



21. Parazitoloji Kongresi

28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme / İZMİR

ÖZET ve TAM METİN KİTABI

ISBN: 978-605-87556-7-3

© Bu kitabın yayın hakkı Türkiye Parazitoloji Derneği'ne aittir. Tüm hakları saklıdır. Kitabın tamamı veya herhangi bir bölümünün kopya edilmesi, başka dillere tercüme edilmesi, basılması ve çoğaltılması Derneğin iznine bağlıdır. Kaynak gösterme suretiyle alıntı yapılabilir.

Kitapta bulunan bildiri özetleri ve makalelerin tüm sorumluluğu yazarlarına aittir.

Editör ve Dizgi: Yusuf ÖZBEL

İzmir, Eylül 2019



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Düzenleyen
Türkiye Parazitoloji Derneği

Kongre Onursal Başkanı
Prof. Dr. M. Ali ÖZCEL / TPD Onursal Başkanı

DÜZENLEME KURULU

Kongre Başkanı
Prof. Dr. Yusuf ÖZBEL / Türkiye Parazitoloji Derneği Başkanı

Kongre Sekreteri
Doç. Dr. Derya DİRİM ERDOĞAN

Basın-Yayın
Prof. Dr. İ. Cüneyt BALCIOĞLU

Sayman
Prof. Dr. Seray TÖZ

Düzenleme Kurulu Üyeleri
Prof. Dr. Hasan EREN Prof. Dr. Hatice ERTABAKLAR

Prof. Dr. Soykan ÖZKOÇ



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KONGRE BİLİMSEL KURULLARI

ULUSLARARASI BİLİMSEL KURUL ÜYELERİ (In alphabetical order)

Dennis BENTE (University of Texas, USA)
Alejandro CASTELLANOS (University of Texas, USA)
Agustin ESTRADA-PENA (University of Zaragoza, SPAIN)
Jacinto GOMES (Instituto Nacional de Investigaçao Agrária e Veterinária, PORTUGAL)
Hanem KHATER (Benha University, EGYPT)
Andrei Daniel MIHALCA (University of Cluj-Napoca, Romanya)
Kosta MUMCUOĞLU (Hebrew University, ISRAEL)
Chizu SANJOBA (University of Tokyo, JAPAN)
Dionysis VOURTSIS (International Federation of Biosafety Associations, GREECE)
William WEIR (University of Glasgow, UNITED KINGDOM)
Hocine ZIAM (Saad Dahlab University, ALGERIA)

ULUSAL BİLİMSEL KURUL ÜYELERİ (Alfabetik)

Mucide AK (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Gülay Aral AKARSU (Ankara Üniversitesi, ANKARA)
Atilla AKÇA (Kafkas Üniversitesi, KARS)
Çiler AKISÜ (Dokuz Eylül Üniversitesi, İZMİR)
Hayrettin AKKAYA (İstanbul Üniversitesi, İSTANBUL)
Volkan AKYOL (Uludağ Üniversitesi, BURSA)
Münir AKTAŞ (Fırat Üniversitesi, ELAZIĞ)
Yakut AKYÖN YILMAZ (Hacettepe Üniversitesi, ANKARA)
M. Ziya ALKAN (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Oktay ALVER (Uludağ Üniversitesi, BURSA)
Metin ATAMBAY (İnönü Üniversitesi, MALATYA)
Nazmiye ALTINTAŞ (Ege Üniversitesi, İZMİR)
R. Engin ARAZ (Sağlık Bilimleri Üniversitesi, ANKARA)
M. Özkan ARSLAN (Kafkas Üniversitesi, KARS)
Özlem M. AYCAN (Mustafa Kemal Üniversitesi, HATAY)
Levent AYDIN (Uludağ Üniversitesi, BURSA)
Meral AYDENİZÖZ (Kırıkkale Üniversitesi, KIRIKKALE)
İ. Cüneyt BALCIOĞLU (Celal Bayar Üniversitesi, MANİSA)
Serkan BAKIRCI (Adnan Menderes Üniversitesi, AYDIN)
Songül BAYRAM DELİBAŞ (Dokuz Eylül Üniversitesi, İZMİR)
Hüseyin BİLGİN BİLGİÇ (Adnan Menderes Üniversitesi, AYDIN)
Ayşe CANER (Ege Üniversitesi, İZMİR)



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Ayşe ÇAKMAK (Ankara Üniversitesi, ANKARA)
Veli Yılğör ÇIRAK (Uludağ Üniversitesi, BURSA)
Hatice ÇİÇEK (Kocatepe Üniversitesi, AFYONKARAHİSAR)
Muttalip ÇİÇEK (Kırşehir Üniversitesi, KIRŞEHİR)
Ümit ÇİMLİ AKSOY (Dokuz Eylül Üniversitesi, İZMİR)
Gülnaz ÇULHA (Mustafa Kemal Üniversitesi, HATAY)
Hande DAĞCI (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Nilgün DALDAL (İnönü Üniversitesi, MALATYA)
Serdar DEĞER (Yüzüncü Yıl Üniversitesi, VAN)
Bilal DİK (Selçuk Üniversitesi, KONYA)
Derya DİRİM ERDOĞAN (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Nihal DOĞAN (Osmangazi Üniversitesi, ESKİŞEHİR)
Ahmet DOĞANAY (Ankara Üniversitesi, ANKARA)
Funda DOĞRUMAN AL (gazi Üniversitesi, ANKARA)
Mert DÖŞKAYA (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Nazir DUMANLI (Fırat Üniversitesi, ELAZIĞ)
Önder DÜZLÜ (Erciyes Üniversitesi, KAYSERİ)
Hasan EREN (Adnan Menderes Üniversitesi, AYDIN)
Sibel ERGÜVEN (Hacettepe Üniversitesi, ANKARA)
Hatice ERTABAKLAR (Adnan Menderes Üniversitesi, AYDIN)
Sema ERTUĞ (Adnan Menderes Üniversitesi, AYDIN)
Ayşen GARGILI KELEŞ (Marmara Üniversitesi, İSTANBUL)
Nogay GİRİNKARDEŞLER (Celal Bayar Üniversitesi, MANİSA)
Ahmet GÖDEKMERDAN (Fırat Üniversitesi, ELAZIĞ)
Bahadır GÖNENÇ (Ankara Üniversitesi, ANKARA)
Feyzullah GÜÇLÜ (Selçuk Üniversitesi, KONYA)
Aynur GÜLANBER (İstanbul Üniversitesi, İSTANBUL)
A. Yüksel GÜRÜZ (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Esin GÜVEN (Atatürk Üniversitesi, ERZURUM)
Abdullah İNCİ (Erciyes Üniversitesi, KAYSERİ)
Tonay İNCEBOZ (Dokuz Eylül Üniversitesi, İZMİR)
Mustafa KAPLAN (Fırat Üniversitesi, ELAZIĞ)
Murat KARA (Erzincan Üniversitesi, ERZİNCAN)
Tülin KARAGENÇ (Adnan Menderes Üniversitesi, AYDIN)
Bilge KARATEPE (Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, NİĞDE)
Mustafa KARATEPE (Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, NİĞDE)
Ali KİLİMCİOĞLU (Celal Bayar Üniversitesi, MANİSA)
İ. Soner KOLTAŞ (Çukurova Üniversitesi, ADANA)
Metin KORKMAZ (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Ergün KÖROĞLU (Fırat Üniversitesi, ELAZIĞ)
Şükran KÖSE (Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İZMİR)
Özgür KURT (Acıbadem Üniversitesi, İSTANBUL)
M. Emin LİMONCU (Celal Bayar Üniversitesi, MANİSA)



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Özlem MİMAN (Dokuz Eylül Üniversitesi, İZMİR)
Serpil NALBANTOĞLU (Ankara Üniversitesi, ANKARA)
Ülgen Zeki OK (Celal Bayar Üniversitesi, MANİSA)
Hatice ÖGE (Ankara Üniversitesi, ANKARA)
Semih ÖGE (Ankara Üniversitesi, ANKARA)
Yusuf ÖZBEL (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Ahmet ÖZBİLGİN (Celal Bayar Üniversitesi, MANİSA)
Semra ÖZÇELİK (Bezmialem Üniversitesi, İSTANBUL)
Soykan ÖZKOÇ (Dokuz Eylül Üniversitesi, İZMİR)
Barış SARI (Kafkas Üniversitesi, KARS)
Oğuz SARİMEHMETOĞLU (Ankara Üniversitesi, ANKARA)
Murat SEVGİLİ (Harran Üniversitesi, ŞANLIURFA)
Ferda SEVİNÇ (Selçuk Üniversitesi, KONYA)
Gülden SÖNMEZ TAMER (İzmir Demokrasi Üniversitesi, İZMİR)
Nermin ŞAKRU (Trakya Üniversitesi, EDİRNE)
N. Gülkız ŞENLER (Yüz Yıl Üniversitesi, VAN)
Bayram ŞENLİK (Uludağ Üniversitesi, BURSA)
Sami ŞİMŞEK (Atatürk Üniversitesi, ERZURUM)
Zeynep TAŞ (Yüzüncü Yıl Üniversitesi, VAN)
Ayşegül TAYLAN ÖZKAN (Hitit Üniversitesi, ÇORUM)
Müfit TOPARLAK (İstanbul Üniversitesi, İSTANBUL)
Seray TÖZ (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Nevin TURGAY (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Meral TÜRK (Denizli Devlet Hastanesi, DENİZLİ)
Şinasi UMUR (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, SAMSUN)
Ahmet ÜNER (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Şebnem ÜSTÜN (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Zati VATANSEVER (Kafkas Üniversitesi, KARS)
Cem VURUŞANER (İstanbul Üniversitesi, İSTANBUL)
Şükran YAĞCI YÜCEL (Gaziantep Üniversitesi, GAZİANTEP)
Mehmet YAMAN (Mustafa Kemal Üniversitesi, HATAY)
Kor YERELİ (Celal Bayar Üniversitesi, MANİSA)
Alparslan YILDIRIM (Erciyes Üniversitesi, KAYSERİ)
Kader YILDIZ (Kırıkkale Üniversitesi, KIRIKKALE)
Fadile YILDIZ ZEYREK (Harran Üniversitesi, ŞANLIURFA)
Mustafa YILMAZ (Fırat Üniversitesi, ELAZIĞ)
Hasan YILMAZ (Yüzüncü Yıl Üniversitesi, VAN)
Ayşegül YOLASIĞMAZ (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Bayram Ali YUKARI (Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, BURDUR)



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

ÖNSÖZ

Değerli Üyelerimiz, Sevgili Meslekdaşlarımız,

Sizleri, 28 Eylül - 3 Ekim 2019 tarihleri arasında İzmir'in şirin ilçesi Çeşme Grand Hotel ONTUR'da düzenlediğimiz **21. Parazitoloji Kongresi**'nde görmekten mutluluk duymaktayız. Türkiye Parazitoloji Derneği Yönetim Kurulu'nun 26.02.2019 tarihli toplantısında, alınan karar gereği kongremizin Çeşme, İzmir'de yapılmasına ve **"uluslararası katılımın" sağlanmasına ve isteyen bildiri sahiplerinin bildirimlerini tam metin olarak göndermeleri için olanak verilmesine** karar verilmiştir.

Bu kongremizde ayrıca, 22 Eylül 2018 tarihinde yapılan Olağan Genel Kurulumuzda alınan karar ile değiştirilen tüzük maddesi gereğince seçimli "Dernek Genel Kurulu" da gerçekleştirilecektir. Genel Kurul ilk toplantısı 23 Eylül 2019 tarihinde yapılacak ve ilk toplantıda çoğunluk sağlanamadığı takdirde ikinci toplantı kongremizin üçüncü günü olan 30 Eylül 2019 tarihinde yapılacaktır. Tüm üyelerimizi Genel Kurulda görmekten memnuniyet duyacağımızı da belirtmek isteriz.

Bilindiği üzere hem tıbbi hem de veteriner hekimlik alanında yaşanan hızlı bilimsel gelişmeler kendi alanlarında çalışan bilim insanlarımız tarafından takip edilmekte ve bilim alanımızın en önemli etkinliği olan Ulusal Kongrelerimizde bu gelişmeler ve yenilikler paylaşılmakta, yeni iş birlikleri kurulmaktadır. Bu kapsamda gerek ülkemizde gerekse yurtdışında çeşitli konular üzerinde çalışan bilim insanlarının buluşma ortamı olan bu toplantıda başta genç arkadaşlarımız için olmak üzere birçok fırsatın ve yeni proje olanaklarının bulunabileceği açıktır.

Bizler için uzun ve yorucu bir süreçten sonra karşınıza ürünümüz ile yani hazırladığımız program ile çıkmış bulunuyoruz. Bu, 21. Kongremizin hazırlıkları sırasında oldukça yoğun konferans, yuvarlak masa ve sözlü sunum isteği ile karşılaşıldığı ve Genel Kurul için zaman ayrılmak zorunluluğu olduğundan, bir kısmında iki salona çıkartılması gereken zengin bir bilimsel program hazırlanabilmiş, sosyal program olarak düşünülen Sakız Adası Turu'na ise ancak kongre bilimsel programının tamamlanmasından sonraki günde yer verilebilmiştir.

Başta Yönetim Kurulu üyelerimiz olmak üzere emeği geçen tüm arkadaşlarıma, her zaman önerileri ile bize destek olan M. Ali Hocama ve kürsümüzdeki bütün çalışma arkadaşlarıma çok teşekkür ediyoruz. Kongremizin siz katılımcılara bilimsel ve sosyal anlamda faydalı olacağını umuyor ve saygılar sunuyoruz.

**Türkiye Parazitoloji Derneği Yönetim Kurulu Adına
Prof. Dr. Yusuf ÖZBEL**



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

İÇİNDEKİLER

BÖLÜM 1. PROGRAM.....	1
BÖLÜM 2. KONFERANSLAR.....	25
BÖLÜM 3. YUVARLAK MASA OTURUMLARI ve ÇALIŞTAY	63
BÖLÜM 4. SÖZLÜ BİLDİRİLER.....	159
BÖLÜM 5. POSTER BİLDİRİLER.....	357

	28 Eylül 2019 Cumartesi	29 Eylül 2019 Pazar	29 Eylül 2019 Pazar	30 Eylül 2019 Pazartesi	30 Eylül 2019 Pazartesi	1 Ekim 2019 Salı	1 Ekim 2019 Salı	2 Ekim 2019 Çarşamba	2 Ekim 2019 Çarşamba	3 Ekim 2019 Perşembe				
		Salon A	Salon B	Salon A	Salon B	Salon A	Salon B	Salon A	Salon B					
09:00 09:30	KAYIT	KAYIT	KAYIT	KONFERANS 02 Selma USLUCA Parazitoloji Laboratuvarı Akreditasyonu ve Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvarı Deneyimleri		YUVARLAK MASA 05 Önemi Artan Enfestasyonlar Düzenleyenler: Nevin TURGAY / Seray TÖZ	SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 04 (SB30-SB36) Başkanlar: Hasan EREN Süleyman AYPAK	SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06 (SB48-SB55) Başkanlar: Gülnaz ÇULHA İ. Cüneyt BALCIOĞLU	SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07 (SB56-SB62) Başkanlar: Metin KORKMAZ Ali KİLİMCİOĞLU					
09:30 10:00				KONFERANS 03 Tonay İNCEBOZ Laboratuvar Kalite ve Akreditasyonunda Güncel Bilgiler										
10:00 10:30				KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI										
10:30 11:00						KONFERANS 04 Dionysis VOURTSIS Managing Biological Risks in Biomedical Laboratories		KONFERANS 10 Dusan PETRIC Methodology of Integrated WNV Surveillance Programmes in Serbia			KONFERANS 14 Andrei D. MIHALCA Respiratory and Vascular Nematodes of European Carnivores: Missing Pieces of A Complex Puzzle			
11:00 11:30						KONFERANS 05 Dusan PETRIC Multisectoral Collaboration in WNV Surveillance - Pioneering the One Health Approach in Serbia		YUVARLAK MASA 06 Vektörlere Karşı İnkisidit Kullanım Stratejileri ve Alternatif Biyoteknolojik Mücadele Düzenleyen: Abdullah İNCİ			SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05 (SB37-SB47) Başkanlar: M. Ziya ALKAN Serkan BAKIRCI	YUVARLAK MASA 09 Theileriosis in Mediterranean/Europe an Countries Düzenleyen: Tülin KARAGENÇ	SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08 (SB63-SB72) Başkanlar: Hande DAĞCI Esin GÜVEN	
11:30 12:00						YUVARLAK MASA 03 KKKA / KENE Düzenleyen: Ayşen GARGILI KELEŞ Agustin ESTRADA-PENA	SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02 (SB12 – SB19) Başkanlar: Sami ŞİMŞEK A.Yüksel GÜRÜZ							
12:00 12:30														
12:30 13:30				ÖĞLE ARASI										
13:30 14:00					AÇILIŞ		YUVARLAK MASA 04 Tek Dünya Tek Sağlık Penceresinden: Leishmaniasis Düzenleyenler: Seray TÖZ / Yusuf ÖZBEL	SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03 (SB20-SB29) Başkanlar: Münir AKTAŞ Bayram ŞENLİK	YUVARLAK MASA 07 Parazitler ve Nörodejenerasyon Düzenleyen: Erol AYAZ			YUVARLAK MASA 10 Entomofobi ve Delüzyonel Parazitöz Düzenleyen: Kosta MUMCUOĞLU	SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09 (SB73-SB79) Başkanlar: Levent AYDIN Ayşen GARGILI KELEŞ	
14:00 14:30				KAYIT	AÇILIŞ KONFERANSI Sağlık Bakanlığı Zoonotik Hastalıklar Eylem Planı									
14:30 15:00		YUVARLAK MASA 01 Sıtma Düzenleyen: Sibel ERGÜVEN		KONFERANS 06 Hüseyin ÇETİN Türkiye’de Belediyeler Tarafından Yürütülen Vektör Mücadele Hizmetleri		KONFERANS 11 Muttalip ÇİÇEK Yeni Nesil Tıp Eğitimi ve Parazitoloji Eğitimi	ÇALIŞTAY (MetVAC) Kenelerin İdentifikasyonu ve Laboratuvarında Kültivasyon Yöntemleri Düzenleyenler: Serkan BAKIRCI Hüseyin Bilgin BİLGİÇ Selin HACILARLIOĞLU Zati VATANSEVER Metin PEKAĞIRBAŞ Tülin KARAGENÇ	YUVARLAK MASA 11 Blastocystis: Güncel Gelişmeler ve Aydın Deneyimi Düzenleyen: Sema ERTUĞ	SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 10 (SB80-SB86) Soykan ÖZKOÇ Alparslan YILDIRIM					
15:00 15:30														
15:30 16:00	KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI													
16:00 16:30		YUVARLAK MASA 02 İnsan Hareketleri ve Paraziter Enfeksiyonlar Düzenleyenler: Ahmet ÖZBİLGİN / Fadile YILDIZ ZEYREK	SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU - 01 (SB01 - SB11) Başkanlar: Ahmet ÜNER Nogay GİRGİNKARDEŞLER	KONFERANS 07 Chizu SANJOBA One Health Approach to The Control of Visceral Leishmaniasis in Bangladesh		KONFERANS 12 Adil ALLAHVERDİEV New Nanovaccine Formulations Against Visceral Leishmaniasis			KAPANIŞ KONFERANSI Ayşe CANER Kanser ve Mikroorganizmalar: Parazitler					
16:30 17:00				KONFERANS 08 Alejandro CASTELLANOS Novel Approaches to the Treatment and Control of Cryptosporidiosis		KONFERANS 13 Münir AKTAŞ Küçük Ruminant Babesiosis (Keçiler İçin Enfektif Yeni Bir <i>Babesia türü</i> ?)			ÖDÜL TÖRENİ ve KAPANIŞ					
17:00 17:30		KONFERANS 01 Özer AKGÜL Parazitler ve Psikiyatrik Hastalıklar Arasındaki İlişki		KONFERANS 09 Hatice YAZISIZ Tedavi Edilebilir Cinsel Yolla Bulaşan Enfeksiyonlar ve Tanı Yöntemleri		YUVARLAK MASA 08 Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıpta Parazitolojinin Yeri: Biyoterapi Düzenleyen: Kosta MUMCUOĞLU								
17:30 18:00		UYDU SEMPOZYUM (ZEMED)		TÜRKİYE PARAZİTOLOJİ DERNEĞİ 23. OLAĞAN GENEL KURULU										
18:00 18:30		HOŞ GELDİNİZ KOKTEYLİ												
18:30 19:00														
20:00-	AKŞAM YEMEĞİ													
21:00 22:30				İNTERAKTİF GECE OTURUMU Yurtiçi ve Yurtdışı Proje Deneyimleri ve Yaşanan Sorunlar (SB87)		GALA YEMEĞİ								

SOSYAL PROGRAM - SAKIZ ADASI TURU (Katılım ücretlidir)



21. Parazitoloji Kongresi

28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme / İZMİR

Düzenleyen

Türkiye Parazitoloji Derneği

Kongre Onursal Başkanı

M. Ali ÖZCEL / TPD Onursal Başkanı

DÜZENLEME KURULU

Kongre Başkanı

Yusuf ÖZBEL / Türkiye Parazitoloji Derneği Başkanı

Kongre Sekreteri

Derya DİRİM ERDOĞAN

Basın-Yayın

İ. Cüneyt BALCIOĞLU

Sayman

Seray TÖZ

Düzenleme Kurulu Üyeleri

Hasan EREN

Hatice ERTABAKLAR

Soykan ÖZKOÇ

BİLİMSEL PROGRAM



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

29 Eylül 2019, Pazar

	SALON A	SALON B
13:00 14:00	KONGRE AÇILIŞI Yusuf ÖZBEL, Kongre Başkanı Anma, Khosrow Hazrati TAPPEH - Hazırlayan: Ülgen Z. OK Anma, Bayram GÖÇMEN - Hazırlayan: M. Anıl OĞUZ M. Ali ÖZCEL, Kongre Onursal Başkanı Osman Selçuk ALDEMİR, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Rektörü	
14:00 14:30	AÇILIŞ KONFERANSI ZOONOTİK HASTALIKLAR EYLEM PLANI Konuşmacı: Emine ALP MEŞE / Seher TOPLUOĞLU T.C. Sağlık Bakan Yardımcısı / S. B. HSGM Zoonotik ve Vektörel Hastalıklar DB	
14:30 15:30	YUVARLAK MASA OTURUMU 01 SITMA Düzenleyen: Sibel ERGÜVEN 1. Sıtma Eliminasyon Deneyimi Seher TOPLUOĞLU 2. Sıtmanın Laboratuvar Tanısı: Konvansiyonel ve İleri Tanı Yöntemleri Tuba KAYMAN 3. Hamilelikte Sıtmaya Karşı Aralıklı Koruyucu Tedavi Emrah RUH 4. Artemisinin ve You You Tu Seray TÖZ	
15:30 16:00	ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI	
16:00 17:00	YUVARLAK MASA OTURUMU 02 İNSAN HAREKETLERİ VE PARAZİTER ENFEKSİYONLAR Düzenleyenler: Ahmet ÖZBİLGİN / Fadile YILDIZ ZEYREK 1. Sıtma Ahmet ÖZBİLGİN 2. Leishmaniasis Gülnaz ÇULHA 3. Uyuz ve Pediculosis Özgür KURT 4. At the Crossroads; Refugees and Infectious Diseases Perspectives of Turkey and Europe Varol TUNALI	SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01 Oturma Başkanları: Ahmet ÜNER / Nogay GİRİNKARDEŞLER SB01. Buzağılarda Cryptosporidiosis Tedavisinde Alternatif Yaklaşım Selin HACILARLIOĞLU SB02. Onkoloji Hastalarında <i>Cryptosporidium</i> Parazitinin Değerlendirilmesi: Ayşegül AKSOY GÖKMEN SB03. Bağışıklığı Baskılanmış Hastalarda Koksidiyen Protozoon Sıklığının 10 Yıl Ara ile Karşılaştırılması Özlem ULUSAN



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

17:00 17:30	KONFERANS 01 PARAZİTLER VE PSİKİYATRİK HASTALIKLAR ARASINDAKİ İLİŞKİ: <i>Toxoplasma gondii</i> Örneği Oturum Başkanı: Yaşar Ali ÖNER Konuşmacı: Özer AKGÜL	SB04. Kanser Hastalarında Fırsatçı İntestinal Parazitlerin Görülme Sıklığı ve Lenfosit Alt Gruplarıyla İlişkisi Sefa MÜLAYİM SB05. <i>Dientamoeba fragilis</i> 'in Patojenitesini Destekleyen Bir Faktör Olarak Fekal Kalprotektin Mehmet AYKUR SB06. <i>Enterobius vermicularis</i> pozitif Olguların Dışkılarında <i>Dientamoeba fragilis</i> Sıklığının PCR ile Araştırılması İbrahim YILDIZ SB07. <i>Dientamoeba fragilis</i> 'in Ülseratif Kolit ve İrritabl Bağırsak Sendromlu Hasta Gruplarında Farklı Yöntemlerle Araştırılması ve Genotiplendirilmesi Tuğçe ÜNALAN SB08. Amebiyazisde ELISA Sonuçlarının Mikroskopik Değerlendirme Sonuçlarıyla Karşılaştırılması Fatma ESENKAYA TAŞBENT SB09. Toprak Örneklerinde Saptanan Serbest Yaşayan Amiplerin Moleküler Yöntem ile Tanımlanması; Topraktaki Gizli Tehlike! Mehmet AYKUR SB10. BD MAX™ Enteric Parasite Panel Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi ve Rutin Parazitolojik İncelemeyle Karşılaştırılması Büşra Betül ÖZMEN ÇAPIN SB11. İç Anadolu Yöresinde Sığırlarda <i>Giardia duodenalis</i> 'in Moleküler Prevalansı ve Filogenetik Karakterizasyonu Zuhal ÖNDER
17:30 18:00	UYDU SEMPOZYUM ZEMED	
18:00 19:00	HOŞGELDİNİZ KOKTEYLİ	
20:00 -	AKŞAM YEMEĞİ	



2. GÜN

30 Eylül 2019, Pazartesi

	SALON A	SALON B
09:00 09:30	KONFERANS 02 PARAZİTOLOJİ LABORATUVARI AKREDİTASYONU VE ULUSAL PARAZİTOLOJİ REFERANS LABORATUVARI DENEYİMLERİ Oturum Başkanı: Seher TOPLUOĞLU Konuşmacı: Selma USLUCA	
09:30 10:00	KONFERANS 03 LABORATUVAR KALİTE VE AKREDİTASYONUNDA GÜNCEL BİLGİLER Oturum Başkanı: Seher TOPLUOĞLU Konuşmacı: Tonay İNCEBOZ	
10:00 10:30	ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI	
10:30 11:00	KONFERANS 04 BIOSAFETY AND BIOSECURITY Oturum Başkanı: Mucide AK Konuşmacı: Dionysis VOURTSIS	
11:00 11:30	KONFERANS 05 MULTISECTORAL COLLABORATION IN WEST NILE VIRUS SURVEILLANCE: PIONEERING THE ONE HEALTH APPROACH IN SERBIA: Mosquito, Bird, Horse and Human Surveillance Oturum Başkanı: Mucide AK Konuşmacı: Dusan PETRIC	
11:30 12:30	YUVARLAK MASA OTURUMU 03 KKKA / KENE Düzenleyen: Ayşen GARGILI KELEŞ 1. What is a Tick and How It Works? Agustin ESTRADA-PENA 2. Possible Effects of Tortoise Ticks on CCHF Ayşen GARGILI KELEŞ	SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02 Oturum Başkanları: Sami ŞİMŞEK / A. Yüksel GÜRÜZ SB12. Aydın İlinde İzole Edilen <i>Trichomonas vaginalis</i> İzolatlarının Multilokus Sekans Tiplendirme (MLST) Yöntemi İle Genotiplendirilmesi Erdoğan MALATYALI SB13. Cinnamaldehyde, Carvacrol ve Thymol'ün Anti-Trichomonial Etkinliği ve Metronidazol ile Sinerjisinin Checkerboard Yöntemi ile Araştırılması Yener ÖZEL



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

		<p>SB14. <i>Trichomonas vaginalis</i>'e Karşı Yeni Aktif Biyomoleküller: Böcek Patojeni Bakteriler Evren TİLEKLİOĞLU</p> <p>SB15. Aydın Bölgesindeki Parklarda Mikroskopik ve Moleküler Yöntemlerle Zoonoz Helmintlerin Yaygınlığının Belirlenmesi Tayfun ŞAHİN</p> <p>SB16. Sivas'ta Akarsu Çevresinden Toplanan Yumuşakçalarda Trematod Larval Dönemlerinin Araştırılması Fatih AKYILDIZ</p> <p>SB17. Ruminantlardan Toplanan <i>Dicrocoelium dendriticum</i> İzolatlarının Ribozomal DNA'larının Genetik Karakterizasyonu ve Filogenetik İlişkilerinin Araştırılması Cenk Soner BÖLÜKBAŞ</p> <p>SB18. <i>Viscum album l. ssp. austriacum</i> (WiESP.) VOLLMAN Alt Türünün Gövde Ethanol ve Etil Asetat Ekstraktlarının <i>Caenorhabditis elegans</i> Bireyleri Üzerinde Antihelmintik Etkisinin Araştırılması Necati ÖZPINAR</p> <p>SB19. Kırıkkale İli Merkez Mezbahasında Kesimi Yapılan Hayvanların Karaciğerlerinde Bulunan Parazitler ve Ekonomik Önemi Aycan Nuriye GAZYAĞCI</p>
--	--	---

12:30
13:30

ÖĞLE ARASI

	<p>YUVARLAK MASA OTURUMU 04</p> <p>TEK DÜNYA TEK SAĞLIK PENCERESİNDEN LEISHMANIASIS Düzenleyenler: Seray TÖZ / Yusuf ÖZBEL</p> <p>1. Olgularla Visseral Leishmaniasis: Ege Deneyimi Derya DİRİM ERDOĞAN</p> <p>2. Türkiye'de Olgularla Kutanöz Leishmaniasis İ. Cüneyt BALCIOĞLU</p>	<p>SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03 Oturum Başkanları: Münir AKTAŞ / Bayram ŞENLİK</p> <p>SB20. <i>Encephalitozoon intestinalis</i>'in U937 Hücrelerindeki BAG1 ve BAG3 Gen Ekspresyonuna Etkisi Ülfet ÇETİNKAYA</p> <p>SB21. Sağlıklı Tavşanlarda <i>Encephalitozoon cuniculi</i> Seropozitifliği ile Böbrek Biyokimyasal Belirteçleri Arasındaki İlişki Banu Çiçek YÜCESAN</p>
--	---	--



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

3. Türkiye’de Kanin Leishmaniasis ve Anket Sonuçları
Gökhan ÖZDEMİR

4. Türkiye’de Kum Sineği Çalışmalarında Son Durum
Metin PEKAĞIRBAŞ

5. Paratransgenesis ve Vektör Mikrobiyatasının Deneysel Düzenlenmesi
Mehmet KARAKUŞ

SB22. Molecular Survey of Hepatozoonosis in Natural Infected Dogs: First Detection and Molecular Characterisation of *Hepatozoon canis* in Kyrgyzstan

Mehmet Fatih AYDIN

SB23. Türkiye’de İki Boz Ayıda *Hepatozoon ursi*’nin ilk Moleküler Tanısı

Muzaffer AKYÜZ

SB24. Tavuklarda Microsporidian Parazitlerin Moleküler Prevalansı ve Filogenetik Karakterizasyonu

Nuri ERCAN

SB25. Bir Hindi Sürüsünde Görülen Histomonosis Salgını ve Etkenin Moleküler Olarak Teşhisi

Özlem ORUNÇ KILINÇ

SB26. First molecular evidence for *Mycoplasma haemocanis* and *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* in asymptomatic shelter dogs in Kyrgyzstan

Mehmet Fatih AYDIN

SB27. Oğuzlar Yöresindeki Sığırlarda *Neospora caninum* ve *Besnoitia besnoiti*’nin Seroprevalansı

Sami GÖKPINAR

SB28. Kars Yöresinde Koyunlarda *Babesia* ve *Theileria* Türlerinin Moleküler Epidemiyolojisi

Nilgün AYDIN

SB29. Sığırlarda Yaygınlık Gösteren *Eimeria* Türlerinin Spesifik Tanısı İçin Sybergreen Tabanlı Real Time PCR Metodunun Geliştirilmesi

Gözde ŞAHİNGÖZ DEMİRPOLAT

KONFERANS 06

TÜRKİYE’DE BELEDİYELER TARAFINDAN YÜRÜTÜLEN VEKTÖR MÜCADELE HİZMETLERİ

15:00

15:30

Oturum Başkanı: **Levent AYDIN**

Konuşmacı: **Hüseyin ÇETİN**

15:30

16:00

ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

16:00 16:30	KONFERANS 07 ONE HEALTH APPROACH TO THE CONTROL OF VISCERAL LEISHMANIASIS IN BANGLADESH Oturum Başkanı: Seray TÖZ Konuşmacı: Chizu SANJOBA	
16:30 17:00	KONFERANS 08 NOVEL APPROACHES TO THE TREATMENT AND CONTROL OF CRYPTOSPORIDIOSIS Oturum Başkanı: Ayşe CANER Konuşmacı: Alejandro CASTELLANOS	
17:00 17:30	KONFERANS 09 TEDAVİ EDİLEBİLİR CİNSEL YOLLA BULAŞAN ENFEKSİYONLAR VE TANI YÖNTEMLERİ Oturum Başkanı: Ayşe CANER Konuşmacı: Hatice YAZISIZ	
17:30 20:00		TÜRKİYE PARAZİTOLOJİ DERNEĞİ 23. OLAĞAN GENEL KURULU
20:00 21:00		AKŞAM YEMEĞİ
21:30 -	İTERAKTİF GECE OTURUMU YURTIÇİ VE YURTDİŞİ PROJE DENEYİMLERİ VE YAŞANAN SORUNLAR Oturum Başkanları: Yusuf ÖZBEL / Tülin KARAGENÇ / Mert DÖŞKAYA SB87. Akademik Çalışma Yaşamında Ayrımcı Bir Uygulama: Gebelik, Proje Bursiyerliğinin Sona Erdirilmesi İçin Geçerli Bir Neden Midir? Özlem MİMAN	



