antioxidant (36) and antifungal activity of phenol-2,4-bis (1,1-dimethylethyl) against *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* and *Penicillium chrysogenum* (37). Also, in a study which investigated the phenol-rich extracts from plants against *Giardia lamblia*, different concentrations of these extracts inhibited the growth of the protozoa in the culture medium. In that study, the most inhibitory effect was 275 µg/mL (38). In another study, the effects of extracts containing phenolic compounds at the concentrations of 125 and 250 mg/mL were investigated on *L. infantum*, *Leishmania braziliensis* and *Trypanosoma cruzi* in the culture medium and the results as lethality percentages were 54.27%, 80.39% for *Leishmania infantum*, and 68.61%. 80.159% for *Leishmania braziliensis* and 54.45%, 22.26% for *Trypanosoma cruzi* respectively (39). Another study evaluated the ethanol extract of three plant species containing phenolic compounds against *Leishmania* spp. and *Trypanosoma* spp., and found that the lethality percentages were 63.8% for *Leishmania braziliensis*, 95% for *Leishmania infantum* and 63% for *Trypanosoma cruzi* (40). As in

our results, Ezz Eldin and Badawy (41) investigated the effects of two plant extracts containing phenolic compounds on *T. vaginalis* and showed that these compounds have an increasing lethality in time and dose dependent manner.

## CONCLUSION

The biological assay of F18, containing the phenol-2,4-bis (1,1-dimethylethyl), showed that this fraction at the concentration of 80 µg/mL caused 100% parasite death and its IC<sub>50</sub>, CC<sub>50</sub>, and SI values were 28.62 µg/mL, >800 µg/mL and >27.95 respectively. Then, based on the bioassay results from the evaluation of fraction F18 effect on the *T. vaginalis*, it showed potent anti-parasite effects. Other studies on the phenolic potential compounds such as phenol-2,4-bis (1,1-dimethylethyl) and other alkaloid derivatives indicated a wide range of biological effects and caused death or inhibition of cancer cells, bacteria, viruses, fungi and the parasites. Therefore, our study indicates that ascidians, which are a source of biologically active compounds especially the phenolic, with anti *T. vaginalis* activity, can be considered as a therapeutic drugs after further more details investigations.

### \* Acknowledgments

This work was supported by Research Deputy of Bushehr University of Medical Sciences, we would like to thank the Vice-chancellor of Research of Bushehr University of Medical Sciences for financial support.

### \* Ethics

**Ethics Committee Approval:** This study was approved in Research Committee of Bushehr University of Medical Sciences with ethics code IR.BPUMS.REC.1396.160.

**Informed Consent:** This study was conducted *in vitro*, so, it doesn't involve any patients or human samples.

### \* Authorship Contributions

Design: M.F., Data Collection or Processing: H.M., A.B., S.K., M.K., M.F., Analysis or Interpretation: H.M., A.B., S.K., M.K., M.F., Writing: H.M., A.B., S.K., M.K., M.F.

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

**Financial Disclosure:** This study was financially supported by the Vice-chancellor for Research of Bushehr University of Medical Sciences with grant no: 787.

## REFERENCES

- Secor WE, Meites E, Starr MC, Workowski KA. Neglected parasitic infections in the United States: trichomoniasis. *Am J Trop Med Hyg* 2014; 90: 800-4.
- Edwards T, Burke P, Smalley H, Hobbs G. *Trichomonas vaginalis*: Clinical relevance, pathogenicity and diagnosis. *Crit Rev Microbiol* 2016; 42: 406-17.
- Kissinger P. *Trichomonas vaginalis*: a review of epidemiologic, clinical and treatment issues. *BMC Infect Dis* 2015; 15: 307.
- World Health Organization. 2012. Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections. World Health Organization, Dept. of Reproductive Health and Research, available from: <http://www.who.int/reproductivehealth/publications/rtis/stisestimates/en/index.html>
- Vais RD, Heli H, Sattarhady N, Barazesh A. A novel and ultrasensitive label-free electrochemical DNA biosensor for *Trichomonas vaginalis* detection based on a nanostructured film of poly (ortho-aminophenol). *Synthetic Metals* 2022; 287: 117082.
- Kusdian G, Gould SB. The biology of *Trichomonas vaginalis* in the light of urogenital tract infection. *Mol Biochem Parasitol* 2014; 198: 92-9.
- Nazari N, Zangeneh M, Moradi F, Bozorgomid A. Prevalence of trichomoniasis among women in kermanshah, iran. *Iran Red Crescent Med J* 2015; 17: e23617.
- Nourian A, Shabani N, Fazaeli A, Mousavinasab SN. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* in pregnant women in Zanjan, Northwest of Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology* 2013; 6: e7258.
- Rezaeian M, Vatanshenassan M, Rezaie S, Mohebbali M, Niromand N, Niyiyati M, et al. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* using parasitological methods in Tehran. *Iranian Journal of Parasitology* 2009; 4: 43-7.
- Bafghi AF, Aflatoonian A, Barzegar K, Ghafourzadeh M, Nabipour S. Frequency distribution of trichomoniasis in pregnant women referred to health centers of Ardakan, Meibod and Yazd, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology* 2009; 2: 132-9.
- Arbabi M, Fakhrieh Z, Delavari M, Abdoli A. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* infection in Kashan city, Iran (2012-2013). *Iran J Reprod Med* 2014; 12: 507-12.
- Matini M, Rezaie S, Mohebbali M, Maghsood A, Rabiee S, Fallah M, et al. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* Infection in Hamadan City, Western Iran. *Iran J Parasitol* 2012; 7: 67-72.
- Blahe C, Duchêne M, Aspöck H, Walochnik J. In vitro activity of hexadecylphosphocholine (miltefosine) against metronidazole-resistant and -susceptible strains of *Trichomonas vaginalis*. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 273-8.
- Upcroft JA, Dunn LA, Wal T, Tabrizi S, Delgadillo-Correa MG, Johnson PJ, et al. Metronidazole resistance in *Trichomonas vaginalis* from highland women in Papua New Guinea. *Sex Health* 2009; 6: 334-8.
- Krashin JW, Koumans EH, Bradshaw-Sydnor AC, Braxton JR, Evan Secor W, Sawyer MK, et al. *Trichomonas vaginalis* prevalence, incidence, risk factors and antibiotic-resistance in an adolescent population. *Sex Transm Dis* 2010; 37: 440-4.
- Gehrig S, Efferth T. Development of drug resistance in *Trichomonas vaginalis* and its overcoming with natural products. *The Open Bioactive Compounds Journal* 2009; 2: 21-8.
- Watts KR, Tenney K, Crews P. The structural diversity and promise of antiparasitic marine invertebrate-derived small molecules. *Curr Opin Biotechnol* 2010; 21: 808-18.
- Moo-Puc R, Robledo D, Freile-Pelegrin Y. Evaluation of selected tropical seaweeds for in vitro anti-trichomonal activity. *J Ethnopharmacol* 2008; 120: 92-7.
- Cantillo-Ciau Z, Moo-Puc R, Quijano L, Freile-Pelegrin Y. The tropical brown alga *Lobophora variegata*: a source of antiprotozoal compounds. *Mar Drugs* 2010; 8: 1292-304.
- Washida K, Koyama T, Yamada K, Kita M, Uemura D. Karatungiol A and B, two novel antimicrobial polyol compounds, from the symbiotic marine dinoflagellate *Amphidinium* sp. *Tetrahedron Lett* 2006; 47: 2521-5.
- Satoh N, Rokhsar D, Nishikawa T. Chordate evolution and the three-phylum system. *Proc Biol Sci* 2014; 281: 20141729.
- Palanisamy SK, Rajendran NM, Marino A. Natural Products Diversity of Marine Ascidians (Tunicates; Ascidiacea) and Successful Drugs in Clinical Development. *Nat Prod Bioprospect* 2017; 7: 1-111.
- Casertano M, Menna M, Imperatore C. The Ascidian-Derived Metabolites with Antimicrobial Properties. *Antibiotics (Basel)* 2020; 9: 510.
- George J, Sabapathi SN. Cellulose nanocrystals: synthesis, functional properties, and applications. *Nanotechnol Sci Appl* 2015; 8: 45-54.
- Gerwick WH, Fenner AM. Drug discovery from marine microbes. *Microb Ecol* 2013; 65: 800-6.
- Wu Wu C, Wang Y, Yang Y. *Pestalotiopsis* Diversity: Species, Dispositions, Secondary Metabolites, and Bioactivities. *Molecules* 2022; 27: 8088.

27. Ruprich J, Prout A, Dickson J, Younglove B, Nolan L, Baxi K, et al. Design, synthesis and biological testing of cyclohexenone derivatives of combretastatin-A4. *Letters in Drug Design & Discovery* 2007; 4: 144-8.
28. AbdElal SN. Synthesis of some new cyclohexene carboxylic acid derivatives as potent anti-tumor agents. *J Chem Pharm Res* 2013; 5: 168-77.
29. Roumy V, Fabre N, Portet B, Bourdy G, Acebey L, Vigor C, et al. Four anti-protozoal and anti-bacterial compounds from *Tapirira guianensis*. *Phytochemistry* 2009; 70: 305-11.
30. Bhardwaj V, Gumber D, Abbot V, Dhiman S, Sharma P. Pyrrole: a resourceful small molecule in key medicinal hetero-aromatics. *Rsc Advances* 2015; 5: 15233-66.
31. Qian X, Liang GB, Feng D, Fisher M, Crumley T, Rattray S, et al. Synthesis and SAR studies of diarylpyrrole anticoccidial agents. *Bioorg Med Chem Lett* 2006; 16: 2817-21.
32. Zhao S, Zhang X, Wei P, Su X, Zhao L, Wu M, et al. Design, synthesis and evaluation of aromatic heterocyclic derivatives as potent antifungal agents. *Eur J Med Chem* 2017; 137: 96-107.
33. Gilleran JA, Yu X, Blayney AJ, Bencivenga AF, Na B, Augeri DJ, et al. Benzothiazolyl and Benzoxazolyl Hydrazones Function as Zinc Metallochaperones to Reactivate Mutant p53. *J Med Chem* 2021; 64: 2024-45.
34. Moorkoth S, Joseph A, Srinivasan KK, Kutty G. Synthesis and evaluation of biological activity of imidazolidinone analysis of 2-aminochromone. *Int J Pharm Biosci Technol* 2013; 1: 130-41.
35. Demir B, Cerkez I, Worley SD, Broughton RM, Huang TS. N-Halamine-modified antimicrobial polypropylene nonwoven fabrics for use against airborne bacteria. *ACS Appl Mater Interfaces* 2015;7: 1752-7.
36. Shang XF, Morris-Natschke SL, Yang GZ, Liu YQ, Guo X, Xu XS, et al. Biologically active quinoline and quinazoline alkaloids part II. *Med Res Rev* 2018; 38: 1614-60.
37. Varsha KK, Devendra L, Shilpa G, Priya S, Pandey A, Nampoothiri KM. 2,4-Di-tert-butyl phenol as the antifungal, antioxidant bioactive purified from a newly isolated *Lactococcus* sp. *Int J Food Microbiol* 2015; 211: 44-50.
38. Machado M, Dinis AM, Salgueiro L, Cavaleiro C, Custódio JB, Sousa Mdo C. Anti-Giardia activity of phenolic-rich essential oils: effects of *Thymbra capitata*, *Origanum virens*, *Thymus zygis* subsp. *sylvestris*, and *Lippia graveolens* on trophozoites growth, viability, adherence, and ultrastructure. *Parasitol Res* 2010; 106: 1205-15.
39. Cunha F, Tintino SR, Figueredo F, Barros L, Duarte AE, Vega Gomez MC, et al. HPLC-DAD phenolic profile, cytotoxic and anti-kinetoplastidae activity of *Melissa officinalis*. *Pharm Biol* 2016; 54: 1664-70.
40. Calixto Júnior JT, de Moraes SM, Gomez CV, Molas CC, Rolon M, Boligon AA, et al. Phenolic composition and antiparasitic activity of plants from the Brazilian Northeast "Cerrado". *Saudi J Biol Sci* 2016; 23: 434-40.
41. Ezz Eldin HM, Badawy AF. In vitro anti-*Trichomonas vaginalis* activity of *Pistacia lentiscus* mastic and *Ocimum basilicum* essential oil. *J Parasit Dis* 2015; 39: 465-73.

# Üniversite Hastanesine Başvuran Hastalarda Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı: Dört Yıllık Retrospektif İnceleme

## Distribution of Intestinal Parasites in Patients Admitted to University Hospital: Four Year Retrospective Review

© Fatma Günbey<sup>1</sup>, © Zülal Aşçı Toraman<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tatvan Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Bitlis, Türkiye

<sup>2</sup>Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

Cite this article as: Günbey F, Aşçı Toraman Z. Distribution of Intestinal Parasites in Patients Admitted to University Hospital: Four Year Retrospective Review. Türkiye Parazit Derg 2024;48(1):27-31.

### ÖZ

**Amaç:** Çalışmada Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'na Ocak 2018-Aralık 2021 tarihleri arasında başvuran kişilerde saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımının incelenmesi amaçlandı.

**Yöntem:** Ocak 2018-Aralık 2021 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'na başvuran toplam 24,432 hastaya ait parazitolojik tetkik raporları bağırsak parazitlerinin varlığı açısından retrospektif olarak incelendi.

**Bulgular:** Ocak 2018-Aralık 2021 tarihleri arasındaki dört yıllık dönemde dışkı ve selofan bant örnekleri incelenen toplam 24,432 (erkek: 12,887, %52,8; kadın: 11,545, %47,2) hasta çalışmaya dahil edildi. İncelenen 24,432 hastanın 335'inde (%1,4) bağırsak parazitine rastlandı. En sık tespit edilen parazit *Giardia intestinalis* (n=149, %46,6) iken, ardından *Entamoeba coli* (n=123, %38,5) ve *Enterobius vermicularis* (n=28, %8,6) gelmekteydi. Parazit saptanma oranlarının yıllara göre dağılımı incelendiğinde en yüksek oranın 2021 en düşük oranının ise 2019 yılına ait olduğu görüldü.

**Sonuç:** İntestinal parazitik enfeksiyonlar (İPE) dünyada ve ülkemizde önemini koruyan önemli halk sağlığı sorunlarından biridir. İPE dağılımını toplumun eğitim düzeyi, sosyo-ekonomik durumu, altyapı, iklim gibi çeşitli faktörler etkilemektedir. Yıllara göre parazit dağılımına baktığımızda 2018 yılında %1,3; 2019 yılında %1,13; 2020 yılında %1,18; 2021 yılında ise %2,03 olarak saptadık. İntestinal parazit görülmedeki bu artışın bölgemizde yaşanan depremden kaynaklı altyapı ve barınma sorunlarından kaynaklandığını düşünüyoruz.

**Anahtar Kelimeler:** *Giardia intestinalis*, bağırsak parazitleri, yaygınlık, deprem

### ABSTRACT

**Objective:** In this study, it was aimed to examine the distribution of intestinal parasites detected in people who applied to the parasitology laboratory of Fırat University Faculty of Medicine between January 2018 and December 2021.

**Methods:** Parasitological examination reports of a total of 24,432 patients who applied to the Parasitology Laboratory of Fırat University Faculty of Medicine between January 2018 and December 2021 were examined retrospectively for the presence of intestinal parasites.

**Results:** A total of 24,432 (male: 12,887, 52.75%; female: 11,545, 47.25%) patients whose stool and cellophane tape samples were analyzed during the four-year period between January 2018 and December 2021 were included in the study. Intestinal parasites were found in 335 (1.4%) of the 24,432 patients examined. The most frequently detected parasite was *Giardia intestinalis* (n=149, 46.6%), followed by *Entamoeba coli* (n=123, 38.5%) and *Enterobius vermicularis* (n=28, 8.6%). When the distribution of parasite detection rates by years was examined, it was seen that the highest rate was in 2021 and the lowest rate was in 2019.

**Conclusion:** Intestinal parasitic infections (IPE) are one of the most important public health problems in the world and in our country. Various factors such as the education level of the society, socio-economic status, infrastructure and climate affect the distribution of IPE. When we look at the distribution of parasites by years, it is 1.3% in 2018; 1.13% in 2019; 1.18% in 2020; In 2021, we found it to be 2.03%. We think that this increase in intestinal parasites is caused by the infrastructure and sheltering problems caused by the earthquake in our region.

**Keywords:** *Giardia intestinalis*, intestinal parasites, prevalence, earthquake

Geliş Tarihi/Received: 13.12.2022 Kabul Tarihi/Accepted: 17.02.2024

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Fatma Günbey, Tatvan Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Bitlis, Türkiye  
Tel/Phone: +90 534 926 65 15 E-Posta/E-mail: fatmagunbey@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-6594-7727





## GİRİŞ

Protozoonlar ve helmintler dahil olmak üzere bağırsak parazit enfeksiyonları orta ve düşük gelirli ülkelerde önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir (1,2).

Bağırsak parazitleri ile ilişkili enfeksiyonlara bağlı ölüm oranı düşük olmasına rağmen bağırsak parazit enfeksiyonları dünya genelinde özellikle çocuklarda kronik ishal, yetersiz beslenme ve bozulmuş zihinsel gelişmeye neden olarak iki milyardan fazla insanı etkileyebilmektedir (3,4). Dünya çapında *Ascaris lumbricoides* 819 milyon insanı enfekte ederek en sık görülen helminttir, ardından *Trichuris trichiura* ve kancalı kurt, sırasıyla 464,600 ve 438,900 milyon insanı enfekte etmektedir (4-7).

*Giardia intestinalis* ve *Entamoeba histolytica/dispar* en yaygın görülen iki bağırsak protozoonlarıdır (4,8). Diğer bağırsak parazitleri *Cryptosporidium* sp., *Cystoisospora belli* ve *Strongyloides stercoralis* bağırsaklığı baskılanmış hastalarda yaygın olarak bulunur (4-8).

İntestinal paraziter enfeksiyonların bulaşı toprak, su ve yiyeceklerin dışkıyla kontaminasyonu veya insandan insana direkt fekal oral yolla olmaktadır (1).

İntestinal paraziter enfeksiyonlar dünyada olduğu kadar ülkemizde de önemli halk sağlığı problemlerinden biridir. Bu enfeksiyonların görülme sıklığını eğitim düzeyi, sosyo-ekonomik durum, temizlik, beslenme düzeni, altyapı ve iklim koşulları etkilemektedir (9). Türkiye'deki intestinal parazitlerin dağılımı özellikle sosyo-ekonomik düzeyi düşük olan Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nde diğer bölgelere oranla daha yaygın görülerek bölgesel farklılık gösterir. Bölgeler arasındaki bu farklılığın başlıca sebepleri eğitim düzeyinin düşük olması, hijyen kurallarına yeteri kadar uyulmaması, içme suyunun genellikle açık su kanallarından temin edilmesi, altyapı yetersizliği ve bazı su bitkilerinin çiğ olarak tüketilmesi olarak görülmektedir (10-14).

Bağırsak parazitleri asemptomatik olarak seyredebileceği gibi; bulantı, kusma, ishal, kabızlık, büyüme ve gelişme geriliğinden; alerjik reaksiyonlar, diş gıcırdatma, ağızdan salya akması ve perianal bölge kaşıntısı gibi semptomlara kadar farklı şikayetlere neden olabilir (15,16).

İntestinal parazitlerin prevalansını saptamaya yönelik yapılan epidemiyolojik çalışmalar bu hastalıklara karşı geliştirilecek korunma ve tedavi yöntemlerinin tanımlanmasına olanak sağlamaktadır.

Paraziter hastalıkların tanısında birçok yeni yöntem geliştirilse de en yaygın kullanılan tanı yöntemi hala direkt mikroskopik incelemedir. Direkt mikroskopik incelemenin avantajları, hem kısa sürede sonuçlanması hem de uygulama kolaylığıdır. Bu nedenle direkt mikroskopik inceleme birçok rutin tanı laboratuvarında paraziter enfeksiyonların tanısında kullanılmaktadır. Farklı günlerde alınan üç ayrı örneğin değerlendirilmesi mikroskopik tanıdaki başarıyı artırmaktadır (17). Bununla birlikte, ELISA, immünokromatografik kart testler ve moleküler yöntemler de tanıda kullanılmaktadır (18).

Çalışmada tıp fakültesi hastanesi parazitoloji laboratuvarına Ocak 2018-Aralık 2021 tarihleri arasında başvuran kişilerde saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımının incelenmesi amaçlanmıştır.

## YÖNTEMLER

Çalışmanın yapılabilmesi için Fırat Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'ndan etik kurul izni (2023/01-08) alındı.

Ocak 2018-Aralık 2021 tarihleri arasında tıp fakültesi hastanesi parazitoloji laboratuvarına başvuran toplam 24,432 hastaya ait parazitolojik tetkik raporları bağırsak parazitlerinin varlığı açısından retrospektif olarak incelendi. Çalışmamız retrospektif olduğu için hasta onay bilgisine gerek duyulmadı.

Dışkı örnekleri önce makroskopik ardından mikroskopik olarak incelendi. Mikroskopik inceleme için serum fizyolojik ve lugol solüsyonu kullanılarak hazırlanan preparatlar  $\times 10$ ,  $\times 40$  ve  $\times 100$  objektif büyütmede ışık mikroskopunda incelendi. Protozoon varlığı açısından şüphelenilen örnekler trikrom boyama yöntemi ile boyanarak değerlendirmeye alındı. Alınan selofan bant örnekleri ise mikroskopta  $\times 10$  ve  $\times 40$  büyütmede direkt olarak incelendi. *Blastocystis* apatojen olarak değerlendirildi.

## İstatistiksel Analiz

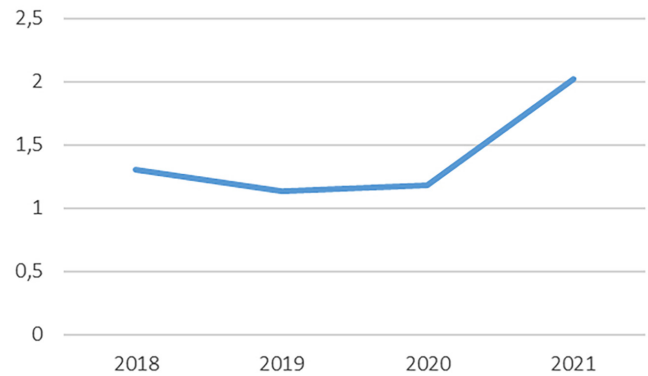
Çalışmada elde edilen bulguların istatistiksel analizlerinde SPSS 23.0 programı kullanıldı, niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı. Çalışmada  $p < 0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Ocak 2018-Aralık 2021 tarihleri arasındaki dört yıllık dönemde dışkı ve selofan bant örnekleri incelenen toplam 24,432 (erkek: 12,887, %52,8; kadın: 11,545, %47,2) hasta çalışmaya dahil edildi (Tablo 1). İncelenen 24,432 hastanın 335'inde (%1,4) bağırsak parazitine rastlandı. Parazit saptanma oranlarının yıllara göre dağılımı incelendiğinde en yüksek oranın 2021 en düşük oranının ise 2019 yılına ait olduğu görüldü (Şekil 1). Parazit tespit edilen hastaların %58,1'inin erkek, %41,9'unun ise kadın olduğu görüldü. Parazit görülme sıklığı erkek hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ). Hastaların yaş ortalamaları 31,19 (0-89 yaş arasında) olarak saptandı. Parazit saptanma oranlarının aylara göre dağılımı incelendiğinde en fazla ve en az parazit saptanan aylar sırasıyla Nisan ve Ekim aylarıydı.

**Tablo 1.** 2018-2021 yılları arası incelenen dışkı örneklerinin cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	İncelenen olgu	Pozitif olgu
	n (%)	n (%)
Kadın	11,545 (%47,25)	31 (%41,9)
Erkek	12,887 (%52,75)	43 (%58,1)



**Şekil 1.** Parazit saptanan olguların yıllara göre dağılım yüzdesi

Mevsimsel dağılım incelendiğinde intestinal parazit en fazla ilkbahar, en az ise sonbahar mevsiminde olduğu görüldü (Şekil 2). En sık tespit edilen parazit *G. intestinalis* (n=149, %46,6) iken, ardından *Entamoeba coli* (n=123, %38,5) ve *Enterobius vermicularis* (n=28, %8,6) gelmekteydi (Tablo 2).

## TARTIŞMA

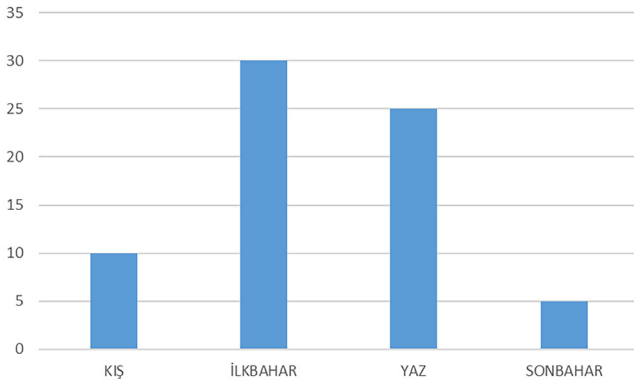
İntestinal parazitik enfeksiyonlar (İPE) dünyada ve ülkemizde önemini koruyan önemli halk sağlığı sorunlarından biridir (17). İPE dağılımını toplumun eğitim düzeyi, sosyo-ekonomik durumu, altyapı, iklim gibi çeşitli faktörler etkilemektedir (19). Bu enfeksiyonlardan korunmak ve tedavi stratejilerini belirlemek için epidemiyolojik verilere ihtiyaç vardır (20).

Ülkemizde parazitlerinin görülme oranları yıllara ve bölgelere göre değişkenlik göstermektedir. Ülkemizde 1978 yılında bağırsak parazitlerinin bölgesel yaygınlığı ile ilgili yapılan çalışmada Marmara Bölgesi'nde %10-34, Karadeniz Bölgesi'nde %54-94, Ege Bölgesi'nde %12-40, Akdeniz Bölgesi'nde %55-80, İç Anadolu Bölgesi'nde %50-75, Doğu Anadolu Bölgesi'nde %60-94 ve Güneydoğu Bölgesi'nde bölgesinde %64-96 oranlarında intestinal parazitler enfeksiyonların görüldüğü bildirilmiştir. Ülkemizin batısından doğusuna gittikçe parazitler enfeksiyonların görülme oranının arttığını bulmuşlardır (21). İzmir'de Bayındır Bilman ve Yetik'in (22) 2014-2018 yılları arasındaki bağırsak parazitlerinin epidemiyolojisi çalışmalarında 24,651 Gaita örneği incelenmiş %4,9 oranında intestinal parazit saptamışlardır. Sivas'ta Polat ve

ark.'nın (16) yaptığı çalışmada 5057 Gaita örneği incelenmiş 532 (%10,5) olguda bağırsak paraziti saptanmıştır. Biz çalışmamızda intestinal parazit oranını %1,37 olarak tespit ettik.

Hastanemizde 1988-1990 yılları arasında yapılan bir çalışmada %28,6, 1997-2001 yılları arasında yapılan diğer çalışmada ise %16,09 oranında bağırsak paraziti saptandığı bildirilmiştir (23,24). Aralık 2004 ve Kasım 2005 tarihleri arasında yine hastanemizde yapılan bir çalışmada 1,218 Gaita örneği incelenmiş 210'unda (%17,24) bir veya birden fazla parazit saptanmıştır (25). Bizim yaptığımız çalışmadaki intestinal parazit görülme oranının (%1,37) hastanemizde önceki yıllarda yapılan çalışmalara göre daha düşük olması altyapı sorunlarının düzeltilmesi, halkın artan sosyo-kültürel seviyesi, halkın hijyen kurallarına uyması olduğunu düşünmekteyiz.

Sivas'ta Ocak 1993-Aralık 2006 tarihleri arasındaki bağırsak parazitlerinin dağılımının incelendiği çalışmada patojen parazit dağılımında en sık *Giardia intestinalis* (%12,4) ikinci sıklıkta *Taenia saginata* (%4,1) tespit etmişlerdir. Yıllara göre intestinal parazit dağılımında düşüş olduğunu bulmuşlar; bu düşüşün yıllar içinde bölgenin altyapısındaki olumlu gelişmelerden ve halkın sosyo-kültürel düzeyindeki artıştan kaynaklandığı sonucuna varmışlardır (26). İstanbul'da yapılan bir çalışmada Ocak 2012-Aralık 2018 tarihleri arasında laboratuvara başvuran hastaların parazitolojik inceleme sonuçları değerlendirilmiş en sık patojen olarak *Giardia intestinalis* ve *Enterobius vermicularis* saptamışlardır. Yıllara göre dağılımın incelendiği çalışmada bağırsak parazit enfeksiyonlarının görülme oranlarının yıllara göre azalma eğilimi gösterse de günümüzde halen önemini korumaya devam etmekte olduğu sonucuna varmışlardır (16). Bölgemizde yapılan 2011-2020 yıllarında bağırsak parazitlerinin incelendiği çalışmada intestinal parazit etkeni olarak en sık *Giardia intestinalis* (%31,9) saptamışlardır (27). Biz de çalışmamızda önceki çalışmaları destekler şekilde intestinal parazit olarak en sık *Giardia intestinalis* (%46,6) saptadık. Yapılan başka bir çalışmada en sık saptanan intestinal parazitlerin *G. intestinalis* (%43,3) ve *Taenia spp.* (%36,4) olduğu görülmüştür (26). Özellikle patojen bağırsak parazitlerinin ele alındığı Sivas'ta yapılan bir çalışmada, protozoonlardan *G. intestinalis* (%6,9), helmintlerden ise *E. vermicularis*'in (%10,8) en sık intestinal parazit olduğu saptanmıştır (29). Yaptığımız çalışmada en sık *G. intestinalis* (%46,6), ikinci sırada *E. coli* (%38,5) görüldüğünü saptadık. En sık saptadığımız üçüncü sırada yer alan *E. vermicularis*'in (%8,6) görülme nedeninin ise tuvalet sonrası kişisel hijyen eksikliğinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.



Şekil 2. Parazit saptanan olguların mevsimlere göre dağılım yüzdesi

Tablo 2. Yıllara göre saptanan parazitlerin dağılımı

Etken	2018		2019		2020		2021	
	Sayı (n)	%	Sayı (n)	%	Sayı (n)	%	Sayı (n)	%
<i>Entamoeba coli</i>	33	33,3	43	44,5	22	47	29	32,2
<i>Giardia intestinalis</i>	56	56,7	48	49,5	15	32	36	39,1
<i>Enterobius vermicularis</i>	6	6	1	1	0	0	21	23
<i>Taenia spp.</i>	3	3	2	2	0	0	2	2,1
<i>Hymenolepis nana</i>	0	0	1	1	1	2,1	1	1
<i>Chilomastix mesnili</i>	0	0	1	1	6	12,6	3	3,2
<i>Dicrocoelium dentricum</i>	0	0	0	0	1	2,1	0	0
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	1	1	1	1	2	4,2	0	0
Toplam (n)	99	100	97	100	47	100	92	100

Yaptığımız çalışmada en sık parazit saptadığımız ay Nisan ayı, en sık mevsim ilkbahardır. Yapılan bir çalışmada, parazitlerin daha sıklıkla Şubat-Haziran ayları arasında ve Ağustos ayında saptandığı bildirilmiştir (30). Yine Tamer ve ark.'nın (31) araştırmasında ise parazitlerin yaz ve ilkbahar aylarında artış gösterdiği rapor edilmiştir. Bunun aksine Güler ve Süer'in (32) yaptığı çalışmada, aylara ve mevsimlere göre intestinal parazitlerin dağılımı; Ekim ve Kasım aylarında daha yüksek oran saptanmış ve sonuç olarak intestinal parazitlerin en sık sonbahar aylarında görüldüğü tespit edilmiştir. İntestinal parazit görülme oranındaki bu farklılığın çalışmaların yapıldığı bölgelerin iklim farklılığından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Bazı çalışmalarda intestinal parazit görülme oranının cinsiyetler arasında anlamlı fark olduğu saptanmıştır. Araştırma ve uygulama hastanesinde 2003-2007 yılları arasında saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımını inceledikleri çalışmada parazit yönünden değerlendirilen pozitif örneklerin %7,3'ünün erkekler, %5,6'sının ise kadınlara ait olduğu saptanmış olup cinsiyete göre parazit saptanma sıklığı konusunda istatistiksel bir yorum yapılmamıştır (31). 2011-2015 yılları arasında incelenen dışkı örneklerinde paraziter enfeksiyon sıklığının araştırıldığı çalışmada pozitiflik oranı kadınlarda (%50,5) erkeklerden (%49,5) daha yüksek bulunmuştur (11). Yaptığımız bu çalışmada ise erkeklerde (%58,2) kadınlardan (%41,8) daha fazla intestinal parazit pozitifliği tespit edilmiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p \leq 0,05$ ).