3. GÜN

01 Ekim 2019, Salı

	SALON A	SALON B
09:00 10:00	<p>YUVARLAK MASA OTURUMU 05</p> <p>ÖNEMİ ARTAN ENFESTASYONLAR Düzenleyenler: Nevin TURGAY / Seray TÖZ</p> <p>1. <i>Demodex folliculorum</i>'un Deri Hastalıkları ve Blefarit ile Bağlantısı, Tanı ve Tedavisi Nurhadiye KURU</p> <p>2. Uyuz Orçun ZORBOZAN</p> <p>3. Türkiye'de Baş Biti Enfestasyonu, Genetik Yapısı ve Direnç Durumu Mehmet KARAKUŞ</p> <p>4. Miyazis Deneyimi: Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Nazlı-Selim Eren Kronik Yara ve İnfeksiyonları Bakım Ünitesi Evren TİLEKLİOĞLU</p>	<p>SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 04 Oturma Başkanları: Hasan EREN / Süleyman AYPAK</p> <p>SB30. <i>Nosema ceranae</i> ile Doğal Enfekte Bal Arısı Kolonilerinde Noseba'nın Etkinliğinin Araştırılması Levent AYDIN</p> <p>SB31. Van Gölü Havzasında Bal Arısı (<i>Apis mellifera</i> L.) Kolonilerinde Varroosise Karşı Tıbbi Bitki Ekstrelerinin Etkinliğinin Araştırılması Bayram ALPARSLAN</p> <p>SB32. Siraz Balıklarında (<i>Capoeta tinca</i> Heckel, 1843) <i>Myxobolus</i> Enfeksiyonlarının Morfolojik, Histopatolojik Ve Moleküler Yöntemler İle Araştırılması Gökmen Zafer PEKMEZCİ</p> <p>SB33. Türkiye'nin Akdeniz Kıyılarındaki <i>Mullus barbatus</i>'u (Linnaeus, 1758) Enfekte Eden <i>Hysterothylacium fabri</i> (Nematoda: Raphidascarididae) Larvasının Küçük Alt Ünite Ribozomal RNA Gen Bölgesinin Moleküler Karakterizasyonu Gökmen Zafer PEKMEZCİ</p> <p>SB34. <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> Türkiye Suşlarının Aşı Adayı Immobilizan Antijenlerini Kodlayan Genlerin Klonlanması, Gen Ekspresyonu ve Karakterizasyonu Alparslan YILDIRIM</p> <p>SB35. Türkiye'de Gökkuşluğu Alabalıklarında Yayılış Gösteren <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> Suşlarının Filogenetik Karakterizasyonu Emrah ŞİMŞEK</p> <p>SB36. Bursa'da Saksığan Kuşlarının Sindirim Sisteminde Tespit Edilen Parazitler Ahmet Onur GİRİŞGİN</p>
10:00 10:30	ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI	
10:30 11:00	<p>KONFERANS 10 METHODOLOGY OF INTEGRATED WEST NILE VIRUS SURVEILLANCE PROGRAMMES IN SERBIA Oturma Başkanı: Yusuf ÖZBEL Konuşmacı: Dusan PETRIC</p>	



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA OTURUMU 06

VEKTÖRLERE KARŞI İNSEKTİSİT KULLANIM STRATEJİLERİ VE ALTERNATİF BİYOTEKNOLOJİK MÜCADELE

Düzenleyen: **Abdullah İNCİ**

1. Vektörlerle Entegre Mücadelenin Önemi
Önder DÜZLÜ
2. İnsektisitlerin Çevre Sağlığında Kullanımları ve Güvenli Uygulama İlkeleri
Oğuzhan YAVUZ
3. İnsektisitlerin Veteriner Hekimlikte Güvenli Kullanımı
Murat KANBUR
4. Vektör Mücadelesinde Alternatif Biyoteknolojik Mücadeledeki Gelişmeler
Alparslan YILDIRIM

11:00
12:30

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05

Oturum Başkanları:

M. Ziya ALKAN / Serkan BAKIRCI

SB37. CRISPR/Cas9 Genome Editing System in *Leishmania tropica* and ablation of Multiple Genes Encoding Gp63

Arzuv CHARYYEVA

SB38. Kutanöz Leishmaniasis tanısı için Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 2016-2018 Yılları Arasında Başvuran Hastaların ve Gaziantep'te Hastalığın Durumunun Değerlendirilmesi

Ahmet ÖZKEKLİKÇİ

SB39. İstanbul Barınak Köpeklerindeki Visseral Leishmaniasis Sorunu: Moleküler Çalışma

Reyhan ÇALIŞKAN

SB40. Kanin Leishmaniasisli Köpeklerin Doku Örneklerinde Farklı Tanı Yöntemlerinin Değerlendirilmesi

Metin PEKAĞIRBAŞ

SB41. Erzurum Yöresi Tarla Farelerinde *Babesia*, *Hepatozoon* ve *Leishmania* Enfeksiyonları

Rıdvan KİRMAN

SB42. *Leishmania tropica* Amastigotların ve Promastigotların Kriyoprezervasyonu ve Virülansının Karşılaştırılması

İbrahim ÇAVUŞ

SB43. *Leishmania* kökenlerinin ITS1 genine dayalı filogenetik analizi: In-siliko yöntem ile küresel düzeyde metaanalitik çalışma

Dilek GÜLDEMİR

SB44. Şırnak Bölgesinden Toplanan *Prangos ferulacea* ve *Ferula orientalis* Ekstrelerinin Türkiye'den İzole Edilmiş *Leishmania tropica*'ya Karşı Anti-leishmanial Etkilerinin Araştırılması

Sefer Özer BABAT

SB45. Muğla ve İlçelerinde Bulunan Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) Türleri, Popülasyon Dinamiği ve *Leishmania* sp.'nin PCR ile Araştırılması

Metin PEKAĞIRBAŞ



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

		<p>SB46. Türkiye’de Bazı Leishmaniasis Endemik alanlardaki Kum Sineği (Diptera: Psychodidae), Popülasyonlarının Thiamethoxam’a Karşı Hassasiyetlerinin Belirlenmesi Suha K. ARSERİM</p> <p>SB47. Coğrafi Bilgi Sistemleri (CBS) Tabanlı Şark Çıbanı Bildirim Sistemi M. Kirami ÖLGEN</p>
12:30 13:30	ÖĞLE ARASI	
13:30 15:00	<p>YUVARLAK MASA OTURUMU 07</p> <p>PARAZİTLER VE NÖRODEJENERASYON Düzenleyen: Erol AYAZ</p> <p>1. Parazitler, Nörotransmitterler ve Davranış Hayriye SOYTÜRK</p> <p>2. Nörodejeneratif Hastalıklar ve Parazit İlişkisi Özlem MİMAN</p> <p>3. <i>Toxoplasma gondii</i> ve Klinik Bulgular Şule AYDIN TÜRKÖĞLU</p> <p>4. <i>Toxoplasma gondii</i> ve Nöropatoloji: Epilepsi Kerem YAMAN</p> <p>5. <i>Toxoplasma gondii</i> ve Nöropatoloji: Alzheimer ve Parkinson Muhammed Nur ÖĞÜN</p> <p>6. Deneysel Modellerimiz: Alzheimer ve Epilepsi Hastalıklarında Deneysel Modellemeler Ayhan ÇETİNKAYA</p>	<p>ÇALIŞTAY (MetVAC)</p> <p>KENELERİN İDENTİFİKASYONU VE LABORATUVARDA KÜLTİVASYON YÖNTEMLERİ</p> <p>Düzenleyenler: Serkan BAKIRCI Hüseyin Bilgin BİLGİÇ Zati VATANSEVER Selin HACILARLIOĞLU Metin PEKAĞIRBAŞ Tülin KARAGENÇ</p>
15:00 15:30	<p>KONFERANS 11 YENİ NESİL TIP EĞİTİMİ ve PARAZİTOLOJİ DERSLERİ Oturum Başkanı: Tonay İNCEBOZ Konuşmacı: Muttalip ÇİÇEK</p>	
15:30 16:00	ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI	
16:00 16:30	<p>KONFERANS 12 LEISHMANIASİSE KARŞI AŞI GELİŞTİRİLMESİNDE NANOTAŞIYICI SİSTEMLERDE YENİ YAKLAŞIMLAR Oturum Başkanı: Nevin TURGAY Konuşmacı: Adil ALLAHVERDİEV</p>	<p>ÇALIŞTAY (Devam)</p>



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

16:30 17:00	KONFERANS 13 KÜÇÜK RUMİNANT BABESİOSISI (Keçiler İçin Enfektif Yeni Bir Babesia Türü?) Oturum Başkanı: Nevin TURGAY Konuşmacı: Münir AKTAŞ
17:00 18:30	YUVARLAK MASA OTURUMU 08 GELENEKSEL ve TAMAMLAYICI TIPTA PARAZİTOLOJİNİN YERİ: BİYOTERAPİ Düzenleyen: Kosta MUMCUOĞLU 1. Maggot Debridement Therapy Worldwide Kosta MUMCUOĞLU 2. Türkiye’de Biyoterapi Ayşegül TAYLAN ÖZKAN 3. Maggot Terapi: Cerrahpaşa Deneyimi Erdal POLAT
20:00 -	GALA YEMEĞİ (ONTUR Otel Deniz Kenarı)



4. GÜN

02 Ekim 2019, Çarşamba

	SALON A	SALON B
	<p>SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06 Oturum Başkanları: Gülnoz ÇULHA / İ. Cüneyt BALCIOĞLU</p> <p>SB48. Sıtma Olgusunda Doğru Laboratuvar Tanısının Önemi Ahmet YILDIRIM</p> <p>SB49. Yurtdışı Kaynaklı İki <i>Plasmodium falciparum</i> Olgusunda Profilaksi ve Kişisel Koruyucu Kullanımının Önemi Müzeyyen CÖMERT AKSU</p> <p>SB50. <i>Leishmania tropica</i>'nın Neden Olduğu Alışılmadık Görünümlü Kutanöz Leishmaniasis ve Tedavisi Yener ÖZEL</p> <p>SB51. Mersin İlinde 2005-2014 Yılları Arasında Mülteci Kaynaklı Leishmaniasis ve Sıtma Olgularının Retrospektif Değerlendirilmesi Müzeyyen CÖMERT AKSU</p> <p>SB52. Yatağa Bağımlı Bir Hastada Visseral Leishmaniasis: Türkiye'nin Endemik Olmayan Bir İlimden Olgu Sunumu Büşra ÖZMEN ÇAPIN</p> <p>SB53. Aydın'da Beş Yıldır Tanı Alamayan Bir Fascioliasis Olgusu Evren TİLEKLİOĞLU</p> <p>SB54. Dev Hücreli Arterit (Temporal Arterit)'li Bir Hastada <i>Strongyloides stercoralis</i> Tuğba KAYA</p> <p>SB55. Yeni Doğanda Uyuz Olgusu Tülay AKSOY</p>	<p>SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07 Oturum Başkanları: Metin KORKMAZ / Ali KİLİMCİOĞLU</p> <p>SB56. Kedi Nötrofillerinde <i>Toxoplasma gondii</i>'ye Karşı Şekillenen NETosis Reaksiyonunda Nötrofil Elastaz Aktivitesi Neslihan SÜRSAL</p> <p>SB57. <i>Toxoplasma gondii</i> ile Enfekte İnsan Trophoblastik Hücrelerinin (BeWo) Toll-Like Reseptör Yolağına Nitrofurantoinin Etkisi Eda SİVCAN</p> <p>SB58. Karabük ili ve Çevresinde 15-49 Yaş Aralığındaki Kadınlarda <i>Toxoplasma gondii</i> Seroprevalansı Elçin KAL ÇAKMAKLIOĞULLARI</p> <p>SB59. Kronik Böbrek Yetmezliği Olan Hastalarda <i>Toxoplasma gondii</i> Seroprevalansı Berna HAMAMCI</p> <p>SB60. Sıçanlarda Deneysel <i>Toxoplasma gondii</i> Enfeksiyonunun Epileptiform Aktivite Üzerine Etkisinin BOS Biyobelirteçleri Değerlendirilerek İncelenmesi Kerem YAMAN</p> <p>SB61. Sıçanlarda Deneysel <i>Toxoplasma gondii</i> Enfeksiyonunun Epileptiform Aktivite Üzerine Etkisinin Beyin Dalgalarını Power Spektral Analiz İle İncelenerek Değerlendirilmesi Kerem YAMAN</p> <p>SB62. <i>Toxoplasma gondii</i> ile Deneysel Enfekte Sıçanların Yavrularındaki Davranış Değişikliklerinin İncelenmesi Mücahit ÇAKMAK</p>
09:00 10:00		
10:00 10:30	ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI	



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

10:30 11:00	KONFERANS 14 RESPIRATORY AND VASCULAR NEMATODES OF EUROPEAN CARNIVORES: MISSING PIECES OF A COMPLEX PUZZLE Oturum Başkanı: Yusuf ÖZBEL Konuşmacı: Andrei Daniel MIHALCA	
11:00 12:30	YUVARLAK MASA OTURUMU 09 THEILERIOSIS IN MEDITERRANEAN/EUROPEAN COUNTRIES Düzenleyen: Tülin KARAGENÇ 1. Molecular and Serological Survey of <i>Theileria equi</i> and <i>Babesia equi</i> in the UK Equine Population William WEIR 2. Clinical Signs of Tropical Theileriosis in Wilayate of Tizi Ouzou, Algeria Hocine ZIAM 3. An Overview of Blood Parasites in the Egyptian Field with Special Reference to <i>Theileria</i> spp. Shawky Ahmed MOUSTAFA 4. Current Status and Future Prospects for Vaccines Against Tropical Theileriosis Tülin KARAGENÇ / Hüseyin Bilgin BİLGİÇ	SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08 Oturum Başkanları: Hande DAĞCI / Esin GÜVEN SB63. Kistik Ekinokokkoz Tanısında Doğal ve Rekombinant Antijenlerin Karşılaştırılması Fatma IRVASA BİLGİÇ SB64. İnsanlarda Alveolar Ekinokokkoz Serolojik Tanısında Em70/Em90 Bantlarının Kullanımı: 10 Yıllık Deneyim Aylin BABAOĞLU SB65. <i>Echinococcus granulosus</i> 'un Sığır ve Koyun İzolatlarındaki Antijen B (AgB) Gen Polimorfizminin Belirlenmesi ve Serolojik Tanı Üzerindeki Etkinliğinin Araştırılması Harun Kaya KESİK SB66. Erzincan'da Kistik Ekinokokkozisin İnsan ve Hayvanlarda Prevalansı Murat KARA SB67. İnaktif kisti olan Kistik Ekinokokkozis'li Hastalarda Serolojik Test Sonuçlarının Klinik Bulgularla Korelasyonunun Araştırılması Serra ÖRSTEN SB68. Erzurum Yöresinde Kistik ve Alveolar Ekinokokkozisin Moleküler Epidemiyolojisi Hamza AVCIOĞLU SB69. Elazığ İlinde Kesimi Yapılan Sığırlardan Elde Edilen <i>Echinococcus granulosus</i> İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu Figen ÇELİK SB70. Türkiye'de Bir Yaban Domuzunda Akciğer Hidatik Kistinin Moleküler Karakterizasyonu Şeyma GÜNYAKTI KILINÇ



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

		<p>SB71. Kistik Ekinokokkoz ve Fasiyoliz'de IL-4, IL-5, TNF-α ve IFN-γ Düzeylerinin Araştırılması Yunus Emre BEYHAN</p> <p>SB72. Koyun ve Keçilerden Elde Edilen <i>Cysticercus tenuicollis</i> İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu ve Haplotiplerinin Belirlenmesi Sami ŞİMŞEK</p>
12:30 13:30	ÖĞLE ARASI	
	<p>YUVARLAK MASA OTURUMU 10 ENTOMOFOBİ ve DELÜZYONEL PARAZİTOZ Düzenleyen: Kosta MUMCUOĞLU</p> <p>1. Entomofobi ve Delüzyonel Parazitöz Ayşegül TAYLAN ÖZKAN</p> <p>2. Edebiyat Dünyasında Eklembacaklılar Burcu ÖZAYDIN YAKIŞTIRAN</p>	<p>SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09 Oturum Başkanları: Levent AYDIN / Ayşen GARGILI KELEŞ</p> <p>SB73. <i>Hyalomma marginatum</i> (Acari: Ixodidae)'un Mitokondriyal Genom Karakterizasyonu Arif ÇİLOĞLU</p> <p>SB74. Kene Aşısı Adayı Plazminojen Reseptörü Enolase'ın <i>Hyalomma marginatum</i> ve <i>H. anaticum</i>'da Moleküler Karakterizasyonu ve Ekspresyonu Gamze YETİŞMİŞ</p> <p>SB75. Species of Tick Collected From Patients Coming to The Pediatric Emergency Department of Denizli State Hospital Miray TÜRK</p> <p>SB76. Türkiye'de Doğal Olarak Yaşayan Çeşitli Yabani Hayvanlardan Kan Emen Keneler ve Bu Kenelerdeki Kene-Kaynaklı Patojenlerin İdentifikasyonu: <i>Theileria capreoli</i>, <i>Hepatozoon ursi</i> ve <i>Candidatus Rickettsia barbariae</i>'nin Türkiye'deki İlk Bildirimleri Ömer ORKUN</p> <p>SB77. Türkiye'deki Küçük Ruminantlarda Kene ile Bulaşan Patojenler Nazir DUMANLI</p> <p>SB78. Bursa ve Çevresindeki Yabani Kuşlarda Tespit Edilen Dış Parazitler Oya GİRİŞGİN</p> <p>SB79. Kayseri Yöresinde Yaygınlık Gösteren Hamam Böceklerinin (Insecta: Blattaria) Filogenetik Karakterizasyonu Fatma CEVAHİR</p>
13:30 14:30		



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

	<p>YUVARLAK MASA OTURUMU 11</p> <p>BLASTOCYSTIS ve GÜNCEL GELİŞMELER: AYDIN DENEYİMİ Düzenleyen: Sema ERTUĞ</p> <p>1. Blastocystis Tanısında Kullanılan Yöntemlerin Değerlendirilmesi ve Klinik Çalışmalar Erdoğan MALATYALI</p> <p>2. Hayvanlarda Blastocystis ve Deneysel Çalışmalar Hatice ERTABAKLAR</p> <p>3. Blastocystis İzolatlarının Genotiplendirilmesi ve Mikrosatellite Veri Tabanı Oluşturulması Sema ERTUĞ</p>	<p>SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 10 Oturma Başkanları: Soykan ÖZKOÇ / Alparslan YILDIRIM</p> <p>SB80. Laboratuvar Ortamında Tıbbi Larva (<i>Lucilia sericata</i>) Üretimi Uğur USLU</p> <p>SB81. Kutanöz Leishmaniasise Karşı <i>Lucilia sericata</i> Proteinleri Emrah ERDOĞAN</p> <p>SB82. <i>Hypoderma bovis</i> hypodermin A, B ve C antijenlerini kodlayan genlerin klonlanması, gen ekspresyonu ve karakterizasyonu Mübeccel OKUR</p> <p>SB83. Tedaviye Dirençli Rozasea ve Akne vulgaris’de <i>Demodex</i> spp.’nin Rolü Serhat SİREKBASAN</p> <p>SB84. Farklı Popülasyonlarda Ciltten İzole Edilen <i>Demodex</i> spp. Sıklığının Araştırılması Merih ŞİMŞEK</p> <p>SB85. Üniversite Öğrencilerinde <i>Demodex</i> spp. Yaygınlığının Araştırılması: Sağlık Bilimleri Fakültesi Örneği Neriman MOR</p> <p>SB86. Kortikosteroid Kullanımı Oküler Demodikozis Tedavisini Nasıl Etkiler? Pilot Çalışma Şerife AKKÜÇÜK</p>
<p>14:30 15:30</p>		
<p>10:00 10:30</p>	<p>ÇAY / KAHVE ARASI</p>	
<p>16:00 16:30</p>	<p>KAPANIŞ KONFERANSI KANSER ve MİKROORGANİZMALAR: PARAZİTLER Oturma Başkanı: Yusuf ÖZBEL Konuşmacı: Ayşe CANER</p>	
<p>16:30 17:30</p>	<p>KAPANIŞ</p>	



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

5. GÜN

03 Ekim 2019, Perşembe

08:00 – 20:00

**SOSYAL PROGRAM
SAKIZ ADASI TURU
(Katılım ücretlidir)**



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

POSTER BİLDİRİLER



30 Eylül 2019, Pazartesi

09:00
18:00

P01. Arı Ürünlerinin (bal, propolis, arı sütü) *Leishmania tropica* Promastigotları Üzerine Anti-leishmanial Etkilerinin Araştırılması

Tülay AKSOY, Eda SİVCAN, Fatma DOĞAN, Songül ÇETİN

P02. Hatay'da Göç Öncesi ve Sonrası Saptanan Kutanöz Leishmaniasis Olgularının Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu İle Genotiplendirilmesi

Gülnoz ÇULHA, **Tuğba KAYA**, Asena DOĞRAMACI

P03. Kamerun Orjinli *Plasmodium vivax* ve *Plasmodium falciparum* Mix Enfeksiyonu ve Tanısı

Emrah ERDOĞAN, Merve YÜRÜK, Eda SİVCAN

P04. Yenidoğanda Ölümcül Seyreden *Encephalitozoon intestinalis* ve *Enterocytozoon bieneusi* Mix Enfeksiyonu ve Tanısı

Emrah ERDOĞAN, Merve YÜRÜK, Eda SİVCAN

P05. Gebelerde *Toxoplasma gondii* Serolojik Test Sonuçlarının retrospektif Analizi

Fatma ESENKAYA TAŞBENT, Duygu ÜZEL, **Mehmet ÖZDEMİR**

P06. Türkiye'de Evcil Tavşanlarda *Eimeria exiqa*'nın İlk Bildirimi

Sezin GÖŞKER, Rıdvan KIRMAN, Muzaffer AKYÜZ, Esin GÜVEN

P07. Farklı Hasta Gruplarında *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar* ve *Entamoeba moshkovskii* Değerlendirmesi

Emrah ERDOĞAN, Bora ÖZKAN, Merve YÜRÜK, Eda SİVCAN

P08. Kars İlindeki Mezbahalarda Kesilen Sığırların Fasciolosis, Dicrocoeliosis ve Echinococcosis Yönünden İncelenmesi

Mesut Erdi IŞIK, Nilgün AYDIN, Mesut YİĞİT, Neslihan GÜNDÜZ, Atıla AKÇA, Gencay Taşkın TAŞÇI, Zati VATANSEVER, Barış SARI

P09. Ağrı Yöresindeki Sığırlarda Karaciğer Trematod Enfeksiyonlarının Yaygınlığı

Cuma SALTAN, **Gencay Taşkın TAŞÇI**

P10. Meram Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına Gönderilen Kistik Ekinokokkozis Şüpheli Örneklerin Değerlendirilmesi

Fatma ESENKAYA TAŞBENT, Burcu YAĞCI, **Mehmet ÖZDEMİR**

P11. Bolu ve Yöresinde Kistik Ekinokokkoz'un Seroprevalansı

Erol AYZA, **Mehmet DEMİRCİ**, Kerem YAMAN

P12. Kars Yöresinde Atlarda Gastrointestinal Protozoon ve Helmintlerin Prevalansı

Mesut YİĞİT, Atıla AKÇA, Mesut Erdi IŞIK, Zati VATANSEVER, Nilgün AYDIN, Neslihan GÜNDÜZ, Barış SARI, Gencay Taşkın TAŞÇI

P13. *Syphacia* spp. ile Doğal Enfekte Sıçanlarda Kabak Çekirdeği Yağı ve Çörekotu Yağının Etkinliği

Betül SAYGIN, Bayram ŞENLİK



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

P14. İzmir İlinin Farklı Bölgelerinden Semptomatik ve Asemptomatik Bireylerden İzole Edilen *Blastocystis* Subtiplerin PCR Tabanlı Dağılımının Belirlenmesi

Mehmet AYKUR, Hande DAĞCI

P15. *Lucilia sericata*'nın Farklı Hayat Dönemlerinde Lucifensin ve Chymotrypsin Ekspresyonunun Araştırılması

Ahmet GÜRCEL, Emrah ERDOĞAN, Songül ÇETİN, Serkan KARACA, Abdüssamed AKŞİT, Bora ÖZKAN, Eda SIVCAN, Fatma DOĞAN, Esra GÜRBÜZ

P16. Kayseri Yöresinde İzole Edilen Fakültatif Myiasis Etkeni *Eristalis tenax*'ın Mitokondrial Cytochrome C Oksidase Subunit I DNA Barkodlaması ve Filogenetik Karakterizasyonu
Mübeccel OKUR, Alparslan YILDIRIM, **Gupse Kübra KARADEMİR**, Zuhal ÖNDER, Önder DÜZLÜ, Ömer Faruk ŞAHİN, Emrah ŞİMŞEK, Gamze YETİŞMİŞ, Arif ÇİLOĞLU, Abdullah İNCİ

P17. *Lucilia sericata*'nın Lucimycin Geninin Moleküler Karakterizasyonu
Songül ÇETİN, **Tülay AKSOY**

P18. Blefaritli Hastalarda *Demodex folliculorum* ve *Demodex brevis* Birlikteliğinde Akar Sayısı Etkilenir mi?

Şerife AKKÜÇÜK, Talat ÖZDEMİR, Özlem KAYA

P19. *Mycoplasma* spp. ile Enfekte Kedilerde Doksisiklin ve Oksitetrasiklinin Tedavideki Etkinliğinin Belirlenmesi, Bazı Hematolojik ve Klinik Bulguların Değerlendirilmesi
H. Seçkin ÇETİN, Oğuzhan EKİCİ, Faruk KÜÇÜK YILDIZ, **Bayram ŞENLİK**

P20. Sivas Yöresinden Toplanmış Sülük İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu
Canan CANER KÜLİĞ, Emrah ŞİMŞEK, Gamze YETİŞMİŞ, Zuhal ÖNDER, Arif ÇİLOĞLU, Gökmen Zafer PEKMEZCİ, Önder DÜZLÜ, Alparslan YILDIRIM, Abdullah İNCİ

P21. Encephalitozoon intestinalis Triosephosphate İsomerase Enziminin Homoloji Modellemesi Metodu İle 3D Protein Yapısının Belirlenmesi ve Moleküler Bağlanma Analizi

Nuri ERCAN, Önder DÜZLÜ, Alparslan YILDIRIM, Abdullah İNCİ, Zuhal ÖNDER, Arif ÇİLOĞLU, Emrah ŞİMŞEK, Gamze YETİŞMİŞ

P22. *Toxoplasma Gondii* Aşı Adayı SAG1 Geninin Moleküler Karakterizasyonu, Protein Ekspresyonu ve Antijenik Yapısı

Abdüssamed AKŞİT, Emrah ERDOĞAN, Bora ÖZKAN, Serkan KARACA, Şirin Sahra CEYLAN, Fatma DOĞAN, Merve YÜRÜK, Eda SIVCAN

P23. *Leishmania infantum* Aşı Adayı Lack ve KMP-11 Genlerinin Moleküler Karakterizasyonu, Füzyon Proteinin Ekspresyonu ve Antijenik Yapısı

Serkan KARACA, Emrah ERDOĞAN, Abdüssamed AKŞİT, Merve YÜRÜK, Eda SIVCAN

P24. Erzurum Yöresinde Tilkilerde Görülen Ektoparazitler

Sali YAYA, **İbrahim BALKAYA**, Rıdvan KIRMAN, Muzaffer AKYÜZ, Sezin Beyza GÖŞKER

P25. Paraziter Enfestasyon, Myiasis: Olgu Sunumu

Tülay AKSOY, **Türkan Mutlu YAR**, Metin ATAMBAY

P26. Talasemi Majörlü Bir Hastada Tea Tree Oil'in Oküler Demodikozis Üzerine Etkisi: Olgu Sunumu

Şerife AKKÜÇÜK, Talat ÖZDEMİR, Özlem KAYA



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

P27. Atlarda Dışkı Muayenesi ile Anoplocephalidae Yumurtalarının Saptanmasında Farklı Yoğunlukta Solüsyonların Kullanılması

Veli Y. ÇIRAK, Oya GİRİŞGİN, **Ahmet Onur GİRİŞGİN**, Ender GÜLEĞEN

P28. HeLa, BeWo, Caco-2, HEK-293 ve U937 Hücre Hatlarında *Toxoplasma gondii* Kültürünün Üretimi ve Devamlılığı

Merve YÜRÜK, Eda SIVCAN, Emrah ERDOĞAN, Arzuw CHARYEVA

P29. *Leishmania tropica* ile Enfekte U937 Makrofaj Hücre Hattının Toll-Like Reseptörleri ve Yolaklarının PCR Array ile Araştırılması

Ebru UYSAL, Merve YÜRÜK, Arzuw CHARYEVA

P30. The Study Antileishmanial Activities of Green Silver Nanoparticles, on *L. tropica* Infected Macrophage Cells *in vitro*

Melahat BAĞIROVA, Sahar DİNPARVAR, Adil M. ALLAHVERDİYEV, Kübra ÜNAL, Emrah Şefik ABAMOR

P31. *Acanthamoeba* sp.'nin Neden Olduğu Bir Menejit Olgusu, Kayseri

Merve YÜRÜK, Emrah ERDOĞAN, Eda SIVCAN, Fatma Mutlu SARIGÜZEL

P32. At Serumunun *Trichomonas vaginalis* Kriyoprezervasyonuna Etkisi

Vildan TURAN FARAŞAT, İbrahim ÇAVUŞ, Ahmet ÖZBİLGİN

P33. *Hypericum scabrum* Methanol Ekstraktının Metronidazole Duyarlı ve Dirençli *Trichomonas vaginalis*'ler Üzerine Etkisi

Necati ÖZPINAR, Hülya ÖZPINAR, Nuraniye ERUYGUR

P34. Rutin Mikrobiyoloji Laboratuvarında Bulunabilecek Temel Besiyerlerinde *Leishmania tropica* Promastigotlarının Üretilmesi

Yener ÖZEL, İbrahim ÇAVUŞ, Gülhan VARDAR ÜNLÜ, Mehmet ÜNLÜ, Ahmet ÖZBİLGİN

P35. *Acanthamoeba castellanii* ve *Entamoeba histolytica*'ya Karşı Yeni Anti-Amibik Ajanlar: *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* Sekonder Metabolitleri

Evren TİLEKLİOĞLU, Şebnem GÜLŞEN, Hatice ERTABAKLAR, Harun ÇİMEN, Sema ERTUĞ, Derya ULUĞ, Duygu KAYA BİLECENOĞLU, Canan HAZIR, Helge BODE, Selçuk HAZIR

P36. Bursa Uludağ Üniversitesi Hastanesinde 2017 ve 2018 Yıllarında Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı

Oktay ALVER, Nazmiye Ülkü TÜZEMEN

P37. Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesinde 2017 ve 2018 Yıllarında *Toxoplasma gondii* Seroprevalansı

Oktay ALVER, Ayşe Melda PAYASLIOĞLU, İmran SAĞLIK

P38. Kistik Ekinokokkozis Ön Tanılı Hastalarda 2017 ve 2018 Yıllarında İndirekt Hemaglutinasyon (İHA) Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Oktay ALVER, Ayşe Melda PAYASLIOĞLU, Cüneyt ÖZAKIN



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

01 Ekim 2019, Salı

P39. Granulamatöz Hastalık ve Basal Hücreli Karsinom Tanılı Hastaların Biyopsi Örneklerinde Kutanöz Leishmaniasis Birlikteliğinin Moleküler Yöntem Kullanılarak Araştırılması
Gülnaz ÇULHA, Asena DOĞRAMACI, Sibel HAKVERDİ, İlke Evrim SEÇİNTİ, Özkan ASLANTAŞ, Ebru ÇELİK,
Tuğba KAYA

P40. Crohn Hastasında Hymenolepisis nana Enfeksiyonu ve Tanısı
Emrah ERDOĞAN, Merve YÜRÜK, Eda SIVCAN

P41. *Trypanosoma cruzi* Üzerine *Ex vivo* Çalışmalar: Pilot Çalışma
Ahmet YILDIRIM, İbrahim ÇAVUŞ, Kor YERELİ, Ahmet ÖZBİLGİN

P42. cDna Sentezinde Modifikasyon ile *Leishmania* Virüs Saptanma Hassasiyetinin Arttırılması:
Leishmania major ve *Leishmania tropica* Suşlarında Virüs Yükünün Belirlenmesi
Muhammed NALÇACI, Mehmet KARAKUŞ, Yusuf ÖZBEL, Ahmet ÖZBİLGİN, Seray TÖZ

P43. İstilacı Vektör Türlerden *Aedes albopictus* ve *Aedes aegypti*'nin Türkiye'deki Son Durumu ve Yayılım Alanları
Fatih ŞİMŞEK, Berna DEMİRCİ, Hilal BEDİR, Muhammed AKINER, Murat ÖZTÜRK, Ahmet DOĞAN, Zati VATANSEVER

P44. Türkiye'de Yayılım Gösteren *Aedes albopictus* Populasyonlarında Gözlenen İnsektisit Direnci
Berna DEMİRCİ, Hilal BEDİR, **Fatih M. ŞİMŞEK**, M. Mustafa AKINER, Murat ÖZTÜRK, Ahmet Ferhat DOĞAN, Zati VATANSEVER

P45. Türkiye'de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Scuse, 1894)'un Populasyon Genetiği
Serpil TUNA TÜRKÖZAN, **Fatih M. ŞİMŞEK**

P46. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2011-2018 Yılları Arasında Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı
Ceren ERGÜDEN GÜRBÜZ, Abdurrahman GÜLMEZ, Soykan ÖZKOÇ, Tonay İNCEBOZ, Özlem MİMAN, Ümit AKSOY, Songül BAYRAM DELİBAŞ

P47. Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Merkez Parazitoloji Laboratuvarı'na 2013-2018 Yılları Arasında Başvuran Hastaların Seroloji Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi
Ceren ERGÜDEN GÜRBÜZ, Soykan ÖZKOÇ, Songül BAYRAM DELİBAŞ

P48. Taze Dışkı Örneklerinde Direkt Bakıda Alternatif Yaklaşımlar
Koray ÖNCEL

P49. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 2017-2019 Yılları Arasında İncelenen Dışkı Örneklerinde Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı
Funda SANKUR