Türkiye'nin Elazığ ilinde 24 Ocak 2020 tarihinde meydana gelen ve başta Elazığ ve Malatya olmak üzere tüm Doğu Anadolu Bölgesi'ni etkisi altına alan merkez üssü Elazığ'ın Sivrice ilçesi olan depremde 44 kişi öldü ve yaklaşık 1607 kişi hafif ve orta derecede yaralandı (33). Bizim çalışmamızda da yıllara göre intestinal parazit görülme oranı düşerken ilimizde 2020 yılında yaşanan deprem sonucunda altyapı ve barınma sorunu ortaya çıkmıştır. Aynı zamanda kişisel hijyene de dikkat edilemeyen bu dönemden sonra intestinal parazit oranı artmıştır. Bunun altyapı, barınma ve hijyen eksikliğinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Haiti'de yapılan bir çalışmada Haiti'deki ilk kolera olgularının ülke tarihinin en yıkıcı depremlerinden birini yaşamasından dokuz ay sonra görüldüğü bildirilmiştir. 2010 Haiti depremi sonrası kolera ve diğer akut ishal etkenlerinin araştırıldığı bu çalışmada bölgedeki diğer kolera salgınlarıyla karşılaştırıldığında, Haiti salgını bölgedeki en şiddetli salgın olarak kabul edilen Peru'daki salgından üç kat daha yaygın olarak bulmuşlardır (34).

Yıllara göre parazit dağılımına baktığımızda 2018 yılında %1,3; 2019 yılında %1,13; 2020 yılında %1,18; 2021 yılında ise %2,03 olarak saptadık. İntestinal parazit görülmedeki bu artışın bölgemizde yaşanan depremden kaynaklı altyapı ve barınma sorunlarından kaynaklandığını düşünüyoruz.

### Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmamızın sınırlılıkları *Blastocystis* apatojen olarak değerlendirildiği için örnek incelemelerinde dikkate alınmamıştır. Bu yüzden retrospektif olarak hasta dosyalarını taradığımız bu çalışmada *Blastocystis* paraziti verisine ulaşamamıştır. Deprem sonrası *Blastocystis* parazitinin intestinal enfeksiyon oranı hakkında veriler verilememiştir.

## SONUÇ

Sonuç olarak yapılan çalışmalarda ve bizim çalışmamızda da olduğu gibi bölgelerin altyapısındaki düzelmeler, halkın artan sosyo-kültürel seviyesiyle intestinal parazit görülme oranını azalmaktadır. Ancak meydana gelen doğal afetler intestinal parazit görülme oranını etkileyebilmektedir. Bununla ilgili daha fazla epidemiyolojik çalışmaların yapılması afet sonrası yönetime yol göstermek için önemli olduğunu düşünmekteyiz. Aynı zamanda meydana gelen deprem sonrası geçici sosyal altyapının kurulması olarak tanımlanan ve normal yaşama geçinceye kadar barınma, beslenme ve altyapı hizmetlerine ait geçici çözümlerin yer aldığı iyileştirme aşamasına ivedilikle geçilmesi, bu aşamaların iyileştirilmesi intestinal parazit sıklığını azaltabileceği sonucuna varmaktayız.

### \* Etik

**Etik Kurul Onayı:** Çalışmanın yapılabilmesi için Fırat Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'ndan etik kurul izni (2023/01-08) alındı.

**Hasta Onayı:** Çalışmamız retrospektif olduğu için hasta onay bilgisine gerek duyulmadı.

### \*Yazarlık Katkıları

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

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

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

## KAYNAKLAR

- Daryani A, Sharif M, Nasrolahei M, Khalilian A, Mohammadi A, Barzegar G. Epidemiological survey of the prevalence of intestinal parasites among schoolchildren in Sari, northern Iran. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2012; 106: 455-9.
- Chissaque A, de Deus N, Vubil D, Mandomando I. The epidemiology of diarrhea in children under 5 years of age in Mozambique. *Curr Trop Med Rep* 2018; 5: 115-24.
- Hotez PJ, Fenwick A, Savioli L, Molyneux DH. Rescuing the bottom billion through control of neglected tropical diseases. *Lancet* 2009; 373: 1570-5.
- Gyang VP, Chuang TW, Liao CW, Lee YL, Akinwale OP, Orok A, et al. Intestinal parasitic infections: current status and associated risk factors among school aged children in an archetypal African urban slum in Nigeria. *J Microbiol Immunol Infect* 2019; 52: 106-13.
- UNICEF. The state of the world's children 2008: Child survival. Vol. 8. Unicef; 2007.
- Zemene T, Shiferaw MB. Prevalence of intestinal parasitic infections in children under the age of 5 years attending the Debre Birhan referral hospital, North Shoa, Ethiopia. *BMC Res Notes* 2018; 11: 58.
- Ojha SC, Jaide C, Jinawath N, Rotjanapan P, Baral P. Geohelminths: public health significance. *J Infect Dev Ctries* 2014; 8: 5-16.
- Barry MA, Weatherhead JE, Hotez PJ, Woc-Colburn L. Childhood parasitic infections endemic to the United States. *Pediatr Clin* 2013; 60: 471-85.
- Babür C, Kılıç S, Özkan TA, Esen B. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı parazitoloji laboratuvarında 1995-2000 yıllarında saptanan bağırsak parazitlerinin değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitoloji Derg* 2002; 26: 286-91.
- Taş Cengiz Z, Yılmaz H, Beyhan YE, Çiçek M. A Comprehensive Retrospective Study: Intestinal Parasites in Human in Van Province. *Türkiye Parazit Derg* 2019; 43: 70-3.

11. Tüzemen NÜ, Alver O, Ener B. Investigation of Parasitic Infection Rate in Stool Samples Submitted to Uludag University Parasitology Laboratory Between 2011-2015. *FLORA* 2017; 22: 160-5.
12. Langbang D, Dhodapkar R, Parija SC, Premarajan K, Rajkumari N. Prevalence of intestinal parasites among rural and urban population in Puducherry, South India-A community-based study. *J Fam Med Prim Care* 2019; 8: 1607-12.
13. Uysal HK, Akgül Ö, Purisa S, Öner YA. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi'nde 25 Yıllık İntestinal Parazit Prevalansı: Retrospektif Bir Çalışma. *Türkiye Parazitol Derg* 2014; 38: 97-101.
14. Cengiz Z, Beyhan Y, Çiçek M, Yılmaz H. Bir üniversite hastanesi parazitoloji laboratuvarında belirlenen intestinal ve hepatik parazitler. *Dicle Tıp Derg* 2015; 42: 350-4.
15. Okyay P, Ertug S, Gultekin B, Onen O, Beser E. Intestinal parasites prevalence and related factors in school children, a western city sample-Turkey. *BMC Public Health* 2004; 4: 64.
16. Polat E, Özdemir S, Sirekbasan S. İstanbul'da Bir Üniversite Hastanesine başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı: Yedi yıllık retrospektif analiz. *Türkiye Parazitol Derg* 2020; 44: 139-42.
17. World Health Organization. Helminth control in school-age children: a guide for managers of control programmes. World Health Organization; 2011.
18. Garcia LS, Arrowood M, Kokoskin E, Paltridge GP, Pillai DR, Procop GW, et al. Practical guidance for clinical microbiology laboratories: laboratory diagnosis of parasites from the gastrointestinal tract. *Clin Microbiol Rev* 2018; 31: e00025-17.
19. Pektaş B, Gökmen A, Aşkın İ, Biten A, Keşli R. Three years of distribution of intestinal parasites in an Education and Research Hospital: A retrospective study. *JCEI* 2015; 6: 269-73.
20. Gülmez D, Sarıbaş Z, Akyön Y, Ergüven S. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi parazitoloji laboratuvarı 2003-2012 yılları sonuçları: 10 yıllık değerlendirme. *Türkiye Parazitol Derg* 2013; 37: 97-101.
21. Çolak H. Türkiye'de bağırsak parazitlerinin bölgesel yaygınlığı. *Mikrobiyol Bülteni* 1979; 13: 115-27.
22. Bayındır Bilman F, Yetik M. Bağırsak parazitlerinin epidemiyolojisi: Beş yıllık değerlendirme. *İstanbul İKSST* 2019; 11: 184-9.
23. Ay S, Yılmaz M, Aşçı Z, Barlas H, Yücel A. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg* 1991; 15: 88-91.
24. Kaplan M, Kuk S, Gödekmerdan A, Demirdağ K, Kalkan A. 1997-2001 yılları arasında fırat üniversitesi tıp fakültesi parazitoloji laboratuvarında dışkının parazitolojik inceleme sonuçları. *Türkiye Parazitol Derg* 2002; 26: 208-11.
25. Salih K, Erensoy A, Keleştemur N. Son bir yıl içinde Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezi Parazitoloji laboratuvarında koproparazitolojik inceleme sonuçları. *Fırat Tıp Derg* 2006; 11: 113-5.
26. Ataş AD, Alim A, Ataş M. Sivas Belediyesi Çevre-Gıda ve Tıbbi Tahlil Laboratuvarına 1993-2006 yıllarında başvuran hastalarda bağırsak parazit dağılımlarının incelenmesi. *Türkiye Parazitol Derg* 2008; 32: 59-64.
27. Akpolat N, Çakır F, Çiçek M, Bilden A. 2011-2020 Yılları Arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne Başvuran Hastalarda Bağırsak Parazitlerinin Dağılımının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitol Derg* 2022; 46: 119-23.
28. Yula E, Devci Ö, İnci M, Tekin A. Bir Devlet Hastanesinde intestinal parazit dağılımı ve etiyolojik analiz raporu. *J Clin Exp Investig* 2011; 2: 74-9.
29. Ataş AD. The Distribution of Pathogenic Intestinal Parasites in Sivas Cumhuriyet University Faculty of Medicine Research and Application Hospital between 2006-2018. *Türkiye Parazitol Derg* 2020; 44: 25-30.
30. Inceboz T, Usluca S, Over L, Yalçın G, Tuncay S, Ozkoç S. Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'ne 2005-2009 Yılları Arasında Başvuran Olgularda Blastocystis hominis Epidemiyolojisinin Araştırılması [The epidemiology research of Blastocystis hominis in the Dokuz Eylül University Medical Faculty Hospital between 2005 and 2009]. *Türkiye Parazitol Derg* 2011; 35: 72-6. Turkish.
31. Tamer GS, Calişkan S, Willke A. Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarına Başvuran Hastalarda Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı [Distribution of intestinal parasites among patients who presented at the parasitology laboratory of the Kocaeli University School of Medicine Hospital]. *Türkiye Parazitol Derg* 2008; 32: 126-9. Turkish.
32. Güler E, Süer K. Epidemiology of Intestinal Parasites in a University Hospital in Northern Cyprus: A 4-year Retrospective Experience. *Türkiye Parazitol Derg* 2021; 45: 128-32. English.
33. [https://tr.wikipedia.org/wiki/2020\\_Elaz%C4%B1%C4%9F\\_depremi](https://tr.wikipedia.org/wiki/2020_Elaz%C4%B1%C4%9F_depremi) [Internet]. [cited 2023 Sep 18]. Available from: [https://tr.wikipedia.org/wiki/2020\\_Elaz%C4%B1%C4%9F\\_depremi](https://tr.wikipedia.org/wiki/2020_Elaz%C4%B1%C4%9F_depremi)
34. Charles M, Delva GG, Boutin J, Severe K, Peck M, Mabou MM, et al. Importance of cholera and other etiologies of acute diarrhea in post-earthquake Port-au-Prince, Haiti. *Am J Trop Med Hyg* 2014; 90: 511-7.



# Sivas'ta İlkokul ve Ortaokul Öğrencilerinde Baş Biti ve Bağırsak Parazitlerinin Araştırılması

## Investigation of Head Lice and Intestinal Parasites in Primary and Secondary School in Sivas

Sevinç Çamdalı<sup>1</sup>, Murat Teke<sup>1</sup>, Mehmet Tugay Eren<sup>1</sup>, Eren Yenidünya<sup>1</sup>, Elif Akyol<sup>1</sup>, Serpil Değerli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

<sup>2</sup>Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

Cite this article as: Çamdalı S, Teke M, Eren MT, Yenidünya E, Akyol E, Değerli S. Investigation of Head Lice and Intestinal Parasites in Primary and Secondary School in Sivas. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2024;48(1):32-8.

### ÖZ

**Amaç:** Bu çalışma ile Sivas ili ilköğretim çağı çocuklarındaki bağırsak paraziti ve baş biti görülme sıklığının araştırılması, iç ve dış parazitlerin birlikte görülmesi arasındaki muhtemel ilişkinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Sivas Karşıyaka İlkokulu, Kılavuz İMKB İlkokulu, Karşıyaka 27 Haziran Ortaokulu olmak üzere Sivas merkezde üç okulda çalışma yürütülmüştür. Çalışmada 6-17 yaş arasında değişen, 294'ü kız ve 269'u erkek olmak üzere toplam 563 çocukta baş biti ve bağırsak parazitlerinin varlığı araştırılmıştır. Sınıf öğretmenleri ve öğrencilere, bağırsak parazitleri ve baş biti, bulaşma ile korunma yolları hakkında bilgiler verilerek, anket uygulanmıştır. Bit taraması yapılırken öğrenciler tarakla muayene edilerek, sirke bulunan örnekler laboratuvarında mikroskop altında incelenmiştir. Çalışmaya katılanlardan alınan ve nativ-lugol, yüzdürme yöntemi ve trikrom boyama yöntemi uygulanan dışkı örnekleri ve selofanbant aynı gün ışık mikroskopunda (x10, x40, x100) incelenmiştir.

**Bulgular:** Baş biti açısından değerlendirilen 563 çocukta 15'inde (%2,6) pozitiflik saptanmıştır. İnceleme sırasında öğrencilerin 11'inde (%1,9) sadece sirke, 4'ünde (%0,7) ise erişkin bit ve nimfler görülmüştür. Çalışmada 269 erkek çocuğun 2'sinde (%0,7) pozitiflik saptanırken, 294 kız çocuğunun 13'ünde (%4,2) pozitiflik saptanmıştır (p<0,05). Dışkı incelemesi sonucunda, *Entamoeba coli* 11 (%1,95), *Giardia intestinalis* 4 (%0,71), *Blastocystis* sp. 14 (%2,48), *Enterobius vermicularis* 8 (%1,42), *Taenia* spp. 2 (%0,35) çocukta saptanmıştır. İki çocukta bit infestasyonu ve *Taenia* spp. (%0,35) birlikteliği gözlemlenmiştir.

**Sonuç:** Sonuç olarak, Sivas ilinde ilköğretim çağı çocuklarında, daha önce ilimizde yapılan çalışmalar dikkate alındığında belirgin bir azalma göze çarpmakla birlikte hala baş biti ve bağırsak parazitleri saptanmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Pediculus capitis, bağırsak parazitleri, prevalans, çocuk

### ABSTRACT

**Objective:** The purpose of this study was to investigate the prevalence of intestinal parasites and head lice in primary school-aged children and to determine a possible relationship between the co-occurrence of ecto-endoparasites

**Methods:** The study were conducted in three schools in the center of Sivas: Sivas Karşıyaka Primary School, Kılavuz İMKB Primary School, and Karşıyaka 27 June Middle School. The presence of head lice and intestinal parasites was investigated in a total of 563 children aged 6 to 17, with 294 girls and 269 boys. Classroom teachers and students were provided with information about intestinal parasites, head lice, and methods of transmission and prevention, and a questionnaire was administered. During the head lice examination, students were inspected with a comb, and samples with nits were examined under a microscope in the laboratory. Cellophane tape and stool samples obtained from the participants were examined on the same day using the native-lugol, flotation, and trichrome staining methods under a light microscope (x10, x40, x100).

**Results:** Five hundred sixty-three children were evaluated for head lice and 15 (2.6%) were found to be positive. During the examination, only nits were found in 11 students (1.9%), and both adult lice and nymphs were seen in 4 students (0.7%). Head lice were found positive in 2 out of 269 boys (0.7%), while 13 out of 294 girls (4.2%) positive (p<0.05). As a result of stool examination in children, *Entamoeba coli* was found in 11 (1.95%), *Giardia intestinalis* in 4 (0.71%), *Blastocystis* sp. in 14 (2.48%), *Enterobius vermicularis* in 8 (1.42%) and *Taenia* spp. in 2 (0.35%). Head lice infestation and *Taenia* spp. were found to coexist in 2 (0.35%) children.

**Conclusion:** In conclusion, although there has been a noticeable decrease in head lice and intestinal parasites among primary school-aged children in Sivas province, these conditions are still present, as evidenced by previous studies conducted in our region.

**Keywords:** Pediculus capitis, intestinal parasites, prevalence, children



Geliş Tarihi/Received: 16.06.2023 Kabul Tarihi/Accepted: 04.12.2023

**Yazar Adresi/Address for Correspondence:** Sevinç Çamdalı, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

**Tel/Phone:** +90 507 043 13 11 **E-Posta/E-mail:** sevinccamdali58@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0009-0006-9236-438X



©Telif hakkı 2024 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

İnsan üzerinde ektoparazitlik yapan, morfolojik olarak birbirinden ayrılamayan ancak yaşadıkları ortam tamamen farklı olan *Pediculus* cinsine ait iki tür, baş biti ve vücut biti, yanı sıra morfolojisi farklı olan kasık biti, olmak üzere toplam üç tür mevcuttur. Baş ve vücut bitleri, *P. humanus capitis* ve *P. humanus corporis* olarak isimlendirilmektedir (1).

Bitlerin dişileri 1,8-2 mm, erkekleri 1-1,5 mm, yumurtaları ise ortalama 0,6 mm boyutlarındadır (2). Bitlerin morfolojik olarak gelişimlerinde biçimi ve yapısı değişmez, yumurtadan çıkan yavrular erişkine benzerler, kanatsızdırlar. *Pediculus*'ların erişkini uzunca bir vücuda sahiptir ve vücutları sırt-karın yönünde yassılaştırılmış şekildedir. Vücutunda ayırt edilebilmesi kolay bir baş kısmına, kısa kaynaşmış bir göğüs kısmına ve oval şekilli belirgin 7 adet segmentli bir abdomen yapısına sahiptir (3).

Baş biti, çocuklar ve ebeveynleri için dünya çapında süregelen bir halk sağlığı problemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Parazitin yaygınlığı ülkeden ülkeye ve aynı ülkenin bölgeleri arasında büyük farklılıklar gösterebilmekte ve genellikle 3 ila 14 yaş arası çocuklarda yaygınlığı daha fazla olmaktadır. İncelenen nüfusun sosyo-ekonomik düzeyi, incelendikleri mevsim, çocukların ve ailelerinin yaşadığı hijyenik koşullar gibi faktörler bu durumu etkilemektedir. Baş bitinin; kreşler, okullar, hapishaneler ve akıl hastaneleri gibi aşırı kalabalık, toplum sağlığı açısından önemli yerlerde hızla yayıldığı bilinmektedir (4).

Bitler, kişisel eşyaların ortak kullanımıyla, aynı yatakta yatmakla ve hatta otobüs, tren koltuklarıyla bir bireyden diğerine bulaşabilmektedir. Kısa kesilen saçlarda saç teması daha nadir olduğu için baş biti infestasyonu kızlara oranla erkeklerde daha az görülmektedir. *P. h. capitis*, insanların baş kısmında özellikle de başın arka bölgelerindeki saçlarda konumlanmaktadır (5).

Aktif infestasyon tanısı, canlı ergin bitin veya nimflerin konağın saçlı derisinde bulunması halidir ve genellikle bu tanı doğrudan çıplak gözle inceleme (inspeksiyon) yöntemi ile yapılmaktadır. Tarak yöntemi baş biti tanısında uygulanan en güvenilir yöntem olarak kabul edilmektedir. Tarama ıslak ya da kuru saç üzerinde uygulanabilmesine rağmen ıslak tarama altın standart olarak bilinmektedir. Taraklar küçük nimfler ve yumurtalarda rahatlıkla elimine edebilir (6).

Bağırsak parazitolojisinin, dünya genelinde enfeksiyon hastalıkları içerisinde son derece önemli olduğu bilinmektedir. Beslenme koşullarının uygun olmadığı, sosyo-ekonomik düzeyin düşük, hijyenik koşullara uyumun az olduğu, gelişmekte olan ülkelerde daha

Bu çalışmada Sivas il merkezindeki üç ilköğretim okulunda okuyan çocuklarda baş biti infestasyonunun yaygınlığı, baş biti istilası ile bağırsak protozoon ve helmint parazitlerinin birlikteliği arasında korelasyon olasılığı araştırılmıştır.

## Amaç

Bu araştırma ile Sivas ilindeki ilköğretim çağı çocuklarında intestinal parazitlerin ve ektoparazitlerin prevalansının saptanması, endo ve ekto parazitlerin birlikte görülme durumları arasındaki muhtemel ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca sosyo-demografik özelliklerin, beslenme alışkanlıklarının, yaşam koşullarının da parazitlerin görülme durumu üzerine etkisinin araştırılması hedeflenmiştir.

## YÖNTEMLER

Okul seçimi yapılırken önceki yıllarda bit salgını olduğu duyumunun alındığı okullar seçildi. Seçilen okullar:

- Sivas Karşıyaka İlkokulu
- Kılavuz İMKB İlkokulu
- Karşıyaka 27 Haziran Ortaokulu

Tanımlayıcı türdeki araştırmanın evreni Sivas merkezde yer alan ilkökuller ve ortaokullarda okuyan 563 öğrenciden oluşmaktadır.

Çalışmanın yapılabilmesi için anabilim dalı tarafından İl Millî Eğitim Müdürlüğü ve Valilik ile gerekli yazışmalar yapılmış, seçilen okullarda sağlık taramalarının yapılabilmesi için gerekli izin alınmıştır. Okullara gitmeden okul müdürleri ile görüşme yapılarak uygun gün ve saatler belirlenmiştir.

İlkokul ve ortaokul öğrencilerinin düzeylerine göre ayrı ayrı sunumlar hazırlanmıştır. Sınıf öğretmenleriyle öğrencilerin uygun oldukları bir yerde bağırsak parazitleri ve baş bitinin bulaşması ile bunlardan korunma yolları hakkında bilgiler verilmiştir.

Üzerinde etiketlerin bulunduğu dışkı kutusu, selofan bant (nasıl yapılacağıının bulunduğu bir not ile birlikte), "anket formları sınıf öğretmenlerine teslim edilmiş; sınıf öğretmenlerinden öğrencilerin başarı durumunu 1'den 5'e kadar değerlendirmeleri istenmiştir.

Bit taraması ile ilgili olarak bilgisayar odası veya boş bir sınıfa öğrenciler teker teker alınarak tarakla inceleme yapılmıştır. Erişkin bitler tarakla toplanarak üzeri etiketli alkollü tüplere alınmıştır. Sirkeler görüldüğünde sirkeli saç telleri makas ile kesilerek, kağıt içerisine konup üzeri etiketlenmiştir.

Ertesi gün dışkı ve selofan bant örnekleri tarafımızdan alınıp; parazitoloji anabilim dalı laboratuvarına getirilerek, nativ-lugol, çoğaltma yöntemleri, trichrome boyama yöntemi uygulanarak inceleme yapılmıştır.

Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 11.07.2017 tarihinde 2017-07/16 karar numarası ile onay alınmıştır. Çalışma yaptığımız bireylerden hasta onay formu uygulanarak araştırma yapılmıştır.

## İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen veriler SPSS (ver:22.0) programına yüklenmiştir. Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde parametrik test varsayımları yerine getirildiğinden (Kolmogorov-Smirnov) bağımsız gruplarda iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi uygulanmıştır. Sayımla elde edilen verilerin değerlendirilmesinde 2x2 düzenlerde ki-kare testi, çok gözlü düzenlerde ki-kare testi uygulanmış ve yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

## BULGULAR

Toplam 563 çocuk baş biti ve bağırsak parazitleri yönünden incelenmiştir. Bu çocukların 15'inde (%2,6) bit infestasyonu saptanmıştır. Öğrencilerin 11'inde (%1,9) sirke, 4 (%0,7) öğrencide ise erişkin bit ve nimfler saptanmıştır. Çocukların 38'inde (%6,6) bağırsak parazitleri saptanmıştır.

Tarakla saç tarama yöntemiyle tarama yapılan çocuklar arasında baş biti saptanıp saptanmama durumunun cinsiyet ve yaşa göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir. Tarama yapılan öğrencilerde baş biti görülme sıklığı cinsiyet yönünden istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $X^2: 6,96 p=0,00$ ).

Tarama yapılan çocuklar arasında baş biti saptanıp saptanmama durumunun gelir düzeyi (TL), kişi başına düşen oda sayısı, aile kişi sayısı, başarı durumuna göre dağılımı Tablo 2'de özetlenmiştir. Tarama yapılan öğrencilerde baş biti görülme durumunun gelir düzeyi (TL), kişi başına düşen oda sayısı, aile kişi sayısına göre dağılımı istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aradaki fark önemsiz bulunmuştur.

Tarama yapılan çocuklar arasında baş biti saptanıp saptanmama durumunun kilo ortalaması, boy ortalaması, başarı durumuna göre dağılımı Tablo 3'te özetlenmiştir. Tarama yapılan çocuklarda baş biti görülme durumu arasında kilo ortalaması, boy ortalaması, başarı durumu karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ( $p > 0,05$ ).

Tarama yapılan çocuklar arasında baş biti saptanıp saptanmama durumunun saç tipi, saç uzunluğu, saç yapısı, parazit bulunma durumuna göre dağılımı Tablo 4'te özetlenmiştir. Yapılan çalışmada çocuklar arasında baş biti görülme durumunun saç tipi, saç uzunluğu durumu karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı fakat saç yapısı

karşılaştırıldığında ise aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ( $X^2: 14,9$ ) ( $p=0,00$ ).

Dışkı ve selofan bant örnekleri mikroskopik olarak inceleme yapılan çocuklar arasında bağırsak paraziti saptanıp saptanmama durumunun cinsiyet ve yaşa göre dağılımı Tablo 5'te sunulmuştur. Çalışmamızda cinsiyete göre, bağırsak paraziti görülme durumu istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aradaki farkın anlamlı olmadığı görülmüştür ( $X^2: 1,64$ ) ( $p=0,19$ ). Bağırsak paraziti görülme durumu ile yaş karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ( $X^2: 6,50$ ) ( $p=0,01$ ).

Dışkı ve selofan bant örnekleri mikroskopik olarak incelenen çocuklar arasında bağırsak paraziti saptanıp saptanmama durumunun gelir düzeyi ve oda sayısına göre dağılımı Tablo 6'da özetlenmiştir. Bağırsak paraziti görülme durumu ile gelir düzeyi ve oda sayısı karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur.

Dışkı ve selofan bant örnekleri mikroskopik olarak incelenen çocuklar arasında baş biti saptanıp saptanmama durumunun

**Tablo 1.** Çocuklar arasında baş biti saptanıp saptanmama durumunun cinsiyet ve yaşa göre dağılımı

Özellikler		Bit yok	Bit var	İstatistiksel analiz
Cinsiyet S (%)	Kız	294 (95,8)	13 (4,2)	$x^2=6,96$ $p=0,00$
	Erkek	269 (99,3)	2 (0,7)	
Yaş S (%)	6-12	461 (97,3)	13 (2,7)	$x^2=0,22$ $p=0,63$
	13-17	102 (98,1)	2 (1,9)	

S: Sayı

**Tablo 2.** Çocuklar arasında baş biti saptanıp saptanmama durumunun gelir düzeyi (TL), kişi başına düşen oda sayısı, aile kişi sayısı, başarı durumuna göre dağılımı

Özellikler		Bit yok	Bit var	İstatistiksel analiz
Gelir düzeyi (TL) S (%)	1400 altı	213 (96,8)	7 (3,2)	$x^2=0,48$ $p=0,78$
	1400-2400	269 (97,8)	6 (2,2)	
	2400 üstü	67 (97,1)	2 (2,9)	
Kişi başına düşen oda sayısı S (%)	<0,6	119 (98,3)	2 (1,7)	$x^2=0,61$ $p=0,43$
	$\geq 0,6$	427 (97,0)	13 (3,0)	
Aile kişi sayısı S (%)	>6	78 (98,7)	1 (1,3)	$x^2=0,66$ $p=0,41$
	$\geq 0,6$	478 (97,2)	14 (2,8)	

S: Sayı

**Tablo 3.** Çocuklar arasında baş biti saptanıp saptanmama durumunun kilo ortalaması, boy ortalaması, başarı durumuna göre dağılımı

Özellikler		Bit yok	Bit var	İstatistiksel analiz
Kilo				
Ortalama $\pm$ SS		32,4 $\pm$ 12,7	29,7 $\pm$ 11,5	t=0,75 p=0,45
Boy				
Ortalama $\pm$ SS		137,2 $\pm$ 16,0	133,6 $\pm$ 17,9	t=0,70 p=0,48
Başarı durumu S (%)	Çok kötü	177 (96,7)	6 (3,3)	$x^2=4,26$ p=0,37
	Kötü	101 (96,2)	4 (3,8)	

S: Sayı, SS: Standart sapma

bağırsak parazit türlerine göre dağılımı Tablo 7'de özetlenmiştir. Dışkı ve selofan bantı incelenen 563 çocuktan 14'ü erkek ve 24'ü kız olmak üzere 38'inde (%1,4) bağırsak paraziti saptanmıştır. Bit infestasyonu yokluğunda, *Entamoeba coli* 11 (%1,95), *Giardia intestinalis* 4 (%0,71), *Blastocystis* sp. 14 (%2,48), *Enterobius vermicularis* 8 (%1,42), *Taenia* spp. 2 (%0,35) çocukta saptanmıştır. İki çocukta bit infestasyonu ve *Taenia* spp. (%0,35) birlikteliği saptanmıştır.

Parazit görülme sıklığı karşılaştırıldığında, 6-12 yaş grubu (%7,6) ve 13-17 yaş grubu (%1,0) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p=0,01$ ) (Tablo 5).

## TARTIŞMA

Ülkemizde ilköğretim öğrencilerinde pediculosis ve bağırsak parazitleri prevalansı ile ilgili olarak yapılmış oldukça fazla sayıda araştırma bulunmaktadır. Bu araştırmalardan elde edilen veriler birçok etkene bağlı olarak farklılık göstermektedir. Araştırma yapılan ilköğretim okullarının değişik bölgelerde bulunması, okullara köyden taşınmalı olarak öğrencilerin gelip gelmemesi, bölgenin göç alıp almaması, okulların tuvalet ve genel temizliği, eğitim veren öğretmenlerin ve ailelerin bilgi düzeyi, öğrencilerin yılda bir düzenli olarak yapılması önerilen sağlık muayenelerini olup olmaması, sınıfta oturma düzeni, sosyo-kültürel ve yaşam şartlarının değişmesi bu farklılığın nedenlerinden bazıları olarak sayılabilir.

**Tablo 4.** Çocuklar arasında baş biti saptanıp saptanmama durumunun saç tipi, saç uzunluğu, saç yapısı, parazit bulunma durumuna göre dağılımı

Özellikler		Bit yok	Bit var	İstatistiksel analiz
Saç tipi S (%)	Kalın	196 (98,5)	3 (1,5)	$x^2=1,48$ $p=0,22$
	İnce	361 (96,8)	12 (3,2)	
Saç uzunluğu S (%)	Uzun	402 (97,1)	12 (2,9)	$x^2=0,44$ $p=0,50$
	Kısa	155 (98,1)	3 (1,9)	
	Düz	378 (99,0)	4 (1,0)	
Saç yapısı, S (%)	Dalgalı	160 (93,6)	11 (6,4)	$x^2=14,09$ $p=0,00$
	Kıvrıkcık	22 (100,0)	0 (0,0)	
Parazit bulunma durumu S (%)	Parazit var	527 (97,6)	13 (2,4)	$x^2=1,14$ $p=0,28$
	Parazit yok	36 (94,7)	2 (5,3)	

**Tablo 5.** Çocuklar arasında bağırsak paraziti görülme durumunun cinsiyet ve yaşa göre dağılımı

Özellikler		Parazit yok	Parazit var	İstatistiksel analiz
Cinsiyet S (%)	Kız	283 (92,2)	24 (7,8)	$x^2=1,64$ $p=0,19$
	Erkek	257 (94,8)	14 (5,2)	
Yaş S (%)	6-12	437 (92,2)	37 (7,8)	$x^2=6,50$ $p=0,01$
	13-17	103 (99,0)	1 (1,0)	

**Tablo 6.** Çocuklar arasında bağırsak paraziti saptanıp saptanmama durumunun gelir düzeyi (TL) ve oda sayısına göre dağılımı

Özellikler		Parazit yok	Parazit var	İstatistiksel analiz
Gelir düzeyi (TL) S (%)	1400 altı	201 (91,4)	19 (8,6)	$x^2=3,45$ $p=0,17$
	1400-2400	262 (95,3)	13 (4,7)	
	2400 üstü	63 (91,3)	6 (8,7)	
Oda sayısı S (%)	>4	77 (95,1)	4 (4,9)	$x^2=0,38$ $p=0,53$
	≤4	454 (93,2)	33 (6,8)	

**Tablo 7.** Çocuklar arasında baş biti saptanıp saptanmama durumunun bağırsak parazit türlerine göre dağılımı

Parazit türleri	Bit var [S= 15, s (%)]	Bit yok [S= 563, s (%)]	Toplam [S= 578, s (%)]
<i>Entamoeba coli</i>	0 (0,0)	11 (2,0)	11 (1,9)
<i>Giardia intestinalis</i>	0 (0,0)	4 (0,7)	4 (0,7)
<i>Blastocystis</i> sp.	0 (0,0)	14 (2,5)	14 (2,4)
<i>Enterobius vermicularis</i>	0 (0,0)	8 (1,4)	8 (1,4)
<i>Taenia</i> spp.	2 (0,3)	2 (0,3)	4 (0,4)

S: Örnek sayısı, s: Parazit saptanan örnek sayısı



Değerli ve ark. (4) tarafından yatılı bölge ilköğretim okullarında yapılan çalışmada, yaşları 6-15 arasında değişen 93'ü erkek ve 249'u kız olmak üzere toplam 342 çocuktan 35'inde (%10,6) baş biti saptanmıştır. Bit görülme oranının kız öğrencilerinde (%13), erkeklerde (%1,1) göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Karaaslan ve Yılmaz (5) tarafından Van merkezde bulunan ilköğretim okulunda yapılan çalışmada, 385'i kız ve 478'i erkek olmak üzere toplam 863 öğrencinin 198'inde (%22,9) baş biti saptanmıştır. Baş biti prevalansı kız öğrencilerinde 164 (%42,6), erkeklerde 34 (%7,1) olarak bulunmuştur.

Ozçelik ve ark. (10) tarafından Sivas'ta merkeze bağlı bir köyde baş biti yaygınlığı araştırılmış; 74'ü kız, 104'ü erkek olmak üzere toplam 178 öğrencinin 17'sinde (%9,49) baş biti tespit edilmiştir. Çalışmada 74 kız öğrenciden 15'inde (%20,27), 104 erkek öğrenciden sadece 2'sinde (%1,92) baş biti bulunmuştur (10).

Karataş ve ark.'nın (11) yaptığı çalışmada, üç ilköğretim okulundaki 1917 öğrenciden %50,9'u erkeklerden, %49,1'i kızlardan oluşmakta olup, 206 öğrencide (%10,7) *Pediculosis capitis* bildirilmiştir. Baş biti, erkek öğrencilerin 21'inde (%2,2) ve kız öğrencilerin ise 185'inde (%19,6) bulunmuştur (11).

Özkan ve ark. (12) tarafından yapılan Türkiye'de *P. capitis* prevalansı araştırılan bir derlemede, ilkokul öğrencilerinde toplam baş biti görülme oranı %0,3-34,1 arasında bulunmuş olup, prevalans kızlarda %1,3-100, erkeklerde ise %0-21,4 arasında değişmektedir. Çalışmaların evreninin %90,5'i devlet okullarındaki ve neredeyse tamamı ilköğretim okullarındaki öğrencilerden ibarettir. Kızlarda erkeklerle oranla iki kat daha yüksek olduğu görülmüştür ( $p < 0,05$ ).

Bizim çalışmamızda benzer şekilde toplam 563 çocuğun 15'inde (%2,6) *P. capitis* saptanmıştır. Çalışmada 269 erkek çocuğun 2'sinde (%0,7) pozitiflik saptanırken, 294 kız çocuğunun 13'ünde (%4,2) pozitiflik saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). İnceleme sırasında öğrencilerin 11'inde (%1,9) sadece sirke, 4'ünde (%0,7) ise erişkin bit ve nimfler görülmüştür. Baş biti görülme durumu ile cinsiyet istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aradaki fark anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Bazı çalışmalarla (4,5,10-12) benzer şekilde *P. capitis* prevalansı, kız çocuklarında erkek çocuklarına oranla daha yüksek ve anlamlı bulunmuştur. Kız çocuklarında saçların genellikle erkeklerle göre uzun olması, bu saçın daha fazla bakım gerektirmesi, saçların fazla olmasıyla birlikte parazitin gizlenmesi, kızlar arasında sosyal ilişkilerde yakın temasın daha çok olmasına bağlı olarak parazit kızlarda daha yüksek oranlarda saptanmıştır.

Gulgun ve ark. (2) tarafından Kayseri'de çeşitli devlet okullarında *P. capitis* görülme durumu araştırılmış, 5-8 yaşındaki çocuklarda (%9,3), 9-11 (%13,3) veya 12-16 (%15,3) yaşındaki çocuklara göre daha düşük olduğu görülmüştür ( $p < 0,05$ ).

Öncü ve ark. (13) tarafından Türkiye'de bir ildeki ilköğretim okullarında *P. capitis* prevalansı araştırılmış, baş biti görülme durumunun yaşa göre karşılaştırılmasında saçında bit ve sirke bulunan çocukların 61'inin (%45,5) 6-7 yaş grubunda, 10'unun (%7,5) 10-12 yaş grubunda olduğu; bu gruplar arasında prevalans açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir.

Bizim çalışmamızda, baş biti saptanan toplam 15 çocuğun 13'ünün (%2,7) 6-12 yaş aralığında, 2'sinin (%1,9) ise 17-19 yaş aralığında çocuklardan oluştuğu belirlenmiştir. Baş biti görülme durumu yaşa göre istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aradaki

fark anlamsız bulunmuştur ( $p > 0,05$ ). Çocuklarda yaş arttıkça parazitlerle ilgili bilgi düzeyinin artması ve kişisel hijyenin daha iyi duruma gelmesi gibi nedenlerle daha az baş bitine rastlanıldığı düşünülmektedir.

Çetinkaya ve ark. (14) tarafından yapılan çalışmada, baş biti görülme durumu ile anne-babanın eğitimi, ailenin geliri (TL) arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Bizim çalışmamızın sonucunda benzer şekilde baş biti görülme durumu ile ailenin gelir düzeyi (TL) karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir.

Özkan ve ark. (12) tarafından Türkiye'de yapılmış oldukları derlemede, baş bitinin prevalansı ailedeki kişi sayısı  $\geq 6$  olanlarda %8-35,4 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda farklı olarak aile kişi sayısı  $> 6$  olanlarda prevalans %1,3'tür ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p > 0,05$ ).

Beyhan'ın (15) yaptığı çalışmasında, bit infestasyonunun, saç uzunluğu gruplarına göre prevalansına bakıldığında en yüksek oranın %6,2 ile orta saç uzunluğuna sahip öğrencilerde ( $p < 0,05$ ) ve saç şekillerine göre bakıldığında ise dalgalı saçlılar (%7,7) ve kıvrık saçlılar (%7) daha fazla olduğu görülmüştür ( $p < 0,05$ ).

Bizim çalışmamızın sonucunda benzer şekilde, dalgalı saçlılarda 11 (%6,4) ve düz saçlılarda 4 (%1,0) kişide baş biti saptanmıştır. Çocuklar arasında baş biti görülme durumunun; saç tipi, saç uzunluğu ile karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı fakat saç yapısı ile karşılaştırıldığında ise aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ( $p < 0,05$ ).

Kavur ve ark.'nın (16) yaptığı çalışmada, ara ara gerçekleştirilen taramalar sonrasında sunulan bilgilendirmelerle baş biti görülme durumundaki oranın %15,22'den %1,71'e indiği tespit edilmiştir. Bizim çalışmamız ile uyumlu olarak baş biti görülme prevalansımızın, bu çalışmadaki prevalans aralığı içinde olduğu görülmüştür.

Baş biti prevalansı ile ilgili araştırmaların çoğunluğu, genellikle ilköğretim ve kamu okullarında yapılmaktadır. Çocukların okullarda, grup oyunları oynamaları ve birbirlerinin eşyalarını kullanmaları küçük epidemilere sebep olmuştur. Bu epidemiler halk sağlığı uzmanları tarafından dikkate alınmalıdır. Araştırmalarda çocukların aileleri, öğretmenler, yetişkinler, ana okulu ve kreşler, özel okullarında eğitim gören çocuklar, deprem gibi doğal afetler sonrası bireylere ulaşılabilir. Bu gruplar üzerinde çalışmalar yapılmalı, risk grupları ve *P. capitis* yönetimi oluşturulmalıdır (12).

Sivas'ta yapılan çalışmada, hastaneye başvuran toplam 5057 dışkı ve 1313 selofan bant örneği incelenmiş olup, 231'i (%4,5) kadın, 301'i (%5,9) erkek olmak üzere 532 dışkı (%10,5) pozitif ve 34'ü (%2,6) kadın, 48'i (%3,6) erkek olmak üzere 82 selofan bant örneğinde (%6,2) bağırsak paraziti belirlenmiştir. Araştırmanın sonuçları incelendiğinde en çok *G. intestinalis* 189 (%3,7) ve en az *B. hominis* 21 (%0,4) kişide bulunmuştur (8).

Sivas merkez Alahacı köyünde yapılan çalışmanın, ilk aşamasında 189 öğrenciden dışkı örneği alınarak parazit varlığı açısından incelenmiş ve 110'unda (%58,2) bağırsak paraziti belirlenmiştir. Çalışmanın ilk aşamasında en çok *G. intestinalis* 33 (%17,4) ve en az ise *Iodamoeba butshlii* 1 (%0,5) kişide saptanmıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında altı ay sonra en çok *G. intestinalis* 17 (%9,7) ve en az ise *B. hominis* 1 (%0,6) kişide tespit edilmiştir (9).

Malatyalı ve ark. (17) tarafından yapılan çalışma kapsamında toplam 730 öğrencinin 251'inde (%26,2) bağırsak paraziti saptanmış olup, 161'i (%24,1) erkek ve 157'si (%20,1) kadın

olarak belirlenmiştir. Yaşlara göre bağırsak paraziti görülme durumu araştırıldığında en çok 11 yaş grubunda (%25,2) ve en az ise 14-15 yaş grubunda (%14,1) bulunmuştur. Çalışmada dışkı örneklerine bakılarak en çok *G. intestinalis*'in (%13,6) ve en az *T. saginata*'nın (%0,4) olduğu belirlenmiştir. Çocuklardan alınan 683 selofan bant örneğinin 86'sını *E. vermicularis* ve 2'sini *T. saginata* oluşturmaktadır.

Gündoğdu (18) tarafından Sivas'ta yapılan çalışmada yer alan toplam 363 ilköğretim öğrencisinin 103'ünde (%28,3) bağırsak paraziti saptanmıştır. Kurtlapa Köyü İlköğretim Okulu'nda 281 öğrenciden 83'ünde (%29,5), Ozmuş Köyü İlköğretim Okulu'nda ise 82 öğrenciden 20'sinde (%24,4) bağırsak paraziti görülmüştür (18).

Karakuş ve ark. (19) tarafından 2022 yılında yapılan çalışmada 300 öğrenciden %35'inde, kontrol grubundaki 100 öğrenciden ise %17'sinde bağırsak paraziti saptanmıştır. Bağırsak paraziti prevalansı hasta kızların %40,4'ünde, erkeklerin %30,2'sinde bulunurken ( $p>0,05$ ), kontrol grubunda ise kızların %20'sinde ve erkeklerin %14'ünde olduğu belirlenmiştir. Hasta grubunda yapılan incelemeler sonucunda en çok *B. hominis* (%13), en az *G. intestinalis* (%2), ayrıca *Cryptosporidium* spp. (%3) tespit edilmiştir.

Akpolat ve ark. (20) tarafından yapılan retrospektif bir çalışmada, dışkı örneklerinde %5,99 oranında bağırsak parazitleri belirlenmiştir. Tarama yapılan kişilerin %1,79'unda ise birden fazla parazit saptanmıştır. Bağırsak paraziti prevalansı erkeklerde %54,10 ve kadınlarda %45,89 oranında bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Parazitin yaşa göre yaygınlığına bakıldığında en çok 0-17 yaş aralığında en az 46 yaş ve üstünde %17,69 oranında bulunmuştur. Bulguların incelendiği on yıl gibi bir sürede en sık görülen parazit %57,62'lik oran ile *B. hominis* olmuştur.

Gürbüz ve ark. (21) tarafından yapılan çalışmada bağırsak parazitlerinin görülme durumu incelendiğinde en çok %4,8'i (879) *B. hominis* ve en az %0,01'i az görülen diğer parazitler olarak belirlenmiştir.

Sivas ve başka illerde yapılan çalışmalar (8,9,17-21) değerlendirildiğinde bağırsak paraziti prevalansında, çalışmamızla benzer ve farklı oranlar bulunmuştur. Bunun nedenlerinin bölgesel farklılıklara bağlı olduğu düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda ise bağırsak parazitleri açısından değerlendirilen 563 çocuğun dışkı örneği ve selofan bandı incelenmiştir. Bağırsak paraziti varlığı, 38 (%1,4) öğrencide bulunmak üzere 14'ü (%5,2) erkek ve 24'ünün (%7,8) kız olduğu tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ). Çalışmamız; bazı çalışmalarla (19) uyumlu şekilde bağırsak paraziti kızlarda erkeklere göre daha fazla bulunurken, diğer çalışmalardan (8,17,20) farklı olarak kızlara oranla erkeklerde daha yüksek bulunmuştur. Çalışmada 6-12 yaş aralığında 37 (%7,8) ve 13-17 yaş grubunda 1 (%1,0) kişide bağırsak paraziti saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Parazitin görüldüğü yaş aralığı bakımından bizim çalışmamızla uyumlu olan araştırmalar (8,17,20) bulunmuştur.

Araştırmamızda, bit infestasyonu yokluğunda en çok *B. hominis* 14 (%2,48) ve en az *T. saginata* 2 (%0,35) kişide saptanmıştır. Bit infestasyonu varlığında *T. saginata* 2 (%0,35) kişide bulunmuştur. Çalışmada iki parazit birlikteliği benzer şekilde bazı çalışmalarda (20,21) rastlanmıştır. Bizim çalışmamız ile uyumlu birçok çalışmada (19-21) en çok *B. hominis* bulunurken, diğer araştırmalarda (8,9,17) farklı olarak *G. intestinalis* en yüksek oranda görülen parazit olmuştur. Bunun nedeni bazı laboratuvarlarda *B. hominis*'in patojen olarak kabul edilmeyip raporlanmaması olabilir. Çalışmamızla benzer şekilde en fazla görülen helmintlerin, *E. vermicularis* ve *T. saginata* olduğu çalışmalar (20) bulunmaktadır.

Çalışmamızda, okullarda öğrenci sayısının fazla olduğu, köyden taşınmalı olarak öğrencilerin geldiği, okulların tamamında tuvaletlerin temiz olmadığı ve en önemlisi okulda su içmek için tuvalet dışında bir yer bulunmadığı dikkatimizi çekmiştir. Okul sağlığı koşulları sağlandığında bağırsak parazitleri ve baş biti yaygınlığında önemli oranda azalma olacağını düşünmekteyiz.

## SONUÇ

Halk sağlığı açısından büyük öneme sahip olan parazitler hastalıkları özellikle çocukluk çağında daha yüksek oranda görülmekte ve çocuklarda azalan bilişsel, entelektüel, fiziksel gelişim dahil olmak üzere uzun vadede olumsuz sağlık sonuçlarına yol açmaktadır. Çalışmamızda, eğitim düzeyinin artması, parazitler hastalıkları hakkında daha fazla bilgi sahibi olunması, kişisel hijyen alışkanlıklarının gelişmesi, altyapı iyileştirmeleri gibi nedenlerle ilimizde yapılan eski çalışmalardan daha düşük oranda baş biti ve bağırsak parazitlerine rastlanmıştır. Bu tip epidemiyolojik çalışmaların hem literatüre katkı sağlaması açısından hem de toplumda farkındalık oluşturması nedeniyle önemli olduğu düşünülmektedir. Özellikle son yıllarda olağanüstü artan sığınmacılar nedeniyle ülkemizin parazitler hastalıkları açısından risk durumunun belirlenmesi için benzer çalışmaların sayısının artması gerektiği kanısındayız.

### \* Etik

**Etik Kurul Onayı:** Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 11.07.2017 tarihinde 2017-07/16 karar numarası ile onay alınmıştır.

**Hasta Onayı:** Çalışma yaptığımız bireylerden hasta onay formu alınarak araştırma yapılmıştır.

### \* Yazarlık Katkıları

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

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

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

## KAYNAKLAR

- Verax A, Raoult D. Biology and genetics of human head and body lice. Trends in Parasitol 2012; 28: 563-71.
- Gulgun M, Balci E, Karaoglu A, Babacan O, Türker T. Pediculosis capitis: Prevalence and its associated factors in primary school children living in rural and urban areas in Kayseri, Turkey. Cent Eur J Public Health 2013; 21: 104-8.
- Polat E, Yanikoğlu A, Yıldırım A, Düzlü Ö, Şimşek FM, Yukarı BA, vd. Vektör artropodlar ve mücadelesi. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği; 2017.
- Değerli S, Malatyalı E, Mumcuoğlu KY. Head Lice Prevalence and Associated Factors in Two Boarding Schools in Sivas. Türkiye Parazit Derg 2013; 37: 32-5.
- Karaaslan S, Yılmaz H. Van ili Türkiye Odalar ve Borsalar Birliği ilköğretim okulu öğrencilerinde Pediculus humanus capitis' in yaylılığı. (The distribution of Pediculus humanus capitis among primary school pupils

- of the Turkish chamber of commerce and stock exchange organisation in Van) Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2015; 39: 27-32. Turkish.
6. Vander Stichele RH, Gyssels L, Bracke C, Meersschaet F, Blokland I, Wittouck E, et al. Wet combing for head lice: Feasibility in mass screening, treatment preference and outcome. *J R Soc Med* 2002; 95: 348-52.
  7. Can T, Özçelik S, Değerli S, Aciöz M. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Servisinde Yatan Hastalarda Bağırsak Paraziti Görülme Sıklığı, Parazitlerin Boy, Kilo, Anemi ve Eozinofil Değerleri Üzerine Etkileri [The incidence of intestinal parasites in the pediatric health and disease service and effect of these parasites on height, weight, anemia and eosinophile values]. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2008; 32: 51-3. Turkish.
  8. Değerli S, Özçelik S, Celiksöz A. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı [The distribution of intestinal parasites in patients presenting at the Parasitology Laboratory of the Cumhuriyet University.]. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2005; 29: 116-9. Turkish.
  9. Değerli S, Celiksöz A, Aslan A, Aciöz M, Özçelik S. Sivas merkez Alahacı köyü ilköğretim okulu öğrencilerinde altı ay aralıklarla yapılan dışkı incelemesi sonuçlarının karşılaştırılması [Comparison of the results of examination of fecal samples from students at six months intervals in the Alahacı village primary school in Sivas]. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2006; 30: 305-7. Turkish.
  10. Özçelik S, Değerli S, Aslan A. Sivas Alahacı köyü ilköğretim okulu öğrencilerinde *Pediculus yayginliğinin araştırılması* [Investigation of the prevalence of *Pediculus* in Alahacı village primary school students in the Sivas province]. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2006; 30: 184-6. Turkish.
  11. Karataş E, Sarı C, Ertabaklar H, Okyay P, Ertuğ S. Aydın ilinde üç ilköğretim okulunda *Pediculus capitis* prevalansı. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2004; 28: 38-41.
  12. Özkan Ö, Hamzaoğlu O, Yavuz M. The Prevalence and Management of *Pediculosis Capitis* in Turkey: A Systematic Review. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2015; 39: 135-46.
  13. Öncü E, Vayisoğlu SK, Güven Y, Önen E, Bulut ER, Çekiç H. Türkiye'de bir ildeki ilköğretim okullarında pedikülüs kapitis prevalansı ve tedavide sağlık eğitiminin etkinliği. *Med Sci* 2018; 7: 469-75.
  14. Çetinkaya Ü, Hamamcı B, Delice S, Ercal BD, Gücüyemez S, Yazar S, et al. The prevalence of *Pediculus humanus capitis* in two primary schools of Hacılar, Kayseri. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2011; 35: 151-3.
  15. Beyhan YE. Van ili Başkale ilçesinde bazı İlköğretim Okulu öğrencilerinde *Pediculus humanus capitis* (baş biti) sıklığının araştırılması (Yüksek lisans tezi). Ankara: Gazi Üniversitesi. 2019.
  16. Kavur H, Özkurt H, Büyükkatran F, Evyapan G, Kalkan S, Çelik Z, et al. Effect of Education and Regular Examination on the Prevalence of Head Louse Infestations in Adana. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2022; 46: 327-33. English.
  17. Malatyali E, Özçelik S, Celiksöz A, Değerli S, Yıldırım D. Şehir, İlçe ve Köy İlköğretim Okulu Öğrencilerinde Bağırsak Parazitleri Görülme Sıklığı [The frequency of intestinal parasites in primary school children in urban and rural regions]. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2008; 32: 54-8. Turkish.
  18. Gündoğdu Ö. Sivas ili merkez köy ilköğretim okulu öğrencilerinde bağırsak parazitleri varlığının araştırılması (Yüksek lisans tezi). 2017.
  19. Karakuş İ, Taş Cengiz Z, Ekici A. Evaluation of Intestinal Parasites and Some Clinical Symptoms in Children with Diarrhea. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2022; 46: 39-44. English. Erratum in: *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2022; 46: 166.
  20. Akpolat N, Çakır F, Çiçek M, Bilden A. Retrospective Analysis of the Distribution of Intestinal Parasites in Patients Admitted to Dicle University Faculty of Medicine Between the Years 2011-2020. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2022; 46: 119-23. English.
  21. Gürbüz CE, Gülmez A, Özkoç S, İnceboz T, Miman Ö, Aksoy Ü, Delibaş SB. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2011-2018 yılları arasında saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. (Distribution of intestinal parasites detected between september 2011-2018 at dokuz eylül university medical faculty hospital) *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2020; 44: 83-7. Turkish.

# Larvicidal Activity of Some Aromatic Thiosemicarbazone and Metal Complexes [Ni (II), Cu (II), Co (II)] Against *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) and *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) Larvae

*Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) ve *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) Larvalarına Karşı Bazı Aromatik Tiyosemikarbazon ve Metal Komplekslerinin [Ni (II), Cu (II), Co (II)] Larvasidal Aktivitesi

✉ Fatma Bursalı<sup>1</sup>, ✉ İlke Demirkaya<sup>2</sup>, ✉ İlknur Babahan Bircan<sup>2</sup>, ✉ Fatih Mehmet Şimşek<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Aydın Adnan Menderes University Faculty of Science, Department of Biology, Aydın, Türkiye

<sup>2</sup>Aydın Adnan Menderes University Faculty of Science, Department of Chemistry, Aydın, Türkiye

Cite this article as: Bursalı F, Demirkaya İ, Babahan Bircan İ, Şimşek FM. Larvicidal Activity of Some Aromatic Thiosemicarbazone and Metal Complexes [Ni (II), Cu (II), Co (II)] Against *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) and *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) Larvae. Türkiye Parazitoloj Derg 2024;48(1):39-44.

## ABSTRACT

**Objective:** A series of aromatic thiosemicarbazone-oxime [TP1 and TP2] derivatives and their Ni(II), Cu(II), and Co(II) complexes were synthesized, and their larvicidal activity was evaluated against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae. The efficacy of these substances to *Aedes albopictus* larvae has been demonstrated for the first time.

**Methods:** Laboratory colonized *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae were subjected to larvicidal activity tests. Larval mortality rates at 24 and 48 hours were recorded and LC<sub>50</sub> values were calculated. The study was carried out at Aydın Adnan Menderes University in 2021.

**Results:** For *Aedes aegypti*, LC<sub>50</sub> of TP1 and its Co(II) complex were 15.41, 9.75, µg/mL whereas for TP2 and its Co(II) complex, LC<sub>50</sub> were 21.62, 20.50 µg/mL after 24 and 48 h respectively. For *Aedes albopictus*, TP1 and its Co(II) complex showed an LC<sub>50</sub> of 12.06, 8.75 µg/mL, whereas TP2 and its Co(II) complex showed an LC<sub>50</sub> of 32.87, 25.48 µg/mL, for 24, and 48 h respectively.

**Conclusion:** Both TP1 and TP2 compounds and their Co(II) complexes presented high efficacy against the larvae; it can be said that C=S groups in thiosemicarbazone derivatives are effective in showing activity and for this reason, studies should be continued to make these components effective.

**Keywords:** Mosquito, larvicidal effect, synthetic compounds, larval control

## ÖZ

**Amaç:** Bir dizi aromatik tiyosemikarbazon-oksım [TP1 ve TP2] türevleri ve bunların Ni(II), Cu(II) ve Co(II) kompleksleri sentezlenmiş ve *Aedes aegypti* ve *Aedes albopictus* larvalarına karşı etkinlikleri değerlendirilmiştir. Bu maddelerin *Aedes albopictus* larvalarındaki etkinlikleri ilk kez belirlenmiştir.

**Yöntemler:** Laboratuvar kolonisi oluşturulmuş *Aedes aegypti* ve *Aedes albopictus* larvaları maddelerin larvisidal etkinlikleri için test edilmiştir. Yirmi dört ve 48 saat sonar larval ölüm oranları kaydedilmiş ve LC<sub>50</sub> değerleri hesaplanmıştır. Çalışma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi'nde 2021 yılında gerçekleştirilmiştir.

**Bulgular:** *Aedes aegypti* için, TP1 ve Co(II) komplekslerinden 24 ve 48 saat için elde edilen LC<sub>50</sub> değerleri sırayla 15,41, 9,75, µg/mL iken TP2 ve Co(II) kompleksleri için elde edilen değerler 21,62, 20,50 µg/mL olarak belirlenmiştir. *Aedes albopictus* için, TP1 ve Co(II) komplekslerinden 24 ve 48 saat için elde edilen LC<sub>50</sub> değerleri sırayla 12,06, 8,75 µg/mL iken TP2 ve Co(II) kompleksleri için elde edilen değerler 32,87, 25,48 µg/mL olarak belirlenmiştir.



Received/Geliş Tarihi: 18.01.2023 Accepted/Kabul Tarihi: 25.01.2024

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Fatma Bursalı, Aydın Adnan Menderes University Faculty of Science, Department of Biology, Aydın, Türkiye

Phone/Tel: +90 507 772 97 93 E-mail/E-Posta: fatma.gunerkan@adu.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0003-3559-3849



©Copyright 2024 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.turkiyeparazitoloj.org

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



**Sonuç:** Hem TP1 hem de TP2 bileşikleri ve bunların Co(II) kompleksleri, larvalara karşı yüksek etkinlik göstermiştir; tıyosemikalbazon türevlerindeki C=S gruplarının aktivite göstermede etkili olduğu söylenebilir ve bu nedenle bu bileşenlerin etkin hale getirilmesi için çalışmalara devam edilmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** Sivrisinek, larvisidal etki, sentetik bileşikler, larva kontrolü

## INTRODUCTION

Mosquitoes (Diptera: Culicidae), insects at the center of entomological research worldwide, are vectors of important diseases. Species such as *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) and *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) play important roles in the transmission of Chikungunya, Zika and Dengue infections (1). The incidence of Dengue, which causes the most death and illness among all other arthropod-borne viral diseases, has increased dramatically over the years with  $\geq 350$  million cases and nearly half a million deaths reported annually worldwide (2).

These *Aedes* mosquito species are spreading from their native areas to higher latitudes in North America and Europe (3,4). In Europe *Ae. aegypti* has been detected in Greece, Cyprus, Croatia, Italy, Spain, France, Türkiye, and Portugal; in countries south of the Sahara Desert, Western Morocco and Western Sahara, Northern Algeria and Tunisia, Egypt and Sudan in Africa; as well as in countries in Central and Southern Asia (5-8). *Ae. albopictus*, likewise, has spread from southern Asia to several countries in Africa, Europe, and America (9-11). The existence of *Ae. albopictus* was first recorded in Türkiye in 2011 (12). Then, respectively reported in Black Sea, Marmara and Aegean region in Türkiye (8,13-15).

Control of mosquito-transmitted diseases remains a big challenge. No vaccine is available for most of them, so the mainstay of disease management is vector control. Personal protection and chemical insecticides are also used extensively to control mosquitoes. Although chemical insecticides are efficacious to a certain degree, they are costly, pose serious risks to humans and the environment, and mosquitoes continue to develop resistance against most extant insecticides (16). Scientist across the globe continue to advocate the use of insect bio-pathogens such as *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*, *Metarhizium anisopliae* (Sorokin 1883) (Hypocreales: Clavicipitaceae) etc. against larvae and adults (17) as well as the search for safer alternatives.

Hydrazones are a class of organic compounds which are characterized by the presence of an azomethine-NHN=CH group, whereas thiosemicarbazones have the formula  $H_2NC(S)NHN=CR_2$  (18). These functional groups play a major role in their biological activities (19-21). Hydrazones have various biological and clinical properties such as antituberculosis, anticonvulsant, anticancer, anti-inflammatory, antiviral, antiplatelet, antitumour, antimicrobial, antimalarial and antioxidant activity (22-26). Some thiosemicarbazones derivatives possess good larvicidal/insecticidal activity against various insects like *Culex pipiens pallens* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Culicidae), *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), *Laphygma exigua* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) (Homoptera: Aphididae), *Nilaparvata lugens* (Stal, 1854) (Homoptera: Delphacidae) (27-31). Despite the availability of many insecticides, there has been a search for novel and more efficient agents with less bio-toxicity. The goal of developing new agents is valuable because currently very limited chemical classes are available for vector control.

In this study, we assessed a series of new aromatic thiosemicarbazone-oxime derivatives and their metallic complexes for their larvicidal effects against *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* larvae.

## METHODS

### Chemistry

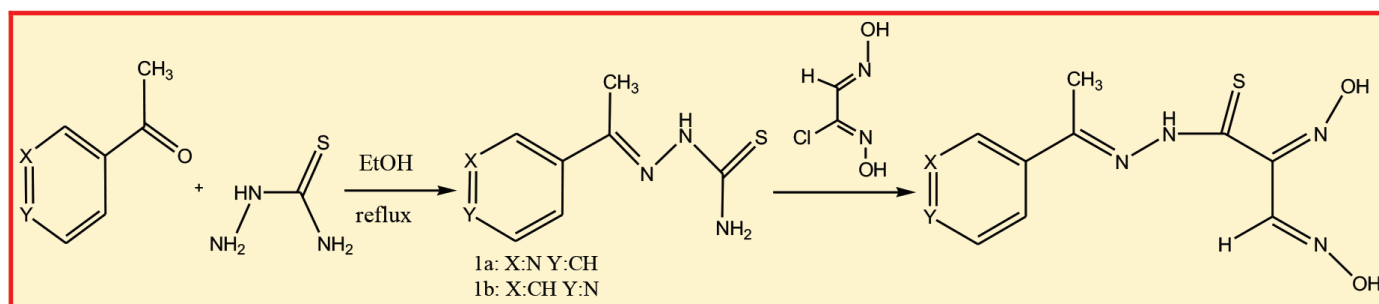
The heteroaromatic thiosemicarbazone-oxime derivatives [TP1 and TP2], and their metal complexes [Ni(II), Cu(II) and Co(II)] were synthesized (32,33). The synthesis of these groups and their complexes is illustrated and outlined in Figure 1a, b. [TP1; 3-acetylthiosemicarbazone glyoxime; TP2: 4-acetylthiosemicarbazone glyoxime]. Aromatic thiosemicarbazone derivatives consist of pyridine rings.

Compounds structures were determined using mass spectroscopy, UV, H-NMR, IR, C-NMR methods. All compounds obtained were purified by recrystallization from ethanol and verified by TLC and elemental analysis (34). Both analytical and spectral data of compounds were the same as proposed structures. These compounds were diluted to concentrations of 100, 75, 50 and 25 ppm in dimethyl sulfoxide (DMSO) and used in larvicidal activity bioassays (35).

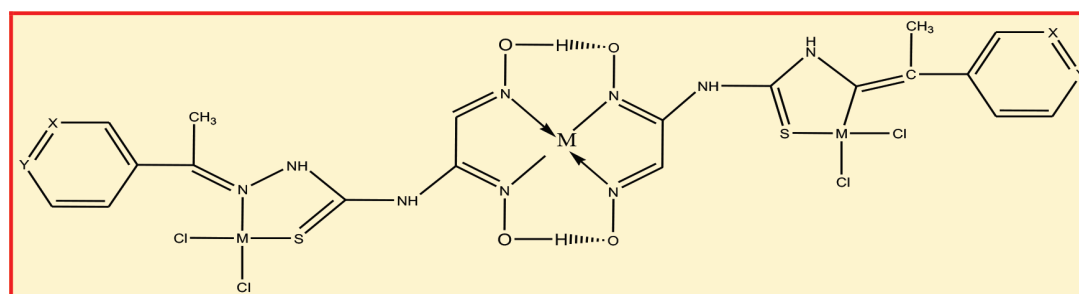
### Larvicidal Activity Assays

*Aedes aegypti*, Bora Bora strain was obtained from Hacettepe University Biology Department and has been reared in insectarium in the Vector Control Laboratory, Aydın Adnan Menderes University, Türkiye. *Aedes albopictus* larvae were sampled from Muğla populations in the Aegean Region and adult laboratory colonies were obtained from these larvae and reared in the insectarium. This species are susceptible strains that have no insecticide resistance. Both species are reared in an insectarium at  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10$  relative humidity, and 12 h light-dark photoperiod. Eggs collected were hatched in distilled water in plastic containers and larvae were provided ground fish food (Tetramin). Emerged adults fed on soaked cotton balls containing 10% sucrose.