P50. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi'ne Gelen Hastalardan Alınan Dışkı Örneklerinde *Cryptosporidium* spp. Varlığının Mikroskopik Bakı ve ELISA ile Araştırılması
Ceren DEVECİ, **Asude Gülçe GÜLER**, Nural EROL, Nuran AYSUL



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

P51. Prevalence of *Ehrlichia* spp in Ticks Collected From Dogs in Province of Van in Turkey
Adnan AYAN, **Özlem ORUNC KILINC**, Ali Bilgin YILMAZ, Ali Riza BABAĞLU

P52. *Giardia intestinalis* Kistlerinin Saflaştırılması ve Kalıcı Preparat Hazırlanması
Sirin Sahra CEYLAN, Tülay AKSOY, Nogay GİRİNKARDEŞLER, Ahmet ÖZBİLGİN

P53. Farklı Oranlarda Deniz Suyu İçeren Ortamların *Culex pipiens* ve *Aedes aegypti* Sivrisinek Larvaları Üzerindeki Etkisi
Ayşegül CENGİZ, Burak POLAT, Mehmet ÇİVRİL, Hüseyin ÇETİN

P54. Presence of *Toxocara* spp. and Other Zoonotic Parasites Ova in Children's Playground in Karaman, Turkey
Mehmet Fatih AYDIN

P55. İnsanlarda Kene ile Bulaşan Hastalık Etkenleri ve Türkiye'deki Mevcut Durumu
Mehmet Fatih AYDIN, Ayşe COŞKUN

P56. Ev Tozu Akarlarının Saptanmasında Kullanılan Yöntemlerin Etkinliklerinin Araştırılması
Cihangir AKDEMİR, Nejla CEBECİ GÜLER, Emel UZUNOĞLU KARAGÖZ, Şahin DİREKEL, Ülkü KARAMAN

P57. Alerjik Rinit ve Bronşiyal Astımlı Hastalarda Ev Tozu Akar Epidemiyolojisi (Ordu İli Örneği)
Ülkü KARAMAN, Mukadder KORKMAZ, Hakan KORKMAZ, Yasemin KAYA, **Cihangir AKDEMİR**, Gamze KAÇMAZ⁵, Şermin TOP, Merve BİNGÖL

P58. *Leishmania tropica* İzolatlarında Farklı Kriyoprezervasyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması
Nami Ege PERK, İbrahim ÇAVUŞ, Ahmet ÖZBİLGİN

P59. *Leishmania tropica* Promastigot ve Amastigotlarının Farklı Sıcaklıklardaki Yaşam Süreleri
Cankut KARABULUT, İbrahim ÇAVUŞ, Ahmet ÖZBİLGİN

P60. Hamam Böceklerinin Doğal Düşmanları; Parazitoitler
Emre ÖZ, Hüseyin ÇETİN, Atila YANIKOĞLU

P61. Antalya, Kayseri ve KKTC'nin Leishmaniasisin Endemik Olduğu Bazı Alanlarında Kum Sineği (Diptera: Psychodidae), Faunasının Belirlenmesi
Kardelen YETİŞMİŞ, Suha K. ARSERİM, Hüseyin ÇETİN, Zeph Nelson OMONDİ, Yusuf ÖZBEL

P62. Prevalance and Molecular Characterization of *Giardia duodenalis* in Livestock in Van, Turkey
Adnan AYAN, Deniz ALIC URAL, Hasan ERDOĞAN, Özlem ORUNÇ KILINÇ, Mehmet GULTEKİN, Kerem URAL

P63. Examination of Some Endoparasites Prevalence in Romanov Sheep Imported from Ukraine
Adnan AYAN, Turan YAMAN, Ömer Faruk KELEŞ, Hidayet TUTUN

P64. Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na *Echinococcus* IHA İçin Başvuran Hastaların Retrospektif Olarak İncelenmesi
Ahmet ÖZKEKLİKÇİ, Fatma AVCIOĞLU, Osman Sezer CİRİT, Yelda DEMİR

P65. Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi 3 Yıllık Gaita İnceleme Sonuçları ve Analizi
Ahmet ÖZKEKLİKÇİ, Osman Sezer CİRİT, Fatma AVCIOĞLU, Yelda DEMİR



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

- P66.** Türkiye Orjinli *Toxoplasma gondii* ve Toksoplazmosis Araştırmalarındaki Tematik Değişim: Bibliyometrik Değerlendirme
Özlem MİMAN, Burcu AĞACIKOĞULLARI, Ceren ERGÜDEN
- P67.** Depresyon Veya Bipolar Bozukluğu Bulunan Hastalarda *Toxoplasma gondii* Seropozitifliğinin Araştırılması
Özlem AYCAN KAYA, **Gülşay ARAL AKARSU**, Oktay ALVER, Mehmet KOKAÇYA, Şerife AKKÜÇÜK
- P68.** Ülkemizde *Rhipicephalus* Cinsi Keneler Üzerinde Yapılacak Direnç Testlerinde Kullanılacak Bazı Akarisitler İçin Diskriminant Doz Belirleme Çalışmaları
Samed KOÇ, Levent AYDIN, Hüseyin ÇETİN
- P69.** İzmir Yöresinde *Culicoides* Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu ve *Haemosporidia* Enfeksiyonları Yönünden Vektörlük Potansiyellerinin Araştırılması
Hakan YEŞİLÖZ, Alparslan YILDIRIM
- P70.** Afyonkarahisar İlinde Bir Muhabbet Kuşu Sürüsünde Koksidiyosis Olgusu
Hatice ÇİÇEK, Ahmet GÖKSU, Mahmut Sinan EREZ
- P71.** Kuzey Kıbrıs Bitkilerinden Elde Edilen Uçucu Yağlarda *Plasmodium berghei*'ye karşı *in vivo* Antimalaryal Etkinlik Araştırılması: Pilot çalışma
Emrah GÜLER, Ahmet ÖZBİLGİN, Eda BECER, Azmi HANOĞLU, Tamer ŞANLIDAĞ
- P72.** Kendiliğinden İyileşen ve İyileşmeyen Kutanöz Leishmaniasis Fare Modelinde Gen Ekspresyonlarının Tanımlanması
Ayşe CANER
- P73.** Bir Köpekte *Dirofilaria immitis* Olgusu
Aycan Nuriye GAZYAĞCI, Zeynep PEKCAN, Esin GÜVEN, Alkan KUŞÇU
- P74.** Biosafety and Biosecurity Education and Practice in Reducing Biorisks; Role of a Training Laboratory
Ayşen GARGILI KELEŞ
- P75.** *Pneumocystis jirovecii* Laboratuvar Tanısında Real-time PCR, Konvansiyonel PCR ve Mikroskopik Yöntemlerin Değerlendirilmesi
Soykan ÖZKOÇ, Ceren ERGÜDEN, Songül DELİBAŞ
- P76.** Biyosensörük Sistemler ve Kutanöz Leishmaniasisin Tanısında Kullanımı
Tuğçe ATICI, Seray TÖZ, Ebru GÜRSOY, Kevser KUŞAT OL, Yusuf ÖZBEL, Sinan AKGÖL
- P77.** Development a Rapid Diagnostic Test to Detect *Cryptosporidium* RNA Isolated from Stool Samples
Aygül SADIQOVA, Arthur WHITE, Ayşe CANER, Alejandro CASTELLANOS-GONZALEZ
- P78.** Nucleoside-diphosphate kinase (NDK) a new target for drug development against *Cryptosporidium*
Aygül SADIQOVA, Griselle TRAVERSO, Arthur WHITE, Alejandro CASTELLANOS-GONZALEZ



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KONFERANSLAR



Türkiye Zoonotik Hastalıklar Eylem Planı

Seher TOPLUOĞLU, Hüseyin İLTER, Fatih KARA, Emine ALP MEŞE

T.C. Sağlık Bakanlığı, ANKARA

E-posta: seher.topluoglu@yahoo.com

Zoonotik hastalıklar gerek sayılarının çokluğu ve gerekse yayılma alanlarının genişliği bakımından dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. İlave olarak küresel ısınma, çevresel ve ekolojik değişiklikler, insan ve hayvan hareketlerinde artış gibi faktörler nedeniyle zoonozların insan ve hayvan sağlığında önemini korumaya devam edeceği ve yeni zoonotik patojenlerin ortaya çıkma potansiyeli olduğu yaygın olarak kabul gören bir anlayıştır.

Ülkelerin hem mevcut hastalıkların kontrolünü sağlamak ve hem de olası hastalık risklerinin önüne geçmek amacıyla; coğrafi konumları, toplumsal özellikleri ve ekonomik gelişmişlik düzeylerine göre zoonotik hastalıklara yönelik korunma ve kontrol stratejilerini geliştirmeleri son derece önemlidir. Bu bağlamda Bakanlığımız “Tek Sağlık” yaklaşımı doğrultusunda, Tarım ve Orman Bakanlığı ile beraber, multidisipliner bir çalışmayı hedefleyen “Türkiye Zoonotik Hastalıklar Milli Komitesi Protokolü”nü hazırlamıştır. Söz konusu protokol ile Türkiye Zoonotik Hastalıklar Milli Komitesi yeniden yapılandırılmıştır. İnsan ve hayvan sağlığı açısından önemli olan zoonotik hastalıklarla mücadele, korunma ve kontrol önlemlerinin alınabilmesi için etkin iş birliğinin sağlanabilmesi, çalışma şartları, plan, proje ve prensipleri belirlenmiştir.

Türkiye Zoonotik Hastalıklar Milli Komitesi öncülüğünde, konusunda uzman akademisyenler ile ilgili tüm kurum ve kuruluşların uzman temsilcilerinden oluşan Zoonotik Hastalıklar Alt Kurulları oluşturulmuş ve bu kurullar vasıtasıyla “Türkiye Zoonotik Hastalıklar Eylem Planı, 2019-2023” hazırlanmıştır. Türkiye Zoonotik Hastalıklar Eylem Planı; “Tek Sağlık” yaklaşımı çerçevesinde sektörlerin güçlerinin birleştirilmesini ve bütünsel bir yaklaşım ile Türkiye’de zoonotik hastalıkların yaygınlığını azaltarak toplumun yaşam kalitesini artırmayı hedeflemektedir.

Türkiye Zoonotik Hastalıklar Eylem Planında, ülkemiz için halk sağlığı sorunu olan zoonotik hastalıklar ile yakın zamanda tehdit olabilecek zoonozlar için eylem planları yer almaktadır. Eylem Planının hedeflerinden biri zoonotik hastalıklar ile ilgili risk analizi yapmak, tehditleri önceden belirlemektir. Bu nedenle Eylem Planı, yeni ortaya çıkabilecek veya mevcut hastalıkların halk sağlığı tehdidi oluşturma boyutuna gelmeden önlenmesi ve kontrolüne yönelik aktivitelerin ilave edilebileceği dinamik bir yapıya sahiptir.

Zoonotik hastalıklarla mücadele amacı ile oluşturulmuş olan Türkiye Zoonotik Hastalıklar Eylem Planı, ulusal bir plandır. Bu planın başta Bakanlığımız ile Tarım ve Orman Bakanlığı olmak üzere akademisyenler, kamu ve özel kuruluşlar ile tüm bireyler üzerine düşen görevleri yerine getirdiğinde başarılı olacağı ve ülkemizde zoonotik hastalıklarla mücadeleye büyük katkı sağlayacağı düşünülmektedir.



Parazitler ve Psikiyatrik Hastalıklar Arasındaki İlişki: *Toxoplasma gondii* Örneği

Özer AKGÜL

İstanbul Aydın Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İSTANBUL

E-posta: akgulozer@hotmail.com

TAM METİN

ÖZET

Global olarak sinir sisteminde önemli komplikasyonlara neden olan infeksiyonlar, viral, bakteriyel, fungal ve parazitler ajanları içermektedir. İnfeksiyonların neden olduğu nörolojik, bilişsel, davranışsal veya zihinsel sağlık sorunları, düşük ve orta gelirli ülkelerde milyonlarca çocuk ve yetişkini etkilemektedir. Bununla birlikte, bu ajanların sinir sisteminde oluşturabildiği hasarın patogenezi hakkındaki bilgiler sınırlıdır (John & ark., 2015). Psikiyatrik hastalık ve latent infeksiyon bağlamında en çok araştırılan etken *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) isimli parazittir. Uzun bir süredir, bağışıklık sistemi normal olan bireylerde beyin ve diğer dokularda *T. gondii* latent formlarının bulunması zararsız olarak kabul edilmektedir. Ancak, son 10 yıl içerisinde yapılan birçok araştırma, dünya çapında yaklaşık %30'luk bir sıklığı olan bu parazitin, trafik/iş kazası ve intihar oranındaki etkilerinden dolayı yüz binlerce ölümden dolayı olarak sorumlu olabileceğini göstermiştir (1). Ayrıca, latent *T. gondii* infeksiyonunu, şizofreni için en önemli risk faktörlerinden biri olarak konumlandıran birçok çalışma bulunmaktadır. Bu bilgiler ışığında, *T. gondii* ve psikiyatrik hastalıklar arasındaki olası ilişki, beyindeki nörotransmitterler ve parazitin yaşam evrimindeki biyolojik formlarını da kapsayacak şekilde tartışılmıştır.

Toxoplasma gondii

Zorunlu hücre içi yaşayan bir protozoon olan *Toxoplasma gondii*, insanları ve diğer memelileri infekte edebilen ve dünyada yaygın olarak görülen bir parazittir (2). Yaşam evriminde kedigillerin kesin konak, diğer memelilerin ise ara konak olduğu bu parazitin bulaş yolları toplumlarda sosyoekonomik durum, hijyen ve sağlık hizmetlerine erişim gibi faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Seropozitiflik oranları farklı olsa da dünya nüfusunun üçte birinin *T. gondii* ile infekte olduğu düşünülmektedir (3). Amerika Birleşik Devletleri'nde seropozitiflik oranının %30 – %40 arasında değişkenlik gösterdiği, infekte bireylerin genelinde asemptomatik tablo gözlenirken, bireylerin yaklaşık %20'sinde ise semptomatik klinik görüldüğü bildirilmektedir (4). Ülkemizde seropozitiflik oranlarının, 40 yaştan büyük bireylerde %60'ın üzerinde, hamilelerde %34 – %70 arasında, abort, ölü doğum veya prematüre doğum yapmış olanlarda %37 – %84 arasında değiştiği bildirilmiştir (5). İnsanlara bulaş, kedilerin dışkılarıyla etrafa yayılan ookistlerin veya infekte hayvanların et ve et ürünlerinin oral yoldan alınması ile gerçekleşmektedir. Beslenme ve hijyenik alışkanlıklar ve kedilerle temas varlığına bağlı olarak toplumlarda infeksiyon oranı %90'lara ulaşabilmektedir (6). İnkübasyon dönemini takiben önce akut infeksiyon sonrasında latent dönem görülmektedir (7). Konjenital bulaş haricindeki *T. gondii* infeksiyonları, genelde asemptomatik gidişat göstermektedir. Ancak, latent *T. gondii* infeksiyonlarının merkezi sinir sistemi (MSS) hücrelerine spesifik olarak yerleşim göstermesinin, bu parazitin latent dönemde klasik infeksiyon bulguları oluşturmadan hücresel ve/veya salgısal sorunlar yaratmasına olanak tanıyan en önemli yeteneği olarak düşünülmektedir (8). Konu ile ilgili olarak yapılan hayvan



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

deneyi çalışmalarında, latent infeksiyonların rodentlerde davranış değişikliği oluşturduğu bildirilmektedir (9). MSS'ye nörotropizm gösteren *T. gondii* seropozitifliğinin dezorganizasyon, anksiyete, depresyon ve bipolar bozukluk gibi duygulanım bozuklukları ve hatta şizofreni gibi psikozlarda %60 ve üzeri oranlarda görüldüğü bildirilmektedir. İnsanlarda yapılan çalışmalar, bu parazitin latent infeksiyonunun kişilik değişikliklerine ve intelligence quotient (IQ) düşmesine neden olduğunu ortaya koymuştur (10). *T. gondii* ve Nöropsikiyatri Latent dönemde merkezi sinir sistem elemanlarına yerleşim gösteren *T. gondii* özellikle serebral hemisfer, serebellum ve beyin sapı anatomik bölgelere güçlü bir nörotropizm göstermektedir. Parazitin sinir sistemi üzerine gösterdiği nörotropizmi anlamaya yönelik olarak yapılan in-vitro temeldeki bir araştırmada, *T. gondii*'nin nöronlar, glial hücreler ve özellikle astrositler üzerine selektif bir afinitesi olduğu belirtilmiştir. Sadece şizofreni tanısı alan hastaların dahil edildiği post-mortem bir araştırmada yazarlar, glial anomali ve astrosit sayısında azalma rapor etmişlerdir (11). Özellikle immün yetmezliği olan hastalarda, parazitin latent infeksiyonunun akut nekrotizan ensefalit ve glial nodül oluşumu ile ilişkili olarak ağır komplikasyonlara neden olduğu bilinmektedir (12). Sinir sisteminde doku tropizmi gösteren *T. gondii*, bu etkinin yanında nörotransmitter yollarda dopamin, norepinefrin ve diğer nörotransmitterlerin sentezini etkileyerek değişiklikler yapabilmektedir (13). Bilindiği üzere, şizofreni gibi psikotik hastalıklarda dopamin, glutamat ve gamma – aminobutirik asid (GABA) gibi nörotransmitterler anormal düzeylerde saptanmaktadır (12). Günümüzde *T. gondii* infeksiyonu ve dopamin artışı arasındaki ilişkinin mekanizması tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte konu ile ilgili yapılan bir çalışmada, inflamasyon nedeniyle interlökin – 2 salındığı ve buna yanıt olarak dopamin artışının oluşabileceği yazarlar tarafından belirtilmiştir (14). *In vitro* çalışmalarda dopaminin parazitin hızla çoğalabilen takizoit formlarında artışa neden olduğu ve dopamin antagonistlerinin takizoit sayısında herhangi bir değişiklik oluşturmadığı bildirilmiştir (15). Ayrıca, latent *T. gondii* infeksiyonu sırasında astrositlerde görülen hiperaktivasyon sonucunda beyinde kinurenik asit üretim/salınımı artmakta ve bu artış sonucunda glutamin ve nikotin nörotransmitter reseptörlerinde inhibisyon oluşmaktadır. Bu inhibisyonun da şizofrenideki kognitif semptomlara neden olduğu düşünülmektedir (16). Deney hayvanlarında yapılan bir araştırma sonucunda, latent *T. gondii* infeksiyonunun ketakolamin metabolizmasını bozduğu ve bunun sonucu olarak ise deney grubundaki hayvanlarda psikolojik ve/veya motor değişikliklerin gözlemlendiği düşünülmüştür (12). Davranış ve kişilik gibi temel kavramlardaki farklılaşmanın bireylerin nörotransmitter seviyelerindeki değişim ile ilişkili olduğunu bildiren birçok çalışma bulunmaktadır (16). Zorunlu hücre içi parazit olan *T. gondii* infeksiyonunun davranış farklılığı ve şizofreni oluşumuna katkı sağlamak gibi özelliklerinin olabileceği deney hayvanlarında yapılan araştırmalarda gösterilmiştir (17). Fareler ile yapılan bir çalışmada, *T. gondii* ile infekte ve deneysel olarak şizofreni oluşturulmuş olan iki grupta öğrenme ve bellek yeteneklerinin kontrol grubuna kıyasla benzer düzeyde bozulmuş olduğu belirtilmiştir (14). Psikomotor yetenekler değerlendirildiği latent *T. gondii* infeksiyonu olan/olmayan askeri personel ile yapılan bir araştırmada, latent infeksiyon yönünden pozitif olan grupta psikomotor performansın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük olduğu belirlenmiştir (18). *T. gondii* infeksiyonlarının özellikle latent döneminin, serotonin ve melatonin gibi nörotransmitterlerin öncülü ve vücut için esansiyel bir aminoasit olan triptofan metabolizmasını da etkilediği bilinmektedir. Parazitin sayısal artışında ve böylelikle infeksiyon oluşturmasında primer düzeyde önemli olan takizoit formları replikasyon için triptofan aminoasidine ihtiyaç duymaktadır (19). Hızla gelişen moleküler teknikler, parazitin patogenezi genom düzeyinde incelenme olanağı sağlamış ve *T. gondii* genomunda beyindeki dopamin sentezinde inhibisyon oluşturabilen iki gen bölgesinin var olduğunu belirlemiştir. Bu iki gen bölgesinin keşfi ve oluşturdukları ürünlerin anlaşılması sonucunda, parazit ile oluşan latent infeksiyonun insanlardaki dopamin ve serotonin sentezi üzerine etkileri olduğu ve bunun da infekte kişilerde davranış değişikliğine neden olabileceği kanısına varılmıştır (12). *T. gondii*'nin yaşam evrimindeki farklı formlarının beyindeki nörotransmitterler üzerine gösterdikleri etkilerin yanı sıra, immün sistem



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

açısından da tetikleyici görevlerde olduğunu bildiren araştırmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda, parazitin oluşturduğu latent infeksiyonun lokasyon olarak beyinde oluşması nedeniyle bu bölgedeki immün sistem mediyatörlerinin üretimini arttıran bir rol oynadığı düşünülmektedir. Serebrumda lokalize olmuş olan immün sistemin hümorale ve hücresele elemanları bölgedeki inflamasyon tablosundan etkilenabilmektedir. Özellikle sitokinler ile ilişkili olduğu bilinen nörolojik inflamasyon tablosunun neden olduğu nöronal dejenerasyonun, kronik nörodejeneratif hastalıklar için predispozan bir faktör olduğu ve/veya patogeneizde rol oynadığı bildirilmektedir. Parazitin yaşam evriminde latent infeksiyonu takiben bradizoitler görülmektedir. Hızla replike olabilen ve infektivitesi daha yüksek olan takizoitler ile kıyaslandığında bradizoitlerin, insanlarda görülen sitokin ilişkili nöroinflamasyon tablosuna daha düşük düzeyde neden olduğu bildirilmektedir. Ancak, bradizoitlerdeki kistik yapının rüptüre olması sonucunda serebrum içinde takizoitler hızla çoğalmaktadır. Yapılan çalışmalarda, bu durumun şizofreni başta olmak üzere parazit ile ilişkili olduğu düşünülen/bilinen birçok nöropsikiyatrik hastalık ile ilişkili olabileceği vurgulanmış ve yazarlar daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu bildirmişlerdir (19, 20). Güncel literatür verileri incelendiğinde, *T. gondii* ve psikiyatrik hastalık ilişkisine dair çalışmaların genellikle serolojik temelli olduğu belirlenmiştir. Parazitin tespit yönteminin benzer olduğu birçok çalışma olmakla birlikte, bu çalışmalarda araştırılan psikiyatrik hasta grubu çeşitlilik göstermektedir. *T. gondii* ile bağlantının arandığı psikiyatrik hastalıkların özellikle şizofreni, bipolar bozukluk ve majör depresyon olduğu belirlenmiş ve bu hastalıklardan bağımlı veya bağımsız olarak son yıllarda parazitin intihar ile olabilecek potansiyel ilişkisi de değerlendirilmeye başlanmıştır. Şizofreni ve *T. gondii* Şizofreni, algı, duygu, biliş, düşünme ve davranış alanlarını içeren, çeşitli psikiyatrik bulgularla seyreden ve yıkıcı psikopatolojik sonuçları olan psikiyatrik sendromdur. Şizofrenide seyir kroniktir ve zaman içinde değişim görülebilmektedir (21). Şizofreninin epidemiyolojik verilerinin incelendiği çalışmalarda yaşam boyu yaygınlığının toplumlarda görülme oranının %1 civarında olduğu bildirilmektedir. Ancak, güncel çalışmalarda şizofreni prevalansının toplumsal özelliklere bağlı olarak genel orana kıyasla daha geniş bir aralıkta dağılım gösterdiği belirtilmiştir (22). Genel olarak kabul gören yaşam boyu şizofreni olma riski ise %0,7 olarak bulunmuştur (23). Tanımlandığı günden bugüne yapılan çalışmalarda şizofreninin oluş nedenleri kesin olarak anlaşılammış, bu nedenle günümüzde şizofreni etiyojisi psikososyal ve organik olmak üzere iki temel grupta toplanarak incelenmektedir (24). Şizofreni ve benzeri psikotik hastalıklarda genetik faktörlerin etkili olduğu ve hastaların biyolojik akrabalarındaki insidansın daha yüksek olduğu bilinmektedir. Günümüzde şizofrenik yatkınlığa neden olduğuna inanılan en güncel genetik elemanların; a-1 nikotik reseptör, DISC 1, GRM 3, COMT, NRG 1, RGS4 ve G72 olduğu düşünülmektedir (21). Birinci derece akrabalar arasında var olan şizofreni tanısının hastalık riskini normal nüfusa göre 7 – 10 kat arttırdığı bilinmektedir (24). Yapılan araştırmalarda tek başına genetik faktörlerin şizofreni etiyojisini açıklamada yetersiz kaldığı anlaşılmış bunun üzerine çevresel etkenlerin şizofrenideki rolleri araştırılmaya başlanmıştır (21). Belirlenen çevresel etkenler arasında; obstetrik komplikasyonlar, çocukluk travmaları, cinsel istismar, ebeveynlerden erken dönemde ayrılma, kentte yaşama ve madde bağımlılığı gibi faktörler sayılmakta, özellikle son yıllarda *T. gondii* gibi mikroorganizmaların şizofreni etiyojisindeki rolleri araştırılmaktadır. Hayvan deneyleri çalışmalarında, benzer yaş grubundaki latent *T. gondii* infeksiyonu olan sıçanlar ile steril olanlar karşılaştırılmış ve infekte olanlarda majör davranış bozukluklarının yanında bellek ve kognitif fonksiyonlarda regresyon gözlenmiştir. Yazarlar bu değişikliklerin nedenlerini araştırmış ve parazitin kompleks olan yaşam evrimindeki formların reaktivasyon sırası/sonrasında sıçanlarda serotonin gibi nörotransmitterlerin salınımını etkilediğini bildirmişlerdir. Latent infeksiyonu olan tüm deneklerde benzer sonuçlar bulunsada sonuçların nöropsikiyatrik açıdan farklı olmasının olası nedeni olarak yazarlar, parazitin genomundaki farklılığa işaret etmişlerdir (25, 26, 27). Günümüzde, şizofreni ve *T. gondii* ilişkisinin araştırıldığı ve seroprevalans temelinde yürütülmüş birçok çalışma bulunmaktadır. Bu onlarca çalışma ışığında 2012 yılında yayınlanmış bir derlemede, şizofreni tanısı almış hastalardaki *T.*



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

gondii IgG sıklığının OR 2,73 (%95 güven aralığında; 2,21 – 3,38) olduğu belirtilmiştir (28). Bipolar Bozukluk ve *T. gondii* Bireyin uyarılara, olaylara, düşüncelere, anılara gösterdiği duygusal tepki duygulanım; belli bir süre ve değişik derecelerde rahat, neşeli, öfkeli, taşkın, çökkün, tedirgin, üzüntülü bir duygulanım içinde olması ise duygudurum olarak tanımlanmaktadır (24). Bipolar bozukluk, belli bir düzen olmaksızın yineleyen depresif, manik ya da ikisini de kapsayan karma ataklarla giden, ataklar sırasında fonksiyon kayıplarına neden olan, ataklar arasında ise bireyin ötimik olduğu, kronik seyirli bir psikiyatrik hastalıktır (29). Bipolar bozukluğun yaşam boyu yaygınlığı %0,7 – 1,6 (ortalama %1,2) arasında değişkenlik göstermektedir. Spektrum olarak ele alındığında ise bu yaşam boyu yaygınlık oranının %5'in üzerinde olduğu bilinmektedir (30). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, bipolar bozukluk yeti yitimi yapan tüm tıbbi hastalıklar arasında sıklık açısından altıncı sırada yer almaktadır (21). Psikotik bir bozukluk olan şizofreni ile benzer olarak, bipolar bozukluğun etiyojisi ile ilgili yapılmış çok sayıda araştırma olmasına rağmen konu net olarak aydınlatılamamıştır. Bipolar bozukluk etiyojisinde rolü olduğu bilinen faktörler; biyolojik etkenler (genetik faktörler, nörotransmitterler, iyon sistemleri ve nöroendokrin düzenleme), nöroanatomik etkenler (subkortikal bozulma, prefrontal kortekste bozulma, artmış amigdala hacmi) ve psikososyal etkenler (duyarlılaşma modeli ve stres) olarak üç grup altında toplanmıştır. Duygudurum bozukluklarına yatkınlığın mekanizması henüz anlaşılammış olsa da hastalığın genetik olarak bireyler arası geçiş gösterdiği düşünülmekte ve genetik geçiş olasılığının bipolar bozuklukta en yüksek oranlarda oluşabileceği bilinmektedir. Ebeveynlerden sadece birinin bipolar bozukluk tanısı almış olması durumunda çocukta bipolar bozukluk gelişme olasılığı %25, ikisinde de bipolar bozukluk tanısı olması durumunda ise oran %50 – 75 arasında değişmektedir (21). 2011 yılında yapılan bir çalışmada, bipolar bozukluk tanısı alan olgular ve psikiyatrik tanı almamış/psikiyatrik ilaç kullanmamış sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edilmiş ve olgular *T. gondii* IgG durumları açısından karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Yazarlar, *T. gondii* seropozitifliğini bipolar bozukluk tanısı alan hastalarda anlamlı düzeyde daha yüksek olarak bildirmişlerdir (31). Yapılan literatür araştırmasında, en sık görülen duygudurum bozukluğu olan bipolar bozukluk ve *T. gondii* arasındaki olası korelasyonu gösterir nitelikteki çalışma sayısının oldukça kısıtlı olduğu anlaşılmaktadır. 2018 yılında Ülkemizde yapılan bir çalışmada yazarlar, bipolar bozukluk ile *T. gondii* arasındaki ilişkinin kurulmasında parazitin DNA'sının direkt tespitine dayalı çalışmaların daha değerli sonuçlar vereceğini bildirmişlerdir (32). Majör Depresyon ve *T. gondii* Majör depresyon, toplumun her kesiminde sık gözlenen, kronik ve yineleyici seyir gösterebilen ve yeti yitimine neden olan önemli bir psikiyatrik hastalık olmakla birlikte yaygınlığı nedeniyle bir halk sağlığı sorunudur. Epidemiyolojik çalışmalarda bildirilen oranlar değişmekle birlikte ortak görüş sıklık ve yaygınlığın yüksek olduğu yönündedir (33). Majör depresyon psikiyatrik sorunlar içinde yaşam boyu yaygınlığı en yüksek olan bozukluktur. Yaşam boyu yaygınlık oranları ülkeler arasında %2,2 – %10,4 arasında değişmektedir (34). Ülkemizde son 1 yılda depresif nöbet tanısı alma oranı %4 olarak bildirilmiştir. Dünyada yaygın kullanılan tanı kılavuzlarından Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı – 5 (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – 5, DSM – 5)'te majör depresyon tanısı için ölçütleri belirlemiştir. Bunlar; 1. Çökkün duygudurum, 2. Etkinliklere karşı ilgide belirgin azalma ya da zevk almama durumu, 3. Kilo verme ya da alma, iştahta azalma ya da artma, 4. Uykusuzluk çekme ya da aşırı uyuma, 5. Psikomotor ajitasyon ya da retardasyon, 6. Enerji düşüklüğü, 7. Değersizlik ya da suçluluk düşünceleri, 8. Odaklanmakta güçlük, kararsızlık, 9. Tekrarlayıcı ölüm ve özkıyım düşünceleri, özkıyım planı ya da girişimi olarak sıralanmıştır. Bireylere majör depresyon tanısının konulabilmesi için; iki haftalık dönem boyunca, belirtilerden beşi (ya da daha çoğu) bulunmalı ve önceki işlevsellik düzeyinde bir değişiklik olmalı ve bu belirtilerden en az biri ya çökkün duygudurum ya da ilgisini yitirme ya da zevk almama olmalıdır (29). Benzer psikiyatrik bozuklukta olduğu gibi depresyonun olası organik nedenlerini anlamaya yönelik araştırmaların sayıları son yıllarda artış göstermektedir. Diğer birçok psikiyatrik/nörolojik bozukluk ile ilişkilendirilmeye çalışılan *T. gondii* ve majör depresyona ilişkin araştırma sayısı oldukça kısıtlıdır. 2014 yılında 1843 majör depresyon tanısı



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

almış bireyle yapılan çalışmada, *T. gondii* ve majör depresyon arasında bir ilişki bulunamamıştır (35). 2015 yılında yapılan bir çalışmada yazarlar, *T. gondii* seropozitivitesi ve majör depresyon arasında bir bağlantı olduğunu bildirmişler ve *T. gondii* seropozitif olan olguların %25,64'ünün majör depresyon tanılı olduğu buna karşın kontrol grubundaki seropozitiflik oranının %14,55 olduğunu bildirmişlerdir (11). Konu ile ilgili olarak yayınlanmış ilginç bir vaka sunumunda, 32 yaşında ve 7 ay önce majör depresyon tedavisi almış ancak tedaviye dirençli bir hastanın, *T. gondii* tedavisi uygun antiparaziter ajanlar ile yapıldıktan sonra depresif bulgularının gerilediği bildirilmiştir (36).

KAYNAKLAR

1. Kocazeybek, B., Oner, Y. A., Turksoy, R., Babur, C., Cakan, H., Sahip, N., ... Torun, M. M. (2009). Higher prevalence of toxoplasmosis in victims of traffic accidents suggest increased risk of traffic accident in Toxoplasma-infected inhabitants of Istanbul and its suburbs. *Forensic Science International*, 187(1-3), 103-108. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2009.03.007>
2. Kijlstra, A., & Jongert, E. (2009). Toxoplasma-safe meat: close to reality? *Trends in Parasitology*, 25(1), 18-22. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2008.09.008>
3. Maksimov, P., Zerweck, J., Dubey, J. P., Pantchev, N., Frey, C. F., Maksimov, A., ... Schares, G. (2013). Serotyping of *Toxoplasma gondii* in cats (*Felis domesticus*) reveals predominance of type II infections in Germany. *PloS one*, 8(11), e80213. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080213>
4. World Health Organization. (2012). Research priorities for zoonoses and marginalized infections. World Health Organization technical report series.
5. Duran, B. (2008). Sağlıklı gebelerde toksoplazma seropozitifliği, IgG avidite değerlerinin incelenmesi ve seropozitifliğe etki eden çeşitli risk faktörlerinin araştırılması. T.C. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi.
6. Garcia, L. S. (Ed.). (2007). *Diagnostic Medical Parasitology*, Fifth Edition. American Society of Microbiology. <https://doi.org/10.1128/9781555816018>
7. Mousavi, M., Saravani, R., Jafari Modrek, M., Shahrakipour, M., & Sekandarpour, S. (2016). Detection of *Toxoplasma gondii* in Diabetic Patients Using the Nested PCR Assay via RE and B1 Genes. *Jundishapur journal of microbiology*, 9(2), e29493. <https://doi.org/10.5812/jjm.29493>
8. Flegr, J. (2007). Effects of toxoplasma on human behavior. *Schizophrenia bulletin*, 33(3), 757-760. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbl074>
9. Freytag, H. W., & Haas, H. (1979). Psychiatric aspects of acquired toxoplasmosis. A case report. *Der Nervenarzt*, 50(2), 128-131.
10. Thompson, R. C. A. (2013). Parasite zoonoses and wildlife: One health, spillover and human activity. *International Journal for Parasitology*, 43(12-13), 1079-1088. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.06.007>
11. Al-Hussainy, N. H., Al-Saedi, A. M., Al-Lehaibi, J. H., Al-Lehaibi, Y. A., Al-Sehli, Y. M., & Afifi, M. A. (2015). Serological evidences link toxoplasmosis with schizophrenia and major depression disorder. *Journal of microscopy and ultrastructure*, 3(3), 148-153. <https://doi.org/10.1016/j.jmau.2015.03.006>
12. Yolken, R. H., Dickerson, F. B., & Fuller Torrey, E. (2009). *Toxoplasma* and schizophrenia. *Parasite Immunology*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2009.01131.x>
13. Flegr, J. (2013). Influence of latent *Toxoplasma* infection on human personality, physiology and morphology: pros and cons of the *Toxoplasma*-human model in studying the manipulation hypothesis. *The Journal of Experimental Biology*, 216, 127-133. <https://doi.org/10.1242/jeb.073635>
14. Wang, T., Tang, Z. hao, Li, J. fu, Li, X. nuan, Wang, X., & Zhao, Z. jun. (2013). A potential association between *Toxoplasma gondii* infection and schizophrenia in mouse models. *Experimental Parasitology*, 135(3), 497-502. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.08.012>
15. Strobl, J. S., Goodwin, D. G., Rzigalinski, B. A., & Lindsay, D. S. (2012). Dopamine Stimulates Propagation of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites in Human Fibroblast and Primary Neonatal Rat Astrocyte Cell Cultures. *Journal of Parasitology*, 98(6), 1296-1299. <https://doi.org/10.1645/GE2760.1>
16. Arias, I., Sorlozano, A., Villegas, E., Luna, J. de D., McKenney, K., Cervilla, J., ... Gutierrez, J. (2012). Infectious agents associated with schizophrenia: A meta-analysis. *Schizophrenia Research*, 136(1-3), 128-136. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2011.10.026>
17. Tamer, G. S., Dundar, D., Yalug, I., Caliskan, S., Yazar, S., & Aker, A. (2008). The schizophrenia and *Toxoplasma gondii* connection: Infectious, immune or both? *Advances in Therapy*, 25(7), 703-709. <https://doi.org/10.1007/s12325-008-0063-5>
18. Zhu, S., Du, Y., Li, Q., & Dong, Z. (2007). High risk of psychosis may be associated with toxoplasmosis. *Life Science Journal*, 4(4), 38-41.
19. Fabiani, S., Pinto, B., & Bruschi, F. (2013). Toxoplasmosis and neuropsychiatric diseases: Can serological studies establish a clear relationship? *Neurological Sciences*. Springer Milan. <https://doi.org/10.1007/s10072-012-1197-4>
20. Jung, B. K., Pyo, K. H., Shin, K. Y., Hwang, Y. S., Lim, H., Lee, S. J., ... Shin, E. H. (2012). *Toxoplasma gondii* infection in the brain inhibits neuronal degeneration and learning and memory impairments in a murine model of alzheimer's disease. *PLoS ONE*, 7(3), e33312. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033312>



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

21. Sadock, B. J., Sadock, V. A., Ruiz, P., & Kaplan, H. I. (2009). Kaplan & Sadock's comprehensive textbook of psychiatry. Philadelphia : Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 9th Edition.
22. McGrath, J., Saha, S., Chant, D., & Welham, J. (2008). Schizophrenia: A Concise Overview of Incidence, Prevalence, and Mortality. *Epidemiologic Reviews*, 30(1), 67–76. <https://doi.org/10.1093/epirev/mxn001>
23. Saha, S., Chant, D., Welham, J., & McGrath, J. (2005). A Systematic Review of the Prevalence of Schizophrenia. *PLoS Medicine*, 2(5), e141. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0020141>
24. Öztürk O. (2016). Ruh Sağlığı ve Bozuklukları. Nobel Tıp Kitabevleri, 1, 788.
25. Leweke, F. M., Gerth, C. W., Koethe, D., Klosterkötter, J., Ruslanova, I., Krivogorsky, B., ... Yolken, R. H. (2004). Antibodies to infectious agents in individuals with recent onset schizophrenia. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 254(1), 4–8. <https://doi.org/10.1007/s00406-004-0481-6>
26. Meisenzahl, E. M., Schmitt, G. J., Scheuerecker, J., & Möller, H.-J. (2007). The role of dopamine for the pathophysiology of schizophrenia. *International Review of Psychiatry*, 19(4), 337–345. <https://doi.org/10.1080/09540260701502468>
27. Suzuki, Y., Joh, K., Kwon, O. C., Yang, Q., Conley, F. K., & Remington, J. S. (1994). MHC class I gene(s) in the D/L region but not the TNF-alpha gene determines development of toxoplasmic encephalitis in mice. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 153(10), 4649–4654.
28. Torrey, E. F., Bartko, J. J., & Yolken, R. H. (2012). *Toxoplasma gondii* and Other Risk Factors for Schizophrenia: An Update. *Schizophrenia Bulletin*, 38(3), 642–647. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbs043>
29. American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders DMS V. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 5th Edition. <https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596.744053>
30. Clemente, A. S., Diniz, B. S., Nicolato, R., Kapczinski, F. P., Soares, J. C., Fermo, J. O., & Castro-Costa, É. (2015). Bipolar disorder prevalence: a systematic review and meta-analysis of the literature. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 37(2), 155–161. <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2012-1693>
31. Tedla, Y., Shibre, T., Ali, O., Tadele, G., Woldeamanuel, Y., Asrat, D., ... Habte, A. (2011). Serum antibodies to *Toxoplasma gondii* and Herpesviridae family viruses in individuals with schizophrenia and bipolar disorder: a case-control study. *Ethiopian medical journal*, 49(3), 211–220.
32. Doğan, N., Akdaş, İ., Eşsizozğlu, A., Güleç, G. (2018). Bipolar Afektif Bozukluk ve Şizofreni Hastalarında *Toxoplasma gondii* Varlığının ve İlişkisinin Serolojik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması. *FLORA*, 23(3), 142–149. <https://doi.org/10.5578/flora.67297>
33. Kessler, R. C., & Bromet, E. J. (2013). The Epidemiology of Depression Across Cultures. *Annu Rev Public Health*, 34, 119–38. <https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-031912-114409>
34. Kessler, R. C., Birnbaum, H. G., Shahly, V., Bromet, E., Hwang, I., McLaughlin, K. A., ... Stein, D. J. (2010). Age differences in the prevalence and co-morbidity of DSM-IV major depressive episodes: Results from the WHO world mental health survey initiative. *Depression and Anxiety*, 27(4), 351–364. <https://doi.org/10.1002/da.20634>
35. Gale, S. D., Brown, B. L., Berrett, A., Erickson, L. D., & Hedges, D. W. (2014). Association between latent toxoplasmosis and major depression, generalised anxiety disorder and panic disorder in human adults. *Folia Parasitologica*, 61(4), 285–292. <https://doi.org/10.14411/fp.2014.038>



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KONFERANS 02

30 Eylül 2019 – 09:00-09:30

Parazitoloji Laboratuvarı Akreditasyonu ve Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvarı Deneyimleri

Selma USLUCA

S.B. Halk Sağlığı Genel müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı, Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvarı, ANKARA

E-posta: selmausluca@gmail.com

Amaç: Klinik laboratuvarların akreditasyonu, yüksek kaliteli hizmet sunma yeteneğinin bağımsız, ulusal ve/veya uluslararası saygınlığa sahip, bu konuda yetkinliği onaylanmış kurumlardan gelen denetçiler tarafından incelenmesi ve onaylanmasıdır. Test sonuçlarının güvenilirliğinin sağlanması laboratuvarın en önemli sorumluluklarından biridir. Bu amaçla testlerin standardize edilmesi, tekrarlanabilir olması ve kayıtlarının tutularak yapılan işlemlerin belgelenmesi gerekmektedir. Bu çalışmada Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvarı'nın akreditasyon deneyimini aktarmak amaçlanmıştır.

Yöntem: Akreditasyon süreçleri preanalitik, analitik, postanalitik süreçler ve denetimler olmak üzere gruplandırılabilir. Preanalitik süreçlerde önemli yeri olan laboratuvar yönetiminin sorumluluğu kalite yönetim sisteminin kurulması ve işletilmesi, çalışma alanının uygunluğunun sağlanması, laboratuvarında yeterli sayıda ve uygun eğitime sahip personel bulunması, çalışanlara deneyim ve sorumluluk düzeyine göre eğitim verilerek bu eğitim sonrasında çalışmalarının sağlanması, laboratuvarın mali yönetimi ve çalışma kalitesini etkileyebilecek faktörlerden bağımsız olarak uygun ve güvenilir bir ortamda çalışılarak sonuçların yorumlanmasıdır. Diğer önemli konulardan biri de teknik gerekliliklerin yerine getirilmesidir. Öncelikle tüm laboratuvar personeline nitelik, görev ve sorumluluklarını kapsayan bir iş tanımı yapılmalı, laboratuvar rahat ve verimli olarak çalışmaya uygun şekilde tasarlanmalı, çalışılan testlerin performansını göstermesi açısından kayıtlar tutulmalıdır. Laboratuvara ait Test Rehberi oluşturulmalıdır. Analitik süreçlerde analistin yetkinliğinin ispatı olarak laboratuvara yeni başlayan personele öncelikle laboratuvar güvenliği, acil durumlar ve kalite sistemi konusunda oryantasyon eğitimi verilmeli, ardından çalışacağı testlerle ilgili yetkilendirme çalışmaları yapılmalıdır. Testlerle ilgili standart çalışma prosedürleri oluşturulmalı, çalışan personelin tüm prosedürlere erişimi ve testlerin buna göre çalışması sağlanmalıdır. Testlerde kullanılan iç kalite kontroller, dış kalite kontrol programları, laboratuvarlar arası karşılaştırma çalışmaları ve validasyon çalışmalarını kapsamayan kalite kontrol çalışmaları yapılmalıdır. Postanalitik süreçlerde çalışılan testler için panik/kritik değer aralıkları, belirlemelidir. Testlerin sonuçları çalışılan testlere uygun olarak belirlenmiş bir zaman aralığında verilmeli, sonuç raporu yalnızca yetkili kişilere bildirilmelidir.

Bulgular: Laboratuvarımızın akreditasyon başvuru sürecinde öncelikle mevcut durum tespit edildikten sonra laboratuvarın fiziki alt yapı imkanları, iş yükü, personel kapasite ve donanımı gibi kriterler değerlendirilerek akredite olunacak test parametreleri belirlendi. Daha sonra tüm personele akreditasyon konusunda eğitimler verildi. Laboratuvarımızda idari oluşumumuzu gösteren genel bir organizasyon şeması hazırlandı. Daire Başkanlığı altında Kalite Yöneticisi ve Cihaz Sorumlusu belirlendi ve görev tanımları yapıldı. Kalite El Kitabı, Kalite Politikası oluşturuldu. Ayrıca her laboratuvarın Birim Kalite Sorumlusu, Birim Cihaz Sorumlusu belirlendi. Analizde kullanılan cihazların düzenli bir şekilde çalışabilmeleri, bakım ve onarımlarının yapılabilmesi için gerekli



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

düzenlemeler yapıldı. Testlerde kullanılan cihazların kullanım/bakım talimatları hazırlandı ve buna uygun olarak periyodik bakım/performans testleri/kalibrasyonları gerçekleştirildi. Laboratuvar Güvenliği Rehberi yayınlandı. Laboratuvar çalışmalarına başlamadan önce tüm personele çalışma alanıyla ilgili olarak laboratuvar güvenliği, acil durumlar ve kalite sistemi ile ilgili oryantasyon eğitimi verildikten sonra çalışacağı laboratuvarla ilgili testler ve kullanması gereken cihazlarda yetkilendirme çalışmaları gerçekleştirildi. Laboratuvarımız çalışılan testlere uygun şekilde seroloji, moleküler, entomoloji ve klinik parazitoloji bölümlerine ayrıldı. Laboratuvar ortamlarının ısı ile, buzdolabı, derin dondurucu, etüv gibi cihazlar Isı Takip Sistemi aracılığıyla düzenli olarak takip edilmekte, belirlenen limitlerin dışına çıktığı zaman sorumlu personele telefonla bilgi akışı sağlanmakta, bu durumda belirlenen yapılması gerekli faaliyetler gerçekleştirilmektedir. Her laboratuvarında kendi içerisinde evrak kayıtlarının tutulduğu ve bilgisayara kaydedildiği temiz alan ile, örneklerin işlemlendiği kirli alan ayrımı yapıldı. Örnek alımından testlerin çalışılması, raporlanması, atıkların imhasına dek tüm laboratuvar işleyişi, kullanılan cihazlarla ilgili olarak cihaz bakım ve çalışma talimatları, tüm kayıt işlemleri ISO 15189'a göre hazırlandı ve uygulandı. Kurum web sitesinde Numune Alma El Kitabı, Güncel Analiz Listesi bulunmaktadır. Satın alınan kit, kimyasal, besiyeri, sarf gibi tüm malzemelerin kaydedildiği Depo Birimi mevcuttur. Her laboratuvarın hazırladığı stok yönetimi bilgilerine LBYS üzerinden ulaşılmaktadır. Laboratuvarımızda atıkların bertarafı ile ilgili prosedür, ilgili testlerin Standart Çalışma Prosedürleri'nde belirtilmiştir. Testlerde ilgili Standart Çalışma Prosedürleri oluşturuldu. Her test parametresi için en az iki analist belirlenerek metod verifikasyon/validasyon çalışmaları yapıldı. SÇP'de belirtildiği şekilde ve sürede kalite kontrol çalışmaları yapıldı. Bu kontroller sonucunda uygunsuzluk görüldüğü durumda kök neden analizi yapılarak nedeninin saptanması, düzeltici faaliyetlerin yapılması ve sorunun çözülmesine kadar test rutin hasta istemine kapatılmakta, uygun sonuç elde edilmesi durumunda test tekrar çalışılmaya başlanmaktadır. Laboratuvarımızda uygulanan testler, eğitilmiş, deneyimli ve yetkilendirilmiş kişiler tarafından çalışıldıktan sonra, ilgili mikrobiyoloji uzmanı tarafından incelenmekte ve elektronik ortamda onaylanmaktadır. Laboratuvar raporumuz örnek alım tarihi ve saati, laboratuvara kabul zamanı, raporun onay ve basım tarihi, sonuçlar hakkında yorumları içeren, rapor üzerinde onaylayan uzmanın elektronik onayının bulunduğu şekilde verilmektedir. Yılda bir kez olmak üzere her laboratuvara, farklı laboratuvarlarda çalışan ve iç tetkik eğitimi almış olan teknik personel tarafından ISO15189 standardına göre iç tetkikler gerçekleştirildi. Bu iç tetkiklerde belirlenen eksiklikler ve öneriler doğrultusunda düzeltici faaliyetler yapıldı ve dış tetkiklere hazırlıklar bu şekilde tamamlandı. Tüm bu hazırlıklardan sonra Daire Başkanlığı Kalite Sorumlusunun önderliğinde her birimin hazırladığı dokümanlarla TÜRKAK akreditasyon başvurusu yapıldı. Daha sonra TÜRKAK tarafından, belirlenen denetçilerle ilgili laboratuvarlara akreditasyon denetimi yapıldı. Bu denetimler sonucunda denetçiler tarafından laboratuvarlarda belirlenen eksiklikler Daire Başkanlığı Kalite Sorumlusu tarafından ilgili laboratuvarlara bildirilerek belirlenen süre içerisinde bu eksikliklerin giderilmesi sağlandı. Daha sonra TÜRKAK tarafından denetleme sonucunda yeterli bulunan test parametrelerine akreditasyon verildi. İlk beş yılın sonunda yeniden akreditasyon başvurusu şeklinde denetim gerçekleştirildi.

Sonuç: Akreditasyon sistemi, laboratuvarında daha iyi bir yapı ve organizasyon modeli oluşturulmasını, hizmet kalitesinin sürekliliğini, laboratuvar güvenliği konusunda personelin bilinçlenmesini sağlar. Çalışanların eğitim ve gelişimlerini iyileştirir. Hasta sonuçlarının güvenilirliğini artırır. Çalışma prosedürlerinin standardizasyonunu sağlayarak laboratuvarlar arası kıyaslanabilir sonuçlar alınmasını, daha az hata ile daha doğru klinik kararlar alınmasını sağlar. Akreditasyonda başarıya ulaşmak için personelin eğitilmesi, motive edilmesi ve yönetimin desteği şarttır. Laboratuvarımız ülkemizde en fazla sayıda test parametresinde akreditasyona sahip laboratuvar özelliği taşımaktadır. Kalite ve akreditasyon uygulamalarının kişisel değil, kurumsal olması gerektiği bilinci özellikle alınan eğitimlerde ve denetimlerde tüm personelin iş birliği içerisinde çalışması ile pekiştirildi. 2012 yılında başlayan bu süreçte bizim için en önemli güçlük kurumsal yapı değişikliği oldu. Kurumun yapısal ve



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

yönetim değişiminden satın alma prosedürleri, dokümantasyon prosedürleri, personel değişimi gibi birçok süreç etkilendi. Laboratuvarımız hem yönetim hem de çalışan tüm personeliyle ortak bir bilinç ve çabayla çalışılan tüm testlerden akredite olma hedefini benimsemiştir.

Anahtar Kelimeler: Akreditasyon, Parazitoloji, Referans Laboratuvar

Akreditasyon nedir/ ne değildir?

Klinik laboratuvarların akreditasyonu, yüksek kaliteli hizmet sunma yeteneğinin bağımsız, ulusal ve/veya uluslararası saygınlığa sahip, bu konuda yetkinliği onaylanmış kurumlardan gelen denetçiler tarafından incelenmesi ve onaylanmasıdır. Tıbbi laboratuvarlarda kalite ve yeterliliği öneren ISO 15189 standardının amacı, tıbbi laboratuvarlarda güvenliğin, hastaların ve tedaviden doğrudan sorumlu olan klinik personelin ihtiyaç duyduğu doğruluk ve kalitenin sağlanmasıdır. ISO 17025'ten farkı, teknik yeterlilik koşullarına ek olarak hastaya en fazla tıbbi faydayı sağlayacak koşulları da yerine getirmesidir.

Akreditasyon bir kişi ya da bir grubun işi değildir. Sadece üst yönetimin işi değildir. Kopyalanacak bir sistem değildir. Statik bir iş değildir.

Akreditasyona neden gerek duyuldu?

Test sonuçlarının güvenilirliğinin sağlanması laboratuvarın en önemli sorumluluklarından biridir. Bu amaçla testlerin standardize edilmesi, tekrarlanabilir olması ve kayıtlarının tutularak yapılan işlemlerin belgelenmesi gerekmektedir.

Laboratuvarın akredite olması hizmet kalitesinin artırılmasını, performansının değerlendirilmesini, sonuçlarına duyulan güvenin artırılmasını ve yasal sorunlarda verilen hizmetin belgelenmesini sağlamaktadır. Personelin eğitilmesi, motive edilmesi ve yönetimin desteği başarı için şarttır.

Akredite laboratuvar olmanın kazandırdıkları nelerdir?

Laboratuvara katkısı: Akreditasyon sistemi, laboratuvarında daha iyi bir yapı ve organizasyon modeli oluşturulmasını, hizmet kalitesinin sürekliliğini, laboratuvar güvenliği konusunda personelin bilinçlenmesini sağlar. Çalışanların eğitim ve gelişimlerini iyileştirir. Hasta sonuçlarının güvenilirliğini artırır.

Sağlık sistemine katkısı: Çalışma prosedürlerinin standardizasyonunu sağlayarak laboratuvarlar arası kıyaslanabilir sonuçlar alınmasını, daha az hata ile daha doğru klinik kararlar alınmasını sağlar. Maliyetlerin optimize olmasına katkıda bulunur.

Hastaya katkısı: Laboratuvar ve sağlık sistemi yararına olan tüm sonuçlar dolaylı olarak hasta için yararlıdır.

Tarihçesi

İlk kez 1917 yılında ABD'nde American Surgeons Association, hastanelerde kalite kontrol programını başlatmıştır. ABD'deki hastanelerin çoğunun bu programa üye olması ile yeni bir organizasyon kurulması gerekliliği doğmuş, 1951 yılında Joint Commission on Accreditation of Healthcare Organizations (JCAHO) kurulmuştur. Bu kurum uluslararası alanda Joint Commission International (JCI) adıyla faaliyetlerini yürütmektedir. Farklı ülkelerde benzer kurumlar ortaya çıkmış, yasal düzenlemeler yapılmıştır. Günümüzde JCI, College of American Pathologists (CAP), Health Quality Services (HQS) gibi akreditasyon kurumları farklı ülkelerde faaliyetlerini sürdürmektedir. Ülkemizde Türk Akreditasyon Kurumu (TÜRKAK) tek akreditasyon kurumudur.

Laboratuvarında kalite yönetimi konusunda yapılan faaliyetler 1960'lı yıllara kadar klinik kimya laboratuvarlarıyla sınırlıdır. American Society for Microbiology (ASM) 1967 yılında mikrobiyoloji laboratuvarlarında personel, ekipman ve malzeme kullanımının monitörizasyonu konusunda eğitim düzenlemiştir. Bu yıllarda ilk mikrobiyoloji kalite kontrol programları uygulanmaya başlanmıştır. ABD'de CDC 1974 yılında mikrobiyoloji laboratuvarları için kalite kontrol prosedürlerini yayınlamıştır. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) gibi özerk kurumlar ve ASM gibi meslek örgütleri standartların geliştirilmesi için çalışmalarını sürdürmektedir. 2003 yılında, ISO 17025 ve ISO 9001:2000



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

standartlarının tıbbi laboratuvarlar için düzenlenmesinden oluşan ISO 15189 uluslararası standardı hazırlanmıştır.

Üst yönetimin sorumlulukları nelerdir?

Üst yönetim organizasyon planlamasını yapar. Laboratuvar hizmetlerinin temini için yeterli kaynakları, laboratuvara yeterli sayıda kalifiye elemanı, laboratuvar çalışmasının verimli ve güvenli olması için elverişli alanı sağlar.

Akredite Laboratuvarlar Nasıl Tespit Edilir?

Akreditasyon kuruluşları akredite laboratuvarların adı, adresi ve akredite oldukları kapsam hakkında bilgileri içeren listeleri yayınlamaktadır.

TÜRKAK tarafından akredite edilen kuruluşların listesi www.turkak.org.tr adresinde yayınlanmaktadır. Avrupa ülkelerindeki akredite kuruluşları tespit etmek için www.european-accreditation.org adresinden, diğer ülkelerdeki akredite kuruluşları tespit etmek için www.ilac.org adresinden yararlanılabilir.

Akreditasyon süreçleri nelerdir?

Preanalitik, analitik, postanalitik süreçler ve denetimler (iç, dış) olmak üzere gruplandırılabilir.

1) Preanalitik süreçler

- a. **Laboratuvar yönetimi:** Kalite yönetim sisteminin kurulması ve işletilmesi, çalışma alanının uygunluğunun sağlanması, laboratuvar güvenliğine yönelik talimatların oluşturulması, laboratuvarda yeterli sayıda ve uygun eğitime sahip personel bulunması, çalışanlara deneyim ve sorumluluk düzeyine göre eğitim verilerek bu eğitim sonrasında çalışmalarının sağlanması, laboratuvarın performans ve kalitesinin artırılması için gerekli standartların tanımlanması, oluşturulması ve izlenmesi, testlerin yetkili ve yetkin kişiler tarafından, çalışma kalitesini etkileyebilecek faktörlerden bağımsız olarak uygun ve güvenilir bir ortamda çalışılarak sonuçların yorumlanması, laboratuvarın mali yönetimi, testlerle ilgili danışmanlık hizmeti, laboratuvar hizmetlerinde şikayet ve önerilerin değerlendirilmesi, çalışanların moral düzeyinin yüksek olmasının sağlanması ile yükümlüdür.
- b. **Kalite yönetim sistemi:** Kalite yönetimi, laboratuvarın kalite politikasını belirleyerek Kalite El Kitabı oluşturmalıdır. Kapsamında laboratuvarın görevleri, kalite politikası, çalışanların eğitimi, kalite güvenliği, kayıt, arşivleme, laboratuvar yerleşimi, kullanılan malzemeler, uygulanan yöntemlerin validasyonu, laboratuvar güvenliği, örnek ve atıkların transportu, örneklerin kabulü ve çalışılması prosedürleri, sonuçların raporlanması, hekim/hastalarla ilişkiler, alınması gereken önlemler, iç denetimlerle ilgili bilgiler bulunmalıdır.
- c. **Teknik gereksinimler:** Tüm laboratuvar personelinin nitelik, görev ve sorumluluklarını kapsayan bir iş tanımı olmalıdır. Bu tanımlara uyan yetkin kişiler örnek alımı, testlerin çalışılması, laboratuvar cihazlarının kullanımı, bilgisayara sonuç girilmesi ve hasta verilerine ulaşılabilmesi için yetkilendirilmelidir. Laboratuvar rahat ve verimli olarak çalışmaya uygun şekilde tasarlanmalı, sonuçların kalitesini etkileyebilecek ısı, nem, elektrik kaynağı denetlenmeli ve kaydedilmelidir. Laboratuvar temizliği için özel talimatlar oluşturulmalı ve çalışanlar eğitilmelidir. Laboratuvarda kirli alan ve temiz alanlar oluşturularak birbirlerinden ayrılmalı, kirli alanlarda mutlaka eldiven kullanılmalıdır. Laboratuvarda kullanılan cihazlar gereken performansı sağlayabilmeli ve çalışılacak testlerin özelliklerine uygun olmalıdır. Çalışılan testlerin performansını göstermesi açısından kayıtlar tutulmalıdır. Cihazın çalışmasında bir sorun olduğunda servis bakımı yapıncaya dek uygun bir şekilde etiketlenmeli, bakımı yapıp kalibrasyon ve kontrollerin kabul kriterlerine uygunluğu saptanıncaya dek aktif olarak çalıştırılmamalıdır. Dışarıdan veya yetkisiz kişiler tarafından LBYS verilerine ulaşılması, değiştirilmesi ve yok edilmesine karşın gereken önlemler alınmış olmalıdır.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

d. Preanalitik test gereksinimleri: Laboratuvarında çalışılan tüm testler için doğru örneğin seçilmesi, uygun şartlarda, uygun teknikle, uygun miktarda, uygun kaba alınması, örnek ile ilgili gerekli bilgilerin örnek kabı üzerine yazılması, uygun şartlarda laboratuvara nakledilmesi, nakil gecikecek ise uygun şartlarda saklanması gibi bilgileri, örneğe ait kabul veya ret kriterleri ve ret sonrası yapılması gerekenleri, testin çalışılma gün ve saatleri, sonucun ne zaman çıkacağını kapsayan bir Test Rehberi oluşturulmalıdır. Laboratuvarın tüm çalışanları test rehberini biliyor ve içindeki bilgilerle ilgili sorulara cevap verebiliyor olmalıdır. Test rehberi çalışma alanlarında rahat ulaşılabilir konumlarda basılı olarak veya LBYS üzerinden erişilebilir elektronik doküman olarak bulundurulmalı, yılda en az bir kez gözden geçirmelidir.

e. İzlenebilirlik: Tüm örneklerle uygulanan işlemler laboratuvara girdiği andan itibaren izlenebilmelidir. Testlerin istek formları, sonuç raporları, cihaz çıktıları, çalışma prosedürleri, çalışma kayıtları, iç ve dış kalite kontrol kayıtları, düzeltici-önleyici faaliyetlerin kayıtları, cihaz kalibrasyon kayıtları, lot bilgileri, malzemelerin sertifika ve kullanım bilgileri, çalışanların eğitim ve yeterlilik kayıtları bulunmalıdır.

2) Analitik süreçler

Analistin yetkinliği: Laboratuvara yeni başlayan personele öncelikle laboratuvar güvenliği, acil durumlar ve kalite sistemi konusunda oryantasyon eğitimi verilmeli, ardından çalışacağı testlerle ilgili yetkilendirme çalışmaları yapılmalıdır.

Testlerin çalışılması: Testlerle ilgili standart çalışma prosedürleri oluşturulmalı, çalışan personelin tüm prosedürlere erişimi ve testlerin buna göre çalışması sağlanmalıdır. Kullanılan yöntemler laboratuvar yönetimi tarafından belirli aralıklarla gözden geçirilmeli ve belgelendirilmelidir. Laboratuvarında bulunan tüm cihazların kaydedildiği Cihaz Envanter Listesi oluşturulmalıdır. Ayrıca her cihaz için Cihaz Kullanım ve Bakım Talimatları ve Cihaz Kullanım Kılavuzları, cihaza ait kalibrasyon sertifikaları, cihaz bakım formları, arıza bildirim formları, kullanıcı eğitim sertifikalarını içeren dosya oluşturulmalıdır. Çalışan personelin ulaşacağı şekilde laboratuvarında bulundurulmalı, testlerin cihaz kullanım ve bakım talimatları, cihaz kullanım kılavuzları veya test çalışma talimatlarına göre çalışması sağlanmalıdır.

Kalite kontrol çalışmaları: Testlerde kullanılan iç kalite kontroller, dış kalite kontrol programları, laboratuvarlar arası karşılaştırma çalışmaları ve validasyon çalışmalarını kapsamaktadır. Kalite kontrol prosedürleri yazılı olmalı, tüm personel tarafından uygulanmalıdır. Sonuçların uygunsuz gelmesi durumunda hasta sonucu rapor edilmemeli, düzeltici faaliyet yapılmalı ve kayıt edilmelidir.

Neden Kalite Kontrol Çalışmaları Gereklidir?

Hatalı bir hasta sonucu hastaya, kuruma, ülkeye yüksek maliyete neden olabilmekte, hastanın sağlığının bozulması, hatta ölümüne neden olabilmektedir. Laboratuvar sonuçlarının yorumunda "bizim deneyimize göre" gibi bir yaklaşım uygun değildir. Bunun yerine uluslararası geçerliliği olan standartlar ve istatistiksel verilere dayandırılmalıdır.

İç Kalite Kontroller: Testlerde kullanılan pozitif ve negatif kontrol örnekleridir (referans mikroorganizmalar, hızlı tanı kitlerinde bulunan kontrol bandı gibi). Hasta sonuçları rapor edilmeden önce test sistemi, çevre şartları ve analist kaynaklı hataları bulup ortadan kaldırmak için iç kalite kontrol örnekleri kullanılmalıdır.

Dış Kalite Kontrolleri: Laboratuvarın farklı bir kuruluş tarafından değerlendirilmesi, bu değerlendirmeye katılan diğer laboratuvarlar arasındaki yerini görebildiği bir programa dahil olması gereklidir. Program düzenleyici tarafından hazırlanan örnekler laboratuvara yollar. Laboratuvarın bu örnekleri özel bir işlem yapmadan rutin hasta örnekleri gibi işlememesi, gerçek hayattaki uygulamaları test edebilmek açısından önemlidir. Testler çalışıldıktan sonra sonuçları internet aracılığıyla bildirilir. Sonuçlarla birlikte çalışılan cihaz/ metod bilgileri de bildirilmelidir. Her testin sonucu, o metodu kullanan katılımcı ortalamasına ve tüm katılımcıların ortalamasına göre değerlendirilir. Laboratuvarlar arası karşılaştırma/yeterlilik testlerine katılım sonucu değerlendirildiğinde laboratuvarın $-2 \leq z \leq 2$



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

arasında bir skor alması, o laboratuvara ait sapmanın kabul edilebilir olduğunu gösterir. Laboratuvar üst üste iki dönem başarısız sonuçlar elde etmiş ise (%80'in altında sonuçlar) veya son üç dönemden ikisinde başarısız olmuşsa uzun dönem performansı o test için başarısız sayılır. Başarısız olunan test askıya alınır, düzeltici önleyici faaliyet başlatılır. Sonuçlar laboratuvar çalışanları ile paylaşılmalı ve birlikte tartışılmalıdır. Böylece tüm çalışanların varsa sorunların nedenleri ve çözümleri konusunda aktif katılımları desteklenmelidir.

Laboratuvarımızın katıldığı dış kalite kontrol programları:

College of American Pathologists (CAP): Dışkı mikroskopisi (nativ-Lugol, konsantrasyon yöntemi), Trichrome boyama, Modifiye acid-fast boyama, Direkt floresan antikor yöntemi.

UK NEQAS: *Plasmodium* spp. PCR, *Plasmodium* spp. hızlı tanı testi Giemsa boyama, *T. gondii* serolojik tanısı (IgG, IgM, avidite).

QCMD: *T. gondii* PCR.

Laboratuvarlar arası karşılaştırma çalışmaları: Bazı testler için dış kalite kontrol programının bulunmaması durumunda laboratuvarlar arası karşılaştırma programı düzenlenerek bu sorun aşılabilmektedir.