Bioassays on the larvicidal activity of the compounds were carried out with some modifications using described by World Health Organization in 24-well plates (Corning Falcon microplates) against *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* larvae (36). Four different concentrations [100, 75, 50, 25 ppm (mg/L)] were tested against late 3<sup>rd</sup>-4<sup>th</sup> stage larvae of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* mosquito. Required concentrations of the compounds were dissolved and diluted in DMSO and used in larvicidal activity bioassays. Experiments were done under laboratory conditions in an incubator maintained at a constant temperature of 28 °C and 80% RH under light and dark conditions for 12 h each. Three independent replicates were carried out. Negative control had DMSO (1%) and the commercial *Bti* (0.05 g/L), (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*), (VectoBac 12AS, Valent Biosciences, USA) was used as positive control. After treatment application, contents were evenly mixed by swirling plates. Larvae that failed to move after probing with a brush were recorded as dead. Larval



**Figure 1a.** Synthesis of heteroaromatic thiosemicarbazone-oxime derivatives (TP<sub>1</sub> ve TP<sub>2</sub>) [TP<sub>1</sub>; 3-acetyl thiosemicarbazone glyoxime (X: N, Y:C); TP<sub>2</sub>; 4-acetyl thiosemicarbazone glyoxime (X:C, Y: N)]



**Figure 1b.** Structure of metal complexes of thiosemicarbazone-oxime derivatives [M: Ni(II), Cu(II) ve Co(II); X: N, Y: C (TP<sub>1</sub>); X:C, Y: N (TP<sub>2</sub>)]

mortality was calculated for each concentration and after 24 h and 48 h, larval mortality was recorded and the lethal concentration LC<sub>50</sub> was calculated.

### Statistical Analysis

Larval mortality data was adjusted (37) and analysed using SAS, Proc Probit (Version 9.2) to obtain LC<sub>50</sub> (the lethal concentration median) value and chi-square values. We used SPSS 23.0 software and a 95% confidence level; results with  $p < 0.05$  were considered significant. Analysis was done if control mortality was  $< 10\%$ .

## RESULTS

Aromatic thiosemicarbazone derivatives and their Ni(II), Cu(II) and Co(II) complexes were synthesized and evaluated for *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* mosquitoes for their larvicidal activity.

### *Aedes albopictus*

The LC<sub>50</sub> for aromatic thiosemicarbazone (TP<sub>1</sub>) and its Ni(II), Cu(II) and Co(II) complexes were 22.717, 26.265, 13.806 and 12.065  $\mu\text{g/mL}$  respectively after 24 h of exposure. The LC<sub>50</sub> values were recorded as 21.125, 23.308, 12.004, 8.755  $\mu\text{g/mL}$  after 48 h of exposure (Table 1). *Ae. albopictus* larvae were more susceptible to the TP<sub>1</sub>-Co complex than the other metal complexes [Ni (II), Cu (II)] of thiosemicarbazone oxime derivatives.

The LC<sub>50</sub> for TP<sub>2</sub> and its Ni (II), Cu (II) and Co (II) complexes were 51.594, 44.913, 35.719, 32.875  $\mu\text{g/mL}$  after 24 h of exposure while the values were found to be 48.764, 39.037, 27.516, 25.489  $\mu\text{g/mL}$  after 48 h of exposure (Table 1).

### *Aedes aegypti*

Against *Ae. aegypti*, the LC<sub>50</sub> for aromatic thiosemicarbazone (TP<sub>1</sub>) was 44.919  $\mu\text{g/mL}$  and its Ni (II), Cu (II) and Co (II) complexes LC<sub>50</sub> were 40.644, 18.514, 15.417  $\mu\text{g/mL}$  after 24 h of exposure. After 48 h these values decline to 31.059, 32.038, 13.665, 9.755  $\mu\text{g/mL}$  respectively (Table 2).

For aromatic thiosemicarbazone (TP<sub>2</sub>) and its Ni(II), Cu(II) and Co(II) complexes, LC<sub>50</sub> values were found to be 44.913, 42.308, 32.875, 21.612  $\mu\text{g/mL}$  after 24 h of exposure, while the values were found to be 42.494, 33.683, 25.489, 20.504  $\mu\text{g/mL}$  after 48 h of exposure, respectively.

## DISCUSSION

We observed that TP<sub>1</sub>-Co complex (II) and TP<sub>2</sub>-Co complex (II) presented higher toxicity against both species than the other compounds named TP<sub>1</sub>, TP<sub>1</sub>-Ni complex (II), TP<sub>1</sub>-Cu complex (II), TP<sub>2</sub>, TP<sub>2</sub>-Ni complex (II), TP<sub>2</sub>-Cu complex (II) after 24 and 48 h of exposure and these compounds were found more effective for *Ae. albopictus* than *Ae. aegypti* larvae.

According to Rayms-Keller et al. (38) showed that copper edetate in nanostructures and chitosan microcapsules exhibited larvicidal activity against *Ae. aegypti* larvae with LC<sub>90</sub> of 60 and 20 mg/L, respectively. Also, Tabanca et al. (29) tested ten hydrazone derivatives against *Ae. aegypti* larvae. They showed that compound 9 [CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] exhibited larvicidal activity with LD<sub>50</sub> values of 57.4 ppm and LD<sub>90</sub> of 297.8 ppm after 24 h treatment. Similarly, Rochelly et al. (39), showed that tested *Aedes aegypti* and *Anopheles darlingi* larvae were sensitive to

**Table 1.** Larvicidal bioassays of aromatic thiosemicarbazone (TP<sub>1</sub>), (TP<sub>2</sub>) and Ni(II), Cu(II) and Co(II) complexes against *Ae. albopictus* larvae

Substances	Number of larvae	LC <sub>50</sub> µg/mL (95% CI) 24 h	X <sup>2</sup>	LC <sub>50</sub> µg/mL (95% CI) 48 h	X <sup>2</sup>
TP <sub>1</sub>	200	22.717 (0.259, 64.251)	2.454	21.125 (0.200, 60.557)	3.159
TP <sub>1</sub> -Ni complex (II)	200	26.265 (0.433, 72.596)	1.295	23.308 (0.654, 91.930)	1.610
TP <sub>1</sub> -Cu complex (II)	200	13.806 (0.006, 46.463)	1.653	12.004 (0.001, 43.177)	1.545
TP <sub>1</sub> -Co complex (II)	200	12.065 (0.013, 40.377)	1.414	8.755 (0.006, 31.612)	1.972
TP <sub>2</sub>	200	51.594 (8.959, 214.471)	2.101	48.764 (7.762, 116.181)	2.868
TP <sub>2</sub> -Ni complex (II)	200	44.913 (8.091, 101.472)	2.436	39.037 (5.432, 89.966)	3.189
TP <sub>2</sub> -Cu complex (II)	200	35.719 (5.186, 80.429)	2.409	27.516 (1.944, 67.125)	2.718
TP <sub>2</sub> -Co complex (II)	200	32.875 (3.889, 75.811)	2.391	25.489 (2.034, 31.006)	2.048
DMSO		0.00±0.00			
<i>Bti</i>		93.91±0.002			

LC values are expressed in ppm (mg/L) values are means ± SD, X<sup>2</sup>: chi-square, CI: Confidence interval, SD: Standard deviation

**Table 2.** Larvicidal bioassays of aromatic thiosemicarbazone (TP<sub>1</sub>), (TP<sub>2</sub>) and Ni(II), Cu(II) and Co(II) complexes against *Ae. aegypti* larvae

Substances	Number of larvae	LC <sub>50</sub> µg/mL (95% CI) 24 h	X <sup>2</sup>	LC <sub>50</sub> µg/mL (95% CI) 48 h	X <sup>2</sup>
TP <sub>1</sub>	200	44.919 (5.736, 108.879)	2.75	31.059 (0.707, 78.654)	2.349
TP <sub>1</sub> -Ni complex (II)	200	40.644 (5.358, 95.379)	2.078	32.038 (3.251, 75.392)	2.061
TP <sub>1</sub> -Cu complex (II)	200	18.514 (0.003, 61.450)	3.036	13.665 (0.001, 48.173)	3.045
TP <sub>1</sub> -Co complex (II)	200	15.417 (0.047, 47.888)	2.707	9.755 (0.002, 35.678)	2.161
TP <sub>2</sub>	200	44.913 (8.091, 101.472)	2.436	42.494 (9.319, 90.443)	2.898
TP <sub>2</sub> -Ni complex (II)	200	42.308 (7.126, 95.572)	3.246	33.683 (4.569, 76.185)	3.225
TP <sub>2</sub> -Cu complex (II)	200	32.875 (3.889, 75.811)	2.391	25.489 (2.034, 61.006)	2.048
TP <sub>2</sub> -Co complex (II)	200	21.612 (0.769, 56.280)	1.063	20.504 (1.330, 50.283)	2.039
DMSO		0.00±0.00			
<i>Bti</i>		94.60±0.011			

LC values are expressed in ppm (mg/L) values are means ± SD, X<sup>2</sup>: chi-square, CI: Confidence interval, SD: Standard deviation

benzoyl thiosemicarbazone and to the metal nickel complex; benzoyl thiosemicarbazone was more toxic than nickel complex. Kaplancikli et al. (40) showed that hydrazide-hydrazone derivatives namely 4-Fluorobenzoic acid [(2-furanyl) methylene] hydrazide), 11(3-Acetyl-5-(4-fluorophenyl)-2-phenyl-2,3-dihydro-1,3,4-oxadiazole), 12(3-Acetyl-5-(4-fluorophenyl)-2-(4-bromophenyl)-2,3-dihydro-1,3,4-oxadiazole) and 17 (3-Acetyl-5-(4-fluorophenyl)-2-[4-(dimethyl amino) phenyl]-2,3-dihydro-1,3,4-oxadiazole at a concentration of 100 ppm caused 100% mortality against *Ae. aegypti* larvae. In contrast, our benzaldehyde derivative and hydrazones carrying oxime group were not effective against the mosquitoes in our study. Bursalı et al. (35) investigated the larvicidal effects of Co(II) complexes with barbiturate derivatives against *Ae. aegypti* and demonstrated that bis[(2-phenoxyphenyl)(2,4,6-trioxotetrahydropyrimidin-5(2H)-ylidene)methyl]amidocopper(II) showed high larvicidal activity with LC50 of 37.91 ppm.

Aromatic thiosemicarbazone and derivatives displayed high toxicity against mosquito larvae so have the potential to be used as larvicides against important mosquito species. However, more studies are needed to elucidate their mode of action as well as to assess the impacts such metals will have on the other organism and the environment and other insects. Insecticide resistance

has necessitated the development new compounds, but this is challenging (41). Integrated management programmers aimed at mosquito larvae serves as one of the most efficacious means to control populations and reduce vector-borne disease incidence in endemic areas.

Aromatic thiosemicarbazone derivatives and their Ni(II), Cu(II) and Co(II) complexes were synthesized and evaluated for their larvicidal activity against *Aedes* mosquitoes. This is the first study done with *Aedes albopictus* with these substances. The data results indicating that the aromatic thiosemicarbazone complex has insecticidal potential against *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* larvae and may be used to design new derivatives.

## CONCLUSION

The search for new active compounds continues as resistance develops to pesticides used to combat existing vectors. Mosquito management programs targeting larvae serve as one of the most effective ways to control insect populations and reduce the number of vector-borne diseases. A series of aromatic thiosemicarbazone and hydrazone derivatives their Ni(II), Cu(II) and Co(II) complexes were synthesized and evaluated for their larvicidal activity against *Ae. aegypti* and



*Ae. albopictus*. The data results indicated that the aromatic thiosemicarbazone complex has insecticidal potential and may be used to design new derivatives to increase the bioefficacy of these compounds against *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* larvae. However, elucidating the mode of action of these compounds in larvae and developing new compounds with pharmacological potential are necessary.

#### \* 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.

#### \* Authorship Contributions

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

**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

- Becker N, Petric D, Zgomba M, Boase C, Madon M, Dahl C, Kaiser A. Mosquitoes and Their Control. Springer Science & Business Media. Springer Berlin, Heidelberg, 2010 pp. 577.
- World Health Organization. Dengue and Severe Dengue. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue> (accessed on 10 June 2021).
- Semenza JC, Suk JE. Vector-borne diseases and climate change: a European perspective. *FEMS Microbiol Lett* 2008; 36: fnx244.
- Weetman D, Kamgang B, Badolo A, Moyes CL, Shearer FM, Coulibaly M, et al. *Aedes* mosquitoes and *Aedes*-borne arboviruses in Africa: current and future threats. *Int J Environ Res Public Health* 2018; 15: 220.
- Almeida AP, Goncalves YM, Novo MT, Sousa CA, Melim M, Gracio AJ. Vector monitoring of *Aedes aegypti* in the Autonomous Region of Madeira, Portugal. *Euro Surveill* 2007; 12: E071115.
- Iunicheva IuV, Riabova TE, Markovich NI, Bezzhonova OV, Ganushkina LA, Semenov VB, et al. [First evidence for breeding *Aedes aegypti* L in the area of Greater Sochi and in some towns of Abkhazia]. *Med Parazitol (Mosk)* 2008; 40-3. Russian.
- Scholte E, Den Hartog W, Dik M, Schoelitz B, Brook M, Schaffner Introduction and control of three invasive mosquito species in the Netherlands. *Euro Surveill* 2010; 15: 19710.
- Akner 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.
- Ponlawat A, Harrington LC. Blood feeding patterns of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Thailand. *J Med Entomol* 2005; 42: 844-9.
- Bonizzoni M, Gasperi G, Chen X, James AA. The invasive mosquito species *Aedes albopictus*: current knowledge and future perspectives. *Trends Parasitol* 2013; 29: 460-8.
- Kraemer MUG, Sinka ME, Duda KA, Mylne AQ, Shearer FM, Barker CM, et al. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Elife* 2015; 4: 08347.
- 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.
- Akner MM, Öztürk M, Başer AB, Günay F, Hacıoğlu S, Brinkmann A, et al. Arboviral screening of invasive *Aedes* species in northeastern Turkey: West Nile virus circulation and detection of insect-only viruses. *PLoS Negl Trop Dis* 2019; 13: e0007334.
- Demirci B, Bedir H, Öztürk M, Akner MM. Status of the invasive mosquito species *Aedes aegypti* (L., 1762) and *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) (Diptera: Culicidae) in Turkey. *Türk Entomol Derg* 2021; 45: 279-92.
- Yavaşoğlu Sİ. First report on mild insecticide resistance in newly established Aegean *Aedes albopictus* populations of Turkey. *Turkish Journal of Zoology* 2021; 45: 223-34.
- Moyes CL, Vontas J, Martins AJ, Ng LC, Koou SY, Dufour I, et al. Contemporary status of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses infecting humans. *PLoS Negl Trop Dis* 2017; 11: e0005625.
- Shah AA, Aslam S, Akbar M, Ahmad A, Khan WU, Yasin NA, et al. Combined effect of *Bacillus fortis* IAGS 223 and zinc oxide nanoparticles to alleviate cadmium phytotoxicity in Cucumis melo. *Plant Physiol Biochem* 2021; 158: 1-12.
- Hussain I, Ali A. Exploring the Pharmacological Activities of Hydrazone Derivatives: A Review. *J Phytochem Biochem* 2017; 1: 104-12.
- Dutkiewicz G, Kubicki M, Narayana B, Samshuddin S, Yathirajan HS. Synthesis of two new Schiff base hydrazones derived from biphenyl-4-carbohydrazide. *Journal of Chemical Crystallography* 2011; 41: 1442-6.
- Shakdofa MME, Shtaiwia MH, Morsy N, Abdel-rassel TMA. Metal complexes of hydrazones and their biological, analytical and catalytic applications: A Review. *Main Group Chemistry* 2014; 13: 187-218.
- Asif M, Husain A. Analgesic, anti-inflammatory and antiplatelet profile of hydrazones containing synthetic molecules. *Journal of Applied Chemistry* 2013; 247203: 1-7.
- Cassell GH, Mekalanos J. Development of Antimicrobial Agents in the Era of New and Reemerging Infectious Diseases and Increasing Antibiotic Resistance. *JAMA* 2001; 285: 601-5.
- Pandey A, Dewangan D, Verma S, Mishra A, Dubey RD. Synthesis of Schiff Bases of 2-Amino-5-Aryl-1, 3,4-Thiadiazole and Its Analgesic, anti-Inflammatory, anti-Bacterial and antiTubercular Activity. *Inter J Chem Tech Res* 2011; 3: 178-84.
- Popiołek L. Hydrazone-Hydrazones as Potential Antimicrobial Agents: Overview of the Literature Since 2010. *Med Chem Res* 2017; 26: 287-301.
- Ugwu NE, Anarado CJO, Ibeji CU, Okpareke OC, Ezeorah CJ, Okagu OD, et al. Synthesis, Spectroscopic, Antimicrobial Activity and Computational Studies of Some Homoleptic and Heteroleptic Metal (II) Complexes of 2-Furoic Acid Hydrazone. *Chemistry Select* 2019; 4: 11206-12.
- Nirmal R, Prakash C, Meenakshi K, Shanmugapandiyani P. Synthesis Pharmacological Evaluation of Novel Schiff Base Analogues of 3-(4-Amino) Phenylimino) 5-Fluoroindolin-2-one. *J Young Pharm* 2010; 2: 162-8.
- Böger M, Dürr D, Gsell L, Hall RG, Karrer F, Kristiansen O, et al. Synthesis and structure-activity relationships of benzophenone hydrazone derivatives with insecticidal activity. *Pest Manag Sci* 2001; 57: 191-202.
- Liu M, Wang Y, Wangyang WZ, Liu F, Cui YL, Duan YS, et al. Design, synthesis, and insecticidal activities of phthalamides containing a hydrazone substructure. *J Agric Food Chem* 2010; 58: 6858-63.
- Tabanca N, Ali A, Bernier UR, Khan IA, Kocyigit-Kaymakcioglu B, Oruç EE, et al. Biting deterrence and insecticidal activity of hydrazone-hydrazones and their corresponding 3-acetyl-2, 5-disubstituted-2, 3-dihydro-1, 3, 4-oxadiazoles against *Aedes aegypti*. *Pest Manag Sci* 2013; 69: 703-8.
- Akdağ K, Kocyigit-Kaymakcioglu B, Tabanca N, Ali A, Estep A, Becnel JJ, Khan I. Synthesis and larvicidal and adult topical activity of some hydrazone-hydrazone derivatives against *Aedes aegypti*. *Marmara Pharmaceutical Journal* 2014; 18: 120-5.
- Weetman DB, Kamgang A, Badolo CL, Moyes FM, Shearer M, Coulibaly J, et al. *Aedes* mosquitoes and *Aedes*-borne arboviruses in Africa: current and future threats. *Int J Environ Res Public Health* 2018; 15: 220-5.



32. Babahan I, Anıl H, Sarıkavaklı N. Synthesis of novel tetraoxime derivative with hydrazone side groups and its metal complexes. *Turkish Journal of Chemistry* 2011; 35: 613-24.
33. Babahan I, Özmen A, Aslan K. Synthesis and use of dioxime ligands for treatment of leukemia and colon cancer cells. *Applied Organometallic Chemistry* 2017; 31: e3752.
34. Anarado CJO, Iziga CG, Ibeji CU, Babahan-Bircan I, Coban B, Cömert F, et al. Synthesis and Characterization of 4-amino-N'-[(1E)-1-(2-hydroxy-6-methyl-4-oxo-4H-pyran-3-yl) ethylidene] benzohydrazide and its Cu (II), Ni (II), Zn (II) and Mn (II) Complexes. *Molekul* 2023; 18: 307-20.
35. Bursalı F, Yavaşer Boncooğlu R, Fırınıcı R. Synthesis, characterization, larvicidal and antioxidant activities of copper(II) complexes with barbiturate derivatives. *Monatsh Chem* 2023; 154: 793-9.
36. World Health Organization. Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2005; pp. 1-41.
37. Abbott WS. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J Am Mosq Control Assoc* 1925; 18: 265-7.
38. Rayms-Keller A, Olson K, McGaw M, Oray C, Carlson J, Beaty B. Effect of Heavy Metals on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Larvae. *Ecotoxicol Environ Saf* 1998; 39: 41-7.
39. Rochelly DSM, Wanderli PTW, Ana MBB. Determination of the larvicidal activity of benzoyl thiosemicarbazone and its Ni (II) complex against *Aedes aegypti* and *Anopheles darlingi* larvae in Amazonas, Brazil. *Journal of Entomology and Nematology* 2018; 10: 37-42.
40. Kaplancikli A, Altıntop D, Ozdemir A, Turan-Zitouni G, Khan GSI, Tabanca N. Synthesis and biological evaluation of some hydrazone derivatives as anti-inflammatory agents. *Letters in Drug Design & Discovery* 2012; 9: 310-5.
41. Burfield T, Reekie SL. Mosquitoes, malaria, and essential oils. *International Journal of Aromatherapy* 2005; 15: 30-41.

# Bursa Yöresi Sokak Köpeklerinde Uyuz Enfestasyonlarının Yaygınlığı

## Distribution of Scabies Infestations in Stray Dogs in Bursa Province

© Betül Saygın<sup>1</sup>, © Ahmet Onur Girişgin<sup>1</sup>, © Suna Aslı Zengin<sup>2</sup>, © Levent Aydın<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

<sup>2</sup>Arion İlaç ve Sanayi Ticaret A.Ş. AR-GE Merkezi, İstanbul, Türkiye

Cite this article as: Saygın B, Girişgin AO, Zengin SA, Aydın L. Distribution of Scabies Infestations in Stray Dogs in Bursa Province. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2024;48(1):45-50.

### ÖZ

**Amaç:** Uyuz enfestasyonları, tüm dünyada hem insan hem de hayvan sağlığını etkileyen önemli parazitler hastalıklarından biridir. Bu çalışmada, Bursa yöresi sokak köpeklerinde uyuz enfestasyonlarının yaygınlığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Çalışmanın materyalini Haziran 2020-Şubat 2022 tarihleri arasında Bursa'da belediye barınağında bakılan uyuz şüpheli sokak köpekleri oluşturmuştur. Sokak köpeklerinden alınan numuneler laboratuvarında incelenerek, uyuz etkeni taşıyan köpekler belirlenmiştir.

**Bulgular:** Çalışma sırasında 205 adet (115 erkek, 90 dişi) uyuz şüpheli sokak köpeğinden numune toplanmış ve bunlardan 58'inde (%28,29) uyuz neden olan etkenlere rastlanmıştır. Pozitif köpeklerin 35'inde (%60,34) *Demodex* spp. (*D. canis*, *D. injae*), 19'unda (%32,76) *Sarcoptes scabiei* var. *canis*, 2'sinde (%3,44) karışık enfestasyon (*Sarcoptes*, *Demodex*) ve 2'sinde de (%3,44) *Otodectes cynotis* etkenleri tespit edilmiştir. Uyuz pozitif 58 adet köpeğin 32'sinin (%55,17) erkek, 26'sının (%44,83) ise dişi olduğu belirlenmiştir. Enfestasyonların yaş, mevsim ve cinsiyet ile ilişkisi istatistiki yönden anlamlı bulunmamıştır.

**Sonuç:** Bu çalışma ile Bursa yöresindeki sokak köpeklerinde uyuz etkenleri ve yayılış oranları belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Köpek, uyuz, yaygınlık, Bursa

### ABSTRACT

**Objective:** Scabies infestation is a major parasitic disease affecting both human and animal health worldwide. This study aimed to determine the distribution of scabies infestation in stray dogs in Bursa province.

**Methods:** The study material was obtained from stray dogs suspected of mange kept in a municipal shelter in Bursa between June 2020 and February 2022. Samples from stray dogs were examined in a laboratory, and dogs with scabies were determined.

**Results:** During the study, samples were collected from 205 (115 males, 90 females) scabies-suspected stray dogs, 58 (28.29%) of which had scabies. *Demodex* spp. were detected in 35 of the positive dogs (60.34%) (*D. canis*, *D. injae*), 19 (32.76%) *Sarcoptes scabiei* var. *canis*, 2 (3.44%) mixed infestation (*Sarcoptes* and *Demodex*), and 2 (3.44%) *Otodectes cynotis* agents. It was determined that 32 (55.17%) of 58 scabies-positive dogs were male and 26 (44.83%) were female. The association of infestations with age, season, and sex has not been found to be statistically meaningful.

**Conclusion:** This study identified scabies agents and their prevalence rate in stray dogs of Bursa province, Türkiye.

**Keywords:** Dog, scabies, distribution, Bursa

### GİRİŞ

Uyuzun milattan önce 1200'lü yıllara dayanan bir geçmişinin olduğunu belirten kaynaklar bulunmaktadır (1). Uyuz çok eski zamanlardan beri bilinmesine rağmen mikroskopik olarak ilk defa 1687 yılında İtalyan araştırmacı Bonomo tarafından görüntülenmiştir (2). Köpeklerin sağlığını tehdit eden dermatolojik hastalıklar arasında önemli bir yere sahip olan uyuz enfestasyonları, deride ciddi

reaksiyona ve sekonder enfeksiyonlara yol açmaktadır (3). Köpeklerde uyuz hastalığına neden olan akarların bir kısmı (*Sarcoptes scabiei* var. *canis*, *Demodex* spp., *Cheyletiella yasguri*) derinin farklı katmanlarına yerleşerek burada reaksiyon şekillendirirken, kulak uyuzu etkeni olan *Otodectes cynotis* ise köpeklerin kulak kanalına yerleşmek suretiyle duyma kaybına ve çeşitli sinirsel belirtilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (4,5).



Geliş Tarihi/Received: 17.02.2023 Kabul Tarihi/Accepted: 21.11.2023

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Ahmet Onur Girişgin, Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

Tel/Phone: +90 224 294 13 17 E-Posta/E-mail: onurgirisgin@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-0020-2708



©Telif hakkı 2024 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.

Köpeklerde *Demodex* uyuzuna yol açan esas etken *Demodex canis* olarak kabul edilmekle beraber, *D. injai* ve *D. cornei*'nin de köpeklerde uyuz hastalığına neden olabildiği belirtilmektedir (6,7). Yapılan bir araştırmada *D. cornei*'nin yapısı moleküler olarak incelenmiş ve bunun farklı bir tür olmayıp *D. canis*'in bir alt türü olduğu ifade edilmiştir (8). Aydın (4), *Demodex* etkenlerinin normal deri faunasının bir parçası olduğunu ancak bunların sayılarının çeşitli nedenlerle artmasına bağlı olarak demodetik uyuzuna neden olduklarını bildirmektedir. Köpeklerdeki *Demodex* uyuzunu tüylerde dökülme, şiddetli kaşınma ve buna bağlı olarak oluşan yaralar sayesinde kolayca tanımlayabilmek mümkündür (9). Beugnet ve ark. (10), *Demodex* uyuzunun lokalize, generalize veya pododemodikozis olmak üzere üç farklı şekilde sınıflandırılabilirliğini ve bu sınıflandırma yapılırken; köpeğin ırkı ve lezyonların durumu gibi çeşitli parametrelerin mutlaka göz önünde bulundurulması gerektiğini bildirmektedir. "Genç başlangıç" ve "Erişkin başlangıç" şeklinde yapılan sınıflandırmada ise prognoz ve uygulanacak olan tedaviyi belirlemek gibi özellikler ön plana çıkmaktadır (9,11). Köpeklerdeki *Demodex* olguları türe özgü olmasına rağmen, nadiren insan ve hayvan arasında çapraz olgulara rastlanabileceği belirtilmiştir (12).

*Sarcoptes scabiei* oldukça bulaşıcı, her mevsimde görülebilen, şiddetli kaşınma ve kabuklu lezyonların şekillenmesine neden olan bir uyuz etkenidir. Bu etkenin yol açtığı sarkoptik uyuz, insan ve tilki gibi diğer birçok memeli türünde de görülebilmekle birlikte köpeklerdeki sarkoptik uyuz *S. scabiei* var. *canis* alt türü neden olmaktadır (13,14). Bu etken derinin epidermis katmanına yerleşerek gelişimini tamamlamakta, daha sonra deride tüneller açmak suretiyle ilerlemekte ve bu esnada da tahribata yol açmaktadır (4). Cheyletiellosis ise derinin üst tabakasına yerleşen ve dermatosis oluşturan bir akarın neden olduğu uyuz enfestasyonudur. Köpeklerde *Cheyletiella yasguri*'nin bu enfestasyona yol açtığı bildirilse de bu akarın tür seçiciliğinin yüksek olmaması nedeniyle medikal öneme sahip diğer *Cheyletiella* türleri (*C. blakei* ve *C. parasitovorax*) de köpeklerde bulunabilmektedir (13). *Cheyletiella* akarının çok patojen olmayıp, sağlıklı/genç hayvanların normal florasında bulunabildiği ve genellikle fazla kaşıntıya yol açmaksızın asemptomatik enfestasyonlara yol açtığı bildirilmektedir. Şiddetli enfestasyonlarda karakteristik olarak dermatitis ve tüylerde kepeklenme tablosunun görüldüğü, hareketlerinden dolayı "walking dandruff/yürüyen kepek" adı verildiği belirtilmiştir (15).

*Otodectes cynotis* orta kulak iltihabının en sık nedenidir. Kulaklarda tahriş ve kaşıntı ile karakterize olan otodetik uyuzun kedilerdeki yaygınlığı yaklaşık %50'dir. Köpek ve tilkilerde yaygınlığı oldukça düşük olan bu uyuz etkeni zaman zaman insanlara da bulaşabilmektedir (4,16). Otitis eksterna ile birlikte irritasyon, kaşıntı ve koyu renkli akıntı oluşumu gibi bulgulara yol açan *O. cynotis*, köpek sağlığını tehdit eden önemli uyuz etkenlerinden birisidir (16,17). Kedilerde *O. cynotis* yaygınlığının daha yüksek olması nedeniyle köpeklerde oluşan enfestasyonların asıl kaynağının kediler olabileceği düşünülmektedir (18). Ayrıca bu akarın insanlarda da parazitlenebilmesi diğer önemli özelliklerinden biri olarak kabul edilmektedir (5,16,17).

Bu çalışma, Bursa yöresinde bulunan sokak köpeklerindeki uyuz etkenlerini, bunların yayılış oranlarını ve mevsimsel dağılımlarını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

## YÖNTEMLER

Çalışmayla ilgili Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 05.05.2020 tarih, 2020-05/07 no'lu karar ile gerekli izin alınmıştır. Bu çalışma, Haziran 2020-Şubat 2022 tarihleri arasında Bursa'daki belediye hayvan barınaklarında tutulan sahihsiz köpekler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Bu tarih aralığında 115'i erkek, 90'ı dişi olmak üzere toplam 205 uyuz şüpheli köpekten deri kazıntısı alınarak uyuz etkenleri açısından incelenmiştir. Öncelikle, barınaklarda bakılan köpekler görsel olarak muayene edilmiş ve alopesi, eritem, puriritis, kabuklanma ve hiperpigmentasyon gibi deri lezyonu bulunan ve kaşıntı bulgusu gösteren köpekler çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya alınan köpeklerin klinik görünümüleri; eritem, hiperpigmentasyon, alopesi ve puriritis yönünden skorlama derecesi 0-3 arasında belirlenmiştir (18,19). Daha sonra bu köpeklerin derilerindeki lezyonlu bölgelerden kazıntı örnekleri alınmıştır. Sadece tek bir vücut kısmında lezyon bulunan köpeklerin bu bölgelerinden, generalize lezyonlara sahip köpeklerden ise en az üç farklı bölgeden deri kazıntısı örneği alınmıştır. Kulak uyuzundan şüphelenilen köpeklerin kulak kepçesi içinden bir svap ile örnek alınmış ve tüm örnekler tüp içerisinde laboratuvara ulaştırılmıştır. Köpeklerden toplanan örnekler (deri kazıntısı ve kulak svabı) Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda petri kabı içerisinde 24 saat süreyle %10 KOH (potasyum hidroksit) bekletilmiştir. Daha sonra stereo mikroskopta (Nikon SMZ-10) tespit edilen uyuz etkenleri toplanarak lam-lamel arasına alınmış ve ışık mikroskopunda (Nikon Eclipse E600)  $\times 100$  ve  $\times 400$  büyütmede morfolojik özelliklerine göre tür teşhisleri yapılmıştır (4,5,7). Numune toplama işlemi sırasında örnek alınan köpeğin cinsiyeti, yaşı (diş yapılarına göre) ve numunenin hangi ayda alındığı gibi veriler kayıt altına alınmıştır.

## İstatistiksel Analiz

Elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde ki-kare ( $X^2$ ) ve Fisher'in kesin testleri kullanılmıştır (SPSS Inc., 2018, Chicago, A.B.D.).

## BULGULAR

Bu çalışmada 205 (115 erkek, 90 dişi) adet sokak köpeğinden numune toplanmış ve bunlardan 58 (%28,29) tanesinin köpeklerde uyuz hastalığına yol açan paraziter etkenlerden (*Demodex* spp., *Sarcoptes scabiei* var. *canis*, *Otodectes cynotis*) en az birisi ile enfeste olduğu görülmüştür.

Uyuz enfestasyonu olduğu belirlenen köpeklerin 35'inde (%60,34) *Demodex* spp. (Şekil 1 ve 2) belirlenirken, 19'unda (%32,76) *Sarcoptes scabiei* var. *canis* ve 2'sinde (%3,45) ise *Otodectes cynotis* saptanmıştır. Bunun dışında 2 (%3,45) köpeğin ise *Demodex canis* ve *Sarcoptes scabiei* var. *canis* ile karışık enfeste olduğu tespit edilmiştir. *Demodex* spp. ile enfeste olan köpeklerde baskın tür *D. canis* olarak belirlenirken, Demodikozisi olan 2 adet köpekte ise *D. canis* ve *D. injai* etkenlerinin beraber enfestasyona yol açtığı saptanmıştır (Tablo 1).

Bu çalışmada yaz ayları (Haziran/Temmuz/Ağustos) içerisinde 39 adet uyuz şüpheli köpekten 15 (%38,46) tanesinde uyuz etkenlerine rastlanmıştır. Yaz mevsimi için şüpheli olan ve uyuz enfestasyonu tespit edilen köpeklerin ay/cinsiyet/tespit edilen uyuz etkeni dağılımları Tablo 2'de gösterilmektedir.

Çalışma sırasında sonbahar ayları (Eylül/Ekim/Kasım) içerisinde 66 tane uyuz şüpheli köpek incelenmiş ve bu köpeklerden alınan numunelerin incelenmesi sonucunda 15'inde (%22,72) uyuz etkenlerine rastlanmıştır. Sonbahar mevsimi için şüpheli olan ve uyuz enfestasyonu tespit edilen köpeklerin aylara göre uyuz etkeni dağılımları Tablo 3'te gösterilmektedir.

Çalışmada kış aylarında (Aralık/Ocak/Şubat) 58 adet uyuz şüpheli köpek muayene edilmiş ve bu köpeklerden alınan numunelerin incelenmesi sonucunda 13'ünde (%22,41) uyuz etkenlerine



Şekil 1. *Demodex* spp. ile enfeste bir köpek



Şekil 2. *Demodex* spp. (x400 büyütme)

rastlanmıştır. Kış mevsimi için şüpheli olan ve uyuz enfestasyonu tespit edilen köpeklerin aylara göre uyuz etkeni dağılımları Tablo 4'te gösterilmektedir.

Çalışma sırasındaki ilkbahar aylarında (Mart-Nisan-Mayıs) 42 adet uyuz şüpheli köpek muayene edilmiş ve bu köpeklerden alınan numunelerin incelenmesi sonucunda 15'inde (%35,71) uyuz etkenlerine rastlanmıştır. İlkbahar mevsimi için şüpheli olan ve uyuz enfestasyonu tespit edilen köpeklerin aylara göre uyuz etkeni dağılımları Tablo 5'te gösterilmektedir.

Tablolarda görüldüğü üzere Aralık, Nisan ve Ağustos aylarında enfestasyona rastlanmamıştır. Genel olarak bakıldığında ise *Demodex* enfestasyonları daha fazla gözlenmiştir. Pozitif bulunan olgularda yaşlara göre dağılımda 1 yaşından küçük ve 1-3 yaş aralığında *Demodex* olgularına daha sık rastlanırken, 3 yaş üzeri köpeklerde *Sarcoptes* ve *Demodex* olgu sayılarına birbirine yakın olarak rastlanmıştır (Tablo 6).

Elde edilen bulgular ki kare ( $X^2$ ) ( $p=0,3522$ ) ve Fisher'in kesin ( $p=0,2616$ ) testleri ile istatistiki olarak değerlendirilmiş; yaş, mevsim ve cinsiyete göre farklılıkların önemli olmadığı sonucuna varılmıştır.

Çalışmamız sırasında köpeklerden alınan ve incelenen örneklerin aylara ve mevsimlere göre dağılımına baktığımızda; yaz mevsiminde incelenen 39 örnekten 15'i (%38,46), sonbahar mevsiminde incelenen 66 örnekten 15'i (%22,73), kış mevsiminde incelenen 58 örnekten 13'ü (%22,41) ve ilkbaharda incelenen 42 örnekten 15'i (%35,71) pozitif bulunmuştur. Ay bazında pozitif/şüpheli oranına baktığımızda ise; Mayıs (2021) ayının %62,5'lik prevalans değeri ile yaygınlığın en yüksek görülen ay olduğu ve bunu %56,25'lik ortalama ile Haziran ayının (2020 ve 2021) takip ettiği görülmektedir. Nisan ve Ağustos aylarında ise yedişer şüpheli köpeğin laboratuvar muayenesi yapılmış olmakla birlikte bunlardan hiç birinde etkenlere rastlanmamıştır.

## TARTIŞMA

Kedi ve köpeklerdeki ektoparazitler sadece lezyon oluşturmak suretiyle deri hastalıklarına neden olmakla kalmayıp aynı zamanda çeşitli vektör hastalıklarının naklinde de rol oynamakta, ayrıca aşırı duyarlılık, anemi ve sekonder enfeksiyonlara da yol açabilmektedir (20).

Türkiye'de köpeklerdeki uyuz prevalansını belirlemeye ve tedavilerine yönelik bazı çalışmalar bulunmakla beraber, bu çalışmalar genellikle deri enfeksiyonu olan köpeklerde uyuz enfestasyonu oranının belirtilmesi şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Kocaeli'de kedi, köpek ve kafes kuşlarında enfestasyondan şüpheli bulunmasına bakılmaksızın rutin uyuz teşhis yöntemleri uygulanarak yapılan çalışmada, muayene edilen 200 köpeğin 12'sinde (%6,0) uyuz enfestasyonuna rastlanmış, enfestasyonların %66,7'sinin *Sarcoptes scabiei*, %33,3'ünün *Demodex canis* tarafından oluşturulduğu belirlenmiştir (21). Hatay ilinde sokak köpeklerinde uyuz etkenlerini belirlemeye yönelik olarak yapılan bir çalışmada, incelenen köpeklerin %21'inde

Tablo 1. Uyuz şüpheli köpeklerde pozitif olguların dağılımları

Cinsiyet	Muayene edilen köpek sayısı	Pozitif	<i>Demodex</i>	<i>Sarcoptes</i>	<i>Otodectes</i>	Karışık ( <i>Demodex</i> + <i>Sarcoptes</i> )
Erkek	115	32	15	14	1	2
Dişi	90	26	20	5	1	-
<b>Toplam</b>	<b>205</b>	<b>58</b>	<b>35</b>	<b>19</b>	<b>2</b>	<b>2</b>



**Tablo 2.** Bursa sokak köpeklerinde yaz aylarında tespit edilen uyuz bilgileri

Mevsim (ay)		Muayene edilen hayvan sayısı		Pozitif		Demodex		Sarcoptes		Otodectes
		♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	-
Y A Z	Haziran	6	4	5	1	4	1	1	-	-
	Temmuz	9	13	3	6	1	3	2	3	-
	Ağustos	1	6	-	-	-	-	-	-	-
<b>Toplam</b>		<b>39 (16♀, 23♂)</b>		<b>15 (8♀, 7♂)</b>		<b>9 (5♀, 4♂)</b>		<b>6 (3♀, 3♂)</b>		-

**Tablo 3.** Bursa sokak köpeklerinde sonbahar aylarında tespit edilen uyuz bilgileri

Mevsim (ay)		Muayene edilen hayvan sayısı		Pozitif		Demodex		Sarcoptes		Otodectes
		♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	-
S O N B A H A R	Eylül	11	9	2	1	2	-	-	1	-
	Ekim	9	14	2	4	2	4	-	-	-
	Kasım	12	11	3	3	2	1	1	2	-
<b>Toplam</b>		<b>66 (32♀, 34♂)</b>		<b>15 (7♀, 8♂)</b>		<b>11 (6♀, 5♂)</b>		<b>4 (1♀, 3♂)</b>		-

**Tablo 4.** Bursa sokak köpeklerinde kış aylarında tespit edilen uyuz bilgileri

Mevsim (ay)		Muayene edilen hayvan sayısı		Pozitif		Demodex		Sarcoptes		Karışık (Dx+Sar)		Otodectes
		♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	-
K I Ş	Aralık	7	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ocak	11	10	4	5	4	1	-	2	-	2	-
	Şubat	9	14	2	2	2	1	-	1	-	-	-
<b>Toplam</b>		<b>58 (27♀, 31♂)</b>		<b>13 (6♀, 7♂)</b>		<b>8 (6♀, 2♂)</b>		<b>3 (♂)</b>		<b>2 (♂)</b>		-

**Tablo 5.** Bursa sokak köpeklerinde ilkbahar aylarında tespit edilen uyuz bilgileri

Mevsim (ay)		Muayene edilen hayvan sayısı		Pozitif		Demodex		Sarcoptes		Otodectes	
		♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
İ L K B A H A R	Mart	9	18	3	7	2	3	1	4	-	-
	Nisan	4	3	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mayıs	2	6	2	3	1	1	-	1	1	1
<b>TOPLAM</b>		<b>42 (15♀, 27♂)</b>		<b>15 (5♀, 10♂)</b>		<b>7 (3♀, 4♂)</b>		<b>6 (1♀, 5♂)</b>		<b>2 (1♀, 1♂)</b>	

**Tablo 6.** Uyuz pozitif olguların yaşa göre dağılımı

	<1 yaş	1-3 yaş	>3 yaş
<b>Olgu sayısı</b>	8 adet <i>Demodex</i> 4 adet <i>Sarcoptes</i> 1 adet <i>Otodectes</i>	22 adet <i>Demodex</i> 7 adet <i>Sarcoptes</i> 1 adet <i>Otodectes</i>	6 adet <i>Demodex</i> 7 adet <i>Sarcoptes</i> 2 adet <i>Demodex</i> + <i>Sarcoptes</i>
Pozitif/şüpheli (%)	13/41 (%31,70)	30/101 (%33,66)	15/63 (%23,80)

*D. canis*, %19'unda ise *Sarcoptes scabiei var. canis* tespit edilmiştir (17) ve bu sonuçlar bizim bulduğumuz değerlerle de uyumludur. Canpol ve ark. (1994) tarafından Van ilinde gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise *D. canis*'in köpeklerde %44,4 oranında yaygın olduğu belirlenmiştir (22). Diyarbakır'da sokak köpeklerinde kulak hastalıklarının yaygınlığının belirlenmesine yönelik çalışmada, tespit edilen kulak hastalıklarının %28'inde uyuz etkeni (*Otodectes spp.*) tespit edilmiştir (23). Ülkemizde yapılan çalışmalarda bulunan etkenler bizim bulgularımızla benzerlik gösterirken, enfestasyon oranları farklılık göstermektedir.

Dünyada birçok ülkede köpeklerde uyuz enfestasyonlarıyla ilgili çalışmalar yapılmıştır. Birkaç örnek vermek gerekirse; Nepal'in Katmandu bölgesinde yapılan bir çalışmada uyuz şüphesi ile incelenen 60 köpeğin 34 tanesinin uyuz etkenleri ile enfeste olduğu belirlenmiştir. Bu 34 köpeğin 23'ünde (%68) *Demodex spp.* bulunurken 11'inde (%32) *Sarcoptes scabiei var. canis* tespit edilmiştir (24). Çalışmada bildirilen bu oranlar, çalışmamızda elde edilen oranlara oldukça yakındır. Meksika'da köpeklerde uyuz prevalansını belirlemek amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada ise %23 oranında *D. canis*, %7 oranında *Sarcoptes scabiei var. canis* ve %3,5 oranında *Otodectes cynotis* tespit edilmiştir (25). Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular da bu çalışmanın bulguları ile benzerdir. Çin'de köpeklerdeki *Demodex* prevalansını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada incelenen köpeklerin %13,31'i *Demodex* enfestasyonu yönünden pozitif bulunurken, *Demodex* prevalansı ile köpeğin yaşı, cinsiyeti ve mevsim arasında önemli bir ilişki ortaya konulamamıştır (26).

Elde edilen bulgular ışığında yapılan istatistiksel analizler [ki-kare testi ( $p=0,3522$ ), Fisher'in kesin testi ( $p=0,2616$ )] sonucunda Bursa'daki sahihsiz hayvan bakımevlerine uyuz şüphesi ile getirilen sokak köpeklerinde uyuz yaygınlığı ile mevsim-yaş-cinsiyet faktörleri açısından anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ( $p>0,05$ ).

Çalışmaya dahil edilen uyuz enfestasyonlu köpeklerin cinsiyetleri dikkate alındığında; erkeklerin 32'si (%55,2), dişilerin ise 26'sı (%44,8) pozitif bulunmuştur. Bu durum köpeklerde uyuz prevalansını belirlemek için yapılmış olan birçok çalışmada bulunan benzeri veriler ile desteklenmektedir. Ali ve ark. (9), Bangladeş-Dinajpur bölgesindeki köpeklerde uyuz prevalansını belirlemek için yaptıkları çalışmada erkek köpeklerin %60'ı ve dişi köpeklerin %40'ının uyuz ile enfeste olduğunu tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada ise uyuz enfestasyonu yönünden pozitif olduğu belirlenen köpeklerden %57'sinin erkek, %43'ünün ise dişi olduğu bildirilmiştir (24). Çin'in güneyinde yer alan Guangzhou şehrinde bulunan hayvan hastanesinde köpeklerde demodikozis prevalansını belirlemek amacıyla yapılmış olan bir çalışmada ise incelenen 3977 adet köpekten 130 (%13,31) tanesinde *Demodex* etkeni bulunmuştur. Pozitif tanı alan köpeklerden 83'ünün (%63,8) erkek ve 47'sinin (%36,2) ise dişi olduğu belirtilerek, bu çalışma için erkek köpeklerde *Demodex* prevalansının daha yüksek olduğu vurgulanmıştır (26).

Yapılan çalışmalarda bulunan değerler arasındaki farkların, hayvanların tür duyarlılıkları, yapısal farklılıkları, buldukları bölgenin coğrafi özellikleri ve çevresel koşullar gibi faktörlerin yayılışla ilgili önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

## SONUÇ

Bursa ilinde bulunan sokak köpekleri üzerinde yapılmış olan bu çalışmada uyuz bulgusu gösteren köpeklerdeki uyuz pozitifliği

değerlendirilmiş olup, Bursa ilinde sokak köpeklerinde görülen uyuz olgularının yaygınlığı ile ilgili ilk defa veriler elde edilmiştir. Gerek ülkemizde gerek tüm dünyada köpeklerde önemli bir hastalık olan uyuz enfestasyonlarının yayılım özelliklerinin bilinmesi, tedavide ve korunmada oldukça önemlidir. Dünyada ve ülkemizde köpeklerde uyuz enfestasyonunun yaygınlığı ile ilgili çalışmaların sayısının oldukça sınırlı olması nedeniyle, bu konuyla ilgili yeni çalışmalar yapılması gereklidir.

**\*Teşekkür:** Çalışmamıza destek olan, Zekner Holding'e bağlı Arion İlaç ve Sanayi Ticaret A.Ş.'ye (İstanbul) teşekkür ederiz.

## \* Etik

**Etik Kurul Onayı:** Çalışmayla ilgili Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 05.05.2020 tarih, 2020-05/07 no'lu karar ile gerekli izin alınmıştır.

**Hasta Onayı:** Bu çalışma, Haziran 2020-Şubat 2022 tarihleri arasında Bursa'daki belediye hayvan barınaklarında tutulan sahihsiz köpekler üzerinde gerçekleştirilmiştir.

## \* Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: B.S., L.A., Konsept: S.A.Z., L.A., Dizayn: B.S., A.O.G., S.A.Z., L.A., Veri Toplama veya İşleme: B.S., L.A., Analiz veya Yorumlama: B.S., A.O.G., L.A., Literatür Arama: B.S., Yazan: A.O.G., L.A.

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

**Finansal Destek:** Zekner Holding'e bağlı Arion İlaç ve Sanayi Ticaret A.Ş. tarafından desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- Roncalli RA. The history of scabies in veterinary and human medicine from biblical to modern times. *Vet Parasitol* 1987; 25: 193-8.
- Ljunggren EL. Molecular analysis of *Sarcoptes scabiei* (Dissertation thesis). Swedish University of Agricultural Sciences, 2005.
- Ghubash R. Parasitic miticidal therapy. *Clin Tech Small An P* 2006; 21:135-44.
- Aydın L. Akar Enfestasyonları (Uyuz). İçinde: Özcel MA, editör. Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları/Cilt-2, 2. Baskı. Meta Basım: İzmir; 2017. s. 1310-16.
- Aydın L. Uyuz enfestasyonları. İçinde: Aydın L, Girişgin AO, editörler. *Artrropodoloji (Veteriner Hekimler İçin)*. Dora Yayınları: Bursa; 2021. s. 303-16.
- Tamura Y, Kawamura Y, Inoue I, Ishino S. Scanning electron microscopy description of a new species of *Demodex canis* spp. *Vet Dermatol* 2001; 12: 275-8.
- Desch CE, Hillier A. *Demodex injai*: A new species of hair follicle mite (Acari: Demodecidae) from the domestic dog (Canidae). *J Med Entomol* 2003; 40: 146-9.
- Bourdeau PJ. Variation of size in *Demodex canis*: from the shortest to the longest forms. *Vet Dermatol* 2010; 21: 213-8.
- Ali MH, Begum N, Azam MG, Roy BC. Prevalence and pathology of mite infestation in street dogs at Dinajpur municipality area. *J Bangladesh Agril Univ* 2011; 9: 111-9.
- Beugnet F, Halos L, Larsen D, De Vos, C. Efficacy of oral afoxolaner for the treatment of canine generalised demodicosis. *Parasite* 2016; 23: 14.
- Fourie JJ, Liebenberg JE, Horak IG, Taenzler J, Heckerth AR, Frénais R. Efficacy of orally administered fluralaner (Bravecto™) or topically applied imidacloprid/moxidectin (Advocate®) against generalized demodicosis in dogs. *Parasite Vector* 2015; 8: 1-7.

12. Esenkaya-Taşbent F, Dik B. Bir öğrencide köpek ilişkili *Demodex* spp. enfestasyonu: Nadir bir demodex olgusu. *Mikrobiyol Bul* 2018; 52: 214-20.
13. Curtis CF. Current trends in the treatment of *Sarcoptes*, *Cheyletiella* and *Otodectes* mite infestations in dogs and cats. *Vet Dermatol* 2004; 15: 108-14.
14. Arlian LG, Morgan MS. A review of *Sarcoptes scabiei*: Past, present and future. *Parasites Vector* 2017; 10: 1-22.
15. Yıldız K, Veteriner Parazitoloji (Çeviri) (Taylor MA, Coop RL, Wall RL). Malatya: Medipres Yayıncılık; 2016.
16. Chee JH, Kwon JK, Cho HS, Cho KO, Lee YJ, El-Aty AMA, et al. A survey of ectoparasite infestations in stray dogs of Gwang-ju City, Republic of Korea. *Korean J Parasitol* 2008; 46: 23-7.
17. Kaya ÖM, Akküçük Ş, Karagöz M, Zerek A, Yaman M. A survey of mange-mite in stray dogs from Hatay province. *Van Vet J* 2018; 29: 67-70.
18. Ural K, Voyvoda H, Ulutas B, Pasa S, Aysul N, Gultekin M. Understanding primary and secondary skin lesions among infectious dermatoses in dogs: lessons we learned from cases. *Anim Health Prod Hyg* 2012; 1: 86-99.
19. Yipel FA. Kedilerde kulak uyuzu (*Otodectes cynotis*) sağaltımında ozonlanmış zeytinyağı ve bazı esansiyel yağların (*Allium sativum* L., *Origanum majorana* L.) etkileri (Doktora tezi). Afyon Kocatepe Üniversitesi, 2014.
20. Scoott DW, Miller WH, Griffin CE. Muller and Kirk's small animal dermatology. 6th ed. Philadelphia, USA: WB Saunders; 2001.
21. Kalelioğlu B. Kocaeli yöresi pet hayvanlarında uyuz enfestasyonları ve türlerin yaygınlığı. Doktora Tezi. Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1999, Bursa.
22. Değer S, Taşçı S, Akgül Y, Alkan İ. Van ve yöresinde evcil hayvanlarda ektoparaziter dermatitler. *Yüzüncü Yıl Üniv Vet Fak Derg* 1994; 5: 155-61.
23. Becerman V, Erol H, Hızlısoy H. Diyarbakır Büyükşehir Belediyesi hayvan bakım ve rehabilitasyon merkezindeki yaşayan köpeklerde görülen kulak hastalıklarının insidensinin belirlenmesi. *Dicle Üniv Vet Fak Derg* 2020; 13: 39-43.
24. Bindari YR, Shrestha S, Shrestha MN. Prevalence of mange infestation in canines of Kathmandu Valley. *Int J Vet Sci* 2012; 1: 21-5.
25. Rodriguez-Vivas RI, Ortega-Pacheco A, Rosado-Aguilar JA, Bolio GME. Factors affecting the prevalence of mange-mite infestations in stray dogs of Yucatán, Mexico. *Vet Parasitol* 2003; 115: 61-5.
26. Yi-Zhou C, Rui-Qing L, Dong-Hui Z, Hu-Qun S, Fen C, Zi-Guo Y, et al. Prevalence of *Demodex* infection in pet dogs in Southern China. *African J Microbiol Res* 2012; 6: 1279-82.

# Trends in *Anisakis simplex* Global Research: A Bibliometric Analysis Study

## *Anisakis simplex* Araştırmalarında Küresel Trend: Bibliyometrik Bir Analiz

✉ Mehmet Emin Aydemir<sup>1</sup>, ✉ Selahattin Aydemir<sup>2</sup>, ✉ Serap Kılıç Altun<sup>1</sup>, ✉ Sevil Alkan<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Harran University Faculty of Veterinary, Department of Food Hygiene and Technology, Şanlıurfa, Türkiye

<sup>2</sup>Van Yüzüncü Yıl University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Van, Türkiye

<sup>3</sup>Çanakkale Onsekiz Mart University Faculty of Medicine, Department of Infectious Disease and Clinical Microbiology, Çanakkale, Türkiye

Cite this article as: Aydemir ME, Aydemir S, Kılıç Altun S, Alkan S. Trends in *Anisakis simplex* Global Research: A Bibliometric Analysis Study. Türkiye Parazitoloj Derg 2024;48(1):51-7.

### ABSTRACT

**Objective:** *Anisakis simplex* is a fish-borne zoonotic parasite. Although this parasite has been known since the 19<sup>th</sup> century, publications on anisakiasis have increased in recent years. Despite this, this subject has yet to be well studied by bibliometric analysis. This study was conducted to show the research points and trends of *A. simplex*.

**Methods:** The Web of Science Core Collection (WoSCC) was mined for articles on *A. simplex*. The VOSviewer software visually evaluated countries, institutions, authors, references, and keywords in this field.

**Results:** A total of 1362 publications were included in this bibliometric analysis. The included publications were published between 1970 and 2022 from 79 countries, mainly from Spain (n=456, 33.48%). The most prolific year was 2020 (n=74). The research area that attracted the most publications was parasitology (n=452), while the most productive author in this area was Cuellar C (n=53). "*Anisakis simplex*", "*Anisakis*" and "anisakiasis" were the most used three keywords.

**Conclusion:** The number of publications on anisakiasis has been increasing over time, suggesting that *A. simplex* is becoming an increasingly important disease worldwide. Research cooperation should be established between researchers from developed and developing countries to determine effective control strategies for anisakiasis.

**Keywords:** *Anisakis simplex*, bibliometric analysis, VOSviewer, fish

### ÖZ

**Amaç:** *Anisakis simplex*, balık kaynaklı zoonotik bir parazittir. Bu parazit 19. yüzyıldan beri bilinmesine rağmen son yıllarda anisakiasis ile ilgili yayınlar artmıştır. Ancak, bu konuyla ilgili herhangi bir bibliyometrik analiz yapılmamıştır. Bu çalışma, *A. simplex*'in araştırma noktalarını ve eğilimlerini göstermek amacıyla yapılmıştır.

**Yöntemler:** Web of Science Core Collection (WoSCC) veri tabanında *A. simplex* ile ilgili makaleler taranmıştır. VOSviewer yazılımı kullanılarak, *A. simplex* ile ilgili çalışma yapan ülkeler, kurumlar, yazarlar, referanslar ve anahtar kelimeler görsel olarak değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Bu bibliyometrik analize toplam 1362 yayın dahil edilmiştir. Dahil edilen yayınlar 1970 ile 2022 yılları arasında, başta İspanya (n=456, %33,48) olmak üzere 79 ülkeden yayınlanmıştır. En fazla yayın yapılan yıl 2020 (n=74) yılı olmuştur. En çok yayın yapılan araştırma alanı parazitoloji (n=452) olurken, bu alandaki en üretken yazar Cuellar C (n=53) olmuştur. "*Anisakis simplex*", "*Anisakis*" ve "anisakiasis" yayınlarda en çok kullanılan üç anahtar kelime olmuştur.

**Sonuç:** Anisakiasis ile ilgili yayınların sayısının zaman içinde artması, *A. simplex*'in dünya genelinde giderek önem kazandığını göstermektedir. Anisakiasis için etkili kontrol stratejilerinin belirlenmesi amacıyla gelişmiş ülkelerdeki araştırmacılar ile gelişmekte olan ülkeler arasında araştırma iş birliği kurulmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** *Anisakis simplex*, bibliyometrik analiz, VOSviewer, balık



Received/Geliş Tarihi: 29.09.2023 Accepted/Kabul Tarihi: 14.02.2024

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

Phone/Tel: +90 530 777 87 08 E-mail/E-Posta: saydmr23@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-0941-2779



©Copyright 2024 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.



## INTRODUCTION

Anisakiasis is a parasitic zoonotic disease brought on by members of the Anisakidae family. *Anisakis*, *Hysterothylacium*, *Pseudoterranova*, and *Contracaecum* are genera that belong to the family Anisakidae (1). But, according to reports, infections in humans are caused by three species of the genus *Anisakis*: *A. simplex sensu stricto*, *A. pegreffii*, and *A. physeteris* (2). *A. simplex* is a parasitic worm that infects marine animals that consume fish and cephalopods, its intermediate hosts (3).

This parasite causes humans disease when raw or undercooked fish meat containing live larvae is consumed. Humans may have one of two unique clinical symptoms after consuming infected fish, cuttlefish, or squid: Living larvae entering the digestive mucosa cause anisakiasis (3). In a person who has already been exposed to allergens, allergies are brought on by IgE-mediated hypersensitivity to live or dead larvae. Anisakiasis may present as severe epigastric pain, an acute abdomen, or eosinophilic gastroenteritis. Histology or endoscopy are two methods that can be used to see the larvae. The primary allergens in *Anisakis* are resistant to digestion and are not denatured by heat or cold. The accurate history and identification of particular IgE are essential for allergy diagnosis (3,4).

According to estimates from the World Health Organization, parasite infections brought on by eating fish products affect roughly 56 million people worldwide (5). The parasites in question include the family of anisakids, which have a reputation for causing severe pathologies in people and are widely dispersed geographically across all continents (4). A significant cause of the infection is the culinary practice of consuming marinated or raw fish in European nations like Italy, and the regular consumption of contaminated raw fish dishes like sushi and sashimi in Japan's national cuisine (6,7). Due to increased public knowledge of anisakiasis infection and better public health diagnosis (better diagnostic tool development), anisakiasis reports have increased across most countries (7).

Leuckhart documented the first case of anisakiasis disease in 1876. Still, it wasn't until the 1960s that the disease became well known as a result of outbreaks of anisakiasis in the Netherlands brought on by the ingestion of lightly salted herring (8). *A. simplex* has a substantial role in human diseases and reports of anisakiasis have increased in most countries. *A. simplex* has become the etiologic agent included in standard allergen sets for research into food allergies, drug allergies, and even anaphylaxis (9). However, there is no systematic bibliometric analysis study on this topic. In order to better understand how fundamental and clinical research might grow in the future, we used a bibliometric analysis to illustrate the research hotspots and trends of *A. simplex*.

## METHODS

### Data Collection

Data were extracted from (<https://www.webofscience.com/wos/woscc/basic-search>) Web of Science Core Collection (Science Citation Index Expanded and Emerging Sources Citation Index) and was downloaded within one day on November 8, 2022. The search formula was set to topic = *Anisakis simplex* and, search date was from June 1, 1970, to November 8, 2022.

A total of 1362 publications were retrieved, including articles, editorial materials, reviews, letters, meeting abstracts, corrections, retractions and proceedings papers. All entries and references from the retrieved data were exported as plain text files and saved in the download text format.

### Statistical Analysis

The Web of Science Core Collection (WoSCC) was used to gather the data, which was then imported into Microsoft Excel 2019 and VOSviewer for visual analysis.

VOSviewer was used to create and display bibliometric maps. Based on collaborative data, it can be used to create author or journal maps, and keyword maps created from co-occurrence data. It is a viewer that the project offers enabling in-depth in-depth analysis of bibliometric maps. VOSviewer, in contrast to the generally used bibliometrics tool, places significant emphasis on the graphic representation of bibliometrics. It is particularly helpful for displaying big bibliometrics in an understandable manner. It is beneficial for understandably displaying big bibliometrics. The primary goal of creating VOSviewer was to evaluate the bibliometric network, create a visual network map, and acquire a thorough comprehension of the dynamic structure of scientific research (10).

We utilized VOSviewer software to examine the country/region and institutional collaborations, author contributions, and keyword analysis. We also used Microsoft Office Excel 2019 to assess the trends.

## RESULTS

We retrieved 1362 publications according to search criteria. The publications were primarily published in the Science Citation Index Expanded (96.696%) index. 82.379% of the documents were research articles, and 32.526% were open access. English was the most preferred language (95.448%).

*Anisakis simplex* has been the subject of an increase in articles each year (Figure 1). The publication outputs from 1970 to 1990 are incredibly low, and the research was still at a standstill. The literature output increased steadily between 1990 and 2000, indicating that *A. simplex* started to draw attention. The volume of articles published between 2010 and 2022 has skyrocketed. 55.07% of the articles were published since 2010.

Most of the publications were from parasitology (33.19%), immunology (18.36%) and allergy (14.91%) research areas (Table 1).

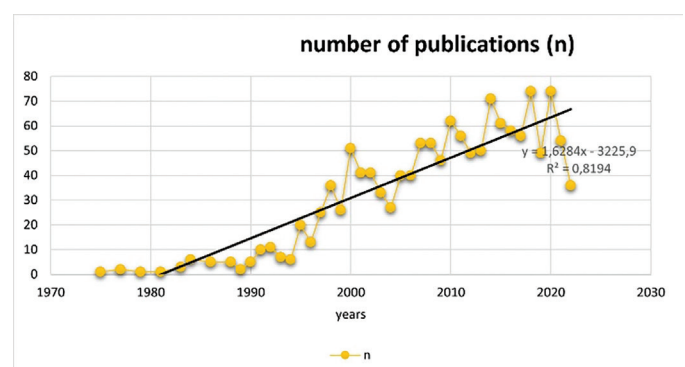


Figure 1. Publications on *A. simplex* over time

The authors from 79 countries contributed to the *A. simplex* research (Figure 2). Spain (33.48%), Italy (15.57%) and the United States (6.90%) were the countries that contributed the most (Table 2). Network visualization using VOSViewer showed a strong collaboration between countries for *A. simplex* research (Figure 3).

Network visualization using VOSViewer revealed 54 authors with at least ten publications and 100 citations. According to the strengths of the authors' relationships, 54 authors were divided into 3 clusters (Figure 4). European agencies mostly funded the studies (Table 3).

Figure 5 shows the maps of the keyword co-occurrence networks. According to the strengths of the co-occurrence relationships, 151 keywords were divided into 10 clusters. The first five most used keywords are *Anisakis simplex*, anisakis, anisakiasis, fish and allergy, respectively (Figure 5).

## DISCUSSION

The bibliometric analysis provides important epidemiological data about the course of diseases from past to present in

medicine all over the world. This analysis explored global research trends and findings in anisakiasis, a zoonotic fish-borne parasitic disease. Our bibliometric analysis determined a steady increase in anisakiasis-related publications from 1970 to 2022. Especially from 1980 to 2020, a significant and long-term increase was observed in publications, and this increase was regular. It was seen with this bibliometric analysis that most articles about anisakiasis were published in 2020. This is because, during this period, more funds may be allocated by economically developed countries. In our analysis, Spain was the country with the most articles, followed by Italy. Our findings show the existence of reported cases of *A. simplex* around the world, with a trend of increasing research output from countries worldwide. Spain and Italy are landlocked countries with highly developed economies where seafood is consumed, and their scientific research capacity and impact on global health research may have increased accordingly. Unsurprisingly, the USA ranks third in the publications list, as this zoonotic fish-borne parasite can find an opportunity for infection on a continent surrounded by water. Another reason the USA is the third most researched country may be that it has similar trends as many other bibliometric studies in different areas, confirming that it is one of the global research leaders, both quantitatively and qualitatively (11-14).