Laboratuvarımızda iki üniversite hastanesi ile laboratuvarlar arası karşılaştırma çalışması yapılmaktadır. Ege Üniversitesi Parazitoloji Anabilim Dalı ile yılda bir kez olmak üzere moleküler testlere yönelik (*Plasmodium* spp., *Leishmania* spp., *T. gondii* PCR) karşılaştırma çalışması gerçekleştirilmektedir. Ordu Üniversitesi Parazitoloji Anabilim Dalı ile yine yılda bir kez olmak üzere mikroskopik ve serolojik testlere yönelik (Modifiye trichrome boyama, Giemsa boyama, *Leishmania* hızlı tanı testi) karşılaştırma çalışması gerçekleştirilmektedir. Laboratuvarımızda hasta örneklerinin incelenmesi sırasında ilgili yöntemlerle pozitif ve negatif olarak belirlenen örnekler ilgili üniversite hastanesi laboratuvarlarına gönderilmekte, çalışmaların uygunlukları değerlendirilerek gerektiğinde düzeltici-önleyici faaliyet çalışmaları yapılmaktadır.

Validasyon çalışmaları: Bir ölçümün kalitesi, ilgili metodun geçerli kılınması/doğrulanması ile ortaya konur ve kalite kontrol çalışmaları ile sürekliliği sağlanır. Laboratuvar, seçilen metodu kullanmaya başlamadan önce yöntemin beklenen performansla çalışabileceğini doğrulamalıdır. Metotlar, geçerli kılma/doğrulama çalışması sonrasında rutin kullanıma alınır. Yeni bir personel çalışmaya başladığında, yeni bir cihazla çalışmaya başladığında veya cihazın yeri değiştirildiğinde, kimyasal değişikliklerinde ölçüm sonuçlarının bu değişikliklerden etkilenip etkilenmediği ortaya konulması gerekir. Laboratuvar içi metot geçerli kılma/doğrulama çalışmalarında doğruluk, tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerlendirilir. Doğruluk, ölçümlerin doğruluğu deney sonucu ile ölçülen büyüklüğün gerçek değeri arasındaki yakınlık derecesidir. Kesinlik ise, ölçüm sonuçlarının birbirlerine yakınlığının ölçüsüdür. Tekrarlanabilirlik koşulları deney metodunun izin verdiği kadar kısa zaman aralıklarında, aynı cihaz kullanılarak, aynı kişi tarafından, aynı laboratuvarda, özdeş numunelere aynı metodun uygulanmasını ifade eder. Standart bir metot, bilimsel dergilerde yayınlanmış olan veya üreticisi tarafından önerilen metotlar hiçbir değişiklik yapılmadan kullanılıyorsa yeniden geçerli kılınması gerekmez. Sadece metodun doğru bir şekilde uygulandığının güvence altına alınması (doğrulanması) yeterlidir.

Laboratuvarımızda akredite olunması planlanan testler için saptama limiti (metodun güvenilir ölçüm yapabildiği en düşük miktarın belirlenmesi) çalışmaları yapıldıktan sonra buna göre yüksek ve düşük pozitiflik oranları belirlendi. Daha sonra bu örnekler kullanılarak doğruluk ve kesinlik çalışmaları ile metod validasyon/verifikasyon çalışmaları gerçekleştirildi. Devam eden süreçte laboratuvarımıza alınan yeni bir cihaz, sistem, kit veya inhouse yöntem kullanımına başlamadan önce metod validasyon/verifikasyon çalışmaları ve varsa daha önce kullanılan bir sistemle ya da validasyonu yapılmış bilinen bir sistemle karşılaştırma çalışmaları yapılmaktadır.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

3) Postanalitik süreçler

Panik/kritik değer bildirim: Çalışılan testler için panik/kritik değer aralıkları, belirlemelidir.

Sonuçların yorumlanması ve bildirim: Test sonuçlarının raporlanması ile ilgili prosedürler bulunmalıdır. Testlerin sonuçları çalışılan testlere uygun olarak belirlenmiş bir zaman aralığında verilmeli, sonuç raporu yalnızca yetkili kişilere bildirilmelidir.

4) Denetimler (iç, dış): Akreditasyonun sürekliliği ve testlerin kalitesinden emin olunabilmesi için düzenli denetim gerekmektedir.

İç denetimler: ISO 15189'un gerekliliklerine göre yılda bir kez yapılmalı, her denetim sonrasında denetlenen birimde gözlenen eksiklikler, bunun sonucunda düzeltilmesi veya önlenmesi istenen durumlar öngörülen belli süreler içerisinde tamamlanmalıdır. Düzeltici faaliyetlerin hedefi, var olan aksaklıkların giderilmesi, önleyici faaliyetlerin hedefi ise aksaklıkların henüz oluşmadan öngörülerek giderilmesidir. Bu faaliyetlerin ortak amacı sistemi sürekli daha iyiye götürmektir.

Laboratuvarımızda yılda bir kez olmak üzere ISO 15189 iç tetkik konusunda eğitim almış, farklı laboratuvarların çalışanlarından oluşan bir denetçi ekibi tarafından iç tetkik gerçekleştirilmekte, denetim sırasında saptanan uygunsuzluklar ve öneriler doğrultusunda düzeltici faaliyetler yapılarak hem laboratuvarımızın sürekli iyileştirilmesi, hem de TÜRKAK tarafından yapılacak olan dış tetkik için hazırlanması sağlanmaktadır. Denetimler hem doküman bazında, hem de laboratuvar uygulamalarına yönelik olarak yapılmaktadır. Her laboratuvar birim kalite sorumlusu, birim cihaz sorumlusu ve ilgili parametreleri çalışan tüm personeliyle denetime aktif olarak katılmaktadır. Denetim sonrasında laboratuvarda tespit edilen eksiklikler ve yapılması gereken düzenlemeler, düzeltici-önleyici faaliyetler ve bunlar için öngörülen süreler içinde tamamlanmaktadır.

Laboratuvar süreçlerine yönelik performans değerlendirmesi yapılmalıdır. İyileştirmenin hangi alanlarda gerektiğini saptamak için süreç performansını yansıtan çeşitli verilerden yararlanılır. Bunlar şikayet/memnuniyet anketleri, iç/ dış denetim sonuçları, kalite kontrol sonuçları, üye olunan yeterlilik test sonuçları olabileceği gibi önceden belirlenmiş kalite göstergelerinin, yine önceden belirlenmiş süreler boyunca takibi ve ölçümü de olabilir. Bu şekilde sorunlu alanlar saptanır ve öncelik sıralaması yapıldıktan sonra düzeltici-önleyici faaliyet uygulamaları yapılır. Preanalitik, analitik ve postanalitik süreçler ile ilgili aylık değerlendirme yapılmalıdır.

Akreditasyon başvurusu için ne gibi hazırlıklar gerekli?

Laboratuvarın, ilk akreditasyon başvurusunda talep ettiği kapsamlarda faaliyetlerini yürütüyor olması gerekmektedir. Mevcut personelinin görevli ve yetkin olduğu laboratuvar faaliyetlerini bildirmelidir. Ayrıca sistemin tamamına yönelik olarak iç tetkik ve yönetimin gözden geçirilmesini yapmalı ve kayıtlarını TÜRKAK e-Portal üzerinden sunmalıdır. Başvuruda bulunacak laboratuvarlar TS EN ISO 15189 standardına göre aşağıda belirtilen hususlara uymalıdır.

Laboratuvar kapsamının belirlenmesi: İlgili dokümanların gerekliliklerine uygun olarak çalışıldığını dokümante etmelidir.

Tarafsızlık ve gizlilikle ilgili hususlar: Faaliyetlerini tarafsızlık ve gizlilikle ilgili hususları güvenceye alacak şekilde gerçekleştirmelidir. Bunun için risk değerlendirmesi yapılmalıdır.

Yapısal gerekliliklerle ilgili hususlar: Laboratuvar yönetimi, laboratuvarın ihtiyaç duyduğu kaynakları sağlar ve laboratuvar faaliyetlerinden sorumludur.

Personel ile ilgili hususlar: Personel ile laboratuvar arasında tarafsızlık, gizlilik ve çıkar çatışması sözleşmeleri yazılı olarak yapılır ve taraflarca imzalanır. Laboratuvar personelinin yetkinlik izlemesi yapılmalıdır.

Donanım: Kullanılan donanımın akredite olunan faaliyete uygunluğunu kanıtlamalıdır.

Yeterlilik deneyleri ve laboratuvarlar arası karşılaştırma: Asgari olarak standardın ön gördüğü iç ve dış kalite kontrol faaliyetlerinden kendi faaliyetlerine uygun olanları gerçekleştirmelidir.

Risk değerlendirmesi: Değişen durumlara göre güncellenmesi gereken, iyileştirmeye yönelik faaliyetlerin sürekli izlenmesini ve tekrar değerlendirmesini içeren bir süreçtir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Kalite sistemi dokümantasyonu: Kalite yönetim sisteminin bütünlüğünü sağlamak ve TS EN ISO 15189 standardına uygunluğunu gösterebilmek için Kalite El Kitabı hazırlar. Kalite yönetim sistemlerini uygulamak için prosedürler yazılı hale getirmelidir.

Akreditasyon Prosedürü

1) Denetim öncesi

Başvuru yapan laboratuvarların akreditasyon denetiminden önce hazırlaması gereken belgelerin tam olması koşuluyla akreditasyon denetimi çalışmalarına başlanmaktadır.

Laboratuvar tarafından TÜRKAK'a gönderilen evrakları denetim ekibi tarafından incelenerek denetim programı oluşturulmakta, denetim ekibi yerinde denetim yapmak için laboratuvara gitmektedir.

2) Denetim

TÜRKAK tarafından akreditasyon kapsamı dahilinde denetçi ekibiyle denetim gerçekleştirilir. TÜRKAK tarafından oluşturulan denetçi havuzunda yer alan denetçi heyetleri özel ve kamu kuruluşları ile akademik camiada çalışan, denetlenen alanla ilgili uzmanlığı olan, uluslararası kriterlere göre bilgi ve becerilerinin güncelliği sağlanan, kalifiye ve tarafsızlığı garanti edilmiş uzmanlardan oluşmaktadır. Denetim sırasında ISO 15189 standardının 4. maddesi (yönetim şartları) ve 5. maddesi (teknik şartlar) değerlendirilmektedir. İlk akreditasyon denetimlerinde kuruluşun başvurduğu tüm kapsamlar ile tüm yerleşimler denetlenir. Akreditasyonun geçerli olduğu süre içerisinde laboratuvarın faaliyet ve yerleşimleri en az bir kez denetime tabi tutulur. Sonraki denetimlerde, bir önceki denetimde açılan uygunsuzluklar, analizi gerçekleştiren personelin değişmesi veya yeni personel alımı, kapsam değişikliği, cihaz değişikliği, uygun olmayan YT/ LAK sonucu, revize edilen akredite standartlar, geri besleme ve şikâyetler denetlenir.

3) Denetim Sonrası

Denetim tamamlandıktan sonra denetçi heyetinin hazırladığı rapor TÜRKAK'a sunulmaktadır. Denetim sonucunda tespit edilen uygunsuzlukların giderilmesi için laboratuvar tarafından yapılan düzeltici faaliyetlerin denetim heyeti tarafından incelenmesi ve uygun görülmesi sonucunda karar laboratuvara bildirilerek akreditasyon çalışması sonlandırılmaktadır. Karar laboratuvara akreditasyon verilmesi veya gözetim denetimi şeklinde gerçekleşmektedir. Gözetim denetimi kararı verildi ise, laboratuvar verilen süre içerisinde eksikliklerini tamamladıktan sonra tekrar denetlenmektedir.

Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvarı'nın akreditasyon süreci nasıl gerçekleşti?/ deneyimlerimiz

Laboratuvarımızın akreditasyon başvuru sürecinde öncelikle mevcut durum tespit edildikten sonra laboratuvarların fiziki alt yapı imkanları, iş yükü, personel kapasite ve donanımı gibi kriterler değerlendirilerek akredite olunacak test parametreleri belirlendi. Daha sonra tüm personele akreditasyon konusunda eğitimler (Laboratuvar Güvenliği, TS EN ISO 15189 Tıbbi Laboratuvarlar Kalite ve Yeterlilik İçin Özel Şartlar Standardı Temel Dokümantasyon ve İç Tetkik Eğitimi, ISO 15189 Farkındalık, Temel ve Spesifik Eğitimi, ISO 15189 Dokümantasyon Eğitimi, ISO 15189 Akreditasyon Hazırlık Eğitimleri, ISO 15189 Ölçüm Belirsizliği Metod Validasyonu ve Verifikasyonu Eğitimi, Laboratuvar Kalite Yönetimi Sistemi Eğitimi, ISO 15189 İç Kalite Kontrol ve Dış Kalite Değerlendirme Eğitimi, Risk Değerlendirmesi Eğitimi) verildi.

İdari oluşumumuzu gösteren genel bir organizasyon şeması hazırlandı. Daire Başkanlığı altında Kalite Yöneticisi ve Cihaz Sorumlusu belirlendi, ayrıca her laboratuvarın Birim Kalite Sorumlusu, Birim Cihaz Sorumlusu belirlendi ve görev tanımları yapıldı. Kalite El Kitabı, Kalite Politikası oluşturuldu. Analizde kullanılan cihazların düzenli bir şekilde çalışabilmeleri, bakım ve onarımlarının yapılabilmesi için gerekli düzenlemeler yapıldı. Testlerde kullanılan cihazların kullanım/bakım talimatları hazırlandı ve buna uygun olarak periyodik bakım/performans testleri/kalibrasyonları gerçekleştirildi.

Laboratuvar güvenliğinin sağlanması için laboratuvar içerisinde oluşabilecek kazalarda yapılması gerekenleri içeren Laboratuvar Güvenliği Rehberi yayınlandı. Laboratuvar çalışmalarına başlamadan önce tüm personele çalışma alanıyla ilgili olarak laboratuvar güvenliği, acil durumlar ve kalite sistemi



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

ile ilgili oryantasyon eğitimi verildikten sonra, çalışacağı laboratuvarında ilgili testler ve kullanması gereken cihazlarda yetkilendirme çalışmaları gerçekleştirildi.

Laboratuvarımız çalışılan testlere uygun şekilde seroloji, moleküler, entomoloji ve klinik parazitoloji bölümlerine ayrıldı. Moleküler parazitoloji laboratuvarımız dört ayrı odadan oluşmaktadır.

Laboratuvar ortamlarının ısı ile, buzdolabı, derin dondurucu, etüv gibi cihazlar da Isı Takip Sistemi aracılığıyla düzenli olarak takip edilmekte, belirlenen limitlerin dışına çıktığı zaman sorumlu personele telefonla bilgi akışı sağlanmakta, bu durumda belirlenen yapılması gerekli faaliyetler gerçekleştirilmektedir.

Laboratuvarımızda dışkı örnekleri makroskopi kabini içerisinde işlenmekte, moleküler çalışmalardan DNA izolasyonu BGD-II kabininde, miks hazırlanması ve DNA eklenmesi işlemleri PCR kabininde gerçekleştirilmektedir. Moleküler testlerle ilgili olarak temiz oda, kirli oda ve ekstraksiyonun gerçekleştirildiği kabinlerde yüzey ve havanın değerlendirilmesi için altı ayda bir ortam kontrolü çalışmaları yapılmakta, kayıtları tutulmaktadır. Kabinlerin düzenli bakım ve performans testleri yapılmakta ve kayıtları tutulmaktadır.

Her laboratuvarında kendi içerisinde evrak kayıtlarının tutulduğu ve bilgisayara kaydedildiği temiz alan ile örneklerin işlendiği kirli alan ayrımı yapıldı.

Her laboratuvarında belirlenen alanların, belirlenen sürelerde yapılan temizliğin kaydedildiği Laboratuvar Temizlik Takip Formu hazırlandı.

Örnek alımından testlerin çalışılması, raporlanması, atıkların imhasına dek tüm laboratuvar işleyişi, kullanılan cihazlarla ilgili olarak cihaz bakım ve çalışma talimatları, tüm kayıt işlemleri ISO 15189'a göre hazırlandı ve uygulandı. Kurum web sitesinde Numune Alma El Kitabı, Güncel Analiz Listesi bulunmaktadır. Numune Alma El Kitabı çalışılan testlerle ilgili gereken örnek türü, miktarı, transport koşulları, numune kabul-red kriterleri, çalışan yöntemler, testlerin çalışma zamanı ve sonuçlanma sürelerini içermektedir. Güncel Analiz Listesi ise laboratuvarların aktif olarak çalıştığı testlerin mevcudiyetine göre sürekli güncellenerek hizmet verilen kesime duyurulmaktadır.

Satın alınan kit, kimyasal, besiyeri, sarf gibi tüm malzemelerin kaydedildiği Depo Birimi mevcuttur. Her laboratuvarın hazırladığı stok yönetimi bilgilerine LBYS üzerinden ulaşılmaktadır.

Laboratuvarımızda atıkların bertarafı ile ilgili prosedür, ilgili testlerin Standart Çalışma Prosedürleri'nde belirtilmiştir. Testlerin çalışılması sırasında ortaya çıkan kesici atıklar için kesici/delici atık kutuları kullanılmaktadır. Laboratuvar çalışmalarında ortaya çıkan atıklar ayrıştırılmakta, tıbbi atıklar laboratuvarımız içerisinde yer alan sterilizasyon ünitesinde otoklavlandıktan sonra görevli personel tarafından kurum içerisindeki çöp alanına taşınmaktadır.

Her laboratuvar, ilgili sorumluların önderliğinde çalışan tüm personelin katılımıyla hem doküman bazında, hem laboratuvar yerleşimi ve akredite test parametreleri bazında çalışmalar yaptı. Testlerde ilgili Standart Çalışma Prosedürleri oluşturuldu. Her test parametresi için en az iki analist belirlenerek metod verifikasyon/validasyon çalışmaları yapıldı. SÇP'de belirtildiği şekilde ve sürede kalite kontrol çalışmaları yapıldı. Bu kontroller sonucunda uygunsuzluk görüldüğü durumda kök neden analizi yapılarak nedeninin saptanması, düzeltici faaliyetlerin yapılması ve sorunun çözülmesine kadar test rutin hasta istemine kapatılmaktadır. Uygun sonuç elde edilmesi durumunda test tekrar çalışmaya başlanmaktadır.

Laboratuvarımızda uygulanan testler, eğitilmiş, deneyimli ve yetkilendirilmiş kişiler tarafından çalışıldıktan sonra, ilgili mikrobiyoloji uzmanı tarafından incelenmekte ve elektronik ortamda onaylanmaktadır. Laboratuvar raporumuz örnek alım tarih ve saati, laboratuvara kabul zamanı, raporun onay ve basım tarihi, sonuçlar hakkında yorumları içeren, rapor üzerinde onaylayan uzmanın elektronik onayının bulunduğu şekilde verilmektedir.

Yılda bir kez olmak üzere her laboratuvara, farklı laboratuvarlarda çalışan ve iç tetkik eğitimi almış olan teknik personel tarafından ISO15189 standardına göre iç tetkikler gerçekleştirildi. Bu iç tetkiklerde belirlenen eksiklikler ve öneriler doğrultusunda düzeltici faaliyetler yapıldı ve dış tetkiklere hazırlıklar



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

bu şekilde tamamlandı. Yürütülen tüm bu çalışmaların tek seferlik olmayıp dinamik bir süreç olduğu ve akreditasyonun temelini, yürütülen bu çalışmaların devamlılığın sağlanması ve sürekli iyileştirme yolunda ilerleme olduğu kabul edilerek tüm personelin katılımıyla ortak bilinç oluşturuldu.

Tüm bu hazırlıklardan sonra Daire Başkanlığı Kalite Sorumlusunun önderliğinde her birimin hazırladığı dokümanlarla TÜRKAK akreditasyon başvurusu yapıldı. Daha sonra TÜRKAK tarafından, belirlenen denetçilerle ilgili laboratuvarlara akreditasyon denetimi yapıldı. Bu denetimler sonucunda denetçiler tarafından laboratuvarlarda belirlenen eksiklikler Daire Başkanlığı Kalite Sorumlusu tarafından ilgili laboratuvarlara bildirilerek belirlenen süre içerisinde bu eksikliklerin giderilmesi sağlandı. Daha sonra TÜRKAK tarafından denetleme sonucunda yeterli bulunan test parametrelerine akreditasyon verildi. İlk beş yılın sonunda yeniden akreditasyon başvurusu şeklinde denetim gerçekleştirildi.

Kalitenin temel prensibi “yazdığını yap, yaptığını yaz”.

Kalite ve akreditasyon uygulamalarının kişisel değil, kurumsal olması gerektiği bilinci özellikle alınan eğitimlerde, iç ve dış tetkiklerde tüm personelin işbirliği içerisinde çalışması ile pekiştirildi.

2012 yılında başlayan bu süreçte bizim için en önemli güçlük kurumsal yapı değişikliği oldu. Kurumun yapısal ve yönetim değişiminden satın alma prosedürleri, dokümantasyon prosedürleri, personel değişimi gibi birçok süreç etkilendi.

Akredite Test Parametrelerimiz

- 1) Dışkıda parazit aranması (Nativ-Lugol yöntemi)
- 2) Dışkıda parazit aranması (konsantrasyon yöntemi)
- 3) Dışkıda protozoon aranması (Trichrome boyama)
- 4) *Cryptosporidium* spp., *Isozoa*, *Cyclospora* aranması (Modifiye acid-fast boyama)
- 5) *Cryptosporidium* Ag aranması (DFA yöntemi)
- 6) *Giardia* Ag aranması (DFA yöntemi)
- 7) *Microsporidium* spp. aranması (Modifiye Trichrome boyama)
- 8) *Entamoeba histolytica* (amip) adezin antijeni aranması (ELISA yöntemi)
- 9) *Leishmania* spp. aranması (Kalın damla/İnce yayma) (Giemsa boyama)
- 10) *Plasmodium* spp. aranması (Kalın damla/İnce yayma) (Giemsa boyama)
- 11) *Plasmodium falciparum* ve *Plasmodium vivax* antijen aranması (hızlı tanı yöntemi)
- 12) *Leishmania donovani* antikor aranması (hızlı tanı yöntemi)
- 13) *Toxoplasma* IgG (Sabin Feldman Dye testi)
- 14) *Toxoplasma* IgG Avidite (ELISA yöntemi)
- 15) *Toxoplasma* IgG (ELISA yöntemi)
- 16) *Toxoplasma* IgM (ELISA yöntemi)
- 17) *Plasmodium* spp. DNA (Real-time PCR yöntemi)
- 18) *Leishmania* spp. DNA (Real-time PCR yöntemi)
- 19) *Toxoplasma gondii* DNA (Real-time PCR yöntemi)

Hedefimiz

Laboratuvarımız alanında en çok parametre ile ISO 15189 akreditasyonuna sahip laboratuvardır. Hem yönetim, hem de çalışan tüm personeliyle ortak bir bilinç ve çabayla çalışılan tüm testlerden akredite olma hedefini benimsemiştir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KONFERANS 03

29 Eylül 2019 – 09:30-10:00

Laboratuvar Kalite ve Akreditasyonunda Güncel Bilgiler

Tonay İNCEBOZ

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, İnciraltı, İZMİR

E-posta: tonay.inceboz@gmail.com

Önceleri fabrika sisteminde verimliliği ve hata sayıları azaltmaya yönelik çalışmalar yapılarak kalite çalışmaları başlatılmıştır. Daha sonra sağlık alanında da kalite ve akreditasyon uygulamaları gündeme gelmiştir. Sağlık hizmetinde kalite çalışmalarının uygulanması oldukça zordur. Hizmet alan kişilerin beklentilerini yüksek olması, sağlık kurumlarının çok farklı yapıların bir araya gelerek hizmet üretmesi, kurumsal olarak farklı bilgi, yetenek, kültürlerin oluşturduğu kurumsal insan kaynağının oluşturması yönetsel zorluklara neden olmaktadır. Hizmeti alanda, hizmeti üretende insan faktörü olması karşılıklı yapılan hata riskini logaritmik olarak artarak sorunların çıkmasına ortam hazırlanmaktadır. Bu durumu önlemek için Sağlık Bakanlığı yasa ve yönetmelikleri, kalite standartları, hastane yönetiminin belirlediği kurallar birlikte değerlendirilmektedir.

Tıbbi laboratuvarlarda hastane hizmet sisteminin önemli bir parçasıdır. Bazıları hastane sistemine bütünleşik, bazıları ise bağımsız olarak hizmet vermektedir. Tıbbi laboratuvarların verdiği sonuçlar ile hekimler hastalarının tanı ve tedavisini düzenlemektedir. Burada verilen her yanlış sonuç, hastanın iyileşmesine etki edecektir.

Tıbbi laboratuvarlar, hangi koşulda olursa olsun, hastaya ait materyalin doğru şekilde laboratuvara girmesi (preanalitik), analitik ve sonuç vermeye kadar (postanalitik) geçen süreçler vardır. Bu süreçlerin her biri önemli olmakla birlikte preanalitik süreç, en çok hata yapılan kısımdır. Bu süreçlerin iyi bir şekilde yürütülebilmesi için kalite ve akreditasyon ölçütleri önemli bir yer tutmaktadır. Laboratuvar yönetmelik ve kuralların oluşturulması, oluşturulan yönetmelik ve kuralların yazılı hale getirilerek doküman haline getirilmesi önemlidir. Laboratuvar çalışanlarının nitelikli olarak işe alınarak görev tanımlarının yapılması, laboratuvar fiziksel koşullarının deney ve analiz yapılabilecek ideal ortamın oluşturulması, her türlü tıbbi ekipman, sarfın doğru şekilde temin edilerek cihaz süreçlerine belirlenerek uygun ve deneyimli personeller tarafından, tıbbi örneklerin daha önceden belirlenen kurallar çerçevesinde uygun koşullarda temin edilmesinin sağlanması önemlidir. Temin edilen örneklerin analiz yapılması, elde edilen analiz sonuçlarının ilgili uzmanlar tarafından kontrol edildikten sonra doğruluğundan emin olunduktan sonra, her analiz için daha önceden belirlenmiş süreçte, mahremiyet dikkate alınarak sonuçların yasal olarak belirlenen kişilere bildirilmesinin sağlanması çok önem taşımaktadır.

Tıbbi laboratuvarlarda yapılan analizlerin belirli dönemler için iç kalite ve dış kalite kontrolleri yapılması kalite ve akreditasyon açısından sonuçların güvenilirliğinin teminatı açısından önem taşımaktadır.

Tıbbi laboratuvarlar, hekimlerin hastalarının tanı ve tedavisine yön vermesinde en önemli unsurlarından birisidir. Hastaların materyallerinin laboratuvara girişinden sonuçların çıkışına kadar doğru, güvenilir, söz verilen zamanda, mahremiyeti göz önüne alınarak verilmesi ancak kalite ve akreditasyon ile mümkün olacaktır. Bu süreçlere sıkı sıkıya bağlı olan kurumlar ayakta kalacak, diğerleri ise seleksiyona uğrayıp yok olacaktır.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KONFERANS 04

30 Eylül 2019 – 10:30-11:00

Managing Biological Risks in Biomedical Laboratories

Dionysis VOURTSIS

Biomedical Laboratory Scientist, BSc, IFBA PC; HBS (Hellenic Biosafety Society) - General Secretary; EBSA (European Biosafety Association) - Council Member; IFBA (International Federation of Biosafety Associations) - Communications & Project Officer, GREECE

E-mail: d.vourtsis@internationalbiosafety.org

In Biomedical Laboratories diagnostics and research with pathogenic agents, such as virus, parasites, fungi, rickettsia, bacterial microorganisms, has generated concern, because of their potential biological risk. In addition, concern for biosafety is associated with the emergence of new diseases or re-emergence of diseases that were already under control.

Biomedical laboratories require biosafety measures designed to protect their staff, the population, and the environment, which may be exposed to hazardous organisms and materials. Biological risks need to be identified, evaluated and controlled by the correct application of internationally recognized procedures, such as proper microbiological techniques, proper containment apparatus, adequate facilities, protective barriers, and special training and education of laboratory workers, in order to acquire good understanding of the epidemiology, pathogenicity, and human susceptibility of the biological materials. Also, a risk management system must be in place to prevent accident or loss of lives and to improve overall workplace safety and productivity and additionally, a Laboratory safety culture must be developed, so that exposure to hazards for laboratory personnel, community and environment will be minimized or eliminated.



Multisectoral Collaboration Under the One Health Approach in WNV Surveillance in Serbia: Mosquito, Bird, Horse and Human Surveillance

**Dušan PETRIĆ¹, Tamaš PETROVIĆ², Ivana HRNJAKOVIĆ CVJETKOVIĆ^{3,4},
Dragutin MIHAILOVIĆ¹, Aleksandra IGNJATOVIĆ ČUPINA¹, Vesna MILOŠEVIĆ^{3,4},
Gospava LAZIĆ², Mina PETRIĆ^{5,6} and Marija ZGOMBA¹**

¹Faculty of Agriculture, University of Novi Sad, Novi Sad, SERBIA; ²Scientific Veterinary Institute „Novi Sad“ (NIVNS), Novi Sad, SERBIA; ³Institute of Public Health of Vojvodina (IZJV), Novi Sad, SERBIA; ⁴Faculty of Medicine, University of Novi Sad, Novi Sad, SERBIA; ⁵Faculty of Sciences, University of Novi Sad, Novi Sad, SERBIA; ⁶AviaGIS, Zoersel, BELGIUM

E-mail: dusanp@polj.uns.ac.rs

Before the appearance of the first human case of West Nile neuroinvasive disease (WNND) in Serbia in 2012, an informal multisectoral group (medical entomologists, meteorologists, animal and human virologists), began the collaboration in 2003. Efforts to detect West Nile virus (WNV) circulation in Serbia started in the Vojvodina province, northern Serbia, in 2005 by research projects on human and mosquito surveillance. It was followed by horse (2009) and wild bird surveillance (2012). Already in 2005, four sectors started to work under the umbrella of One Health principle that was officially promoted to the world three years later. Capacity developed through the projects resulted in the detection of WNV in horses (2009), mosquitoes (2010) and birds (2012).

Before the outbreak of WNV in Serbia in 2012, routine diagnose praxis for cases of suspected arboviral diseases was absent due to limited financial resources in hospitals of Serbia (Serbia is between 60 % and 65 % below the EU-28 average of GDP per capita), low level of awareness and training of medical personnel. Also, the regular sentinel chicken/horse and mosquito surveillance did not exist. In order to elevate alert of public health officials by proving the WNV circulation, in 2009, the system of entomological surveillance of WNV was set backwards. Based on serological testing of humans (started in 2005) and detected grouping pattern of the IgG positive people (likely cases), only “hotspots” for low budget WNV surveillance in mosquitoes were selected in order to optimally utilise an available number of test kits restricted by funding and minimise the area for vector surveillance. Restricting the mosquito sampling to “hotspots” (10 at the surface of 21,506 km²), only one month per year (September - 3 sampling periods) and most probable vector (*Culex pipiens*, the house mosquito), in 2010 we found 3 out of total 29 mosquito pools tested, positive to WNV. From 2011 to 2014, according to the funds available, surveillance was widened and sampling spots defined according to following priority: (a) old “hotspots” included first; (b) new grouping of serological human/horse cases looked for and consequently new “hotspots” added and (c) places of interest for veterinary surveillance supplemented if possible. Interestingly some “hotspots” (traps settled at the same place every year) provided positive pools of *Cx. pipiens* in several consecutive years.

Obtained knowledge of WNV circulation was then used for the development and implementation of a national surveillance program integrating mosquitoes, horses and birds surveillance aimed at timely detection of virus activity. In 2014 Veterinary Directorate launched veterinary and entomological



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

surveillance (2014, 2015, 2017, 2018) which has been praised as one of the best in Europe by experts from Austria, MediLabSecure project and ECDC.

Approach to entomological surveillance has been designed to facilitate predictive assessments, i.e. to determine: a) start/end of transmission period; b) impact of weather and environmental changes on the transmission; and c) support the decision making the process for the control of MBD.

Mosquito surveillance program had shown satisfactory results in terms of area specificity (capacity to indicate the spatial distribution of the risk for human cases of WNND) and sensitivity to detect virus circulation even at the enzootic level. The small number of *Cx. pipiens* females (50) analysed per trap/night combined with a high number of specimens in the sample (up to 23,000 per trap/night), provided variable results in early detection capacity at different administrative levels (NUTS2 versus NUTS3). Clustering of infected mosquitoes, horses, birds and human WNND cases in 2014-2015 was highly significant, following the South-West to North-East direction in Vojvodina (NUTS2 administrative level). Human WNND cases were best grouped with infected mosquitoes in 2014 and wild birds/mosquitoes in 2015. In 2014 sentinel horses showed better spatial correspondence with human WNND cases than sentinel chicken. Strong correlations were observed between the vector index values and the incidence of human WNND cases registered at the NUTS2 and NUTS3 levels.

Recent analyses of the effects of climate change on the presence of WNV in mosquito vector (*Cx. pipiens*) indicate that for each increase in the average temperature of 0.5°C during the October-March period in which the mosquito females hibernate, the number of individuals of *Cx. pipiens* infected with WNV will double, significantly increasing the risk of transmission to the human population.

Based on the results gained, integrated surveillance has been progressively improved to allow evidence-based adoption of preventive public/animal health and mosquito control measures.

Key Words: West Nile virus, *Culex pipiens*, mosquito surveillance, horse surveillance, bird surveillance, human surveillance.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KONFERANS 06

30 Eylül 2019 – 15:00-15:30

Türkiye’de Belediyeler Tarafından Yürütülen Vektör Mücadele Hizmetleri

Hüseyin ÇETİN

Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ANTALYA

E-posta: hccetin@akdeniz.edu.tr

Türkiye iklimi, bitki örtüsü ve coğrafik özellikleri ile çok sayıda vektör canlıının rahatlıkla gelişim ve dağılım gösterebildiği bir ülkedir. Sıtma, Kırım Kongo Kanamalı Ateşi, Batı Nil Ateşi ve Şark Çıbanı gibi çeşitli vektörel hastalıklar farklı bölgelerde hala rapor edilmektedir. 5393 sayılı Belediye Kanunu’na atfen belediyeler sorumluluk alanları içerisinde halk sağlığını tehdit etme riski taşıyan vektörlerle mücadele etmekle yükümlüdürler. Ülkemizde İçişleri Bakanlığı Mahalli İdareler Genel Müdürlüğü tarafından yayınlanan genelge gereği “büyükşehir belediyesi bulunan illerde vektör mücadelesinde ayrılan kaynakların etkin ve verimli kullanılmasını sağlamak amacıyla vektör kontrol ve ilaçlama hizmetlerinde temel görev ve sorumluluk büyükşehir belediyelerine yüklenmiş olup, ihtiyaç duyulması halinde ilçe belediyeleri büyükşehir belediyeleri ile koordineli bir şekilde bu hizmeti yapabilmektedir” denilmektedir.