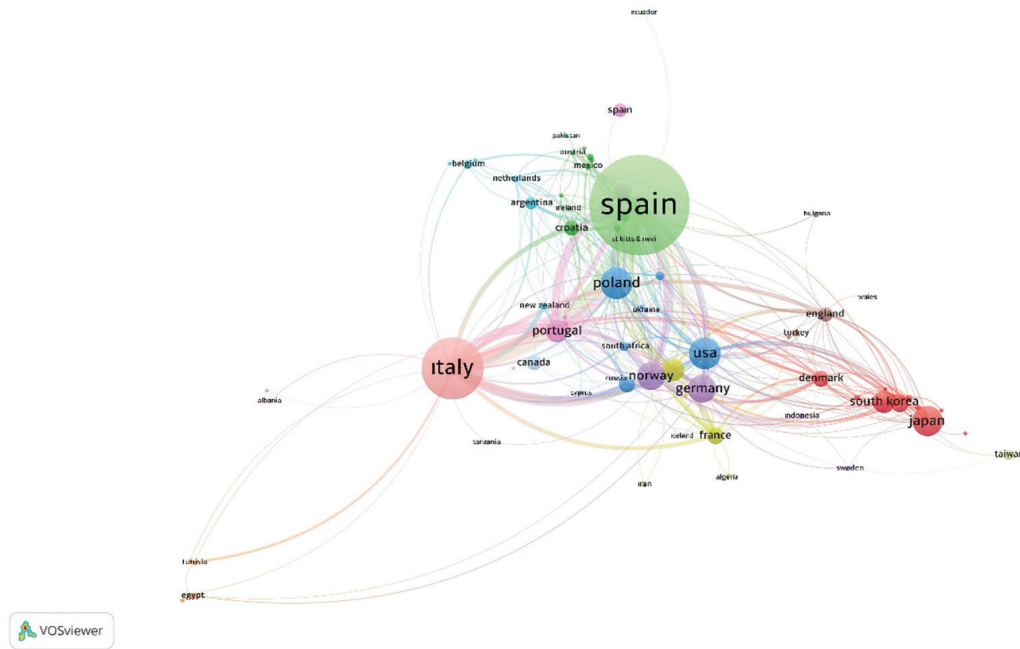
**Table 1.** Research areas of the publications on *A. simplex*

Research areas	Record count	% of 1362
Parasitology	452	33.19
Immunology	250	18.36
Allergy	203	14.91
Food science technology	146	10.72
Veterinary sciences	130	9.55
Fisheries	121	8.88
Zoology	114	8.37
Marine freshwater biology	101	7.42
Microbiology	66	4.85
Infectious diseases	61	4.48
Tropical medicine	49	3.60
Biochemistry molecular biology	42	3.08
Biotechnology applied microbiology	36	2.64
Ecology	36	2.64
Gastroenterology hepatology	29	2.13
Medicine general internal	28	2.06
Oceanography	25	1.84
Public environmental occupational health	22	1.62
Pharmacology pharmacy	21	1.54
Dermatology	20	1.47
Chemistry applied	19	1.40
Multidisciplinary sciences	18	1.32
Genetics heredity	15	1.10
Biodiversity conservation	14	1.03
Biochemical research methods	12	0.88
Agriculture multidisciplinary	11	0.81
Medicine research experimental	10	0.73
Surgery	10	0.73

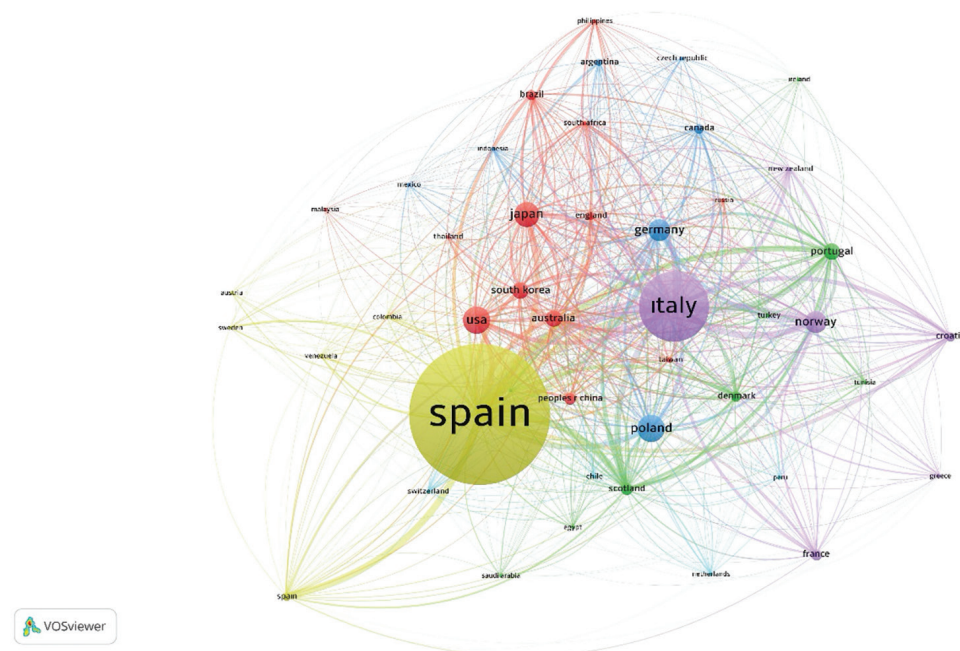
**Table 2.** Top 25 countries related to *A. simplex*

Countries/regions	Record count	% of 1362
Spain	456	33.48
Italy	212	15.57
USA	94	6.90
Japan	83	6.09
Poland	82	6.02
Norway	69	5.07
Germany	67	4.92
Australia	50	3.67
South Korea	50	3.67
Portugal	49	3.60
Canada	42	3.08
Scotland	42	3.08
People's Republic of China	37	2.72
France	36	2.64
Denmark	34	2.50
Brazil	32	2.35
Croatia	28	2.06
England	28	2.06
Argentina	22	1.61
Taiwan	20	1.47
Chile	16	1.18
Belgium	14	1.03
New Zealand	14	1.03
South Africa	14	1.03
Czech Republic	13	0.95

Showing 25 out of 79 entries; 9 record(s) (0.66%) do not contain data in the field being analyzed



**Figure 2.** International collaboration network map



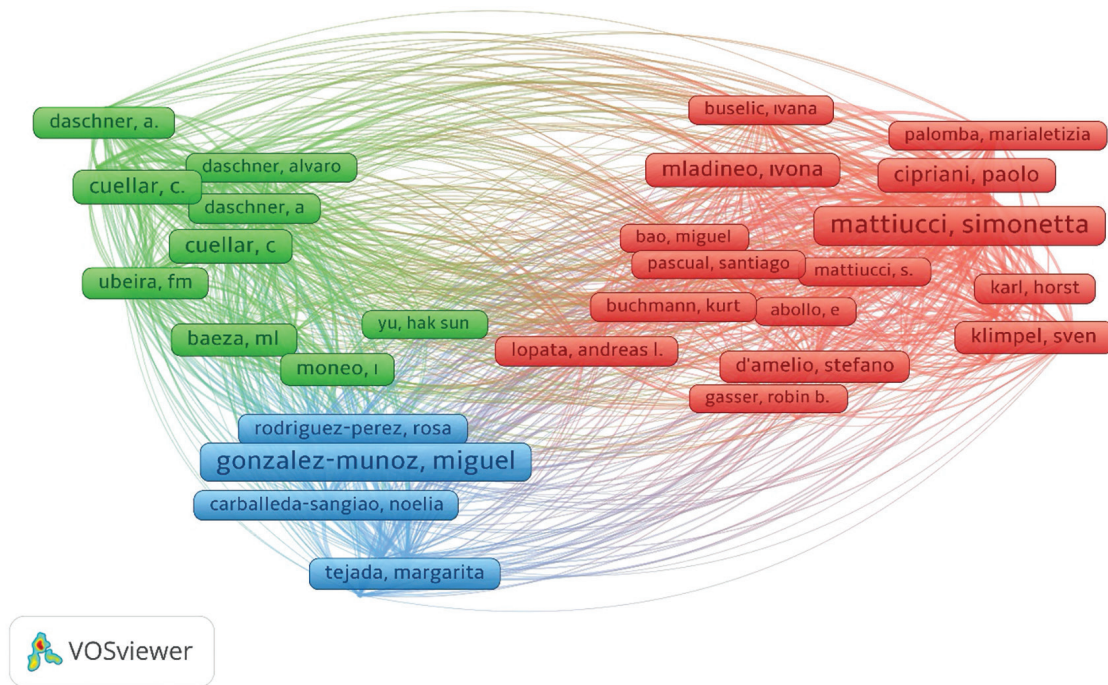
**Figure 3.** Countries with at least five publications and five citations are shown on the map. Collaboration is shown with lines linking nations. Thicker lines indicate stronger cooperation. Countries with a more giant circle or text size had higher international collaboration

The function of the budget allocated by countries for diseases that burden their economies in the health system is essential in promoting science and research (15). This bibliometric analysis supports this. The findings show that most funding agencies are from European countries (European Commission). The results of our study are consistent with other studies (16). Our results

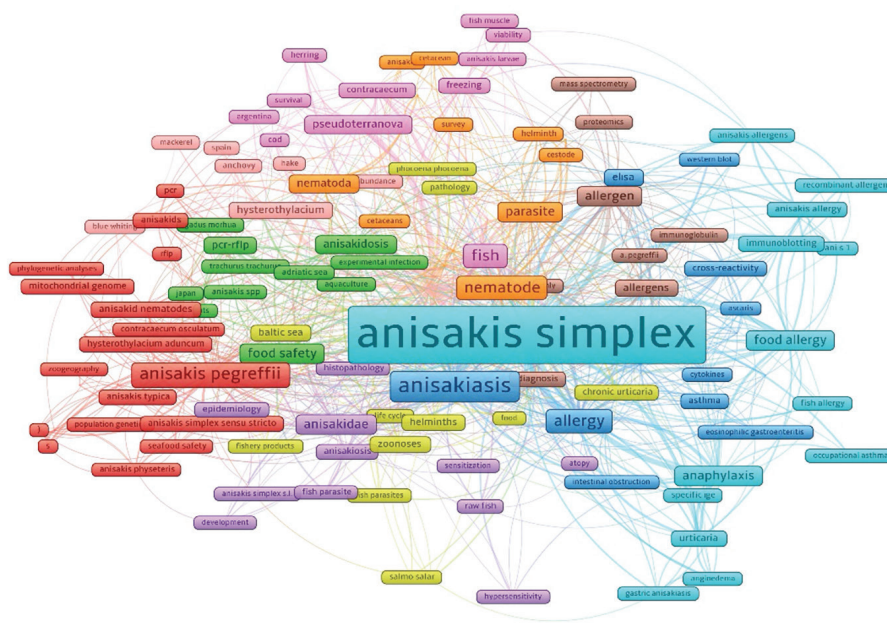
suggest the need for further large-scale research on anisakiasis disease, focusing on preventive aspects and increasing importance in several countries.

Journals are indispensable tools for announcing and disseminating research; therefore, the prestige of a journal plays a vital role in communicating the achievement to the relevant part





**Figure 4.** Authors with at least ten publications and 100 citations are shown on the map. \*\*Citations are indicated by lines linking authors. Authors with a greater circle size or font size had a higher number of citations



**Figure 5.** Keyword visualization map of articles with at least five occurrences. \*\*\*Lines connecting are indicative of occurrence relations in the articles. Keywords represented with larger circle size or font size had a relatively higher occurrence in the articles

of the society (17). Most of the studies have been published in the journals; Parasitology Research (IF: 2.38), Allergy (IF: 14.71), and Journal of Allergy and Clinical Immunology (IF: 14.29). Generally, authors choose the prestige level based on a journal’s IF. The aim and scope of a journal play a vital role in attracting relevant research from different countries. Since anisakiasis is

a parasitic disease that causes allergies and is based on medical and veterinary science, the journal “Journal of Parasitology” was among the top four journals in this field since most of the articles were published in journals focusing on these issues. In this regard, it should be noted that the reader’s access to the article affects the count of citations in journals. For this reason, limited access to the



**Table 3.** Funding agencies of the publications on *A. simplex*

	Record count	% of 1362
European Commission	66	4.85
Spanish Government	24	1.76
Portuguese Foundation for Science and Technology	20	1.47
Instituto De Salud Carlos Iii	15	1.10
Ministry of Education Culture Sports Science and Technology Japan Mext	15	1.10
United States Department of Health Human Services	14	1.03
National Natural Science Foundation of China	13	0.95
Ministry of Science and Innovation Spain	12	0.88
National Institutes of Health USA	12	0.88
Australian Research Council	11	0.81

Showing 10 out of 597 entries; 849 record(s) (62.335%) do not contain data in the field being analyzed

published literature sometimes changes the journal preference of the author.

On the other hand, among the authors included in the bibliometric analysis from 79 countries, we found that the authors with the most articles were from Spain. Among the authors with at least ten articles and 100 citations on *A. simplex*, the highest scorer was Mattiucci Simonetta. Of course, the count of publications does not always lead to more citations, but it should not be forgotten that the work will be cited for its content, originality and new contributions to science. One of the leading authors in the field of anisakidosis, one of the published works of Matiucci Simonetta received the highest number of citations.

Keywords play an important role in finding the document we are scanning. The most used keywords in our analysis were “*Anisakis simplex*” and “*Anisakis*”. The keywords we chose pointed to the aetiology of the zoonosis. In anisakiasis, most published studies focused on knowledge of prevalence, causes of the disease, and epidemiology. Suppose we want to increase the number of citations and reach of articles while increasing the number of articles on a subject. In that case, we should avoid publishing similar information repeatedly in the introduction. It will suffice to give enough information to understand the disease initially for diagnosis and later for treatment. Overworking on just one aspect of a disease loses interest in the scientific community, which can hamper control of its spread.

### Study Limitations

This study utilized only one database search (WoSCC), which may impact on the publication frequency and the citation count in anisakiasis. However, WoSCC is one of the most common databases used for bibliometric analysis. Our results must be evaluated in line with this limitation.

### CONCLUSION

The research results are of particular value to veterinarians, parasitologists, and other researchers in this field, and provide insights into research boundaries and trends in anisakiasis. This study will provide a fundamental reference for designing future policies and research funding to manage the disease effectively in regions where it is endemic. The most commonly used keyword in anisakiasis was “*Anisakis simplex*”, the most studied research area was parasitology, and the most studied country was Spain.

Spain made 33.48% of the publications on anisakiasis and 15.57% by Italy. To develop effective control strategies in the fight against anisakiasis, it would be beneficial for researchers in countries with a small number of studies where the disease is seen and researchers in developed countries to establish research cooperation.

#### \* Ethics

**Ethics Committee Approval:** Since the study was a bibliometric analysis, ethics committee approval was not received.

**Informed Consent:** Not applicable.

#### \* Authorship Contributions

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

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

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

### REFERENCES

- Aibinu IE, Smooker PM, Lopata AL. *Anisakis* nematodes in fish and shellfish- from infection to allergies. Int J Parasitol Parasites Wildl 2019; 9: 384-93.
- Mattiucci S, Nascetti G. Advances and trends in the molecular systematics of anisakid nematodes, with implications for their evolutionary ecology and host-parasite co-evolutionary processes. Adv Parasitol 2008; 66: 47-148.
- Ringwald M, Muller YD, Ribl C. Human diseases caused by *Anisakis simplex*. Rev Med Suisse 2022; 18: 634-8.
- Pampiglione S, Rivasi F, Criscuolo M, De Benedittis A, Gentile A, Russo S, et al. Human anisakiasis in Italy: a report of eleven new cases. Pathol Res Pract 2002; 198: 429-34.
- World Health Organization. Soil-transmitted helminths. World Health Organization. Available from: [http://www.who.int/intestinal\\_worms/en/](http://www.who.int/intestinal_worms/en/) Accessed on: 8-11-2022.
- Yorimitsu N, Hiraoka A, Utsunomiya H, Imai Y, Tatsukawa H, Tazuya N, et al. Colonic intussusception caused by anisakiasis: a case report and review of the literature. Intern Med 2013; 52: 223-6.
- Ivanovic J, Baltic MZ, Boskovic M, Kilbarda N, Dokmanovic M, Markovic R, et al. Anisakis infection and allergy in humans. Procedia Food Sci 2015; 5: 101-4.

8. Van Thiel PH, Kuipers FC, Roskam RT. A nematode parasitic to herring, causing acute abdominal syndromes in man. *Trop Geogr Med* 1960; 2: 97-113.
9. Audicana MT, Ansotegui IJ, de Corres LF, Kennedy MW. *Anisakis simplex*: dangerous-dead and alive?. *Trends Parasitol* 2002; 18: 20-5.
10. Van Eck NJ, Waltman L. Software Survey: VOSviewer, a computer program for bibliometric mapping. *Scientometrics* 2010; 84: 523-38.
11. Ahmad T, Hua L, Khan M, Nabi G, Khan S, Çinar İÖ, et al. Global research trends in pediatric trauma from 1968 to 2021: A bibliometric analysis. *Front Pediatr* 2021; 9: 762531.
12. Shi J, Gao Y, Ming L, Yang K, Sun Y, Chen J, et al. A bibliometric analysis of global research output on network meta-analysis. *BMC Med Inform Decis Mak* 2021; 21: 144.
13. Zhang X, Estoque RC, Xie H, Murayama Y, Ranagalage M. Bibliometric analysis of highly cited articles on ecosystem services. *PLoS One* 2019; 14: e0210707.
14. Nasir S, Ahmed J, Asrar M, Gilani AH. A bibliometric analysis of pharmacy/ pharmacology research in Pakistan. *Int J Pharmacol* 2015; 11: 766-72.
15. Gläser J, Velarde KS. Changing funding arrangements and the production of scientific knowledge: Introduction to the special issue. *Minerva* 2018; 56: 1-10.
16. Nafade V, Nash M, Huddart S, Pande T, Gebreselassie N, Lienhardt C, Pai M. A bibliometric analysis of tuberculosis research, 2007–2016. *PLoS One* 2018; 13: e0199706.
17. Shah SM, Ahmad T, Chen S, Yuting G, Liu X, Yuan Y. A bibliometric analysis of the one hundred most cited studies in psychosomatic research. *Psychother Psychosom* 2021; 90: 425-30.

# Tehlikeli Bir İlişki: Yurt Dışı Kaynaklı *Plasmodium falciparum* ve *Salmonella Typhi* Koenfeksiyonu Olgusu

## A Dangerous Relationship: A Case of Imported *Plasmodium falciparum* and *Salmonella Typhi* Coinfection

© Derya Tuna Ecer<sup>1</sup>, © Yener Özel<sup>2</sup>, © Oktay Yapıcı<sup>1</sup>, © Mehmet Ünlü<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

<sup>2</sup>Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

Cite this article as: Tuna Ecer D, Özel Y, Yapıcı O, Ünlü M. A Dangerous Relationship: A Case of Imported *Plasmodium falciparum* and *Salmonella Typhi* Coinfection. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2024;48(1):58-61.

### ÖZ

Sıtma, çoğunlukla anofel cinsi dişi sivrisineklerin insanları sokması ile bulaşan paraziter bir hastalıktır. Ülkemizdeki yerli sıtma olgusu bildirimleri Dünya Sağlık Örgütü kayıtlarında görülmemekle birlikte, yurt dışı kaynaklı olgular tespit edilmektedir. Sıtmanın endemik olduğu ülkelere seyahat edenler parazitle enfekte olarak hastalığa yakalanabilmektedir. Ülkemizde her yıl ortalama 200-250 yurt dışı kaynaklı sıtma olgu bildirimleri yapılmaktadır. Ülkemizde tespit edilen yurt dışı kaynaklı sıtma olgularının yaklaşık %75'i *P. falciparum* sıtmasıdır. Sıtma ve salmonelloz özellikle gelişmekte olan ülkelerde görülen enfeksiyonlardır. Sıtma-*Salmonella* koenfeksiyonu, nadir görülmekle birlikte, yüksek mortaliteyle seyredildiği için, erken tanı ve tedavisi önem taşımaktadır. Hastalığın endemik olduğu bölgelere yapılacak seyahatlerde, ön bilgilendirme ve kemoprofilaksiye başlanması bulaşta önemini korumaktadır. Bu sunumda, herhangi bir kemoproflaksi almadan Afrika'ya iş seyahati yapan ve semptomlar sonrası yerel bir hastaneye başvurup orada *P. falciparum* ve *Salmonella Typhi* koenfeksiyon tanısı alan, ancak eksik tedavi edildiği için, ülkemize dönüş sonrası yüksek ateş, üşüme-titremlik, bulantı, ishal, karın ağrısı şikayetleri ile tarafımıza başvuran ve tam iyileşme ile taburcu edilen olgu irdelenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Koenfeksiyon, sıtma, *Plasmodium falciparum*, *Salmonella Typhi*

### ABSTRACT

Malaria is a parasitic disease transmitted by the bite of female Anopheles mosquitoes. Although domestic malaria case notification in our country is not seen in World Health Organization records, cases originating from abroad are detected. Travelers to countries where malaria is endemic can become infected with the parasite. In our country, an average of 200-250 cases of malaria originating from abroad are reported every year. Approximately 75% of malaria cases of foreign origin detected in our country are *P. falciparum* malaria. Malaria and salmonellosis are infections especially seen in developing countries. Although malaria-*Salmonella* coinfection is rare, early diagnosis and treatment are important in terms of its high mortality rate. Preliminary information and initiation of chemoprophylaxis in travels to regions where the disease is endemic remain important in transmission. In this presentation, a case was examined following a business trip to Africa without any chemoprophylaxis, who applied to a local hospital upon symptoms and was diagnosed with *P. falciparum* and *Salmonella Typhi* coinfection but given incomplete treatment. After returning to our country, the patient applying to us with complaints of high fever, chills, nausea, diarrhea and abdominal pain and was discharged with full recovery.

**Keywords:** Coinfection, malaria, *Plasmodium falciparum*, *Salmonella Typhi*

### GİRİŞ

Sıtma, çoğunlukla anofel cinsi dişi sivrisineklerin insanları sokması ile bulaşan paraziter bir hastalıktır. Hastalık etkeni olan türler, *P. falciparum*, *P. vivax*, *P.*

*ovale*, *P. malariae* ve *P. knowlesi* olup mortalite oranı en yüksek olan tür *P. falciparum*'dur. Dünya Sağlık Örgütü'nün yayımladığı 2022 yılı Dünya Sıtma Raporu'na göre, 2021'de dünya çapında tahmini 247 milyon sıtma olgusu ve 619 bin sıtmaya bağlı ölüm



Geliş Tarihi/Received: 30.03.2023 Kabul Tarihi/Accepted: 17.02.2024

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Yener Özel, Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye  
Tel/Phone: +90 266 612 10 10 E-Posta/E-mail: yener\_ozel@hotmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0001-6618-8251



©Telif hakkı 2024 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.

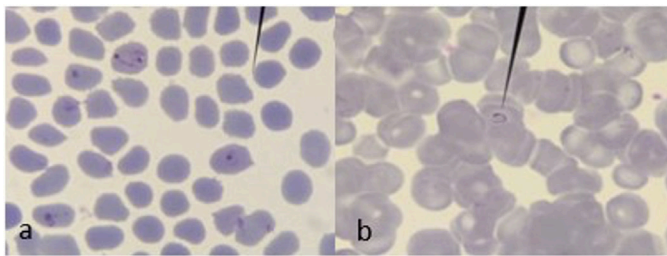
gerçekleşmiştir. Ülkemizde her yıl ortalama 200-250 yurt dışı kaynaklı sıtma olgusu bildirilmekte olup bu olgularının yaklaşık %75'i *P. falciparum* sıtmasıdır (1). Aynı rapora göre Türkiye'de 2013 yılından beri yerli sıtma olgusu görülmemektedir. Ancak 2023 yılında uzun yıllar sonra ilk kez Manisa ilinde lösemi ön tanısı ile takibe alınan ve yurt dışı seyahat öyküsü olmayan 14 yaşındaki kız hastada *P. vivax* kaynaklı yerli sıtma olgusu rapor edilmiştir (2).

Yüksek endemisite bölgelerinde koenfeksiyonlar şeklinde de görülebilen sıtma enfeksiyonunun, salmonelloz gelişimini kolaylaştırdığı, sıtma ve *Salmonella* koenfeksiyonunun mortaliteyi belirgin oranda artırdığı gösterilmiştir (2). Salmonelloz, besin veya suyun taşıyıcı kaynaklı fekal kontaminasyonu ile, sanitasyon alt yapısının yetersiz olduğu aşırı kalabalık ve yoksul bölgelerde yayılabilen, karın ağrısı, ishal ve ateş gibi gastrointestinal semptomlarla ilişkili bakteriyel bir hastalıktır (3).

Bu olguda, Uganda'da *P. falciparum* ve *Salmonella* Typhi tanısı alan, eksik tedavi gören ve tedavi sonrası Türkiye'de tekrar klinik semptomların başlaması nedeniyle tarafımızca tedavi edilen bir hasta ele alınmıştır.

## OLGU SUNUMU

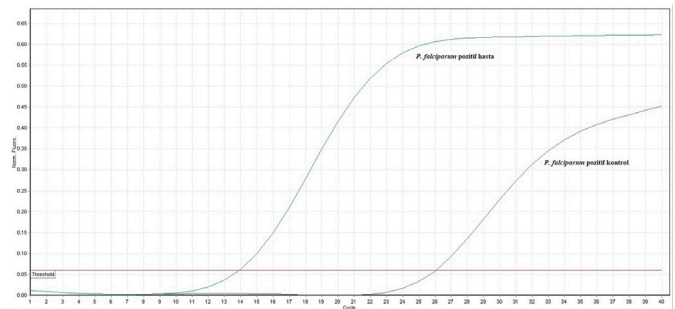
Üşüme-titreme, ateş ve ishal şikayetleri ile acil servisimize başvuran 51 yaşındaki erkek hastanın 2 gün önce Uganda'dan döndüğü, orada *P. falciparum* ve *Salmonella* Typhi'ye bağlı tedavi aldığı öğrenildi. Hastanın öyküsünden ve sunduğu sağlık raporlarından, su sondaj işçiliği nedeniyle Uganda'ya gittiği, gitmeden önce herhangi bir kemoproflaksi almadığı, üşüme-titreme, ishal, bulantı-kusma, ateş şikayetleriyle Afrika'da yerel bir hastaneye başvurduğu ve hızlı tanı testi ile *P. falciparum* tanısı aldığı ayrıca hastanın diğer tetkiklerinde *Salmonella* Typhi IgM/IgG'nin pozitif saptandığı görüldü. Hastaya aynı gün tedavi başlandı ve 1x1 doz 3 gün IM artesunat, p-alaxin ve seftriaksion-avibaktam uygulandığı, üç gün sonunda ise bir hafta kullanması için sefiksime ve parasetamol verilerek taburcu edildiği öğrenildi. İleri tetkik ve tedavi takibi açısından servisimize yatırılan hastada benzer şikayetlerin gelişmesi üzerine, rekürrens düşünülüp aynı zamanda diğer enfeksiyon sebeplerini de kapsayacak ayrıntılı tetkikler istendi. Hasta kurumumuza başvurduğunda kan değerleri, beyaz kan hücresi (WBC):  $3,6 \times 10^3/\mu\text{L}$ , trombosit sayısı (PLT):  $53 \times 10^3/\mu\text{L}$ , hemoglobin (HGB): 15,6 g/dL ve C-reaktif protein (CRP): 87 mg/dL idi. Hastadan alınan kan örneğinden hazırlanan kalın damla/ince yayma preparatlarında %3-5 oranında, *P. falciparum* ile uyumlu, bir eritrosit içinde birden fazla sayıda yerleşmiş, çift taşlı yüzük morfolojisinde, genç trofozoitler görüldü (Şekil 1a).



**Şekil 1.** Hastanın ince yayma preparatları. a) Tedavi öncesi yapılan ince yayma; b) ilk dozdan 6 saat sonra yapılan ince yayma

Hastanın tam kan örneğinden genomik DNA izolasyonu Qiagen DNeasy Blood and Tissue (Qiagen, Germany) kiti kullanılarak yapıldı. İzole edilen DNA örneği, *Plasmodium* tespiti ve tür tayini amacıyla Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda Fast-track FTD Malaria Differentiation (Fast-track, Luxembourg) gerçek zamanlı multipleks polimeraz zincir reaksiyon kiti ile çalışıldı ve etkenin *P. falciparum* olduğu doğrulandı (Şekil 2).

İl Sağlık Müdürlüğü ile hemen iletişime geçilerek hasta için artemeter-lumefantrine temin edildi. Aynı zamanda hastadan alınan tam kan örneği ve 2 adet ince yayma preparatı Sağlık Bakanlığı Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvarı'na gönderildi. Hastanın Uganda'da yapılan tetkiklerinde *Salmonella* Typhi pozitifliği de olduğundan, tedavi rejimi, 5 gün 2x4 artemeter-lumefantrine tb ve 1x2 gr intravenöz seftriakson şeklinde düzenlendi. Hastanın kabulünde gece takiplerinde üşüme-titrete ateş atakları oldu. Hasta parasetamol verilerek rahatlatıldı, salmonellozun takibi bakımından kan ve dışkı örnekleri antibiyotik tedavisi verilmeden önce kültür incelemesine alındı. İlk tedavi dozu verildikten 6 saat sonra yapılan ince yaymada genç trofozoit oranı %3 olarak saptandı (Şekil 1b). Hastanın gün içinde ishal, üşüme-titrete ataklarının azaldığı gözlemlendi. Fizik muayene bulguları normal olup, splenomegali saptanmadı. Tedavinin 2. gününde sabah ve akşam alınan ince yaymalarda genç trofozoit oranı <%1 olarak saptandı. Tedavinin 3, 4 ve 5. günlerinde alınan ince yaymalarda *P. falciparum* ile enfekte eritrosit görülmedi. *Plasmodium falciparum* tanımız, üç gün sonra referans laboratuvarından gelen sonuç ile doğrulandı. Hastadan alınan kan ve dışkı kültürlerinde *Salmonella* üremesinin olmaması, hastanın Uganda'da aldığı *Salmonella* tedavisinin etkili olduğunu düşündürdü. Tedavinin 5. gününde taburcu olmak isteyen hasta, tedavi red formu imzalayıp ayrıldı. Hastanın ayrılışında siprofloksasin 2x750 mg tablet reçete edildi. Hastaya bir günlük daha artemeter-lumefantrine verilirken iki gün sonra kontrol için çağrıldı. Kontrole gelen hastanın kan değerleri, WBC:  $5,5 \times 10^3/\mu\text{L}$ , PLT:  $184 \times 10^3/\mu\text{L}$ , HGB: 19,1 g/dL, CRP: 21 mg/dL idi. İnce yayma preparatlarında *P. falciparum* ile enfekte eritrosit görülmedi. Hastada, üşüme-titrete, ateş ve ishal semptomlarının tamamen geçtiği kaydedildi. Ancak hastanın alt ekstremitelerinde tedavi sonrası gelişen peteşiyel döküntüler görüldü (Şekil 3). Hastanın merkezimize başvurusunu takip eden 20. günde son kontrolleri yapıldı ve kan değerleri WBC:  $6,5 \times 10^3/\mu\text{L}$ , PLT:  $323 \times 10^3/\mu\text{L}$ , HGB: 14.1 g/dL, CRP: 6 mg/dL, prokalsitonin: 0,2 şeklinde normale döndü. İnce yaymada da enfekte eritrositler görülmedi.



**Şekil 2.** *Plasmodium falciparum*'un gerçek zamanlı-polimeraz zincir reaksiyonundaki amplifikasyon grafiği





**Şekil 3.** Tedavi sonrası hastanın bacaklarında gelişen peteşiyel döküntüler

## TARTIŞMA

Küresel ısınma, kuraklık ve bölgesel savaşların tetiklediği göçler, seyahat ve sezonluk işçiler sebebiyle, endemik olmayan bölgelerde sıtma insidansının arttığı görülmektedir. Ülkemiz, Ortadoğu ülkelerinden gelen mültecilerin göç güzergahında yer aldığı için sıtmanın yayılım riski açısından önem arz etmektedir (4). İzmir’de Zorbozan ve ark. (5) atipik görünümü *P. falciparum* ve *P. vivax* olmak üzere iki import olgu bildirmiştir. Manisa’da Tünger ve ark. (6), bir *P. falciparum*/*P. vivax* miks olgusu, Kütahya’da Mıstanoğlu-Özatağ ve ark. (7) ise *P. falciparum* kaynaklı altı olgu bildirmiştir. Hatay ilinde 2008-2017 yılları arasında rapor edilen sıtma olgularını derleyen Şahin ve ark. (8), tamamı import olan 75 olgunun 72’sinin 2010-2017 yılların arasında tanı aldığını bildirmiştir. Benzer şekilde Beşli ve ark. (9) tarafından İstanbul’da 2002-2017 yılları arasında görülen import olguların değerlendirildiği bir çalışmada, toplam 42 olgu bildirilmiş ve bu olguların 36’sı 2010-2017 yılları arasında görülmüştür. Ser (10), Antalya’da 2012-2017 yılları arasında, 29’u *P. falciparum*, dördü *P. vivax*, ikisi *P. ovale* ve biri ise *P. malaria* olmak üzere toplam 36 import olgu bildirmiştir. 2019 yılı içinde dört import olgu Keskin ve ark. (11) tarafından sunulmuş, olguların ikisi *P. falciparum*, ikisi ise *P. vivax* olarak bildirilmiştir. Kazancıoğlu ve Bodur (12) Ankara’da, 2010-2018 yılları arasında takip edilen 22 import sıtma olgusunu retrospektif olarak değerlendirmiş, hastaların 18’inde etken türün *P. falciparum*, 4’ünün ise karışık enfeksiyon olduğunu rapor etmiştir.

Dünya Sağlık Örgütü 2022 Sıtma Raporu’na göre ülkemizde de 2010-2020 yılları arasında 2.375 import olgu gözlemlenmiştir (1). Sağlık Bakanlığı’na göre ise, yıllık ortalama 200-250 import sıtma olgusu görülmekte ve bunların %75’inin *P. falciparum* sıtması olduğu ve yine ortalama bir-dört kişinin *P. falciparum* nedeniyle hayatını kaybettiği ifade edilmektedir (13). Ülkemizde her yıl import *P. falciparum* olgularının görülüyor olması ve artemisin dirençli suşların Doğu Afrika’da (Ruanda ve Uganda’nın bazı bölgelerinde) görülmeye başlanması durumun ciddiyetini ortaya koymaktadır. Direncin *P. falciparum* kelch 13 geninde (Pfk13) meydana gelen mutasyonlarla ilişkili olduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur. Artemisinin direnci ilk olarak 2009 yılında Kamboçya’nın batısındaki Pailin eyaletinde rapor edilmiştir. Artemisinin dirençli *P. falciparum*, Kuzey Kamboçya, Kuzeydoğu Tayland ve Güney Vietnam’a yayılmış ve genişlemiştir. Kısa

süre sonra kombinasyon tedavilerinde kullanılan ikinci ilaç olan piperazine’e karşı dirençle ilişkili kanıtlar da ortaya çıkmaya başlamıştır. Ayrıca, Pfk13- mutasyonları Kuzey Hindistan’da rapor edilmiş ve Papua Yeni Gine, Ruanda, Etiyopya ve Sahra altı Afrika’nın diğer bölgelerinde de gösterilmiştir (14). Ülkemizin, bu bölgelerden Avrupa’ya doğru olan göç yollarının üzerinde yer alması, iklim değişikliğine bağlı olarak vektörlerin aktif kalma süresinin artması ve anofellerin vektörel kapasitelerinin değişmesi gibi faktörler, dirençli *P. falciparum* izolatlarının ülkemizde görülme riskini artırmaktadır. Bu nedenle sıtma enfeksiyonunun, endemik bölgelerden gelen kişilerde mutlaka sorgulanması ve akılda tutulması gerekmektedir.

Antimalaryal ilaçlara karşı direncin gelişmesinde en önemli nedenlerden bir de eksik verilen veya yarım kalan tedavilerdir. Özellikle ekonomik olarak zayıf olan Afrika ülkelerinde antimalaryal ilaçların yüksek maliyeti önemli bir sorun oluşturmaktadır. Ülkemizden bu bölgelere çalışmak için giden vatandaşlarımız sıtma ile enfekte olduğunda, sıklıkla yerel sağlık kuruluşları tarafından eksik tedavi verilerek ülkemize gönderilmektedir. Hastalar ilk tedavinin verdiği rahatlamaya ile hastalığı önemsememekte ve çoğunlukla enfeksiyon tekrarlamaktadır. Antimalaryal ilaç ile bir kez karşılaşmış olan parazit, tedavi tamamlanmadığında direnç geliştirme potansiyeli taşımaktadır. Olgumuzda olduğu gibi hastaya Uganda’da 3 gün 1x1 artesunat IM olarak verilmiş ve tedaviden yaklaşık iki hafta sonra hastalık belirtileri tekrar görülmüştür. Hasta kurumumuza başvurduğu anda yapılan ilk yayma örneklerinde %3-5 civarı parazitemisi mevcuttu. Ülkemizde geçerli olan *P. falciparum* tedavi rejimi kapsamında hastaya 5 gün 2x4 artemeter-lumefantrine tb verildi ve parazitemi 3. günde negatifleşti. 5. güne kadar alınan yaymalarda ve 20. gün alınan kontrol yaymasında parazit görülmedi ve hasta başarıyla tedavi edildi.

Koenfeksiyon ile birlikte görülen sıtma olgularında, enfeksiyonun maskelenerek atlanmaması için gerekli farkındalığın yaratılması esastır. CRP ve prokalsitonin gibi enflamasyon belirteçleri, bakteriyel enfeksiyonlu hastaların yanı sıra *P. falciparum* sıtmasında da yükselebilmekte ve bu belirteçlerin ayırt edilmesini klinik bir zorluk haline getirmektedir. Ateşin yanı sıra, sıtma hastaları genellikle pnömoni veya bakteriyel ishal gibi çeşitli spesifik olmayan klinik belirtilerle sağlık kurumlarına başvurabilmektedir (15).

Sıtma parazitlerinin ve *Salmonella* spp. türlerinin coğrafi olarak örtüşmeleri, özellikle sıtmanın endemik olduğu tropik bölgelerde bu iki patojenin birlikte enfeksiyonuna yol açabilir. Literatürdeki çalışmalar, *P. falciparum* sıtması görülen hastalarda bakteriyel koenfeksiyon insidansının düşük olduğunu göstermektedir (16). Bu olguda hastanın geldiği bölgede sıtma tanısı ve tedavisi almış olması, ilk olarak sıtma enfeksiyonunun sorgulanmasını ve tedavinin erken başlamasını sağlamıştır. Ancak daha önceden tanı almayan ve koenfeksiyon şeklinde sağlık kurumlarına başvuran hastalarda sıtma maskelenebilir ve geç tanı konmasına bağlı olarak daha ciddi sorunlar ortaya çıkabilir. *P. falciparum* ve *Salmonella Typhi* koenfeksiyonu mortal seyredebileceğinden, hastada enterik semptomlar da eşlik ediyorsa koenfeksiyon ihtimali göz ardı edilmemelidir (2). Cholongola ve ark. (17) tarafından Kuzey Tanzanya’da yapılan bir çalışmada, 128 hastanın 31’inde (%24,2) *P. falciparum* ve 17’sinde (%13,3) *S. Typhi* enfeksiyonu pozitif bulunmuştur. *P. falciparum*-*Salmonella Typhi* koenfeksiyonu sadece Bondo bölgesinde 6 hastada (%9,5) tespit edilmiştir. Bazı çalışmalarda, non-tifoidal *Salmonella* (NTS) enfeksiyonunun

tifoidal *Salmonella* veya diğer bakteriyemi enfeksiyonlarına kıyasla şiddetli anemi ve sıtma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, NTS enfeksiyonlarının daha önce antimalaryal tedavi görmüş olma ve sıtma komplikasyonları (şiddetli anemi, sarılık ve hipoglisemi) ile ilişkili olduğu da rapor edilmiştir (18). Ülkemizde ise, Sümer ve ark. (19), tarafından Pakistan'a iş seyahati yapan bir hastada sıtma ve *Salmonella* koenfeksiyonu bildirilmiştir.

## SONUÇ

*P. falciparum* her yaştaki eritrositleri enfekte ederek ciddi mortaliteye yol açabileceğinden, *P. falciparum* sıtmasında erken tanı ve tedavi çok önemlidir. Özellikle endemik bölgelere seyahat öyküsü ve tekrarlayan yüksek ateş, üşüme-titreme, karın ağrısı şikayetleri olan hastalarda sıtma ön planda düşünülmeli ve endemik bölgelere seyahat öncesi kemoproflaksi başlanmalıdır. Riskli ve sıtmanın endemik olduğu bölgelerden gelen hastalarda sıtma tanısı konulsa da bizim olgumuzda da olduğu gibi, koenfeksiyon varlığı açısından ateşli dönem ön planda olmak üzere kan kültürlerinin ve olası tüm enfeksiyonlara yönelik tetkiklerin yapılması gerektiği mutlaka akılda tutulmalıdır.

### \* Etik

**Hasta Onayı:** Bu olguda hastanın yazılı onamı alınmıştır.

### \*Yazarlık Katkıları

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

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

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

## KAYNAKLAR

- World Health Organization. World Malaria Report 2022. <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2022> (Erişim tarihi 01 Mart 2023).
- Cunnington AJ, de Souza JB, Walther M, Riley EM. Malaria impairs resistance to *Salmonella* through heme and heme oxygenase-dependent dysfunctional granulocyte mobilization. *Nat Med* 2011; 18: 120-7.
- Addiman S, Maimaris W, Thomas H, White G, Lawrence J, Balasegaram S. Public health management of salmonella typhi/paratyphi case and contact screening: Lessons from North London. *Public Health* 2012; 127: 207-13.
- Piyal B, Akdur R, Ocaktan E, Yozgatligil C. An analysis of the prevalence of malaria in Turkey over the last 85 years. *Pathog Glob Health* 2013; 107: 30-4.
- Zorbozan O, Pullukçu H, Atalay Şahar E, Karakavuk M, Can H, Tunali V, et al. Mikroskopide atipik görünümü dış kaynaklı iki sıtma olgusunda hızlı test, serolojik ve moleküler yöntemlerin tanıya katkısının önemi [The importance of the contribution of rapid test, serological and molecular methods in the diagnosis of two imported malaria cases with atypical microscopy]. *Mikrobiyol Bul* 2017; 51: 396-403. Turkish.
- Tünger Ö, Çakmak A, Özbilgin A, Tunali V, Çetin ÇB. Imported Malaria in Turkey: The Importance of Diagnosis and Treatment of Plasmodium falciparum/Plasmodium vivax Mixed Infection. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2018; 42: 164-7.
- Mıstanoglu-Özatağ D, Korkmaz P, Gülcan A. Imported Malaria Caused by Plasmodium falciparum: Assessment of Six Cases. *FLORA* 2020; 25: 256-61.
- Şahin Sİ, Çabalak M, Bal T, Ocak S, Önen Y, Çulha G. Hatay ilindeki importe sıtma olgularının retrospektif analizi: 10 yıl içerisinde 75 Olgu. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2019; 43: 60-4.
- Beşli Y, Bengur FB, Akyar I, Kurt O. Investigation of Malaria Cases in a Central Laboratory in İstanbul Region for a Period of Fifteen Years. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2019; 43: 65-9.
- Ser Ö. Evaluation of Malaria Cases Detected in Antalya Province between 2012 and 2017. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2020; 44: 1-6.
- Keskin BH, Tunca B, İnce N, Elif Öztürk C, Gökçe Ö, Dönmez B. Düzce ilinde son bir yılda görülen yurtdışı kaynaklı dört sıtma olgusu. *DÜ Sağlık Bil Enst Derg* 2020; 10: 235-40.
- Kazancıoğlu S, Bodur H. İmporte sıtma vakalarının değerlendirilmesi: Ankara'da bir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deneyimi. *Sağlık Bil Değer* 2022; 12: 1-5.
- Sağlık Bakanlığı. Sıtma Vaka Yönetim Rehberi. HSGM. Erişim Tarihi: 01 Ocak 2022. Erişim Adresi: [https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/zoootik-vektorel-hastalıklar-db/zoootik-hastalıklar/4-Sıtma/6-Rehberler/Stma\\_Vaka\\_Ynetim\\_Rehberi\\_2019.pdf](https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/zoootik-vektorel-hastalıklar-db/zoootik-hastalıklar/4-Sıtma/6-Rehberler/Stma_Vaka_Ynetim_Rehberi_2019.pdf).
- Zhu L, van der Pluijm RW, Kucharski M, Nayak S, Tripathi J, White NJ, et al. Artemisinin resistance in the malaria parasite, Plasmodium falciparum, originates from its initial transcriptional response. *Commun Biol* 2022; 5: 274.
- Küpper-Tetzel CP, Idris R, Kessel J, Schüttfort G, Hoehl S, Kohmer N, et al. Coinfections and antimicrobial treatment in a cohort of falciparum malaria in a non-endemic country: a 10-year experience. *Infection* 2023.
- Sandlund J, Naucner P, Dashti S, Shokri A, Eriksson S, Hjertqvist M, et al. Bacterial coinfections in travelers with malaria: Rationale for antibiotic therapy. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 15-21.
- Chilongola J, Kombe S, Horumpende P, Nazareth R, Sabuni E, Ndaró A, et al. Prevalence of Plasmodium falciparum and Salmonella typhi Infection and Coinfection and Their Association With Fever in Northern Tanzania. *East Afr Health Res J* 2018; 2: 147-55.
- Wilairatana P, Mala W, Klangbud WK, Kotepui KU, Rattaprasert P, Kotepui M. Prevalence, probability, and outcomes of typhoidal/non-typhoidal Salmonella and malaria co-infection among febrile patients: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep* 2021; 11: 21889.
- Sümer S, Ural G, Ural O. Plasmodium falciparum and Salmonella Typhi co-infection: a case report. *Mikrobiyol Bul* 2014; 48: 174-8.

# Multiple Cerebral Hydatid Cyst Developed After Operation of Cardiac Hydatid Cyst: A Case Report

## Kardiyak Hidatik Kist Operasyonu Sonrası Gelişen Multiple Serebral Kist Hidatik: Olgu Sunumu

İmren Mutlu<sup>1</sup>, Ömer Ruşen Koyuncu<sup>2</sup>, Yasemin Çakır<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ministry of Health, Dr. Yaşar Eryılmaz Doğubeyazıt State Hospital, Clinic of Radiology, Ağrı, Türkiye

<sup>2</sup>Ministry of Health, Dr. Yaşar Eryılmaz Doğubeyazıt State Hospital, Clinic of Neurosurgery, Ağrı, Türkiye

<sup>3</sup>Sivas Cumhuriyet University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Sivas, Türkiye

Cite this article as: Mutlu İ, Koyuncu ÖR, Çakır Y. Multiple Cerebral Hydatid Cyst Developed After Operation of Cardiac Hydatid Cyst: A Case Report. Türkiye Parazitoloj Derg 2024;48(1):62-5.

### ABSTRACT

Hydatid cyst is a zoonotic disease and is an important health problem, especially in developing countries. Hydatid cysts are typically observed in the liver and lungs. Cardiac and brain involvement are rare manifestations. Cardiac hydatid cysts are usually located in the left ventricle. Brain involvement is frequently seen as a primary cerebral cyst and is almost always solitary. However, secondary intracerebral cysts are also seen as a result of cardiac cysts rupturing into the left ventricle spontaneously or iatrogenically, and these are usually multiple. Herein, we report a case that has two rare clinical manifestations of hydatid cysts.

**Keywords:** Echinococcosis, hydatid cyst, zoonoses

### ÖZ

Zoonotik bir hastalık olan kist hidatik, özellikle gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sağlık sorunudur. Kist hidatik tipik olarak karaciğer ve akciğerlerde görülmektedir. Kardiyak ve beyin tutulumu hastalığın nadir görülen tutulumlarıdır. Kardiyak kistler genellikle sol ventrikülde görülmektedir. Beyin tutulumu ise sıklıkla primer serebral kist olarak görülür ve çoğunlukla soliterdir. Ancak kardiyak kistlerin spontan veya iyatrojenik olarak sol ventriküle rüptüre olması sonucu sekonder intraserebral kistler de görülmektedir ve bunlar genellikle multipldir. Bu yazıda, kist hidatiğin iki nadir klinik tutulumunun birlikte görüldüğü bir olgu sunulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Ekinokokkoz, kist hidatik, zoonozlar

### INTRODUCTION

Hydatid cyst (HC) is a zoonotic infection caused by *Echinococcus granulosus* (*E. granulosus*) (1). The disease is widely endemic in regions where livestock farming is prevalent and is included in the list of notifiable diseases in Türkiye (2). The parasite has a life cycle that involves two main hosts. The definitive host is usually dogs, while humans act as intermediate hosts and become infected through fecal-oral ingestion of *E. granulosus* eggs. These eggs develop into oncospheres in the intestine and migrate through the systemic circulation to various organs. Haematogenously spreading oncospheres often cause cysts in the liver,

followed by cysts in the lung, and spleen, and very rarely in the brain, heart, and musculoskeletal system (3). Here, we report a case of multiple cerebral HCs that had been previously undergone surgery for intracardiac HCs.

### CASE REPORT

An 8-year-old male patient applied to the outpatient clinic with complaints of fainting, vomiting, and chest pain. Physical examination findings were normal, but electrocardiography showed ST elevation in the right leads, and the troponin level was elevated. He was consulted to the cardiology department with a



Received/Geliş Tarihi: 26.06.2023 Accepted/Kabul Tarihi: 17.02.2024

**Address for Correspondence/Yazar Adresi:** Yasemin Çakır, Sivas Cumhuriyet University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Sivas, Türkiye

**Phone/Tel:** +90 545 327 01 63 **E-mail/E-Posta:** yasemincakir2553@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0001-5510-3216



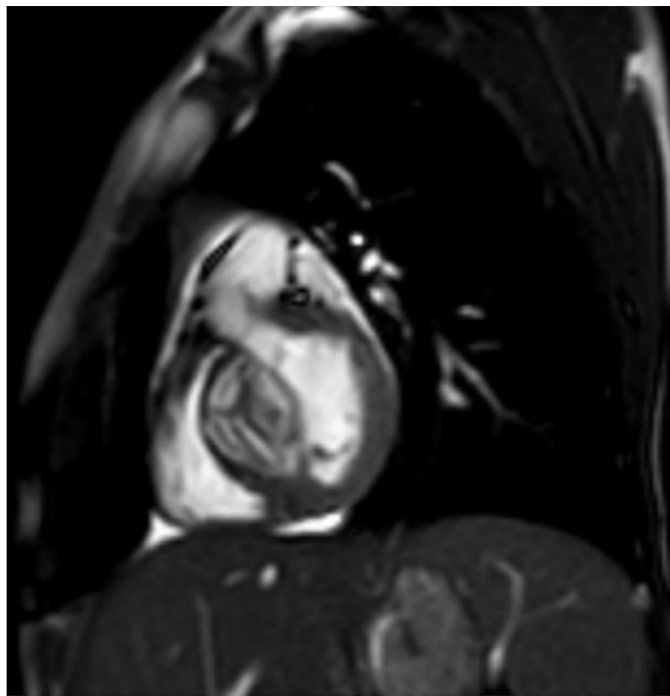
©Copyright 2024 Turkish Society for Parasitology - Available online at [www.turkiyeparazitolog.org](http://www.turkiyeparazitolog.org)

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



prediagnosis of myocarditis. Transthoracic echocardiography revealed a mass lesion in the interventricular septum. Mediastinal magnetic resonance imaging (MRI) showed a 37x25x45 mm septal cystic mass without significant contrast enhancement in the interventricular septum (Figure 1). On contrast-enhanced thoracoabdominal computed tomography (CT) revealed a 48x46x58 mm echinococcosis stage 1 (CE1) cystic lesion (according to the world health organization classification of cyst) in liver segment 7 and isodense mass lesion without calcification (Figure 2). Brain CT imaging was normal at the time. Albendazole 15 mg/kg/day (2 doses daily) was started preoperatively. A pathological examination of the interventricular mass operation revealed a HC.

Three years after the initiation presentation, he presented with headache, vomiting, and occasional blurred vision for 20 days. Vital signs and laboratory tests were normal. On neurological examination, sensory, and motor functions and reflexes were normal. On brain CT imaging, there were multiple smoothly circumscribed cystic lesions, the largest of which was 46x49x48 mm in size, without compression effect and edema, without calcification, and located in the supratentorial region. There was no contrast uptake on contrast-enhanced brain CT (Figure 3). Brain MRI showed multiple well-circumscribed supratentorial cystic lesions that were hypointense on T1-weighted images, hyperintense on T2-weighted images, and without perilesional edema on fluid-attenuated inversion recovery images (Figure 4). The patient preferred a tertiary hospital for surgical treatment. Albendazole was started before surgery. Cysts in the brain were removed by craniotomy surgery. The patient had no complaints at the first postoperative visit and physical examination was normal. Postoperative brain imaging is shown in Figure 5.



**Figure 1.** Mediastinal MRI showed a 37x25x45 mm septal cystic mass without significant contrast enhancement in the interventricular septum

*MRI: Magnetic resonance imaging*

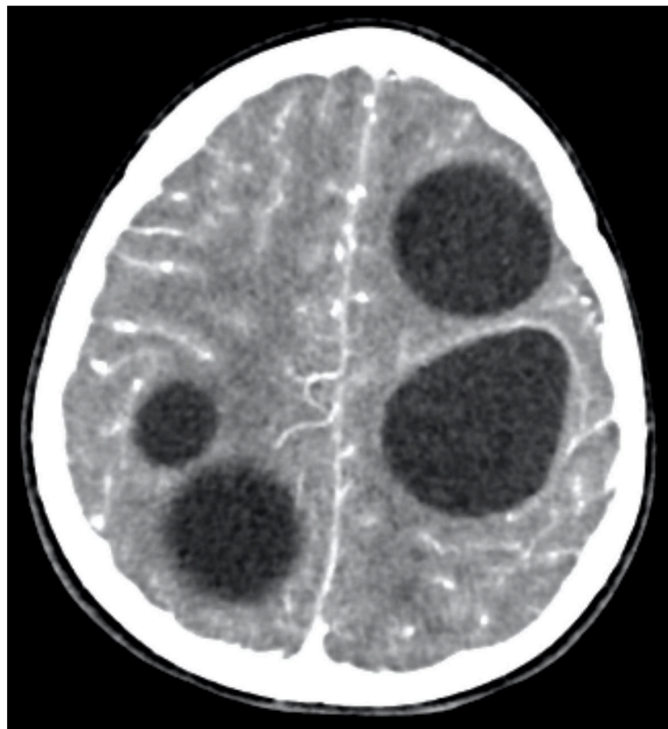
## DISCUSSION

HCs may involve all organs, primarily the liver and secondarily the lungs. Cardiac HC is very rare and occurs in 0.5-2% of all HCs. Cysts are usually found in the left ventricular myometrium (4). The symptoms of a cardiac HC vary according to its location. The cyst may be asymptomatic due to its slow growth, or it may cause valvular regurgitation, atrioventricular defect, arrhythmias, or



**Figure 2.** The contrast-enhanced thoracoabdominal CT revealed a 48x46x58 mm cystic lesion in liver segment 7

*CT: Computed tomography*



**Figure 3.** Brain CT showed multiple smoothly circumscribed cystic lesions, the largest of which was 46x49x48 mm in size, without compression effect and edema, without calcification, and located in the supratentorial region

*CT: Computed tomography*



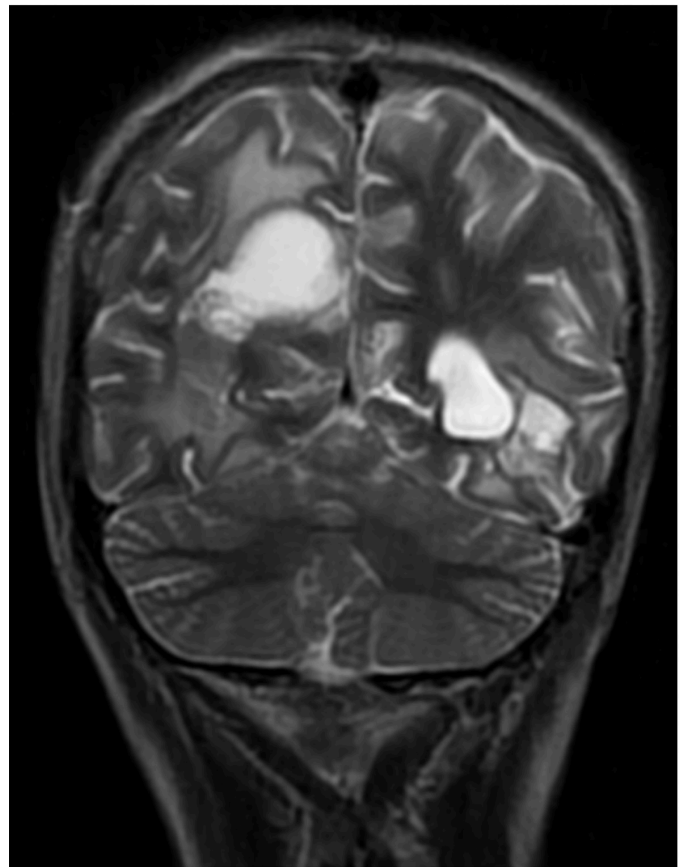


**Figure 4.** Brain MRI showed multiple well-circumscribed supratentorial cystic lesions that were hypointense on T1-weighted images, hyperintense on T2-weighted images, and without perilesional edema on FLAIR images

*MRI: Magnetic resonance imaging, FLAIR: Fluid-attenuated inversion recovery*

rupture of the cyst leading to peripheral and pulmonary embolism, pericardial effusion, and sudden death due to anaphylaxis (5). In our case, the cyst was located in the interventricular septum and caused symptoms of fainting, vomiting, and chest pain. Brain involvement is seen in only 1-2% of HC cases. 80% of patients with cerebral HCs are in the pediatric age group (6). Although the clinical presentation may be asymptomatic depending on the size and localization of the cyst, it may lead to increased intracranial pressure or focal neurological symptoms such as headache, vomiting, visual blurring or loss, hemiparesis, seizures and behavioral changes. Cerebral HCs can grow 1-10 cm per year (7). While primary intracranial cysts are usually solitary, secondary cysts are multiple. Secondary cerebral HC cases constitute more than 50% of cerebral hydatid cyst patients. The cysts are supratentorial in the middle cerebral artery region (8). In our case, it was located supratentorial and caused symptoms of headache, vomiting, and occasional blurred vision. Brain CT was normal at initial presentation and the presence of multiple cysts suggested that the cardiac HC might have multiple dissemination to the cerebral parenchyma as a complication of the operation.

HCs are usually diagnosed by clinical findings, serological and imaging methods. In some cases, serological tests may be false negative, and imaging methods may give better results. In addition, diagnosis, staging, and follow-up can be easily made



**Figure 5.** Postoperative brain MRI showed an increase in intensity consistent with edema and around the postoperative cavities

*MRI: Magnetic resonance imaging*

with radiological imaging. In radiological imaging, MRI is very functional to evaluate the nature of the cyst. Localization of the internal and external structural features of the cyst can be easily evaluated. HCs may be unilocular or multilocular and may have daughter vesicles, membrane separation, and wall calcification. The diagnosis can be easily made in these cases, but another differential diagnosis should be considered when solidifying hydatid cysts.

Radiological evaluation of the cerebral HC and the hypointense peripheral ring is a typical finding on MRI T2A images (6). Perilesional edema or wall calcifications are usually not seen around them. Perilesional edema and contrast enhancement usually indicate rupture or are complicated by secondary infection. Rupture of the cyst may cause recurrent cysts in the subarachnoid space, intracranial and spinal regions (9). Arachnoid cysts, pencephalic cysts, pyogenic abscesses, neurocysticercosis, and cystic tumors should be considered in the differential diagnosis of cerebral HC (10). Treatment of cardiac and cerebral HC is medical and surgical. Preoperative albendazole is used as a supportive treatment to reduce postoperative recurrences (11). In our case, we used albendazole before cardiac and brain surgery.

## CONCLUSION

In conclusion, this case is important in terms of its contribution to the literature, as it presents a rare occurrence of HCs. If it comes to mind in the diagnosis, the diagnosis can be easily made with radiological imaging findings. It should be kept in mind in the differential diagnosis, particularly for individuals residing in endemic areas.

### \* Ethics

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

### \* Authorship Contributions

Surgical and Medical Practices: Ö.R.K., Concept: İ.M., Ö.R.K., Y.Ç., Design: İ.M., Y.Ç., Data Collection or Processing: Ö.R.K., Y.Ç., Analysis or Interpretation: İ.M., Y.Ç., Literature Search: İ.M., Ö.R.K., Writing: İ.M., Y.Ç.

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

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

## REFERENCES

1. McManus DP, Zhang W, Li J, Bartley PB. Echinococcosis. *Lancet* 2003; 362: 1295-304.
2. Romig T. Epidemiology of echinococcosis. *Langenbecks Arch Surg* 2003; 388: 209-17.
3. Botezatu, C, Mastalier, B, Patrascu T. Hepatic hydatid cyst-diagnose and treatment algorithm. *J Med Life* 2018; 11: 203-9.
4. Dursun M, Terzibasoglu E, Yilmaz R, Cekrezi B, Olgar S, Nisli K, et al. Cardiac hydatid disease: CT and MRI findings. *AJR Am J Roentgenol* 2008; 190: 226-32.
5. Ozer N, Aytemir K, Kuru G, Atalar E, Ozer Y, Ovünç K, et al. Hydatid cyst of the heart as a rare cause of embolization: report of 5 cases and review of published reports. *J Am Soc Echocardiogr* 2001; 14: 299-302.
6. Bükte Y, Kemaloglu S, Nazaroglu H, Ozkan U, Ceviz A, Simsek M. Cerebral hydatid disease: CT and MR imaging findings. *Swiss Med Wkly* 2004; 134: 459-67.
7. Kemaloglu S, Ozkan U, Bükte Y, Acar M, Ceviz A. Growth rate of cerebral hydatid cyst, with a review of the literature. *Childs Nerv Syst* 2021; 17: 743-5.
8. Turgut M. Intracranial hydatidosis in Turkey: Its clinical presentation, diagnostic studies, surgical management, and outcome. A review of 276 cases. *Neurosurg Rev* 2001; 24: 200-8.
9. Abbasi B, Akhavan R, Ghamari Khameneh A, Darban Hosseini Amirkhiz G, Rezaei-Dalouei H, Tayebi S, et al. Computed tomography and magnetic resonance imaging of hydatid disease: A pictorial review of uncommon imaging presentations. *Heliyon* 2021; 7: e07086.
10. Guzel A, Tatli M, Maciaczyk J, Altinors N. Primary cerebral intraventricular hydatid cyst: a case report and review of the literature. *J Child Neurol* 2008; 23: 585-8.
11. Kardaras F, Kardara D, Tselikos D, Tsoukas A, Exadactylos N, Anagnostopoulou M, et al. Fifteen-year surveillance of echinococcal heart disease from a referral hospital in Greece. *Eur Heart J* 1996; 17: 1265-70.

# Acanthocephala Species of Mammals in Türkiye and A New Species Record from Foxes

## Türkiye’de Memelilerde Acanthocephala Türleri ve Tilkilerden Yeni Bir Tür Kaydı

© Mehmet Öztürk, © Şinasi Umur

Ondokuz Mayıs University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology, Samsun, Türkiye

Cite this article as: Öztürk M, Umur Ş. Acanthocephala Species of Mammals in Türkiye and A New Species Record from Foxes. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2024;48(1):66-71.

### ABSTRACT

Acanthocephalosis is a zoonotic parasitic infection of vertebrates. The phylum Acanthocephala contains nearly 1500 acanthocephalan species. The Archiacanthocephala class is observed in terrestrial habitats and usually has a large, spineless trunk. Acanthocephalans are parasitic worms that use insects as intermediate hosts in their two-host life cycles. Insects, millipedes, and crustaceans in terrestrial areas serve as intermediate hosts and birds and mammals as definitive hosts. Acanthocephalans collected from the red fox (*Vulpes vulpes*) found dead on the road to Sarıkamış-Kars in 1995 and stored in formaldehyde were kept in Ondokuz Mayıs University Faculty of Veterinary Medicine, Veterinary Parasitology Laboratory Museum until 2023 after our parasitological study found an infected red fox with *Pachysentis* sp. This study provides the anatomy of the acanthocephalans and the laboratory practice necessary for a good and reliable diagnosis. This study reports a new species, *Pachysentis* sp., of acanthocephalan (thorny-headed worm) found in red foxes for Türkiye. On the basis of relevant articles, we have created a key to Acanthocephala species occurring in mammals.

**Keywords:** Acanthocephala, *Pachysentis*, Türkiye, *Vulpes vulpes*

### ÖZ

Acanthocephalosis omurgalıların zoonotik parazitik bir enfeksiyonudur. Acanthocephala kökü yaklaşık 1500 acanthocephalan türü içerir. Archiacanthocephala sınıfı karasal habitatlarda özgü görülür ve genellikle büyük, dikensiz bir gövdeye sahiptirler. Acanthocephalalar, iki konaklı yaşam döngülerinde böcekleri ara konak olarak kullanan parazitik canlılardır. Karasal alanlarda böcekler, kırkayaklar ve kabuklular arakonak, kuşlar ve memeliler ise son konak olarak görev yapar. Sarıkamış-Kars yolu üzerinde 1995 yılında ölü bulunan kızıl tilkiden (*Vulpes vulpes*) toplanan ve formaldehit içerisinde saklanan Acanthocephalalar, 2023 yılına kadar Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Veteriner Parazitoloji Laboratuvar Müzesi’nde muhafaza edilmiştir, parazitolojik çalışmamızda *Pachysentis* sp. olarak teşhis edilmiştir. Bu çalışma, acanthocephalanların anatomisini ve iyi ve güvenilir bir teşhis için gerekli laboratuvar uygulamalarını vermektedir. Bu çalışma, Türkiye için kızıl tilkilerde görülen yeni bir akantosefalan (diken başlı solucan) türünü, *Pachysentis* sp., bildirmektedir ve memelilerde görülen acanthocephalan türleri için bir anahtar içermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Acanthocephala, *Pachysentis*, Türkiye, *Vulpes vulpes*

### INTRODUCTION

The phylum Acanthocephala contains four classes and nearly 1500 acanthocephalan species (1). Archiacanthocephala class is observed in terrestrial habitats, and Eoacanthocephala, Palaeacanthocephala, and Polyacanthocephala classes are kept in aquatic habitats. Class Archiacanthocephala is usually a large, spineless trunk. Cement glands usually have eight multinucleate. Insects, millipedes, and crustaceans in

terrestrial areas serve as intermediate hosts, and birds and mammals as definitive hosts (2).