Bu bağlamda büyükşehir, il ve ilçe belediyelerine ait veterinerlik, çevre koruma ve kontrol, sağlık işleri ve temizlik işleri gibi değişik birimleri çatısı altında vektör mücadele hizmetini yürüten ve koordine eden ekipler oluşturulmuştur. Yerleşim yerlerinde sıklıkla görülen sivrisinek, ev sineği-karasinek, hamamböceği, kum sineği (yakarca) ve kemirgen gibi farklı vektör canlılara yönelik biyosidal ürünler tedarik edilerek, hizmet alımı veya doğrudan yapılan işçilik hizmetleri ve ekipman kullanımı ile vektör mücadele çalışmaları yürütülmektedir.

Birçok belediye tarafından vatandaşlarımızın vektör mücadelesine katkısını arttırmak ve kullanılan pestisit miktarlarını azaltabilmek, ortaya çıkan direnç problemi ile başa çıkabilmek için uygulamada çalışan biyosidal ürün uygulayıcıları, mahalle muhtarları, din görevlileri, öğrenciler ve toplumumuzun farklı kesimlerine yönelik eğitim ve seminer düzenlemesi, bilgilendirici afiş ve broşürler hazırlaması yanı sıra kısa videolar şeklinde kamu spotları hazırlanması yoluna gidilmektedir.

Fiziksel mücadele çalışmaları kapsamında kentsel ve kırsal alanlarda belediyeler tarafından yürütülen çöp ve organik atık toplama hizmetleri, dere ve su kanalı gibi ortamların akar hale getirilmesi, bitki örtüsünün kontrolü ve ıslahı, hayvansal atıkların uygun şekilde toplanması ve imhası, sokak hayvanlarının takibi ve vektörlere karşı anti-paraziter ilaçlarla müdahale edilmesi ve atıl otomobil lastiklerinin toplanması gibi birçok hizmet vektörlerin gelişme, gizlenme ve dinlenme ortamlarını ortadan kaldırmak ve daha çevreci vektör mücadelesi yapabilmek için sürdürülmektedir.

Vektör gelişme ortamlarına kimyasal ve biyolojik özellikte larvasitlerin uygulanması, açık alanlarda akşam ve gece saatlerinde soğuk sisleme (ULV) yapılması, kapalı alanlarda sıcak sisleme ve açık ve kapalı alanlarda rezidüel biyosit uygulaması yapılması larva ve ergin vektörlere yönelik belediyeler tarafından kullanılan en yaygın mücadele metotlarıdır.

Ülkemizde belediyeler tarafından her yıl toplamda yüz milyonlarca lira bedel harcanarak yapılan vektör mücadele hizmetlerinin entegre bir şekilde yürütülmesi, vektör türlerinin ne olduğunun belirlenmesi, ekoloji ve biyolojilerinin incelenmesi, çevre ve insan sağlığı düşünülerek kimyasal kullanımının sınırlandırılması, kullanılan cihazların kalibrasyonlarının yapılması, vektörlerde gelişen/gelişebilecek direnç seviyelerinin araştırılması, tedarik edilen ürünlerin testlerinin yapılması,



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

vektör üreme kaynaklarının düzenli olarak haritalanması ve biyosidal ürünlerin doğru dozda/yerlerde kullanımının sağlanması gibi temel konular gelecekte belediyeler tarafından yürütülecek vektör mücadele hizmetlerinin temellerini oluşturmalıdır. Yapılacak çalışmalarda farklı kurumların ortaklaşa çalışması, farklı hizmet birimlerin desteğinin olması, belediyelerin gelecek yıllarda yapacağı çalışmalar da bilimsel düşünceyi ön plana çıkarmaları vektör mücadelesinin sağlıklı yürütülmesine katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Belediye, Biyosidal ürün, Entegre mücadele, Vektör mücadelesi



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KONFERANS 07

30 Eylül 2019 – 16:00-16:30

One Health Approach to the Control of Visceral Leishmaniasis in Bangladesh

Chizu SANJOBA

Laboratory of Molecular Immunology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences,
The University of Tokyo, Tokyo, JAPAN

E-mail: asanjoba@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

Visceral leishmaniasis (VL) is caused by protozoa parasite, *Leishmania* species and it transmitted to humans or animals by the bite of female sand flies. VL usually affects people in poverty the hardest, due to their living conditions, which brings them into close contact with insects, livestock and other disease-carrying animals. Since the disease's transmission cycles are complicated and different from area to area, the adopting the "One Health" approach, where research and interventions cover not only humans but also the animals and environments that surround them, is crucial.

In Bangladesh, VL is not only a health problem, but also a major obstacle to socioeconomic development. From an epidemiological and public health point of view, the knowledge, attitude and practice (KAP) of people live in endemic area about leishmaniasis are also essential in order to propose successful integrated control strategy against VL. Lack of information about people's KAP about VL impedes the implementation of preventive measures. Here, the project named SATREPS aimed to establish genetic diagnostic, immune-diagnostic, urine test, integrated vector control and education tailored to local conditions, and get to grips with the malady will be presented.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KONFERANS 08

30 Eylül 2019 – 16:30-17:00

Novel Approaches to the Treatment and Control of Cryptosporidiosis

Alejandro CASTELLANOS-GONZALEZ

Internal Medicine-Infectious Diseases University of Texas Medical Branch, Galveston Texas, USA

E-posta: alcastel@utmb.edu

Cryptosporidium is a leading cause of moderate-to-severe diarrhea in children. Nitazoxanide is the only FDA-approved medication available for cryptosporidiosis treatment, but it has limited efficacy in malnourished children and is ineffective in immunocompromised individuals. More effective treatment options are urgently needed. Our overall goal is to develop a novel therapy (based in antisense RNA) to treat Cryptosporidiosis. The limitations of tools used to genetically manipulate gene expression in this parasite have been identified as a major hurdle for drug and vaccine development. To circumvent this gap, our group has developed a novel technology to silence genes in *Cryptosporidium* by transfecting parasites with ssRNA/Argonaute (a protein with slicer activity) complexes. We used this method to determine the role of selected genes during *Cryptosporidium* infection. Our preliminary results showed that silencing Actin (*Act*), Nucleoside diphosphate kinase (*Ndk*), Rhomboid protein 1 (*Rom1*) and transcription factor Ap2 (*Ap2*) block proliferation and egress of *Cryptosporidium* parasites. Thus, we hypothesized that these complexes may be used in synergistic way to cure the infection. Our results demonstrated that ssRNA/Ago treatment targeting selected genes arrested parasite development without affecting host cells. The optimization and validation of this novel strategy will be essential to conduct future studies focused to use ssRNA/Ago complexes in therapy against Cryptosporidiosis.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KONFERANS 09

30 Eylül 2019 – 17:00-17:30

Tedavi Edilebilir Cinsel Yolla Bulaşan Enfeksiyonlar ve Tanı Yöntemleri

Hatice YAZISIZ

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, ANTALYA

E-posta: drhyazisiz@yahoo.com.tr

Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar (CYBE), Human immunodeficiency virüs (HIV) enfeksiyonunun tanımlanması ile yeniden önem kazanan ve halk sağlığı sorunu olarak tüm dünyada önemsenen enfeksiyonlardır. Bu hastalıkların klinik ve laboratuvar tanılarında yaşanan güçlükler nedeniyle önleme ve kontrol programlarında zorluklar yaşanmakta ve dünyada gizli bir epidemi yaparak yayıldıkları düşünülmektedir.

Dünyada her gün bir milyondan fazla cinsel yolla bulaşan enfeksiyon kazanılmaktadır. Günümüzde cinsel temas yoluyla bulaşan 30'dan fazla bakteri, virüs ve parazit olduğu bilinmektedir. Bu patojenlerin sekizi daha yüksek insidansda görülmektedir ve dördü tedavi edilebilir cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlardır: Gonore (*Neisseria gonorrhoeae*), klamidy (*Chlamydia trachomatis*), sifiliz (*Treponema pallidum subspecies pallidum*), ve trikomoniyaz (*Trichomonas vaginalis*). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) periyodik olarak, bu dört enfeksiyonun küresel yükünü ölçmek için tahminlerde bulunmaktadır. 2016 yılında 376 milyon yeni enfeksiyon (trikomoniyaz 156 milyon, klamidy 127 milyon, gonore 87 milyon, sifiliz 6.3 milyon) öngörmüştür. Bu enfeksiyonlar tedavi edilebilir olduğu için insidans oranlarını tahmin etmek, CYBE önleme ve yönetim stratejilerinin potansiyel etkisine dair öngörü sağlayabilmektedir.

Bu etkenler klinik olarak servisit, üretrit ve genital ülserasyon gibi akut hastalıklara neden olurlar. Ayrıca pelvik inflamatuvar hastalık, ektopik gebelik, kısırlık, kronik pelvik ağrı ve yetişkinlerde nörolojik ve kardiyovasküler hastalık, yenidoğan ölümü, erken doğum, körlük veya bebeklerde ciddi sakatlık, HIV bulaşma riskini artırma dahil olmak üzere ciddi komplikasyonlara ve uzun süreli sekillere yol açabilirler.

Trikomoniyaz: Bir protozoan olan *Trichomonas vaginalis* tarafından oluşturulur. Trikomoniyazın klinik belirtilerinin nonspesifik olması ve enfeksiyonun sıklıkla asemptomatik olması nedeniyle kesin tanı uygun laboratuvar testleriyle yapılmalıdır. Laboratuvar tanısında mikroskopik inceleme, kültür, antijen testleri, nükleik asit temelli testler kullanılmaktadır. Kadınlarda vajinal akıntıdan direkt preparat hazırlanıp serum fizyolojik ile karıştırılarak mikroskopik olarak incelemek en yaygın kullanılan yöntemdir. Direkt bakı ile moleküler teknikleri karşılaştıran çalışmalarda deneyimli kişiler tarafından ve hemen bakılmasına rağmen mikroskopinin duyarlılığı %44-68 arasında bulunmuştur. *Trichomonas vaginalis*'in kültürde üretilmesinin mikroskopik değerlendirmeye göre duyarlılığı daha yüksektir. Kültür dışında mikroorganizmanın doğrudan tespit edilmesini sağlayan ticari olarak bulunan antijen testleri (OSOM Tricomonas rapid test (Sekisui Diagnostics, California, ABD), Tv lateks aglutinasyon test (Kalon Biological, Surrey, UK)) bulunmaktadır. Nükleik asit amplifikasyon testi'lerinin (NAAT) kültür, mikroskopi, antijen testleri, nükleik asit probe testlerine göre analitik duyarlılığı yüksektir (%76-100). NAAT'leri, *Trichomonas vaginalis* enfeksiyonlarının tanısında daha düşük duyarlılığı olan testlere üstün olmasına rağmen kültür, tedaviye dirençli, persistan



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

enfeksiyonlarda ve antimikrobiyal duyarlılık testi yapılması gereken durumlarda önemini korumaktadır.

Klamidya: Klamidya türleri arasında *Chlamydia trachomatis*, yol açtığı trahom ve cinsel yolla bulaşan hastalıklar nedeniyle üzerinde en çok çalışılan tür olmuştur. Amerika Birleşik Devletleri'nde en sık görülen bakteriyel cinsel yolla bulaşan enfeksiyon etkenidir. Yüksek duyarlılık ve özgüllüğü nedeniyle NAAT'leri genital *Chlamydia trachomatis* enfeksiyonları tanısında ilk tercih edilecek tanı testleridir. Diğer tanı testleri arasında hücre kültürü, klinik örneklerde antijen tespiti ve serolojik testler yer almaktadır.

Gonore (Bel Soğukluğu): *Neisseria gonorrhoeae*'nin etken olduğu üretra, serviks, epididimit, anüs gibi ilgili organlarda pürülan akıntı ile karakterize bir hastalıktır. Laboratuvar tanısında klinik örnekten direkt inceleme (gram boyalı mikroskobik inceleme), antijen araştırılması, kültür ve izolasyon yöntemleri ve nükleik asit temelli testler kullanılmaktadır Erkeklerde pürülan üretritli vakalarda Gram boyamanın duyarlılığı ve özgüllüğü yüksektir ancak kadınlarda tüm negatif sonuçlar ve asemptomatik erkeklerin sonuçları kültür ile doğrulanmalıdır. Nükleik asit amplifikasyon testleri hızlı, duyarlı ve özgül olmaları nedeniyle pek çok laboratuvar da kültürün yerini almıştır. Ürogenital ve nongenital anatomik bölgelerde *Neisseria gonorrhoeae* tespiti için NAAT'in duyarlılığı kültürden üstündür, ancak NAAT tipine göre değişir. Şüpheli veya belgelenmiş tedavi başarısızlığı durumlarında hem kültür hem de anti-mikrobiyal duyarlılık testi yapılmalıdır çünkü kültür dışı testler anti-mikrobiyal duyarlılık sonuçları veremez.

Sifiliz: *Treponema pallidum subspecies pallidum*'un etken olduğu sistemik bir hastalıktır. DSÖ verilerine göre tedavi edilebilir cinsel yolla bulaşan hastalıklar içinde dördüncü sırada yer alır. Tanıda karanlık alan mikroskopisi, direkt floresan antikor testi, NAAT'leri, serolojik testler kullanılır. Hastaların çoğunda sifiliz tanısı serolojik testler ile koyulur. Serolojik testler non-treponemal ve treponemal olarak iki grup test kullanılır. Non-treponemal testler; tarama testi olarak, hastalık aktivitesinin ve tedaviye yanıtının değerlendirilmesinde kullanılır. Non-treponemal testler pozitif saptandığında treponemal testler ile doğrulama yapılması gerekir. Treponemal testler sifiliz geçirmiş kişilerde erken dönemde tedavi edilmiş olguların dışında hayat boyu pozitif kalırlar.

Bölgemizde kadınlarda sık görülen CYBE sıklığını belirlemek için yaptığımız çalışmada, vajinal akıntısı olan ardışık 215 kadın hastadan alınan sürüntü örneklerinde moleküler yöntemlerle *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis* ve *Neisseria gonorrhoeae* varlığını araştırdık. Aynı zamanda serum fizyolojik ile direkt bakı, Gram ve Giemsa boyalı preparatların incelenmesi ve kültür yöntemlerini de uyguladığımız çalışmamızda örneklerin %30,3'ünde en az bir mikrobiyolojik etken saptadık. Vakalarımızın büyük bölümünü vulvovajinal kandidiyazis veya bakteriyel vajinozisli hastalar oluşturmaktaydı. Sık görülen CYBE'nin bizim kadın popülasyonumuzda literatürde bildirilenden düşük olduğu -*Trichomonas vaginalis* (%1.9), *Chlamydia trachomatis* (%0,9), *Neisseria gonorrhoeae* (%0,5) görüldü. Bunun nedeninin, bizim çalışma grubumuzdaki kadınların CYBE açısından yüksek riskli olan popülasyon olmamasından kaynaklandığını düşünüyoruz.

Bu enfeksiyonların çoğunun asemptomatik olarak taşınması, cinsel sağlığın kültürel damgalanması, genç ve azınlık topluluklarında orantısız bir hastalık yükü, yeni testlere maliyet ve erişimde eşitlik ve önleme teknolojileri, mevcut zorlukların yalnızca birkaçıdır. Patojenleri saptayan teknolojiler ve iyileştirilmiş tedavi seçeneklerinde kaydedilen ilerlemelere rağmen, CYBE görülme sıklığı küresel olarak büyümeye devam etmektedir.

Bu sunumda tedavi edilebilir cinsel yolla bulaşan enfeksiyonların önemi, temel tanı yöntemleri, laboratuvar tanılarında karşılaşılan zorluklar, ülkemizden ve dünyadan güncel veriler eşliğinde tartışılacaktır.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KAYNAKLAR

1. Ünal S, Zarakolu IP. Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar ve genel özellikleri. 3. Baskı, (Cilt 1) Edi: Topcu AW, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi: Nobel Tıp Kitabevi, 2008, s1549.
2. Sexually transmitted infections (STIs). WHO 2019. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis))
3. Newman L, Rowley J, Vander Hoorn S, Wijesooriya NS, Unemo M, Low N, Stevens G, Gottlieb S, Kiarie J, Temmerman M. Global Estimates of the Prevalence and Incidence of Four Curable Sexually Transmitted Infections in 2012 Based on Systematic Review and Global Reporting. PLoS One. 2015 Dec 8;10(12):e0143304.
4. Meites E. Trichomoniasis: the "neglected" sexually transmitted disease. Infect Dis Clin North Am. 2013; 27(4): 755-64.
5. Hobbs M.M, et.al. Modern diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection. Sex Transm Infect 2013; 89: 434-438 Review.
6. Mahony JB, Coombes BK, and Chernesky MA. Chlamydia and Chlamydothila. Manual of Clinical Microbiology, 8th Edition (Vol. 1). Edi: Murray PR, s 991
7. Ağaçfidan A. Chlamydia ve Chlamydothila. Tıbbi Mikrobiyoloji 6. Baskı, Çeviri Edi: Ahmet C. Başustaoğlu: Atlas Kitapçılık Tic. Ltd. Şti. s 441, 2014, Ankara.
8. Gerçeker D. Neisseria ve İlgili Bakteriler. Tıbbi Mikrobiyoloji 6. Baskı, Çeviri Edi: Ahmet C. Başustaoğlu. Atlas Kitapçılık Tic. Ltd. Şti. s291, 2014, Ankara.
9. Ögünç D, Öngüt G. Treponema, Borrelia ve Leptospira. Tıbbi Mikrobiyoloji 6. Baskı, Çeviri Edi: Ahmet C. Başustaoğlu: Atlas Kitapçılık Tic. Ltd. Şti. s 405, 2014, Ankara.
10. Thng CCM. A Review of Sexually Transmitted Infections in Australia -Considerations in 2018. Acad Forensic Pathol. 2018 Dec;8(4):938-946.
11. Gonococcal Infections in Adolescents and Adults. 2015 Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. <https://www.cdc.gov/std/tg2015/gonorrhoea.htm>



The Methodology of Integrated WNV Surveillance Programme in Serbia

Dušan PETRIĆ¹, Tamaš PETROVIĆ², Milanko ŠEKLER³, Mitra DRAKULOVIĆ⁴, Dejan VIDANOVIĆ³, Zoran DEBELJAK³, Aleksandra IGNJATOVIĆ ĆUPINA¹, Gospava LAZIĆ², Diana LUPULOVIĆ², Sava LAZIĆ², Mišo KOLAREVIĆ³, Budimir PLAVŠIĆ⁵

¹Laboratory for medical and veterinary entomology, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad, Novi Sad, SERBIA, ²Department for virology, Scientific Veterinary Institute "Novi Sad", Novi Sad, SERBIA,

³Specialized Veterinary Institute "Kraljevo", Kraljevo, SERBIA, ⁴National Public Health institute "Dr Milan Jovanovic Batut", Belgrade SERBIA; ⁵Ministry of Agriculture and Environmental Protection, Veterinary Directorate, Belgrade, SERBIA

E-mail: dusanp@polj.uns.ac.rs

Nationwide surveillance of West Nile virus (WNV) infection in humans initiated by the Republic of Serbia Ministry of Health, started in 2012, with the aim of early detection of cases and identification of affected areas and risk factors for WNV infection. Surveillance was coordinated by National Public Health Institute and performed by the 24 regional institutes through a) active surveillance; b) enhanced surveillance around identified cases; and c) passive surveillance. Research conducted during 2005-2013 has confirmed active WNV circulation in Serbia. Based on these studies and the epidemiological situation, the Veterinary Directorate of the Ministry of Agriculture and Environmental Protection launched a national WNV surveillance programme in 2014-15 and 2017-18. The programme encompassed the whole territory of Serbia and was conducted by the veterinary service in collaboration with entomologists, ornithologists and informal collaboration with public health specialists. The objective of the programme was early detection of WNV and timely reporting to the public health service and local authorities to increase both clinical and mosquito control preparedness. The WNV surveillance programme is based on indirect and direct surveillance of the presence of WNV in the environment by the serological testing of sentinel horses (IgG/IgM) and chickens (IgG antibodies) as well as through virus detection in pooled *Cx. pipiens* mosquito and wild bird samples. The most intense WNV circulation was observed in all seven districts of the Vojvodina Province (northern Serbia) and Belgrade City. The West Nile virus surveillance programme showed satisfactory results in the capacity to indicate the spatial distribution of the risk for humans and sensitivity to early detect viral circulation at the enzootic level. Most of the human cases were preceded by the detection of WNV circulation in mosquitoes, horses and birds through the surveillance programme. According to the existing data, it seems that WNV infection, now endemic in Serbia, will continue to present a significant problem for the animal and public health.

Key Words: West Nile virus, *Culex pipiens*, WNV surveillance methodology, mosquito, horse, and bird surveillance.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KONFERANS 11

01 Ekim 2019 – 15:00-15:30

Yeni Nesil Tıp Eğitimi ve Parazitoloji Dersleri

Muttalıp ÇİÇEK

Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, KIRŞEHİR

E-posta: muttalipcicek@hotmail.com

Çağdaş tıp eğitiminin temel adımları dünya çapında Abraham Flexner Raporu ile atılırken, ülkemizde de Cumhuriyetin kuruluşu ile anlam kazanmıştır. Globalleşen günümüz dünyasında bilgi teknolojilerinde ortaya çıkan gelişmeler bilgiye erişimi kolaylaştırdı. Tıp eğitiminin temel amacı iyi hekim yetiştirmektir. Hekimlerin eğitimi yıllarca önemsenmektedir ve sürekli niteliği tartışılmaktadır ve asırlara göre değişmektedir. Orta Çağ'da tıp eğitimi bir usta-çırak işi iken, 20'nci yüzyılın başlarından itibaren yerini, disiplin temelli klasik eğitime bıraktı. 20'nci yüzyılın ikinci yarısından itibaren buna entegre eğitim ve probleme dayalı öğrenme kavramları eklendi. Günümüzde ise karma eğitim, simüle hasta eğitimi ve kanıta dayalı tıp uygulamaları konuşuluyor. Öğrenme, tümünü bilmekten nasıl olduğunu bilmek kavramına dönüşmüştür. Yöntem ne olursa olsun amaç klasik bilgi ve ezberin dışında, öğretileni ne kadar çok kalıcı yapabiliriz ve toplumun sağlığını yükselten nasıl nitelikli hekim yetiştirebiliriz olmalıdır (1-4).

Ülkemizde uygulanan ilk-orta öğretim döneminde eğitim sistemimizdeki aksaklıklardan dolayı, yeteneğe değil bilgiye dayalı sınav sisteminin etkisiyle ezberci, sosyal ilişkileri zayıf, kendi kendine öğrenme, sorma, tartışma, üretme ve iş birliği yapma, fikir ve araştırma konusunda yeterli altyapıdan yoksun bir öğrenci grubu yetiştiriliyor. Bu öğrenciler çoğunlukla bilinçsizce ve aile ya da çevrenin etkisiyle tıp fakültelerini seçiyor, yoğun eğitim sürecinde bocalıyor ve meslekten soğuyorlar. Böyle bir durumda öğrencilerin doktor olarak eğitilmesi tıp eğitiminin ilk zorluklarından biri olarak gözükmektedir (4).

21. yüzyılda tıp eğitimi çağın koşullarına uygun olarak verilmesi için, disiplin temelli eğitimden farklılaşarak yeterlik ve yetkinliğin değerlendirildiği çıktıya dayalı eğitim modellerine doğru şekillenmiştir (5). Eğitim programının çıktıya dayalı olması giderek önem arz etmektedir. Çıktıya dayalı eğitimde, öğrenim hedefleri ve yetkinlikler önceden açıklanmaktadır. Öğrenen ve öğreten bu sınırlar içinde dolaşmaktadır. Öğrenen kendisinden ne beklediğinin, eğitici de tanımlanan yetkinliklere ulaşmayı hedeflemektedir. Değerlendirme de bu öğrenim hedefleri üzerinden yapılmaktadır (6).

21. yüzyılda tıp eğitimindeki gelinen noktada ezberci yerine öğrenen öğrenci yetiştirmektir. Öğrenme öğrencide merak uyandırılarak gerçekleştirilmektedir. Günümüzde, tıp öğrencisinin belirli tıbbi ilkeler ve bilginin neler olduğunu bilmek yerine, bilgiye nasıl ulaşılacağını ve bilgiyi nasıl kullanacağını bilmesi beklenmektedir (7).

Yine günümüzde teknolojinin tıp eğitimine yansması olarak, simülatörlerin kullanımı, internetten öğrenme ya da web tabanlı öğrenme karşımıza çıkmaktadır. Simülatörlerle eğitim özellikle yeterliğe dayalı eğitim açısından çok değerlidir. Simülatörlerle eğitim; öğrenmeyi kolaylaştırır, eğitim zamanını kısaltır ve hastanın maruz kalacağı riski en aza indirir. Bu nedenle, klinik beceri eğitiminin kalitesini artırmada modellerin etkili bir şekilde kullanılması önemli bir husustur (3, 8).

Son dönemlerin tıp eğitiminde popüler başlığı profesyonelliktir. Sağlık sektöründe hızlı değişiklikler, profesyonel hekimlere olan ihtiyacı da gündeme getirmiştir. Sosyologlar profesyonel kavramını, bir işi bilgi bütünü ve uzmanlık gerektiren beceriler temelinde toplumun refahını artırmak için hizmet



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

götürmek olarak tanımlamaktadırlar (9, 10). Tıpta profesyonellik, meslek ile toplum arasındaki sözleşmedir (11). Diğer bir tabirle, etik kurallara uygun çalışan, mesleki farkındalığı olan, toplumsal sorumluluğu olan, yaşam boyu öğrenen, eleştirel düşünebilme yeteneği kazanmış, hastasına saygılı, başarılı ekip çalışmasına sahip olan kavramlar bütünüyle tanımlanmaktadır (12). Mesleki değerler iyi hekimliğin temel ögesi olduğu için, profesyonellik tıp eğitimi döneminde kazandırılmalıdır.

Hekimin bir başka görevi ise sağlığın korunması, hastalıkların nedenleri, sonuçları ve tedavisi konularında evrensel bilgi birikimine katkı yapacak araştırmalar ve çalışmalar yapmasıdır. Yaşadığımız bu yüzyıl, hekimin sağlığı sürekli geliştiren ve koruyan yetkinlikte olmasını gerektirmektedir. Yeni sağlık hizmet sunumu sistemlerinde hekimlik yapabilmek için eğitim programına klasik temel bilimlerin yanı sıra istatistik, epidemiyoloji, tıpta karar verme, ekip çalışması, ekonomi, psikoloji ve etik gibi konuların da eklenmesi önerilmektedir (5, 13).

Türkiye’de temel tıp eğitiminde kazanılması gereken yetkinlikler ise Tıp Eğitimi Programlarını Değerlendirme ve Akreditasyon Derneği (TEPDAD) tarafından tanımlanmıştır. TEPDAD tarafından belirlenen temel tıp eğitimi sonunda kazanılacak yetkinlikler; profesyonellik, sağlık savunucusu, ekip üyesi, danışman, yönetici-lider, bilim insanı ve iletişimci olarak belirlenmiştir (14).

Genel olarak tıp eğitimi ile ilgili güncel öneriler; eğitim müfredatında yoğun bilgi yüklenmesinin sınırlandırılması, genel hekimlik kurallarının aktarılması, aktif eğitimin öne çıkarılması, erken klinik dersleri ve buna paralel hasta temasının erkene alınması, sağlık sistemleri konusunda bilgilendirilmesi ve en önemlisi öğrencinin nasıl öğreneceğinin sağlanması temel hedef olarak öne çıkmaktadır. Eğitim yöntemlerindeki gelişmeler tıp eğitiminde de anlamlı öğrenme, bilgi yönetimi, liderlik/ekip çalışması becerisi, iletişim becerileri, kendini ifade etme (yazı yazma, sunum yapma) ve profesyonel tutum gibi yeni kavramlar öğretisini zorunlu kılmaktadır (3). Eğitimin dershanelerin dışına çıkarılarak; küçük grup öğrenme ortamları, klinik beceri laboratuvarları ve birinci-ikinci basamak sağlık kuruluşlarına taşınması güncel eğitimin modelini oluşturmaktadır (15). Ayaktan tedavi merkezlerinde yapılan topluma dayalı eğitim, öğrencinin mezuniyet sonrası çalışma koşullarına göre daha iyi hazırlanmasını sağlarken, yeni teknolojinin kullanımı, olgu temelli eğitim, probleme dayalı öğrenme ve ekip içinde öğrenme tıp eğitiminde 21. yüzyılda iyi hekim yetiştirme hedefini karşılayacak temel ilkeler olarak göze çarpmaktadır (16).

Dünya Tıp Eğitimi Federasyonu, hekimlerin serbest dolaşımını desteklemek ve tüm dünyada tıp eğitimini geliştirmek amacıyla ülkelerin alt yapı ve eğitim standartlarını belirlemesi, bir çekirdek eğitim programının olması ve bunun uygulanmasının denetlenmesini öneriyor.

2002 yılından beri ABD ve Kanada gibi ülkelerde olduğu şekilde ülkemizde de Ulusal Çekirdek Eğitim Programı uygulanmaktadır. 2014 yılı içinde Tıp Dekanları Konseyi tarafından Ulusal Çekirdek Eğitim Programı (ÇEP) yeniden gözden geçirildi ve günümüz şartlarına uygun hale getirildi. Yakın zamanda Temel Tıp Bilimleri ile ilgili çekirdek eğitim programı oluşturulması düşünülmektedir.

Böyle bir ÇEP programı yapılmak isteniyorsa Parazitoloji camiası olarak önereceğimiz parazitoloji dersleri müfredatı ne olmalıdır? Ya da ortak bir müfredat oluşturarak bu çerçevede bilinmesi gerekli parazitoloji ders başlıkları çıkartılarak tüm tıp fakültelerinde benzer kredi sayısı ve içerikten oluşan müfredatın okutulması taslak olarak sunulabilir. Temel tıp bilimleri ÇEP programı hazırlanacağı zaman taslağımız hazır olabilir.

Parazitlerle ilgili merak uyandıracak başlıklarla derse başlamak ve bazı sorularla devam etmek öğrenmeyi artıracaktır. Zira merak öğrenmenin temelini oluşturmaktadır.

Öğrenciyi gereğinden fazla parazitler morfoloji ve terminolojide boğmadan klinik parazitoloji öne çıkarılarak anlatılacak parazitoloji dersleri, hekimin mesleğini icra sürecine daha fazla katkı sağlayacaktır.

Anlatılan parazitoloji derslerinin Olgu temelli öğrenimle desteklenmesi öğrenmeyi pekiştirecektir. Olgular dersten birkaç gün öncesinden öğrencilere dağıtılarak derste aktif eğitim ortamı oluşturulabilir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Ya da konu anlatıldıktan sonra konuyla ilgili olgu verilerek anlatılan teorik eğitim klinik parazitolojiye dönüştürülecek ve böylece öğrenme daha kalıcı olacaktır.

Yine anlatacak parazitoloji derslerinden önce dersin öğrenim çıktıları belli olmalı. Bu sayede öğrenci geniş parazitoloji konuları içerisinde boğulmadan hedefler çerçevesinde öğrenecektir. Gereksiz bilgide boğmadan, ancak uzmanlık seviyesindeki bilgiden uzak bir pratisyen hekim seviyesinde bilmesi gerekli bilgi öğretilmesi öğrenmeyi basite indirgeyerek kalıcı kılacaktır.

Görselli ve laboratuvar ağırlıklı eğitim her zaman parazitoloji eğitiminin temelini oluşturmaktadır. Mikroskopta gaita mikroskopisi yaparak patojen ve apatojen yapıların tanıtılması, yumurta, kist ve trofozoitlerin gösterilmesi en klasik ve vazgeçilmeyecek temel eğitimlerdir. Son yıllarda artan tıp fakültesi kontenjanları bu laboratuvar eğitimlerinde pratike dayalı eğitimlere sekte vurmaktadır. Bu olumsuzluğa rağmen görsel ve laboratuvar ağırlıklı eğitimlere ve yine buna paralel ölçme ve değerlendirilmelerde ısrar edilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Başer A, Şahin H. Atatürk'ten günümüze tıp eğitimi. *Tıp Eğitimi Dünyası*, 2017, 48: 70-83.
2. Elçin M. Sağlık Ortamının Geldiği Noktada Tıp Eğitiminden Beklentiler. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*, 2001 10: 338.
3. Sayek İ, Turan S, Naçar M, Akalın AA. Tıp Eğitici El Kitabı. Güneş Tıp Kitapevleri Ltd Şti, 1. Baskı, 2016, 6-11.
4. Güven M. (Tıp Dekanlar Konseyi Dönem Başkanı), Türkiye'de tıp eğitimi dünyanın neresinde? 2014.
5. Seifer SD. Recent and emerging trends in undergraduate medical education. Curricular responses to a rapidly changing health care system. *West J Med*, 1998, 168: 400-11.
6. Harden RM. Trends and the future of postgraduate medical education. *Emerg Med J*. 2006; 23: 798-802.
7. Davidoff F. Focus on performance: the 21 century revolution in medical education. *Mens Sana Monogr*, 2008, 6: 29-40.
8. Yazar F. Tıp eğitiminde beceri laboratuvarları ve simülörlerin kullanılması. *Güllhane Tıp Dergisi*, 2003, 45: 96-99.
9. Mook MWNKA, Grave WSD, Wass V, O'Sullivan H, Zwaveling JH, Schuwirth LW. Professionalism: Evolution of the concept. *European Journal of Internal Medicine*, 2009, 20: 81-84.
10. Altok HÖ, Üstün B. Profesyonellik: Kavram Analizi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Hemşirelik Yüksekokulu Elektronik Dergisi*, 2014, 7: 151-155.
11. ABIM Foundation. American Board of Internal Medicine; ACP-ASIM Foundation. *American College of Physicians-American Society of Internal Medicine; Medical professionalism in the new millennium: a physician charter*. 2002, 5: 243-6.
12. Hilton SR, Slotnick HB. Proto-professionalism: how professionalisation occurs across the continuum of medical education. *Medical Education* 2005;39: 58-65.
13. Ataaoglu S. Tıp Eğitimi İlkeleri, Eğitim Amaçları ve Değerlendirme Stratejisi. *Duzce Tıp Fak Derg*, 2018, 20:57-58.
14. http://tepdad.org.tr/uploads/files/Belgeler%20ve%20formlar/MOTE_STANDARTLAR_2015.pdf, 26.08.2019.
15. Hays R. Evolving community-based medical education: integrating undergraduate and postgraduate education. *Education for Primary Care*, 2008, 19: 235-240.
16. Prober CG, Heath C. Lecture halls without lectures--a proposal for medical education. *NEJM*, 2012, 3: 1657-9.