Archiacanthocephala consists of four orders. The order Apororhynchidae, with one genus and seven species, occurs entirely in birds (3,4). The order Moniliformida has three genera. *Australiformis* contains one species, *Australiformis semoni*, and has a localised distribution in Australia and New Guinea marsupials (5). *Promoniliformis* contains one species, *Promoniliformis ovocristatus*, and has a localised distribution in the



Received/Geliş Tarihi: 24.07.2023 Accepted/Kabul Tarihi: 25.12.2023

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Mehmet Öztürk, Ondokuz Mayıs University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology, Samsun, Türkiye

Phone/Tel: +90 543 548 45 24 E-mail/E-Posta: mhmt556@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-3559-0587



© Copyright 2024 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.

Afrotropical region in tenrecs (6). *Moniliformis* contains eighteen species and occurs in mammals, including humans. The order Gigantorhynchidae has three genera (4). *Gigantorhynchus* comprises six species, all found in mammals in South America and baboons in Africa (7). *Intraproboscis* has one specie, *Intraproboscis sanghae*; this acanthocephalan species is found in mammals in Africa, and *Mediorhynchus* contains at least 60 acanthocephalan species from birds worldwide (7). Oligacanthorhynchida contains twelve genera, including *Macracanthorhynchus*, *Pachysentis*, etc., and numerous species (4).

For a satisfactory and comfortable morphological diagnosis of acanthocephalans, it is necessary to have a good command of their anatomy. Their bodies are generally divided into the proboscis, the neck and the trunk. The proboscis can be short and stubby, cylindrical with few hooks or cylindrical with many hooks (Figure 1). The proboscis has hooks and hooks' roots. The hooks and the roots are essential for identification. The neck is the unarmed part of the trunk immediately following the most posterior circle of hooks on the proboscis. It may be virtually non-existent or very long and well-developed. The proboscis receptacle, the lemnisci and the reproductive system are in the trunk. The proboscis receptacle allows the proboscis to be pulled in and out of the trunk and has a single or double wall. A pair of lemniscus arises at the base of the neck and is thought to have an absorptive function. The lemniscus may be of equal or unequal length, short or very long, with or without a nucleus, and of various shapes. The female reproductive system comprises the gonads, where the ovarian balls develop and produce the oocytes and the eggs after fertilisation. The efferent duct of the female system contains the uterine bell, the uterus and the vagina. The vaginal sphincter and the genital opening are located posterior to the trunk and all the genital organs. The male reproductive system generally consists of two testes, a seminal vesicle, cement glands, a cement reservoir, a Saeftigen's pouch, a copulatory bursa and a penis. The testes are spheroid-ovoid or elongated, tubular, usually found in tandem. The cement glands can be four, six or eight in number and ovoid, piriform, elongated or tubular (8,9).

The life cycle of acanthocephalans generally consists of an intermediate host and a final host. Adult and mated female acanthocephalans lay eggs in the intestine of vertebrates. The eggs are excreted together with the faeces of the host. A proper intermediate host takes up the acanthor in the egg. The acanthor emerges from the egg, penetrates the intestine of the intermediate host and passes into the haemocoel. Within the haemocoel, the acanthor first develops into acanthellae and then into cystacanth, an infective form for the final hosts. The definitive hosts become infected by taking the infective form into the intermediate host. Sometimes cystacanth can be taken up by paratenic intermediate hosts. In such a case, the cystacanth

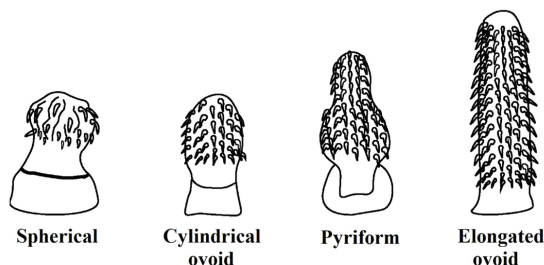
penetrates the intestinal wall of the paratenic intermediate host and enters the mesentery, where its cysts. Suitable end-hosts can complete the infection by eating paratenic arachnids with cystacanths in the mesentery (10,11). If another definitive host eats an infected host, acanthocephalans can infect the new host. This type of transmission is called post-cyclic transmission (12).

## MATERIALS AND METHODS

In 1995, a red fox (*Vulpes vulpes*) was found dead in a traffic accident on the Kars-Sarıkamış Road and kept in formaldehyde to prevent putrefaction during transport. Then necropsy was performed, and the acanthocephalan specimens found were placed in formaldehyde again. Until 2023, they were kept in Ondokuz Mayıs University Faculty of Veterinary Medicine, Veterinary Parasitology Laboratory Museum. Some specimens were dissected to understand their morphological characteristics. Other samples were prepared with Semichon carmine following the procedure given below. Then the parasites were identified using the morphological features under a Nikon Eclipse 80i light microscope. Special morphological characters were measured and photographed using the MDX4 - T Mshot camera integrated into the microscope and then drawn with Adobe Illustrator 2020 (Figure 2).

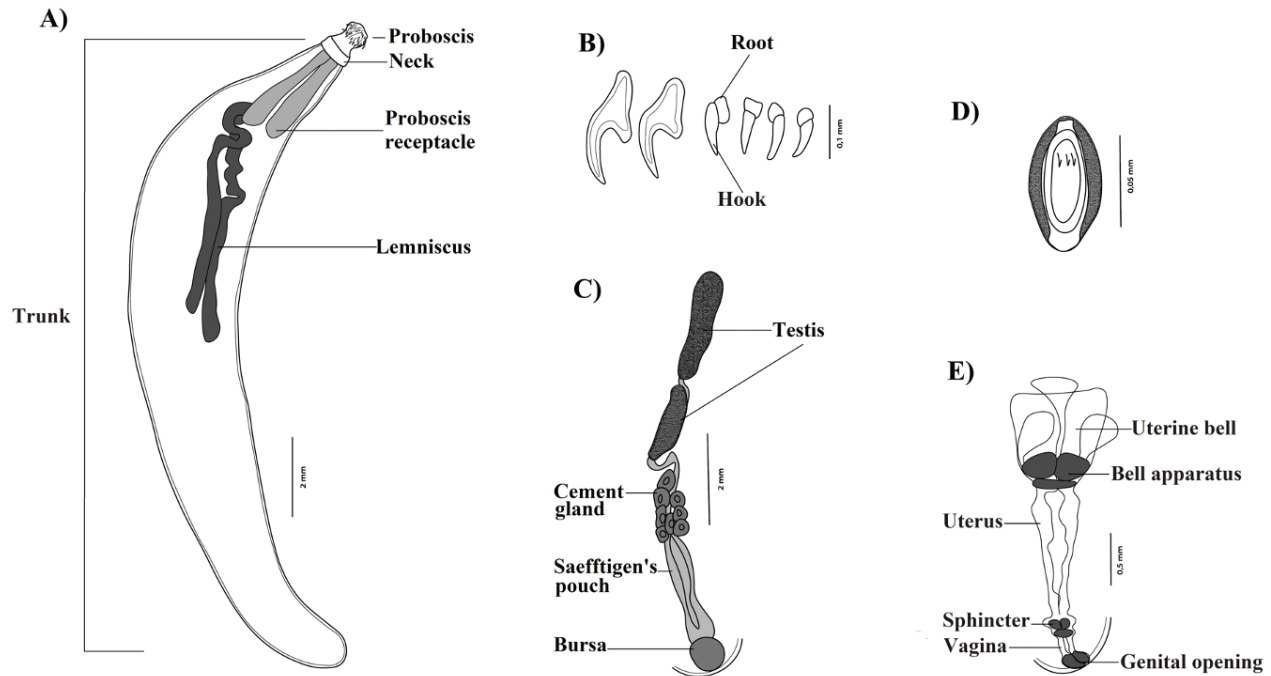
The following procedure is used to prepare the preparation from acanthocephalans (8,13). This procedure is based on relevant literature and laboratory experience.

- The collected acanthocephalans should be kept in cold water for 15 minutes to 3 hours. The proboscis will evert for about 50% of the acanthocephalan specimens. The bill must be out for species identification.
  - Transfer to 70% ethanol (At least 48 hours).
  - Transfer Acanthocephalan from 70% ethanol into Semichon's stain (2-4-hour average).
  - Transfer to 70% ethanol (60 min).
  - The over-dye is destaining in 1% acid alcohol. Acanthocephalan specimens are kept in the solution until they turn pinkish-red colour. Depending on the type of stain and acanthocephalan, the waiting time varies between 1 minute and 30 minutes.
  - Transfer to 1% basic alcohol. Acanthocephalan specimens are kept in the solution until they turn blue. Depending on the type of stain and acanthocephalan, the waiting time varies between 1 minute and 30 minutes.
  - Transfer to 70% ethanol. Acanthocephalan specimens are kept in the solution for at least 30 minutes.
  - Transfer to 95% ethanol. Acanthocephalan specimens are kept in the solution for at least 60 minutes.
  - Transfer to 96-100% ethanol. Acanthocephala specimens are kept in the solution for at least 60 minutes.
  - Transfer to methyl benzoate. Acanthocephalan specimens are kept in the solution for at least 60 minutes. In this step, the Acanthocephalan specimens become transparent, and the internal structure is visible.
  - Mount in Canada balsam.
- \*\*\*1% acid alcohol, 70% ethanol with 1 mL 1 N HCl/10 mL.  
 \*\*\*1% basic alcohol, 70% ethanol with 1 mL 1 N NaOH or ammonia/10 mL.  
 \*\*\*Xylene can also be preferred instead of methyl benzoate.



**Figure 1.** Line drawing of variations of the proboscis (original)





**Figure 2.** *Pachysentis* sp. was recovered in a red fox. A) *Pachysentis* sp. bar: 2 mm, B) Dissected proboscis, bar: 0,1 mm, C) *Pachysentis* sp in formaldehyde before being dissected, bar: 2 mm (original)

## RESULT AND DISCUSSION

Acanthocephalans are common in vertebrates worldwide, including humans (Table 1). Most human cases are due to the consumption of fish or insects. Although human cases have been reported in geographically close countries, they have not yet been reported in Türkiye. In mammals from Türkiye, *Moniliformis moniliformis* was reported in rodents (*Rattus norvegicus*) in 1963 and 1975 (14,15). *Macracanthorhynchus hirudinaceus* was reported in domestic pigs (*Sus scrofa dom.*) in 1964 and wild pigs (*Sus scrofa*) in 1965 (16,17). *Macracanthorhynchus hirudinaceus* was reported in red foxes (*V. vulpes*) in 1965, and its prevalence was given 43.1% (18). *Prosthorhynchus* was reported in hedgehogs (*Erinaceus europeus*) in 1970 (19). A study was conducted in Central Anatolia and Thrace, and it was reported that acanthocephalan eggs were found in 37 of 409 red foxes faeces in 2019 (20). With this study, *Pachysentis* sp. is reported for the first time in Türkiye, and a new genus has been added to the acanthocephalan found in mammals in Türkiye.

Amin (4) published a taxonomy of the genus *Pachysentis*, including *P. angolensis* (Golvan, 1957) Schmidt, 1972 (syn. *Oncicola angolensis* Golvan, 1957), *P. canicola* Meyer, 1931 (type species) (fide Van Cleave, 1953), *P. dollfusi* (Machado Filho, 1950) Schmidt, 1972 [syn. *Prosthenorchis dollfusi* Machado Filho, 1950], *P. ehrenbergi* Meyer, 1931, *P. gethi* (Machado Filho, 1950) Schmidt, 1972 [syn. *Prosthenorchis gethi* Machado Filho, 1950], *P. lenti* (Machado Filho, 1950) Schmidt, 1972 [syn. *Prosthenorchis lenti* Machado Filho, 1950], *P. procumbens* Meyer, 1931, *P. procyonis* (Machado Filho, 1950) Schmidt, 1972. *Pachysentis* sp. was reported in red foxes from Greece (21). *Pachysentis angolensis* was reported in the side-striped jackal (*Lupulella adusta*) from the Angolo (22). *Pachysentis*

*canicola* was reported in red fox and the golden jackal (*Canis aureus*) from Iran, in the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*), the striped skunk (*Mephitis mephitis*), the western diamondback rattlesnake (*Crotalus atrox*) from the United States of America (23-27). *Pachysentis dollfusi* was reported in the common brown lemur (*Eulemur fulvus*) from Madagascar, Africa (28). In Egypt, *P. ehrenbergi* was reported in the long-eared hedgehog (*Hemiechinus auratus*) and red fox (22,29). *Pachysentis gethi* was reported in the lesser grison (*Galictis cuja*), the greater grison (*Galictis vittata*) and the tayra (*Eira barbara*) from Brazil (30). In Brazil, was reported *P. lauroi* in the south american coati (*Nasua nasua*), *P. lenti* in the white-headed marmoset (*Callithrix geoffroyi*), *P. procyonis* in the crab-eating raccoon (*Procyon cancrivorus*), *P. rugosus* in Azaras's capuchin (*Sapajus cay*), and *P. septemserialis* in the black tamarin (*Saguinus niger*) (31-34). *Pachysentis procumbens* was reported in red fox from Egypt (22). Based on these cited references, the hosts for *Pachysentis* species are primates and carnivores within geographic areas of Africa, Asia, Europe and North, Central and South America.

A key to the genus of mammals Acanthocephalans (22,34,35):

1. Anterior region of the body bearing a proboscis upon which hooks or spines are usually arranged in parallel alternating rows-
2. The region between the body proper and the proboscis (the neck) is elongated and cylindrical, except in the area adjacent to the proboscis, where a conspicuous spherical enlargement occurs-Genus *Pomphorhynchus*.
2. Region behind the proboscis is variously modified but never bearing a spherical enlargement followed by a narrow, elongated neck. The body properly never bears spines (Demonstration of minute spines on the anterior part of the body in cleared specimens of some genera requires careful light adjustment)-3 or 4

**Table 1.** Cases of human acanthocephaliasis published in the literature.

Species	Country	Reference
<i>Acanthocephalus rauschi</i>	Alaska	(22)
<i>Bolbosoma cf. capitum</i>		(36)
<i>Bolbosoma nipponicum</i>		(37)
<i>Bolbosoma</i> sp.	Japan	(38)
		(39)
		(40)
		(41)
<i>Corynosoma strumosum</i>	Alaska	(41)
<i>Corynosoma cf. validum</i>	Japan	(42)
<i>Corynosoma villosum</i>		(43)
<i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i>	China	(44)
		(45)
	Thailand	(46)
		(47)
<i>Macracanthorhynchus ingens</i>	USA	(48)
		(49)
		(50)
		(51)
		(52)
<i>Macracanthorhynchus</i> sp.	Papua New Guinea	(53)
<i>Moniliformis moniliformis</i>	Australia	(54)
	Iran	(55)
		(56)
		(57)
		(58)
		(59)
	(60)	
	Iraq	(61)
	Nigeria	(62)
	(63)	
	Zimbabwe	(64)
	Saudi Arabia	(65)
	Australia	(66)
USA	(67)	
	(68)	
<i>Plagiorhynchus</i> sp.	United Kingdom	(69)
<i>Pseudoacanthocephalus bufonis</i>	Alaska	(41)

3. Body just behind the proboscis is swollen, closely set and serving as an accessory organ of fixation. Proboscis medium length. Parasitic as adults in mammals and birds-Genus *Corynosoma*.

Body spines are arranged as a collar near the anterior extremity and behind. This is placed in 18-23 cross-rows of closely set spines, the rows separated by a considerable area devoid of spines-Genus *Serrasentis*.

4. Subcuticula bearing a few rounded giant nuclei, prominent in stained whole mounts and sections and their location frequently recognisable in preserved specimens as minute elevations of the body surface.

Wall of proboscis receptacle with but a single muscular layer. The cement gland of males is a single syncytial mass with a few giant nuclei. Family Neoechinorhynchidae-5 or 8

Proboscis globular, bearing three circles of hooks-5 or 7

5. Six hooks in each circle of hooks upon proboscis-Genus *Neoechinorhynchus*.

More than six hooks in each circle-6

6. Eight hooks in each circle-Genus *Octospinifer*.

Twelve hooks in each circle-Genus *Gracilisentis*.

7. Proboscis bearing more than three circles of hooks-8

Twenty or more circles of hooks. Subcuticular nuclei are all in the sagittal plane-Genus *Tanaorhynchus*.

Eight circles of hooks upon proboscis. Giant nuclei of subcuticular are not all in the sagittal plane-Genus *Pandosentis*.

8. With eight cement glands. Parasitic in birds and mammals-9

The proboscis receptacle is a closed muscular sac with retractors through the posterior extremity. The outer layer of the receptacle is in spiral bands. Hooks are small and simple, each with a single posteriorly directed root. Parasitic in mammals. Body evidence of pseudo-segmentation-Genus *Moniliformis*.

9. Parasitic in mammals-10

Parasitic in birds.

10. Reproductive organs of males occupy more than one-half the length of the body cavity. Lemnisci frequently in contact testes-11

Proboscis is provided with a crown of a few circles of strong crowded so that they may have the appearance of a single and behind this crown a region of some length with closely set fine spines-Genus *Gigantorhynchus*.

Proboscis with several circles of strong hooks. In intestine marsupials and edentates-Genus *Hamanniella*.

11. Lemnisci is relatively short and flat. Testes considerably cement glands-Genus *Macracanthorhynchus*.

Lemnisci is relatively long and subcylindrical. They were removed from cement glands-Genus *Echinopardalis*.

The eight cement glands are not definite-12

Cement glands are almost spherical. Lemnisci is cylindrical, more than three-fourths the length cavity-Genus *Oncicola*.

Cement glands are closely crowded together, and a festoon surrounds the neck-Genus *Prosthenorchis*.

Cement glands are closely crowded together-Genus *Pachysentis*.

#### \* Acknowledgements

The first author is a PhD student in the 100/2000 YÖK Doctorate Programs and the second author is Prof. Dr. in Ondokuz Mayıs University.

#### \* Ethics

#### \* Authorship Contributions

Concept: M.Ö., Ş.U., Design: M.Ö., Ş.U., Data Collection or Processing: M.Ö., Ş.U., Analysis or Interpretation: M.Ö., Ş.U., Literature Search: M.Ö., Writing: M.Ö., Ş.U.

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

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

## REFERENCES

- Monks S. Zootaxa 20th Anniversary Celebration: section Acanthocephala. Zootaxa 2021; 4979: 3137.
- Schmidt-Rhaesa A. Gastrotricha, Cycloneuralia, and Gnathifera: de Gruyter; 2013.
- Monks S, Richardson DJ. Phylum Acanthocephala Kohlreuther, 1771 In: Zhang, Z.-Q.(Ed.) Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. Zootaxa 2011; 3148: 234-7.
- Amin OM. Classification of the acanthocephala. Folia Parasitol (Praha) 2013; 60: 273-305.
- Schmidt GD, Edmonds SJ. *Australiformis semoni* (Linstow, 1898) n. gen., n. comb. (Acanthocephala: Moniliformidae) from marsupials of Australia and New Guinea. J Parasitol 1989; 75: 215-7.
- Morand S, Krasnov BR, Poulin R. Micromammals and macroparasites: from evolutionary ecology to management: Springer; 2007.
- Amin OM, Heckmann RA, Sist B, Basso WU. A review of the parasite fauna of the black-bellied pangolin, *Phataginus tetradactyla* Lin. (Manidae), from central Africa with the description of *Intraproboscis sanghae* n. gen., n. sp.(Acanthocephala: Gigantorhynchidae). J Parasitol 2021; 107: 222-38.
- Amin OM. Marine flora and fauna of the Eastern United States: Acanthocephala; 1998.
- McDonald ME. Key to Acanthocephala reported in waterfowl. United States Department of the Interior, Fish and Wildlife Service. Resource Publication; 1988; 173.
- Crompton DWT, Nickol BB. Biology of the Acanthocephala: Cambridge University Press; 1985.
- Richardson DJ. Acanthocephala. eLS 2008.
- Richardson DJ, Brink CD. Effectiveness of various anthelmintics in the treatment of moniliformiasis in experimentally infected Wistar rats. Vector Borne Zoonotic Dis 2011; 11: 1151-6.
- Upton S. Animal Parasitology, Biology 625 Laboratory Manual. Kansas State University, Fall Semester Manhattan, Kansas; 2005.
- Merdivenci A. İnsan İçin Pat ojen Olan Moniliformis Moniliformis. (Bremser, 1811) Travassos, 1915 İn Keme (Rattus Norvegicus) Lerde Bulunuşu. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi 2021; 2: 21-9.
- Kaya F. Helminthological survey of the intestines of rodents in the districts of Ankara, Konya, Nevşehir and Urfa, Turkey. Journal of Ankara University Faculty of Medicine 1975; 1-2: 35.
- Merdivenci A. Türkiye'de evcil domuzlarda *Macracanthorhynchus hirudinaceus*. Turk Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi 1964; 34: 131-5.
- Merdivenci A. Türkiye'de evcil ve yabancı domuzlarda ilk parazitolojik araştırma. Turk Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi 1965; 35: 113-7.
- Mimioğlu M, Güralp N, Tolgay N, Sayın F. Ankara civarında tilkilerde (*Vulpes vulpes*) bulduğumuz helmintler. Veteriner Fakültesi Dergisi Ankara University 1965; 12: 164-90.
- Merdivenci A. Türkiye parazitleri ve parazitoloji yayınları: İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi; 1970.
- Gürler A, Bölükbaş C, Açıcı M, Umur Ş. Determination of helminths of red fox (*Vulpes vulpes*) by fecal examination in Middle Anatolia and Thrace. Kocatepe Vet J 2019; 12: 343-50.
- Papadopoulos H, Himonas C, Papazahariadou M, Antoniadou-Sotiriadou K. Helminths of foxes and other wild carnivores from rural areas in Greece. J Helminthol 1997; 71: 227-32.
- Golvan YJ. Le phylum des Acanthocephala. (Quatrieme note). La classe des Archiacanthocephala (A. Meyer 1931). Annales de Parasitologie Humaine et Comparée 1962; 37: 1-72.
- Bolette DP. First record of *Pachysentis canicola* (Acanthocephala: Oligacanthorhynchida) and the occurrence of *Mesocestoides* sp. tetrathyridia (Cestoidea: Cyclophyllidea) in the western diamondback rattlesnake, *Crotalus atrox* (Serpentes: Viperidae). J Parasitol 1997; 83: 751-2.
- Gherman CM, Mihalca AD. A synoptic overview of golden jackal parasites reveals high diversity of species. Parasit Vectors 2017; 10: 419.
- Moubedi I, Moulavi G, Rahnou A, Turner MK, Mojaradi A. Natural Infection of *Pachysentis canicola* (Acanthocephala: Oligacanthorhynchida) In Fox from Persian Gulf Coastal Area in Iran. Iranian J Parasitol 2007; 2: 44-7.
- Carbajal-Márquez RA, González-Solis D, Cedeño-Vázquez JR. Endoparasites of *Crotalus tzabcan* (Serpentes: Viperidae), with a checklist in rattlesnakes. J Parasit Dis 2018; 42: 303-14.
- Amin OM, Chaudhary A, Heckmann RA, Swenson J, Singh HS. Redescription and Molecular Characterization of *Pachysentis canicola* Meyer, 1931 (Acanthocephala: Oligacanthorhynchidae) from the Maned Wolf, *Chrysocyon brachyurus* (Illiger, 1815) in Texas. Acta Parasitol 2022; 67: 275-87.
- Schmidt GD. Revision of the class Archiacanthocephala Meyer, 1931 (phylum Acanthocephala), with emphasis on Oligacanthorhynchidae Southwell et Macfie, 1925. J Parasitol 1972; 58: 290-7.
- Nelson D, Ward H. Acanthocephala from hedgehogs in Egypt. Journal of the Tennessee Academy of Science 1966; 41: 101-5.
- Muniz-Pereira LC, Corrêa P, Bueno C, Vieira FM. Rediscovery of *Pachysentis gethi* (Acanthocephala: Oligacanthorhynchidae), a parasite of wild lesser grison *Galictis cuja* (Carnivora: Mustelidae) from Brazil. Revista Mexicana de Biodiversidad 2016; 87: 1356-9.
- Machado Filho D. Revisão do gênero *Prosthenorchis* travassos, 1915 (Acanthocephala). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 1950; 48: 495-544.
- Silva PCd. Estudo da Helmintofauna de *Galictis cuja* (Molina, 1872) (Carnivora, Mustelidae) atropelados na rodovia BR-040, no trecho entre Rio de Janeiro, RJ e Juiz de Fora, MG 2015.
- Corrêa P, Bueno C, Soares R, Vieira FM, Muniz-Pereira LC. Checklist of helminth parasites of wild primates from Brazil. Revista Mexicana de Biodiversidad 2016; 87: 908-18.
- Gomes APN, Amin OM, Olifiers N, Bianchi RdC, Souza JG, Barbosa HS, et al. A new species of *Pachysentis* Meyer, 1931 (Acanthocephala: Oligacanthorhynchidae) in the brown-nosed coati *Nasua nasua* (Carnivora: Procyonidae) from Brazil, with notes on the genus and a key to species. Acta Parasitol 2019; 64: 587-95.
- Van Cleave HJ. A key to the genera of Acanthocephala. Transactions of the American Microscopical Society 1923; 42: 184-91.
- Arizono N, Kuramochi T, Kagei N. Molecular and histological identification of the acanthocephalan *Bolbosoma* cf. *capitatum* from the human small intestine. Parasitol Int 2012; 61: 715-8.
- Yamamoto S, Yamada M, Matsumura K. Mimicking small intestinal anisakiasis. Gastroenterology 2018; 154: e9-10.
- Beaver P, Otsuji T, Otsuji A, Yoshimura H, Uchikawa R, Sato A. Acanthocephalan, probably *Bolbosoma*, from the peritoneal cavity of man in Japan. Am J Trop Med Hyg 1983; 32: 1016-8.
- Tada I, Otsuji Y, Kamiya H, Mimori T, Sakaguchi Y, Makizumi S. The first case of a human infected with an acanthocephalan parasite, *Bolbosoma* sp. J Parasitol 1983; 69: 205-8.
- Kaito S, Sasaki M, Goto K, Matsusue R, Koyama H, Nakao M, et al. A case of small bowel obstruction due to infection with *Bolbosoma* sp.(Acanthocephala: Polymorphidae). Parasitol Int 2019; 68: 14-6.
- Schmidt GD. Acanthocephalan infections of man, with two new records. J Parasitol 1971; 57: 582-4.
- Takahashi K, Ito T, Sato T, Goto M, Kawamoto T, Fujinaga A, et al. Infection with fully mature *Corynosoma* cf. *validum* causes ulcers in the human small intestine. Clin J Gastroenterol 2016; 9: 114-7.
- Fujita T, Waga E, Kitaoka K, Imagawa T, Komatsu Y, Takanashi K, et al. Human infection by acanthocephalan parasites belonging to the genus

- Corynosoma* found from small bowel endoscopy. Parasitol Int 2016; 65: 491-3.
44. Leng YJ, Huang WD, Liang PN. Human infection with *Macracanthorhynchus hirudinaceus* Travassos, 1916 in Guangdong Province, with notes on its prevalence in China. Ann Trop Med Parasitol 1983; 77: 107-9.
  45. Zhong HL, Feng LB, Wang CX, Kang B, Wang ZZ, Zhou GH, et al. Human infection with macracanthorhynchus hirudinaceus causing serious complications in China. Chin Med J (Engl) 1983; 96: 661-8.
  46. Kliks M, Tantachamrun T, Chaiyaporn V. Human infection by an acanthocephalan *Macracanthorhynchus hirudinaceus* in Thailand: new light on a previous case. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1974; 5: 303-9.
  47. Tesana S, Mitrchai J, Chunsuttwat S. Acute abdominal pain due to *Macracanthorhynchus hirudinaceus* infection: a case report. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1982; 13: 262-4.
  48. Radomyos P, Chobchuanom A, Tungtrongchitr A. Intestinal perforation due to *Macracanthorhynchus hirudinaceus* infection in Thailand. Trop Med Parasitol 1989; 40: 476-7.
  49. Dingley D, Beaver PC. *Macracanthorhynchus ingens* from a child in Texas. Am J Trop Med Hyg 1985; 34: 918-20.
  50. Brien JH, Fader R, Wehbe-Janek H. Successful treatment of *Macracanthorhynchus ingens* infection with mebendazole. Journal of Pediatric Infectious Diseases 2012; 7: 161-3.
  51. Hamula CL, Fang DC, Couturier MR. Photo quiz: an unwelcome passenger in a 17-month-old male. Am Soc Microbiol 2014; 52: 2289; discussion 2747.
  52. Mathison BA, Bishop HS, Sanborn CR, dos Santos Souza S, Bradbury R. *Macracanthorhynchus ingens* infection in an 18-month-old child in Florida: a case report and review of acanthocephaliasis in humans. Clin Infect Dis 2016; 63: 1357-9.
  53. Chancey RJ, Sapp SG, Fox M, Bishop HS, Ndubuisi M, de Almeida M, et al., editors. Patent *Macracanthorhynchus ingens* infection in a 17-month-old child, Ohio. Open Forum Infect Dis 2020; 8: ofaa641.
  54. Barnish G, Misch KA. Unusual cases of parasitic infections in Papua New Guinea. Am J Trop Med Hyg 1987; 37: 585-7.
  55. Procriv P, Walker J, Crompton LJ, Tristram SG. First record of human acanthocephalan infections in Australia. Med J Aust 1990; 152: 215-6.
  56. Sahba GH, Arfaa F, Rastegar M. Human infection with *Moniliformis dubius* (Acanthocephala) (Meyer, 1932). (syn. *M. moniliformis*, (Bremser, 1811) (Travassos, 1915) in Iran. Trans R Soc Trop Med Hyg 1970; 64: 284-6.
  57. Moayedi B, Izadi M, Maleki M, Ghadirian E. Human infection with *Moniliformis moniliformis* (Bremser, 1811) Travassos, 1915 (syn. *Moniliformis dubius*). Report of a case in Isfahan, Iran. Am J Trop Med Hyg 1971; 20: 445-8.
  58. Berenji F, Fata A, Hosseini Z. A case of *Moniliformis moniliformis* (Acanthocephala) infection in Iran. Korean J Parasitol 2007; 45: 145-8.
  59. Salehabadi A, Mowlavi G, Sadjjadi SM. Human infection with *Moniliformis moniliformis* (Bremser 1811)(Travassos 1915) in Iran: another case report after three decades. Vector Borne Zoonotic Dis 2008; 8: 101-4.
  60. Maraghi S, Shamsizadeh A, Rafiei A, Javaherizadeh H. *Moniliformis moniliformis* from Ahvaz Southwest Iran. HK J Paediatr 2014; 19: 93-5.
  61. Al-Rawas AY, Mirza MY, Shafiq MA, Al-Kindy L. First finding of *Moniliformis moniliformis* (Bremser 1811) Travassos 1915 (Acanthocephala: Oligacanthorhynchidae) in Iraq from human child. J Parasitol 1977; 63: 396-7.
  62. Ike E, Anosike J, Okon E. Acanthocephalan infection in man in northern Nigeria. J Helminthol 1992; 66: 241-2.
  63. Anosike J, Njoku A, Nwoke B, Okoro O, Okere A, Ukaga C, et al. Human infections with *Moniliformis moniliformis* (Bremser 1811) Travassos 1915 in south-eastern Nigeria. Ann Trop Med Parasitol 2000; 94: 837-8.
  64. Goldsmid J, Ewart Smith M, Fleming F. Human infection with *Moniliformis* sp. in Rhodesia. Ann Trop Med Parasitol 1974; 68: 363-4.
  65. Sahar MM, Madani TA, Al Mohsen IZ, Almodovar EL. A child with an acanthocephalan infection. Ann Saudi Med 2006; 26: 321-4.
  66. Bettiol S, Goldsmid JM. A case of probable imported *Moniliformis moniliformis* infection in Tasmania. J Travel Med 2000; 7: 336-7.
  67. Counselman K, Field C, Lea G, Nickol B, Neafie R. *Moniliformis moniliformis* from a child in Florida. Am J Trop Med Hyg 1989; 41: 88-90.
  68. Messina AF, Wehle Jr FJ, Intravichit S, Washington K. *Moniliformis moniliformis* infection in two Florida toddlers. Pediatr Infect Dis J 2011; 30: 726-7.
  69. Haustein T, Lawes M, Harris E, Chiodini P. An eye-catching acanthocephalan. Clin Microbiol Infect 2010; 16: 787-8.