New Nanovaccine Formulations Against Visseral Leishmaniasis

Adil M. ALLAHVERDİYEV

Yıldız Technical University, Department of Bioengineering, Esenler, ISTANBUL

E-mail: adilmoglu@gmail.com

Leishmaniasis is one of the most important public health problems in the world. Despite the fight against Leishmaniasis for many years, still problems are arising, the reasons for the prevalence of the disease are the development of resistance to the drugs which used for parasites and the insecticides used in the vectors. Although there are several current approaches for development vaccine against Leishmaniasis, but until now it has been not possible to develop an effective vaccine against this infection. In the recent years, it has been reported that polymer-based vaccine formulations have more immunogenic effects than soluble antigens. Polymer can produce immune response, with low antigenic molecules. In this field, our obtained results demonstrated that conjugates of LPG and PAA, autoclaved Leishmanial antigen - PAA nanoparticles and soluble Leishmanial antigen PAA nanoparticles formulations provide exceptional *in vitro* and *in vivo* immunostimulatory activities. In the recent years, more attention has been paid to also nanoparticle-based carrier systems in vaccine studies. The advantage of such systems is that provide long-term, controlled and effective release, and facilitate targeted transport. Although there are several studies related to the subject in the literature but we did not find any study about Leishmaniasis.

For this reason, for the first time, we prepared nanovaccine formulations based on immunogen molecules (LPG, GP63) isolated from *Leishmania* parasites (*L. infantum*) by encapsulation of these antigens to polymeric nanoparticles Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA). Our *in vitro*, *in vivo* obtained results show that, vaccine formulations based on polymer polyacrylic acid (PAA) and nano-carrier systems (PLGA) containing LPG and gp63 molecules are thought to have a great potential to make a great contribution to the country's economy due to the low external competition. However, before proceeding to clinical phase studies, it is important to first examine the effectiveness of these formulations on dogs which are an important reservoir of *Leishmania* parasites.

The results related to these studies were published in different international journals. Thank you for all financial support to TÜBİTAK.

Key Words: Leishmaniasis, Vaccine, Nanovaccine, Encapsulation



Small Ruminant Babesiosis (Keçiler için enfektif yeni bir *Babesia* türü?)

Münir AKTAŞ

Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ELAZIĞ

E-posta: maktas@firat.edu.tr

Babesiosis, *Babesia* cinsinde yer alan apikompleksan protozoonların neden olduğu bir hastalıktır. Bu hastalık ülkemizin de içinde yer aldığı tropik ve subtropik bölgelerde evcil ve yabani hayvanlarda yaygın olarak görülmekte ve yüksek mortalite ile seyreden klinik enfeksiyonlara neden olmaktadır. Koyun ve keçilerde babesiosise, *Babesia ovis*, *Babesia motasi*, *Babesia crassa*, *Babesia foliata* ve *Babesia taylori*'nin neden olduğu bildirilmiştir. Bunlardan *B. foliata* ve *B. taylori* 70 yıl önce Hindistan'da tanımlanmış, ancak bu iki tür ile ilgili daha sonra herhangi bir çalışma bildirilmemiştir. Mikroskopik yapının *B. motasi*'nin morfolojisine çok benzer olduğu için bazı araştırmacılar Hindistan'da tanımlanan *B. foliata*'nın geçerliliğine şüpheyle bakmışlardır. *B. motasi*'nin en az iki tür veya alt türden oluşabileceği, kuzey Avrupa'da düşük, güney Avrupa ve Akdeniz havzasında yüksek patojenite gruplamasının olabileceği ileri sürülmüştür. Son yapılan araştırma sonuçlarına göre *B. crassa*'nın *B. motasi* ve *B. ovis*'den farklı bir tür olduğu kabul edilmiştir. Moleküler parazitolojideki gelişmelere paralel olarak son 20 yıl içinde, Piroplasmorida dizisinde bulunan kan protozoonları üzerindeki ilgi artmış ve buna bağlı olarak evcil hayvanlarda enfeksiyonlara neden olan *Babesia lengau*, *Babesia lengau*-like, *Babesia* sp. Xinjiang, *T. uilenbergi*, *T. luwenshuni* ve *T. haneyi* n. sp. gibi yeni türler tanımlanmıştır. Bu sunuda küçük ruminantlarda yeni bir *Babesia* türü? üzerinde durulacaktır.

Anahtar kelimeler: *Babesia*, babesiosis, small ruminant

Bu çalışmalar TÜBİTAK (118O871) ve Fırat Üniversitesi (VF.19.12) tarafından desteklenmektedir.



Respiratory and Vascular Nematodes of European Carnivores: Missing Pieces of a Complex Puzzle

Andrei Daniel MIHALCA, Georgiana DEAK, Angela Monica IONICĂ, Călin Mircea GHERMAN

Department of Parasitology and Parasitic Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Cluj-Napoca, ROMANIA

E-mail: amihalca@usamvcluj.ro

Many of the respiratory and vascular nematodes of European carnivores are known for more than a century and aspects of their biology and phylogenetic relations are being studied more intensely in the last years. However, despite the increasing interest, many aspects of their ecology, host spectrum and geographical distribution, taxonomic relationship and affiliation, life cycle, and medical importance remain poorly known. Most of these nematode species are shared between wild and domestic canids and felids (i.e. *Angiostrongylus vasorum*, *A. daskalovi*, *A. chabaudi*, *Crenosoma vulpis*, *Eucoleus aerophilus*, *E. boehmi*, *Dirofilaria immitis*, and *D. repens*), with wildlife acting as reservoirs of infection for domestic dogs and cats. Other species (i.e. *Perostrongylus falciformis*) were reported exclusively in wild mustelids and phylogenetic analyses showed unexpected evolutionary relationships. In the current land-use and climatic change context of Europe, distribution of hosts is rapidly changing, with certain species becoming naturally invasive, like the golden jackal, *Canis aureus* or others being human mediated invasions for long time (i.e. the American mink, *Neovison vison*). Moreover, all these nematodes require intermediate hosts for transmission (e.g. mosquitoes for *Dirofilaria* spp. and snail for the lungworms), with a low specificity in all cases. All these factors are able to influence a near future change in the ecology of respiratory and vascular nematodes of European carnivores. The aim of our current work is to discuss all these factors and gaps of knowledge, highlighting future lines of research and launching a call for cooperation between scientists in various countries.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KAPANIŞ KONFERANSI

02 Ekim 2019 – 16:00-16:30

Kanser ve Mikroorganizmalar: Parazitler

Ayşe CANER

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, Bornova, İZMİR; Kanserle Savaş Uygulama ve Araştırma Merkezi, Biyoinformatik AD, İZMİR

E-posta: ayse.caner@ege.edu.tr

Kanser ile mikroorganizma arasındaki ilişkiler uzun yıllardan beri bilinmekte ve bazı bakteri, parazit ve virüs türleri onkojenik süreçler ilişkilendirilmektedir. Bakteriler arasında ilk kez *Helicobacter pylori*'nin mide kanserine neden olduğu tanımlanmıştır. Daha sonra *Chlamydia psittaci*, *Borrelia burgdorferi* ve *Streptococcus bovis* gibi diğer bakteriler sırasıyla oküler, cilt ve kolorektal kanserler ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, insan bağırsağındaki kommensal bir bakteri olan *Bacteroides fragilis*'in son zamanlarda hayvan modellerinde kolorektal kanserlere neden olabileceği bildirilmiştir. İnsanlarda, ilk onkojenik virüs olarak Burkitt lenfoma ve nasofarengeal tümörlere neden olan *Epstein-Barr* virüs tanımlanmıştır. Daha sonra karaciğer kanserinde *Hepatit B* ve C'nin, lösemide retrovirüslerin, servikal kanserde papilloma virüsün ve Kaposi sarkomunda herpes virüsünün neden olduğu tespit edilmiştir. Bununla beraber bazı parazitlerin de kansere sebep olduğu bilinmektedir. Bunlardan *Opisthorchis felineus*, *Schistosoma haematobium* ve *Clonorchis viverrini*'nin karaciğer, mesane ve safra kanserinde rol oynadıkları belirtilmiştir. Son yıllarda oldukça popüler bir konu olan mikrobiyota ile kanserin oluşması, ilerlemesi ve tedavileri arasındaki ilişkiler araştırılmaktadır. Mikrobiyota ile beraber diyet, yağlar ve fitoöstrojenlerin metabolizması sonucunda oluşan metabolitlerin; hücre proliferasyonu, apoptoz, immün sistem, metastaz ve tümör mikroçevresine etki ettiği bildirilmektedir. Ayrıca kanser tedavisinde ve kemoterapilere karşı oluşan dirençde mikrobiyotanın önemini gösteren kanıtlar rapor edilmiştir.

Diğer önemli bir konu; mikroorganizmaların kanserde terapötik amaçlı kullanılmasıdır. Kanser tedavisinde mikroorganizmaların tedavi etkinliği ilk defa 1890 yılında William B. Coley tarafından bildirilmiş ve bakteriler ile enfekte olan çeşitli kanser hastalarında tümörlerin gerileme gösterdiği gözlemlenmiştir. Daha sonra, tümörlerin büyüme hızını veya boyutunu azaltmak için birçok bakteri kullanılmaya başlanmıştır. Bunların içinden en belirgin örnek, mesane kanseri tedavisinde aşı suşu olan *Mycobacterium bovis* BCG'nin kullanılması gösterilebilir. Pek çok çalışmada, tümörün cerrahi olarak çıkarılmasından sonra BCG immünoprofilaksisinin kullanımı ile nüks oranında azalma veya nüks süresinde gecikme arasında açık bir ilişki olduğunu gösterilmiştir. BCG'nin, mesane kanserine karşı bağışıklık sistemini güçlendirmek için kullanılırken, antijen sunan hücreleri hedef alan veya doğal bağışıklığın güçlü indükleyicileri olan *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella Typhimurium* gibi zayıflatılmış bakteri aşı vektörlerinde, kanserin önlenmesinde ve tedavisinde kullanılması önerilmiştir. Günümüzde bu konu ile ilgili deneysel ve klinik çalışmalar büyük bir ivme kazanarak devam etmektedir. Tümör mikroçevresindeki mikroorganizmaların seçici replikasyonu ve immünostimulan etkileri ile anti-tümör etki gösterdikleri ve hastalığın sistemik yan etkileri azalttıkları artık bilinmektedir. Bu etki canlı mikroorganizmaların veya onlara ait ürünlerin direkt ve dolaylı olarak kullanılması ile gerçekleşmektedir. Öte yandan, tümörlere karşı spesifik terapötik etkiyi artırmak için, immünostimulanların, sitokinlerin ve tümör antijenlerinin ekspresyonu, mikroorganizmalar ile yapılan gen manipülasyonları ile elde edilebilmektedir. Ayrıca bazı terapötik ajanların hedef kanser hücrelerine verilmesi için *Shigella*, *Clostridia* ve *Adenovirus* gibi mikroorganizma türlerinin kullanıldığı bildirilmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Kanser tedavisinde bakteri ve virüslerin kullanılması yanında, bazı protozoanların ve helmintlerin neden olduğu paraziter hastalıkların anti-tümör etki gösterdikleri bilinmektedir. Fakat bu etki mekanizmaları halen tam olarak açıklanamamıştır. Buna rağmen bazı paraziter hastalıkların tümörögeneze karşı; apoptozun indüklenmesi, immün yanıtın aktivasyonu, metastaz ve anjiyojenезin inhibisyonu, proliferatif sinyallerin inhibe edilmesi ve kansere neden olan enflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde rol oynadıkları gösterilmiştir. Ayrıca, *Toxoplasma gondii*, *Leishmania* ve *Trypanosoma cruzi* gibi parazitlerin genlerin aktarımı ve ekspresyonunda etkili vektörler oldukları ortaya çıkmıştır. *L. tarentolae*'nin, klonlama kapasitesinin yüksek olması, çok çeşitli yabancı antijenleri eksprese edebilme yeteneğine sahip olması ve düşük bir maliyetle hücresiz bir ortamda hızla çoğalma nedeniyle daha ekonomik ve etkili kanser aşuların tasarımı için kullanılmaktadır. Bu parazitin, Th1 immün sistem yoluyla korunma, antijen sunan hücreler içerisinde replikasyonun az olması ve enfeksiyondan hemen sonra elimine edilmesi dahil bazı özellikleri, canlı aşılama için uygun bir vektör haline getirmiştir. Paraziter organizmaların ve ürünlerinin anti-tümör etkileri ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Bu araştırmalar ile kanserde parazitlerin direk kendilerinin kullanılmasının veya ürünlerinden adjuvan etki gösterecek yeni moleküllerinin keşfedilmesinin çeşitli kanser türlerinin tedavisinde önemli gelişmeler sağlayacağı düşünülmektedir.

YUVARLAK MASA OTURUMLARI



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA OTURUMU 01

Sıtma

Düzenleyen	Sibel ERGÜVEN	
29 Eylül 2019		14:30 – 15:30
Seher TOPLUOĞLU	Sıtma Eliminasyon Deneyimi	14:30 – 14:45
Tuba KAYMAN	Sıtmanın Laboratuvar Tanısı: Konvansiyonel ve İleri Tanı Yöntemleri	14:45 – 15:00
Emrah RUH	Hamilelikte Sıtmaya Karşı Aralıklı Koruyucu Tedavi	15:00 – 15:15
Seray TÖZ	Artemisinin ve You You Tu	15:15 – 15:30



Sıtma Eliminasyon Deneyimi

Seher TOPLUOĞLU, Tuba KAYMAN, Hüseyin İLTER, Fatih KARA, Emine ALP MEŞE

T. C. Sağlık Bakanlığı, ANKARA

E-posta:

İnsanlık tarihinin bildiği en eski hastalıklardan biri olan sıtma, dünyada halen yaygın olarak görülen bir enfeksiyon hastalığıdır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2017 yılında dünyada 219 milyon sıtma vakası olduğunu ve bunlardan 435.000'nin hastalık nedeniyle hayatını kaybettiğini tahmin etmektedir.

İnsanlar sıtmadan korunmak amacıyla çok eski zamanlardan beri farklı yöntemler uygulamışlardır. Herodot M.Ö. 484-425 yılları arasında Mısır'ın bazı bölgelerinde insanların sivrisineklerin erişemeyeceği yüksek kulelerde, bataklıkların olduğu bölgelerde ise cibinlik altında uyduklarını gözlemlemiştir. Çinliler hastalığın tedavisi için 2000 yıldır antimalaryal etkinliği kanıtlanmış en az dört farklı ilaç kullanmaktadır. Laveran'ın 1880 yılında sıtma paraziti keşfetmesi ve sivrisineğin vektör olarak tanımlanmasından sonra hastalığa spesifik kontrol başlamıştır.

İlk kalıcı insektisit olan Dikloro-Difenil-Trikloroethan (DDT)'nin keşfedilmesi 1940'ların başında sıtma kontrol stratejilerinde önemli değişimlere yol açmıştır. DDT kullanılarak sıtma kontrolünde elde edilen başarıları göz önüne alarak 1955 yılında DSÖ, Global Sıtma Eradikasyon Programını başlatmıştır. Programın devam ettiği 14 yıl boyunca pek çok bölgede sıtma eradike edilmiş olsa da 1969'da 22. Dünya Sağlık Asamblesi, bazı ülkelerde kısa vadede sıtmanın eradikasyonunun mümkün olmadığını kabul ederek eradikasyon programını sonlandırmıştır. 1970 yılından itibaren sıtma endemik ülkelerde Sıtma Kontrol Programı uygulanmaya başlanmıştır.

Etkili sıtma yöntemlerinin geniş çapta uygulanması sonucunda hastalığın kontrolündeki ilerlemeler 2000'li yılların başında bazı endemik ülkelerde sıtmanın elimine edilebileceği görüşünü gündeme getirmiştir. Bu çerçevede 2005 yılında DSÖ Avrupa Bölgesinde sıtmanın elimine edilebilme şartlarının olduğu kararına varılarak DSÖ tarafından 2015 yılında yerli sıtma bulaşının sona erdirilmesini hedefleyen Taşkent Deklarasyonu deklare edilmiştir.

DSÖ Avrupa Bölgesinde 2010 yılında 179 yerli sıtma vakası bildirilmiş, 2014 yılında yerli bulaş sadece Tacikistan'da kalmış ve nihayet 2015 yılında DSÖ Avrupa Bölgesinde yer alan ülkemiz dahil hiçbir ülkeden yerli sıtma vaka bildirimi olmamıştır. Böylece Taşkent Deklarasyonunda belirlenen DSÖ Avrupa Bölgesinde 2015 yılında sıtmanın elimine edilmesi hedefine ulaşılmıştır.

Sıtma ülkemizde geçmişte yaygın görülen bir hastalık iken yürütülen yoğun çalışmalar neticesinde 2000 yılında 11.378 olan yerli sıtma vakası 2005 yılında 2.036'ya düşmüştür. 2005 yılında deklare edilen Taşkent Deklarasyonu Sayın Bakanımız tarafından imzalanarak ülkemizden sıtmanın eliminasyonu öngörülmüştür. Ülkemiz büyük bir başarıya imza atarak yerli sıtma bulaşını sona erdirmiştir. Ancak ülkemizde sıtma etkenini nakleden *Anofel* türlerinin bulunması, iklim ve çevresel faktörler, büyük nüfus hareketleri, sıtma endemik ülkelere seyahat edenlerin sayısının ve ticaret ilişkilerinin artması nedeniyle yurtdışı kaynaklı sıtma vakalarında artış görülmektedir. Ayrıca düzensiz göçmenler, ülkemizin sıtmanın yayılabileceği subtropikal bölgede yer alması ve iklim değişikliği nedeniyle ortalama hava sıcaklıklarında gözlenen artışlar nedeniyle sıtma riski halen devam ettiğinden faaliyetlerimiz kesintisiz olarak devam etmektedir.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 01

2

29 Eylül 2019 – 16:00-17:00

Sıtmanın Laboratuvar Tanısı: Konvansiyonel ve İleri Tanı Yöntemleri

Tuba KAYMAN

S.B. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Zoonotik ve Vektörel Hastalıklar Daire Başkanlığı, ANKARA

E-posta: tubakayman@hotmail.com

Sıtma, *Plasmodium* spp. tarafından meydana getirilen insanlık tarihinin bilinen en eski hastalığıdır. Fosil kayıtlarına göre, 20-30 milyon yıllık katmanlarda sivrisinek fosillerinin bulunması, yazılı tarihten önce sıtma ile karşılaşıldığını düşündürmektedir. Sıtmanın ilk kaydı MÖ 2.700'de Çin'de gerçekleşmiştir. Sıtma, Roma döneminden beri Akdeniz'de endemiktir ve bazı araştırmacılar tarafından hastalığın Roma İmparatorluğu'nun düşüşüne neden olduğu belirtilmiştir. Özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygın olarak görülen hastalık, günümüzde hala önemini korumaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2017 yılında dünyada 219 milyon sıtma vakası ve 435.000 ölüm meydana geldiğini rapor etmiştir.

Komplikasyonsuz sıtmanın semptomları genellikle non spesifik olup; bu semptomlar yüksek ateş, baş ağrısı, şiddetli üşüme, titreme, aşırı terleme ve halsizliktir. Ayırıcı tanıda akla getirilmediği takdirde hastalık atlanabilir ve tedavi edilmemesi nedeniyle de 24 saatten az bir süre içinde ilerleyerek ölüme sonuçlanabilir. Bu nedenle sıtma acil bir durumdur ve tanısı hızla konulmalıdır.

Hastalığın endemik olduğu bölgede yaşayan ya da bir süre bu bölgelerden birinde bulunmuş olan kimsede semptomların eşlik etmesi ve klinik şüphenin bulunması halinde; tedaviye başlamadan önce etkenin mikroskopik olarak gösterilmesi esastır. DSÖ, anti malarial tedaviye başlamadan önce vakaların laboratuvar tarafından doğrulanması gerektiğini belirtmektedir.

Hastalığın laboratuvar tanısında kullanılan yöntemler aşağıda yer almaktadır.

Mikroskopi:

Periferik kanın mikroskopik olarak değerlendirilmesi, tanıda altın standart yöntemdir.

Erişkinlerde yüzük veya orta parmak ucundan, çocuklarda topuk alt kısmından alınan periferik kandan kalın damla ve ince yayma preparatları hazırlanır. Giemsa ile boyanarak x100 immersiyon objektifi ile incelenir.

Kalın damla: Temiz lam üzerine alınan kan damlası bir başka lamın köşesi veya toplu iğne ile dairesel hareketlerle 1-1,5 cm çapında olacak şekilde yayılır, havada kurutulur. Preparat tespit edilmez. Bu şekilde eritrositlerin parçalanması ve parazitlerin açığa çıkması sağlanır. Dar bir alanda fazla miktarda kanın incelenmesi sebebiyle parazitlerin görülme şansı artmaktadır.

İnce yayma: Temiz lam üzerine alınan kan damlası, başka bir lam ile 45°C açı yapacak şekilde tutularak bulunduğu lam üzerinde sürülerek homojen bir tabaka oluşturulur. Preparat havada kurutulur, metanol ile 1-2 dakika tespit edilir. Bu yöntemle tür tayini, parazitemi düzeyinin ve parazitlerin evresinin belirlenmesi mümkündür.

Kantitatif Buffy Coat floresan mikroskopi yöntemi, karanlık alan mikroskopi yöntemi, immunofloresan yöntemi teşhiste kullanılan diğer alternatif yöntemlerdir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Kültür:

Parazitin kültürünün yapılabilmesi için sivrisinekteki seksüel ve insandaki aseksüel döngülerin oluşturulması gerekir ki bu durum oldukça zahmetli bir süreçtir. *Plasmodium* türlerinin bazıları in vitro olarak kolaylıkla üretilirken bazıları üremeye dirençlidir.

Antijen testleri:

Kanda plasmodium antijenlerini tespit etmek için immunokromatografik yöntemler kullanılabilir. Bu testlerle, mikroskopik tanının mümkün olmadığı durumlarda özellikle sahada kısa sürede sonuç alınabilir. Bu yöntemler, hızlı tanı testi olarak da adlandırılmaktadır. *Plasmodium* antijenlerine karşı oluşan antikorlarla kaplanmış kaset, dipstick, kart veya strip test şeklinde uygulanır. *P. falciparum* için histidinden zengin protein II, tüm *plasmodium* türleri için ise *Plasmodium* Laktat Dehidrogenaz veya Aldolaz araştırılan hedef antijenlerdir.

Antikor testleri:

Plasmodium spp.'ye karşı oluşmuş antikorlar ELISA ya da IFA yöntemleriyle saptanabilir. Özellikle eritrositer şizogoni döneminde meydana gelen IgM ve IgG antikorları bu yöntemlerle gösterilebilir. Bu yöntemler, çoğunlukla transfüzyona bağlı sıtmanın teşhisinde ve hastalığın epidemiyolojisine yönelik yapılacak araştırmalarda tercih edilmektedir.

Moleküler Yöntemler:

Parazitin tür tayini, epidemiyolojik ve biyolojik yönden önem taşımaktadır. Etkenin morfolojik özelliklerine bağlı olarak tür ayrımı yapmak mümkündür. Çok düşük parazitemili hastalarda, tedavi nedeniyle etkenin morfolojisinin değiştiği vakalarda ya da *P. vivax* ve *P. ovale* gibi benzer morfolojiye sahip türlerin ayırt edilemediği durumlarda moleküler testler kullanılır. Polymerase Chain Reaction (PCR) ile yapılan çalışmalar insanları enfekte eden *Plasmodium* türlerini tespit etmede oldukça yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir. PCR'nin mikroskopiden 10 kat daha duyarlı olduğu bildirilmiştir. Yöntem, tedaviye yanıtın izlenmesi ve anti malaryal ilaçlara karşı direncin saptanmasında da değerlidir.



Hamilelikte Sıtmaya Karşı Aralıklı Koruyucu Tedavi

Emrah RUH

Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD, Lefkoşa, KKTC

E-posta: emrahruh@gmail.com

Hamilelik sırasında oluşan sıtma enfeksiyonu anne, fetus ve yenidoğan açısından riskler taşıyan önemli bir halk sağlığı sorunudur. Enfeksiyon maternal anemi ve düşük doğum ağırlığına sebep olmakta, bu durum ise sonuç olarak bebek ölümlerine yol açmaktadır. Sıtma enfeksiyonu riski altında olan hamile kadınların yarısından fazlası Sahraaltı Afrika'da yaşamaktadır. Hamilelikteki sıtma enfeksiyonu her yıl Sahraaltı Afrika'da görülen ölü doğumların %20'si ve yenidoğan ölümlerinin %11'inden sorumlu olup, dünya genelinde ise 10.000 maternal ölüme neden olmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü *Plasmodium falciparum*'a bağlı orta ve yüksek bulaşın görüldüğü bölgelerde hamilelik süresince sıtmanın ve etkilerinin önlenmesi için insektisid ile muamele edilen cibinlik kullanılmasını, sulfadoksin-primetamin (SP) ile aralıklı koruyucu tedavinin (*intermittent preventive treatment during pregnancy using sulfadoxine-pyrimethamine: IPTp-SP*) uygulanmasını ve hamile kadınlarda saptanan sıtmanın hızlı ve etkili tedavi yolu ile kontrol altına alınmasını önermektedir. DSÖ 2018 yılında yayınladığı kılavuzda, SP profilaksisinin ikinci trimesterde başlayarak (hamileliğin 13-16. haftaları) dozlar arasında en az bir ay olacak şekilde doğuma kadar uygulanmasını önermektedir.

Aralıklı koruyucu tedaviden olumlu sonuçlar elde edilmesine rağmen, SP direncinde görülen artış bu ilacın antimalaryal etkinliğini sınırlayabileceği için endişe yaratmaktadır. *P. falciparum* dihidrofolat redüktaz (*Pfdhfr*) ve *P. falciparum* dihidropteroat sentaz (*Pfdhps*) folat sentezinde görev alan DHFR ve DHPS enzimlerini kodlayan genler olup, bu bölgelerde meydana gelen nokta mutasyonlar sırasıyla primetamin ve sulfadoksine karşı direnç gelişmesine yol açmaktadır. *Pfdhfr* ve *Pfdhps* genlerinde tekli polimorfizmler de görülebileceği gibi, birden fazla noktada mutasyonların ortaya çıkması SP direncinde artışa yol açmaktadır. Afrika'daki *P. falciparum* izolatlarında yaygın olarak beş mutasyon bildirilmektedir. Bunlar *Pfdhfr* genindeki N51I, C59R, S108N; ve *Pfdhps* genindeki A437G ile K540E mutasyonlarıdır (amino asit isimleri aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir). Mutant *Pfdhfr-Pfdhps* haplotipleri yüksek düzey dirence yol açarak hamilelikte uygulanan SP profilaksisinin etkinliğinde azalmaya neden olmaktadır. Özellikle altı adet mutasyon (*Pfdhfr*: N51I, C59R, S108N; *Pfdhps*: A437G, K540E, A581G) içeren genotipin bebek doğum ağırlığında azalma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.

Sonuç olarak Afrika'da hamile kadınların sıtmaya karşı korunması için SP profilaksisi uygulanması önem taşımaktadır. SP direncinin yaygın olduğu göz önünde bulundurularak, dirence yol açan *Pfdhfr* ve *Pfdhps* genlerindeki mutasyonlar düzenli olarak araştırılmalı ve bunların klinik sonuçları değerlendirilmelidir.

N: Asparajin, I: İzolösin, C: Sistein, R: Arjinin, S: Serin, A: Alanin, G: Glisin, K: Lizin, E: Glutamik asit



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 01

4

29 Eylül 2019 – 14:30-15:30

Artemisinin ve You You Tu

Seray TÖZ

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, Bornova, İZMİR

E-posta: seray.ozensoy.toz@ege.edu.tr

Çinli bilim insanı Youyou Tu, 2015 yılında Nobel Fizyoloji ve Tıp ödülünün yarısını yeni bir sıtma tedavisi geliştirmesi nedeniyle almış, diğer yarısını ise William C. Campbell ve Satoshi Ömura yuvarlak solucanlar için yeni bir tedavi geliştirmeleri nedeniyle kazanmışlardır.

Artemisinin 1990'ların sonlarından bu yana sıtmada birinci tedavi seçeneğidir ve özellikle dünyanın en fakir çocukları başta olmak üzere sayılamayacak kadar çok hayat kurtarmıştır. Youyou Tu, 1930'da Çin'in Zhejiang-Ningbo kentinde doğmuştur. Lisede geçirdiği tüberküloz enfeksiyonu tıp araştırmalarına ilgi duymasına neden olmuştur. Pekin Üniversitesi Tıp Fakültesi/Beijing Tıp Koleji Farmakoloji bölümünden 1955 yılında mezun olmuş, 1959-1962 yılları arasında modern batı tıbbi eğitimi görmüş ve geleneksel Çin tıbbi kursuna katılmıştır. Mezuniyet sonrası Beijing Geleneksel Çin Tıbbi Akademisi'nde çalışmıştır. Farmasötik Kimyacı ve eğitimcidir. Youyou Tu, 1960-1970'li yıllarda Çin Kültürel Devrimi sırasında bilimsel çalışmaların desteklenmediği dönemde çalışmalarını sürdürmüştür. Kariyerinin başlangıcında Çin geleneksel tıbbında kullanılan *Lobelia chinensis* bitkisi ile schistosomiasis tedavisi üzerine çalışmıştır.

Youyou Tu, Nobel ödülü konuşmasında sıtmadan şöyle bahsetmiştir: “Sıtma, insanlık tarihi boyunca, sağlığımızı kötü etkileyen, yaşamı tehdit eden ve dünya çapında salgınlara neden olan bir hastalıktır. MÖ 400'de Hipokrat “Hava, su ve yerler üzerine” adlı eserinde, sıtmayı bataklık ateşi ve titreme anlamına gelen “agues” ve “gün aşırı ateş/aralıklı ateşler” olarak tanımlamıştır. MÖ 770–207'deki ilk geleneksel Çin tıp literatüründe de sıtma hakkında detaylı bilgiler bulunmaktadır. Sıtma bataklıkla çevrili nemli bölgelerde bulunduğu için kötü havayla ilişkilendirilmiş ve “mal” (kötü) ve “aria” (hava) sözcüklerinin birleşimi “malaria” olarak adlandırılmıştır. Fransız bilimci Charles Louis Alphonse Laveran, 1880'de hastaların kan yaymalarında Plasmodium parazitini tanımlamıştır. İngiliz askeri Dr. Ronald Ross, 1897'de dişi sivrisineklerin bağırsaklarında Plasmodium'un farklı şekillerini göstererek sıtmanın Anofel cinsi sivrisinekler ile bulaştığını kanıtlamıştır. Dr. Ross 1902'de, Dr. Laveran ise 1907'de sıtma ile ilgili çalışmaları nedeniyle fizyoloji veya tıp alanında Nobel ödülü kazanmışlardır.”

“Şansın hazırlanmış bir zihni sevdiğini ve geçmişin bir başlangıç” olduğunu belirten Youyou Tu, sıtma tedavisinde geleneksel Çin ilaçlarının araştırılması gerektiğinde, modern ve geleneksel Çin tıbbi alanlarının ikisinde de eğitim görmüş olmasının ona avantaj sağladığını söylemiştir. Özellikle araştırmaların desteklenmediği 1970'li yıllarda, 2000 yıl önce Çin bitkisel tıbbi için kullanılan “Qinghao” bitkisinden artemisininin keşfi kolay bir yolculuk olmamıştır. Artemisinin öyküsü, Çin Kültür Devrimi atmosferinde, Kuzey Vietnam-Amerika Birleşik Devletleri (ABD) savaşı sırasında, klorokine dirençli *Plasmodium falciparum*'un neden olduğu sıtmanın her iki tarafta da büyük problem oluşturmasıyla başlamıştır. ABD'de bu süreçte, klorokine dirençli parazitler için tek dozda iyileştirici meflokin keşfedilmiştir. Kuzey Vietnam'lular araştırma olanakları bulunmadığı için Çin'den yardım istemişler ve Başkan Mao ve Başbakan Zhou yönetiminde 1967'de Pekin'de bir toplantı düzenlenerek 60 farklı merkezde çalışan 500 bilim insanının katıldığı “523” adlı gizli ulusal proje başlatılmıştır. Projede kısa vadede: savaşta hemen kullanılacak sıtma ilaçları üretmek, uzun vadede: sentetik kimyasallar ile geleneksel Çin tıbbi tarifleri ve pratik uygulamaları gözden geçirilerek yeni sıtma ilaçlarının araştırılması hedeflenmiştir. Proje askeri bir sır olduğundan yayın yapılmadığı için artemisininin keşif öyküsü de bilinmiyordu. Araştırıldığında keşifte en büyük payın Youyou Tu'nun olduğu bulunmuştur. Profesör Tu, 1969 yılında, 523 projesi içerisinde geleneksel Çin tıbbi literatür ve tariflerini tarayarak yeni sıtma ilaçlarını araştıran ekibi yönetmekteydi.

Youyou Tu ve ekibi, Çin'li doktorlar ile görüşerek, 2000 üzerinde geleneksel Çin tıbbi tarifi arasından sıtmaya etkili olabilecek 640 tarifi derlemiştir. Fare sıtma modelinde 200 üzerinde geleneksel Çin bitkisi tarifi ile 380 bitki ekstresi



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

denenmiştir. Asya'ya özgü bir Pelin otu türü *Artemisia annua L.* (Qinghao) ekstraktları ile parazitin gelişimi %68 oranında engellenmiş ancak çalışmaların devamında bu oran %12-40'lara düşmüştür. Başarısız olunca araştırma durdurulmuş, Profesör Tu başarısızlığın nedeninin, aktif içeriğin düşük konsantrasyonda elde edilebilmesi olduğunu düşünerek geleneksel Çin literatürünü tekrar gözden geçirmiştir. Jin Hanedanlığı sırasında Ge Hong'un (MS 283–343) yazdığı "Acil Tedaviler için Tarifler Kitabı" kitabı okurken, sıtma bulgularının azaltılmasında soğuk Qinghao'nun önerildiği "bir avuç dolusu Qinghao'yı 0,4 litre suya daldırın, sıkarak suya karışmasını sağlayın ve suyu için" cümlesi dikkatini çekmiştir. Geleneksel olarak, bitkilerin çoğu, suda kaynatılıp özütü alınarak kullanılmaktadır. Qinghao'nun kitaptaki tarifte soğuk su ile hazırlanması, bitki özütünün yüksek ısı ile ekstrakte edildiğinde aktif içeriğinin bozulabileceği ve aktivitesinin korunması için ısıtılmaması gerektiğini düşündürmüştür. Qinghao'nun gövde ve yapraklarını ayrı ayrı düşük ısıda su, etanol ve etil eter ile ekstrakte ederek deneyleri tekrarlamıştır. Sıtmaya karşı etkisi olmayan asidik bölüm uzaklaştırılarak daha az toksik ve sıtmaya daha etkili bir ürün elde edilmiştir. Numarası 191 olan ürün fare sıtma modelinde %100 etkili bulunmuştur. Prof. Tu 1972'de Nanjing'te bir toplantıda bulgularını saf artemisininin kristallerinin hızla elde edilebilmesi için ip uçları ile birlikte sunmuştur. Prof. Tu'nun verdiği bilgi ve yöntemleri kullanan iki ekip (Zeyuan Luo, Yunnan İlaç Araştırma Enstitüsü ve Zhangxing Wei, Shandong Geleneksel Çin Tıbbı Enstitüsü) fare sıtma modelinde yüksek derecede etkili *Artemisia annua L.* saf kristallerini Tu'nun ekibinden daha hızlı elde etmişlerdir. Guangzhou Çin Geleneksel Tıp Üniversitesi'nden Guoqiao Li, Yunnan İlaç Araştırma Enstitüsü'nün elde ettiği artemisininin kristalleri ile insanlarda sıtmaya karşı iyi sonuçlar almıştır. Artemisinin'in X-ray kristal yapısı, farmakolojisi ve şiddetli beyin sıtması ve şiddetli olmayan sıtmaya karşı etkilerine dair yayında yazar isimleri yerine "Qinghaosu Antimalarial Koordinasyon Araştırma Grubu" yazılmıştır. Bu yayında, artemisininin sıtmaya karşı etkisi için endoperoksidin gerekli olduğu gösterilmiştir.

Pekin'de Dünya Sağlık Örgütü ile birlikte 1981'de bir toplantıda, proje 523'ün sonuçları Youyou Tu tarafından sunulmuştur. Artemisininin keşfinden sonra daha aktif dihidroartemisinin sentezlenmiştir. Bugün halen uygulanan tek tedavi yöntemi, Artemisininin etkinliğini korumak için diğer bir sıtma ilacı ile kombinasyonudur. Amerika Walter Reed Army Enstitüsü'nde çalışan Klayman'da 1985'te, artemisininin izolasyonunu ve yapısını tanımlamıştır. Profesör Gouqiao Li, artemisinin ve meflokin ile iki klinik çalışma sonucunda hastalığın tekrarlaması ve direnç gelişiminin önlenmesi için kombinasyon tedavisini ilk kez önermiştir. Artemisininin saatler içinde, meflokin ise yavaş etki etmekte, Artemisininin yarı ömrü kısa olduğu için parazitin temizlenmesinde başka bir ilaca gereksinim bulunmaktadır. Çin'lilerin bu önemli buluşunu öğrenen Tayland'da çalışmakta olan Oxford Üniversitesi Profesörü Nick White, Artemisinin'in hızlı aktivitesini ve parazitin tam temizlenmesi için başka bir ilaca olan ihtiyacı doğrulamış ve kombinasyon tedavisinde artemisininin derivelerinin kullanılmasında öncü olmuştur. Proje 523 ile artemisininin yanı sıra artemisinin ile kombine edilebilecek çok sayıda ürün geliştirilmiştir.

Youyou Tu, profesörler için olağan sayılan üç özellik olan; mezuniyet sonrası derecesinin olmaması (Çin'de mezuniyet sonrası eğitim yoktu), yurt dışında araştırma-çalışma deneyiminin olmaması ve herhangi bir Ulusal Çin Akademi'sine üye olmaması (Çin Bilimsel Akademisi ve Çin Mühendislik Akademisi gibi) nedeniyle "Professor of Three Noes" olarak anılmaktadır. Şu anda, 1949'da Çin Halk Cumhuriyeti'nin kuruluşundan bu yana Çin sağlık çalışanlarının ilk neslinin temsilcisi olarak görülmektedir. Nobel ödülü alan ilk Çin'li kadındır. Lasker ödülünü alan ilk Çin'lidir. Youyou Tu, orta okuldayken sınıf arkadaşı olan metalürji mühendisi Li Tingzhao ile evlenmiştir ve Beijing'te yaşamaktadır. Küçük kızı Beijing'te, büyük kızı ailesiyle Amerika'da yaşamaktadır. Dedesi, reform sonrası Ulusal Maliye Yönetim biriminin ilk yöneticiliğini yapmıştır. Amcası, ünlü bir ekonomist ve bankerdir.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA OTURUMU 02

İnsan Hareketleri ve Paraziter Enfeksiyonlar

Düzenleyenler	Ahmet ÖZBİLGİN / Fadile YILDIZ ZEYREK	
29 Eylül 2019		16:00 – 17:00
Ahmet ÖZBİLGİN	Türkiye’de Yurtdışı Kaynaklı Sıtma Olguları	16:00 – 16:15
Gülnaz ÇULHA	Türkiye de Şark Çıbanı, Dünü ve Bugünü	16:15 – 16:30
Özgür KURT	Uyuz ve Pediculosis	16:30 – 16:45
Varol TUNALI	At the Crossroads; Refugees and Infectious Diseases Perspectives of Turkey and Europe	16:45 – 17:00



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 02

1

29 Eylül 2019 – 16:00-17:00

Türkiye’de Yurtdışı Kaynaklı Sıtma Olguları

Ahmet ÖZBİLGİN

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA

E-posta: a.ozbilgin@yahoo.com

Sıtma, her yıl uluslararası seyahat eden 125 milyondan fazla turist tarafından ziyaret edilen 100'den fazla ülkede endemik olarak görülmektedir. Her yıl uluslararası seyahat eden pek çok turist, hastalığın endemik olduğu ülkeleri ziyaret ederken sıtma enfeksiyonuna yakalanmaktadır ve 10.000'in üzerinde turist evlerine döndükten sonra hastalığı geçirdiğini bildirmektedir. Ancak, gerçek rakamın 30.000 kadar yüksek olabileceği düşünülmektedir. Endemik olmayan bölgelerden gelen ve uluslararası seyahat eden turistler, bağışıklığı olmadığı için sıtma hastalığı ve sonuçları açısından yüksek risk altındadır. Endemik olmayan bölgelerde yaşayan, arkadaş ve akrabalarını ziyaret eden kendi ülkelerine geri dönen kişiler ve endemik bölgelerden gelen göçmenler de bağışıklığın bulunmaması veya bağışıklık yetersizliği nedeniyle benzer şekilde risk altındadır. Sıtma endemik alanını terk ettikten sonraki 3 ay içerisinde bir turiste meydana gelen ateş, önemlidir ve zaman kaybetmeden araştırılmalıdır (1-2).

İmport sıtma 1994-1996 yılları arasında Kuzey Irak'taki askeri operasyonları sırasında sırasıyla 178, 359 ve 267 olmak üzere olgu sayıları açısından en yüksek düzeye ulaşılmıştır. 2009 yılında, yurtdışı kaynaklı sıtma olgularının sayısı (n = 46), Türkiye’de ki sıtma olgularının %54’ünü oluşturması ile birlikte ilk kez yerli sıtma olgularının (n = 38) sayısını aşmıştır. Daha sonra sırası ile 2010 yılında 81, 2011 yılında 128, 2012 yılında 376, 2013 yılında 251, 2014 yılında 249, 2015 yılında 221, 2016 yılında 208, 2017 yılında ise 214 tane yurtdışı kaynaklı sıtma olgusuna rastlanmıştır. Türkiye’deki yurtdışı kaynaklı sıtma olgularının araştırılması ve kontrolüne özellikle dikkat edilmelidir. (2-3).

Türkiye’de yurtdışı kaynaklı sıtma olguları için farklı tedavi protokolleri uygulanmaktadır. Tedavide kullanılacak ilaçlarının seçimi, enfeksiyonun alındığı ülkenin ilaç direncine, *Plasmodium* türlerine ve hastanın klinik durumuna bağlı olarak yapılmaktadır. Artemether-lumefantrine ve Primaquine, Mefloquine ve Primaquine, Quinine enfeksiyonun alındığı ülkede ilaç direncinin görülmediği durumlarda yurtdışı kaynaklı *P. vivax*, *P. malariae* ve *P. ovale* sıtmalarının tedavisinde kullanılmaktadır. Artemether-lumefantrine, Tetracycline, komplikasyonsuz *P. falciparum* sıtma olgularında kullanılmaktadır. Artemether-lumefantrine veya Quinine ve Tetracycline, komplikasyonlu *P. falciparum* sıtması olgularında kullanılmaktadır (2-6).

Sıtma ülkemize yurtdışından gelen en önemli enfeksiyon hastalıklarından birisi olup her yıl ortalama 200-250 yurtdışı kaynaklı sıtma vaka bildirimidir. Ülkemizde tespit edilen yurtdışı kaynaklı sıtma vakalarının yaklaşık %75’i *P. falciparum* sıtmasıdır. Her yıl ortalama 1-4 kişi yurtdışı kaynaklı *P. falciparum* sıtmasına bağlı olarak hayatını kaybetmektedir. Yurtdışı kaynaklı vakaların çoğu, paraziti sıtmanın endemik olduğu Sudan, Nijerya, Ekvator Ginesi, Uganda, Gabon gibi Afrika ülkelerinden almaktadır (7-8).



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KAYNAKLAR

1. World Health Organization, 2010. World Malaria Report 2010. Geneva, Switzerland, pp.39–62.
2. Özbilgin A, Topluoğlu S, Es S, Islek E, Mollahaliloglu S, Erkoc Y. Malaria in Turkey: Successful control and strategies for achieving elimination, Acta Tropica 120 (2011) 15– 23.
3. Turkish Ministry of Health, 2010. The Data of Malaria Control Department (Unpublished).
4. Mert A, Ozaras R, Tabak F, Bilir M, Ozturk R, Aktuglu Y. 2003. Malaria in Turkey: a review of 33 cases. Eur. J. Epidemiol. 18, 579–582.
5. World Health Organization, 2009. World Malaria Report 2009. Geneva, Switzerland, pp.27-44.
6. World Health Organization, 2009. Guidelines for the treatment of malaria. 2nd ed., Geneva, Switzerland, pp. 13–56.
7. World Health Organization. Eliminating Malaria 5: The long road to malaria elimination in Turkey.2013;100.
8. Sıtma vaka yönetim rehberi [Internet]. Ankara; 2019. 1–60 s. Available at: hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/zoonotik-vektorel-hastaliklar-db/zoonotik-hastaliklar/4-Sıtma/6-Rehber/Sıtma_Vaka_Yonetim_Rehberi.pdf



Türkiye de Şark Çıbanı, Dünü ve Bugünü

Gülnaz ÇULHA

Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, Antakya, HATAY

E-posta: gulnazculha@yahoo.com

Leishmaniasis, *Leishmania* cinsi kamçılı protozoonların neden olduğu vektör kaynaklı bir hastalıktır. Kutanöz Leishmaniasis (KL), Mukokutanöz Leishmaniasis (MKL) ve Visseral Leishmaniasis (VL) olmak üzere 3 farklı klinik tablo olarak karşımıza çıkmaktadır (1). Hastalık tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygındır ve Avrupa, Afrika, Asya ve Amerika'da 98 ülkede görülmektedir. Ancak, yeni vakaların %90'ından fazlası sadece 13 ülkede (Afganistan, Cezayir, Bangladeş, Bolivya, Brezilya, Kolombiya, Etiyopya, Hindistan, İran, Peru, Güney Sudan, Sudan ve Suriye) görülmektedir (2, 3).

1950 yılından önce ülkemizde epidemi yapan hastalık aynı tarihte Sıtma için yapılan eradikasyon çalışmalarında DDT'nin kullanılması ile azalmıştır. Hastalık daha sonra Güneydoğu Anadolu bölgesinde sınırlı, diğer bölgelerde sporadik hale gelmiş, ancak 1980'den sonra Özellikle Güney ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde artmaya başlamıştır (4). 1983 yılında 1741 olgu ile epidemik patlama meydana gelmiştir (5). 1994 yılında 5692 olgu ile ikinci epidemik patlama yaşanmış ve çoğunun Şanlıurfa, Antep, Diyarbakır, Çukurova, Mersin, Hatay ve Osmaniye, Kahraman Maraş'tan olduğu bildirilmiştir. 1996 yılında ülkede toplam 29.025 KL olgusu saptanmıştır. Bunların %98'i Şanlıurfa, Diyarbakır, Çukurova, Hatay, Mersin, Gaziantep, Maraş, Osmaniye illerinden oluşmaktaydı (4, 6, 7). Aynı tarihlerde İzmir ve Aydın'dan da olgu bildirimini olduğunu görmekteyiz. 25.06.1996/6078 sayılı Şark Çıbanı Mücadele Programı yürürlüğe konması ile birlikte vektör mücadelesi, tanı ve tedavi merkezlerinin yapılandırılması, eğitimler verilmesi, bildirim konusunda tedbirlerin alınması etkili olmuş ve 2001 yılında tüm ülkede 994 olgu ile son 20 yılın en düşük seviyesine inmiştir. 2003-2004 yılında 4187 olgu ile tekrar bir artış olduğu gözlenmektedir. 2005 yılı itibarıyla 2010 tarihleri arasında tüm ülkede büyük şehirler de olmak üzere (Ankara, Manisa, Aydın, Eskişehir gibi) olgu sayısının 2000 civarında olduğu gözlenmektedir (1, 4). Türkiye'de KL artışının sebepleri arasında nonendemik bölgelerden endemik bölgeye göç (kalıcı veya mevsimsel göç), şehirlerarası seyahatlerin artması, endemik bölgelerde tarım ve sulama projelerinin artması, baraj ve petrol işletmelerinde nonendemik bölgelerden gelen insanların çalışması, hasta insanların KL'yi ciddiye almamaları, bildirimde yaşanan zorluklar, ilaç bulunamaması gibi pek çok nedenlerle hastaların tedavi edilememesi sayılabilir.

2010 -2011 yıllarında 2237 ve 1803 olan KL sayısı, 2011 yılında Suriye'deki iç savaş nedeniyle ülkemize göç eden ve bugün kamplar dışında da tüm ülkeye yayılmış olan mülteciler de KL'nin görülmesi ile farklı bir boyut kazandığı anlaşılmaktadır (8).

Suriye'de KL endemik bir halk sağlığı sorunu olduğu, 1995-2004 yılları arasında 186.766 KL olgusu, 2004 yılı içinde 26.878 olgu kayıt edilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü'nün son güncellenen raporuna göre Suriye'de 2005-2014 yılları arasında 414.095; 2014 yılında ise 53.876 KL olgusu rapor edilmiş olup KL için insidans oranının 22.74/10.000 olduğu bildirilmiştir (9). Özellikle 2010 yılı sonrasında yapılan çalışmalarda hem yerli hem de Suriyeli hastalarda *L. major* ve *L. donovani* parazitlerinin de KL'de etken olduğu belirlenmiştir. Ülkemizde *L. major*'un varlığının gösterilmesi ve kozmopolit bir tür olan vektör



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Phlebotomus papatasi'nin bütün çalışma yapılan illerimizde bulunması olguların artışına sebep olabilecek bir risk olarak görülmektedir (10).

Bugün itibarı ile yaklaşık olarak 4 milyon Suriye vatandaşı ülkemizin hemen her iline yerleşmiş durumdadır. Kamplar dışında tüm Türkiye'ye yayılmış olan mültecilerde şimdiye kadar 2000'den fazla KL olgusunun olduğu ve hemen her şehirde karşılaşılabilen bir hastalık olarak karşımıza çıkacağı unutulmamalıdır. Bu nedenle ülkemizde halk arasında "Şark Çıbanı, Antep çıbanı" olarak bilinen hastalık bugünümüz de güncelliğini korumaya devam etmekte ve ilgi beklemektedir.

Ülkemizde entegre kontrol programının uygulanması ile tanı ve tedavideki aksaklıkların giderilmesi, KL' de farkındalığının artırılması, vektör ile mücadele programlarının oluşturulması gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Harman, M. (2015). Kutanöz Leishmaniasis. Turkish Journal of Dermatology/Türk Dermatoloji Dergisi, 9(4).
2. WHO Technical Report Series, 949; Control of the Leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010.
3. World Health Organization. Leishmaniasis: the disease and its epidemiology. Available at: http://www.who.int/leishmaniasis/disease_epidemiology/en/.
4. Gürel, M. S., Yesilova, Y., Ölgün, M. K., & Özbel, Y. (2012). Cutaneous leishmaniasis in Turkey. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 36(2), 121.
5. Gürel, M. S., Ulukanlıgil, M., & Özbilge, H. (2002). Cutaneous leishmaniasis in Sanliurfa: epidemiologic and clinical features of the last four years (1997–2000). International journal of dermatology, 41(1), 32-37.
6. Uzun S, Gürel MS, Harman M. Kutanöz Leishmaniasis Tanı ve Tedavi Rehberi. Türk Dermatoloji Derneği, Haziran 2017. Galenos Yayınevi, İstanbul, Türkiye.
7. Uzun, S., Durdu, M., & MEMİŞOĞLU, H. R. (2002). Türkiye'de Kutanöz Leishmaniasisin Dünü, Bugünü. Türkiye Klinikleri Journal of Medical Ethics-Law and History, 10(2), 133-138.
8. <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/zoontikvektorel-sarkcibani/istatistik>
9. https://www.who.int/leishmaniasis/resources/SYRIAN_ARAB_REPUBLIC.pdf
10. Çulha G, Türkiye'de Göç ve Kutanöz Leishmaniasis. 20. Ulusal Parazitoloji Kongresi Uluslararası Katılımlı. Eskişehir, 2017, 227-229.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 02

3

29 Eylül 2019 – 16:00-17:00

Uyuz ve Pediculosis

Özgür KURT

Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İSTANBUL

E-posta: oz1605@hotmail.com

Dünyanın farklı bölgelerinde devam etmekte olan siyasal, etnik veya mezhep kaynaklı çatışmalar milyonlarca insanın mülteci olmasına yol açmış durumda! Birleşmiş Milletler Mülteciler Komisyonu 2019 yılında 70 milyonu aşkın insanın bu nedenlerle evini terk etmek zorunda kaldığını, bunlardan 26 milyonunun yaşamak için başka ülkelere gittiğini bildirmektedir. Ülkemiz de üç kıtanın ortasında yer alan coğrafi konumu ve komşu ülkelerde on yıllardır süre gelen çatışmalar nedeniyle, yoğun bir mülteci nüfusuna ev sahipliği yapmaktadır. Geçen ay itibarıyla, ülkemizde 4 milyonun üzerinde mülteci olduğu, bunların üç buçuk milyonunu Suriye vatandaşlarının oluşturduğu bildirilmektedir. Büyük ölçekli nüfus hareketlerinin enfeksiyon hastalıkları ile ilişkisi uzun yıllardır iyi bilinen konular arasında olup mültecilerin taşıdığı enfeksiyon etkenlerinin gittikleri ülkelerde toplum sağlığını doğrudan etkilediği gösterilmiştir.

Paraziter hastalıklar dünyada özellikle sosyoekonomik düzeyi düşük topluluklarda sık görüldüğünden, mülteciler arasında da yaygındır. Sıtma, filaryaz, leishmaniasis, schistosomiasis yanında bağırsak parazitozları ile artropod kaynaklı enfeksiyonlar milyonlarca insanın sağlığını tehdit etmektedir. Artropodlar, gerek neden oldukları enfestasyon gerekse taşıdıkları bakteri, virüs ve protozoonlar ile insan sağlığına zarar verebilmektedir. Uyuz hastalığı ile pedikülozun mülteciler arasında yaygın görüldüğü, bu nedenle de bu iki hastalığın insidansının son yıllarda belirgin düşüş gösterdiği Batı ülkelerinde yeniden yükselişe geçtiği bildirilmektedir.

Uyuz, *Sarcoptes scabiei var. hominis* adlı zorunlu insan paraziti bir akarın yol açtığı, yoğun kaşıntıya neden olan bulaşıcı bir hastalıktır. Yaklaşık 2500 yıldır bilinen ve dünyada her yıl 300 milyonun üzerinde kişiyi tutabilen uyuzun etkeni olan akarlar, insan derisi üzerinde kazdıkları tünellerde yaşamaktadır. Yakın temas ile kolayca bulaşan bu enfestasyonun hastane, hapisane ve barınak gibi toplu yaşanan yerlerde salgınlara yol açabilmesi güç değildir. Hastalığın Norveç Uyuzu olarak adlandırılan ve hastanın derisinde çok yoğun parazit içeren kalın kabuklarla tanınan şekli, özellikle yatan hastalarla ilgilenen hastane personeli için salgın riski taşımaktadır. Mültecilerin kalabalık ve kötü koşullar altında seyahat ettiği taşıtlarda ve sonrasında yaşadıkları barınaklardaki kötü yaşam koşulları nedeniyle, örneğin Almanya'da, 2004-2014 arası dönemde uyuz en sık salgına yol açan paraziter enfeksiyon olarak bildirilmiş, Fransa'da ise bir mülteci barınağı 2014'de uyuz salgını nedeniyle kapatılmıştır.

Bir diğer enfestasyon olan pediküloz, Türkiye'de bit adını verdiğimiz *Pediculus* türlerinin insanlarda baş, vücut veya kasık bölgesine yerleşerek yol açtığı, sık görülen ve toplum sağlığını tehdit edebilen hastalıkları tanımlamaktadır. Bunlardan *Pediculus humanus capitis*'in yol açtığı baş biti enfestasyonu, tüm dünyada görülen ve özellikle okul çocukları ile velileri için kâbus sayılabilecek bir rahatsızlıktır. Toplu yaşanan yerlerde insanlar arası kolayca bulaşarak salgınlara yol açan baş bitlerinin mülteciler arasında yaygın görülmesi sürpriz sayılmamalıdır. Eskiden baş biti enfestasyonu sadece yoğun kaşıntı ve buna bağlı deri yangısı ile anılmaktaysa da son yıllarda *P. capitis*'lerin *Acinetobacter*, *Bartonella* ve



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Coxiella türleri gibi ölümcül bakterileri taşıyabildiklerini gösteren çalışmalar yayınlanmaktadır. Bu bakımdan baş biti enfestasyonlarının tanı, tedavi ve takiplerinin artık daha önemli olduğu kabul edilmektedir.

Günümüzde gelişmiş seyahat olanaklarıyla bir anlamda küçülmüş olan dünyamızda mültecilik yerel bir sorun olmaktan çıkmış, tüm toplumu, ülkeyi hatta tüm kıtayı etkileyebilen ciddi bir tehdite dönüşmüş durumdadır. Enfeksiyon hastalıklarının sık görüldükleri coğrafyalardan nadir görüldükleri bölgelere taşınmaları, devam ettiğini net olarak gözlediğimiz küresel ısınma da dikkate alındığında, gelecekte insanlık için çok ciddi bir tehdit oluşturabilir. Bu konuda yetkililerin iş birliği içinde gerekli önlemleri alıp uygulamaları, sadece paraziter enfeksiyon ve enfestasyonlar için değil, tüm enfeksiyon hastalıklarının kontrol altına alınması konusunda büyük önem taşımaktadır.



At the Crossroads; Refugees and Infectious Diseases Perspectives of Turkey and Europe

Varol TUNALI

Muğla Sıtkı Koçman University Faculty of Medicine Department of Emergency Medicine, MUĞLA, TURKEY

E-mail: varoltunali@gmail.com

Aim: Refugees and migrants have always been an important determinant and part of human health at all times. Human movements were shaped by natural and humane forces and vice versa. Migration is one of the most important aspects of human history and existence so that we cannot portray any possible historical alternative or any future perspective without taking human movement into account. With the ease of transport, effects of globalization and climate change, the magnitude of migration has reached new peaks. This immense movement of people between countries, regions, continents and even hemispheres, triggers many social, economic, cultural and medical challenges as well as opportunities. The aim of this report is to broadly discuss the medical aspects of migration focusing on communicable diseases (CD) with the scope on two historically, culturally and economically different recipients of refugees and migrants; Turkey and Europe.

Methods: A mixed methodology approach was applied; (i) a literature review was conducted to collect available data about the current approach, perspectives and situation of refugees and migrants living or currently being hosted in these two locations (ii) the information and experience obtained from “Summer School on Refugee and Migrant Health; From emergency response to long-term inclusion policies” organized by World Health Organization (WHO) and European Union (EU) in July of 2019, were collected and summarized systematically to point out the key differences in these two locations.

Results: There are several differences between Turkey and EU concerning the reception, host status, inclusion or exclusion policies towards refugees and migrants. According to the data, Turkey adopts a more inclusion-based policy towards refugees and migrants compared to EU countries. Contrary to that, most of the publications about refugees in Turkey, discuss that the refugees are sources and carriers of CD's, while the reports from EU countries discuss the “healthy migrant” effect. Health system in Turkey covers almost all the medical needs of the refugees but a significant part of the EU countries covers just the basic medical needs or do not cover any medical need at all based on the status of the refugees and migrants.

Conclusion: Turkey acts as a natural bridge for the migrants coming from Middle East, Asia and some parts of Africa to reach Europe. In the last two decades, Turkey has faced massive influxes of refugees mainly fleeing from wars, conflicts, destabilization and poverty. All these conditions lead to deterioration of the public health services in the origin countries, which leads to an increase in CD's. The conditions in which the refugees and migrants travel and stay along the way to their destinations also contributes heavily to the spread and worsening of the CD's. For Turkey and EU, the differences between the perception of CD's among refugee and migrant populations may arise from the facts such as; (i) Turkey acting as the initial receiver of refugees because of its location (ii) the healthcare system in Turkey is resilient enough to detect and overcome the CD's among refugees (iii) EU's policies of detention towards refugees while Turkey implements an “open borders” policy.

Anahtar Kelimeler: Turkey, European Union, Refugee, Migrant, Infectious diseases



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA OTURUMU 03

Kırım Kongo Kanamalı Ateşi ve Keneler

Düzenleyen	Ayşen GARGILI KELEŞ	
30 Eylül 2019		11:30 – 12:30
Agustin ESTRADA-PENA	What Is A Tick and How It Works?	11:30 – 12:00
Ayşen GARGILI KELEŞ	Possible Effects of Tortoise Ticks on CCHF	12:00 – 12:30



What Is A Tick and How It Works?

Agustin ESTRADA-PENA

Department of Animal Health Faculty of Veterinary Medicine University of Zaragoza, SPAIN

E-mail: aestrada@unizar.es

This presentation focuses on the basic features of the biology and ecology of ticks. All the tick's life cycle gravitates around the feeding process. It is a very special way of feeding, since ticks promote a "feeding cavity" in which several ticks can feed simultaneously, a process that may have deep influences on the transmission of pathogens. The saliva of ticks evolved to counteract the immune actions of the hosts, in the course of which ticks evolved literally thousands of proteins, deeply integrated in the complete chain of the feeding. The sialome (or the group of proteins detected so far in the tick saliva) is highly redundant. This means that the immune response against one or a few of them do not elicits the function behind such protein, because many other proteins can carry out the same function and the feeding persists.

Ticks are a special kind of arthropod vectors, since they quest for hosts in the vegetation (or actively crawl to reach them). All this process is governed by the environmental conditions. Together with the density of hosts, these traits drive the foci of permanent populations of ticks and the circulation of pathogens. Further on this, the ticks that transmit a higher number of pathogens are those with generalist feeding habits, i.e. they do not have preferences for a given host. However, the peculiar combination of species of vertebrates in a region, may rise a high complexity of the patterns of transmitted pathogens. Many species of vertebrates, from rodents or Insectivora, to large ungulates, may act at different steps of the chain of events allowing pathogens to persist. It is a very intricate process, with delicate branches from the general trunk, each one delineating complex pattern that are of focal nature.

Modeling these interactions is far from reliable and many papers reported wrong relationships and modeling efforts that "generate noise" over the background of the scientific knowledge. The presentation will review all these processes, from the feeding interactions to the relationships between ticks and vertebrates in an attempt to show our current knowledge of the tick biology and ecology.



Possible Roles of Tortoises and *Hyalomma aegyptium* Ticks in Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Epidemiology

Sirri KAR^{1,2}, Sergio E. RODRIGUEZ¹, Gürkan AKYILDIZ², Maria N.B. CAJIMAT^{1,3}, Rıfat BIRCAN², Megan MEARS¹, Dennis A. BENTE¹, Ayşen GARGILI KELEŞ^{1,4}

¹Galveston National Laboratory, Department of Microbiology & Immunology, Institute for Human Infections and Immunity, University of Texas Medical Branch, Galveston, TEXAS, USA; ²Department of Biology, Tekirdag Namik Kemal University, TEKIRDAG, TURKEY; ³Department of Pathology, University of Texas Medical Branch, Galveston, TEXAS, USA; ⁴Faculty of Health Sciences, Marmara University, ISTANBUL, TURKEY

E-mail: agargili@yahoo.com

Since CCHF was first detected in Turkey in 2002 it caused over 10,000 human cases and 500 deaths. Although cases were reported from all parts of the country, the northern parts of the Central Anatolia and Eastern Anatolia are the endemic regions, where the vast majority of cases are seen. Geographic risk determinants for density of cases are mainly virus prevalence in tick vectors, seropositivity in humans, and susceptible animal populations.

Although human seroprevalence is similar to the endemic region and a higher percentage of the tick population in Thrace is CCHFV positive, 30 cases and 3 deaths were reported in the Thrace region of Turkey, showing very low incidence rates as compared with the epidemic region. The remarkably lower number of cases in Thrace suggests that virus-, vector-, and/or host-dependent variables may explain the divergence in this region. A putative explanation for the dissimilarity could be the presence of two different CCHFV genotypes (Europe1 and Europe2) in Thrace whilst only one type is dominant in Central Anatolia. On the other hand, the genotype prevalent in Central Anatolia (Europe1) is also widely distributed in ticks in Thrace region. The most significant difference between these regions is that *H. aegyptium* is the dominant tick species collected from human-biting cases in Thrace, while it is *H. marginatum* in endemic region. The studies showed that many species of vertebrate animals can be infected and develop immune response against CCHFV in the nature, even though they do not show any obvious clinical symptoms. As for tortoises, only a few reports have been published which suggested the possible presence or exposures of CCHFV in these animals and in their primary tick species *H. aegyptium*.

To evaluate the possible role of tortoises and their ticks, different stages of *H. aegyptium* from the tortoises (*T. graeca* and *T. hermanni*) and from the field as unfed, questing ticks, and blood samples taken from tortoise in Thrace, European part of Turkey, CCHF-endemic area of the country, were screened for the presence of CCHFV using RT-PCR. As the result of our nested RT-PCR screening of the total 179 samples, 17 (9.5%) were detected as positive as follows: 2 of 21 blood samples (9.52%), 2 of 38 unfed ticks (5.26%), and 13 of 106 tick pools from tortoises (12.26%). According to our results of PCR and phylogenetic analyses of the virus, we discussed the possible role of tortoises, tortoise ticks and their virus in the epidemiological character of CCHF in Thrace.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA OTURUMU 04

Tek Dünya Tek Sağlık Penceresinden: Leishmaniasis

Düzenleyenler	Seray TÖZ / Yusuf ÖZBEL
30 Eylül 2019	13:30 – 15:00
Derya DİRİM ERDOĞAN	Olgularla Visseral Leishmaniasis: Ege Deneyimi 13:30 – 13:45
İ. Cüneyt BALCIOĞLU	Türkiye’de Olgularla Kutanöz Leishmaniasis 13:45 – 14:00
Gökhan ÖZDEMİR	Türkiye’de Kanin Leishmaniasis ve Anket Sonuçları 14:00 – 14:20
Metin PEKAĞIRBAŞ	Türkiye’de Kum Sineği Çalışmalarında Son Durum 14:20 – 14:40
Mehmet KARAKUŞ	Paratransgenesis ve Vektör Mikrobiyotasının Deneysel Düzenlenmesi 14:40 – 15:00



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 04

1

30 Eylül 2019 – 13:30-15:00

Olgularla Visseral Leishmaniasis: Ege Deneyimi

Derya DİRİM ERDOĞAN

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, İZMİR

E-posta: derya.dirim.erdogan@ege.edu.tr

Visseral leishmaniasis (VL) Türkiye’de önemli halk sağlığı sorunlarından biridir. VL tanısında, dokuda (genellikle kemik iliği veya dalak) amastigotun gösterilmesi (histopatoloji), in vitro kültür ile parazit izolasyonu, parazit DNA'nın moleküler yöntemlerle saptanması ve serolojik testler kullanılmaktadır. Hastanın klinik durumu, parazit yükü ve coğrafi kökeni, kullanılan yöntemler ve laboratuvar deneyimine bağlı olarak tanıda birden fazla yöntem ihtiyacı duyulabilmektedir.

Visseral leishmaniasisin rutin serolojik tanısı için Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarında hazırlanan IFA IgG testi uygulanmaktadır. Ayrıca gerektiğinde aktif enfeksiyonu destekleyen rK39 hızlı immunokromotografik tanı testi kullanılmaktadır. Laboratuvarımızda, aynı zamanda ülkemizin rutin olarak VL serolojik testi uygulamayan çeşitli hastanelerindeki hastaların serum örneklerine de IFA IgG testi uygulanmakta ve gerektiğinde konsültasyon hizmeti verilmektedir.

Bu sunumda, 2015-2019 yılları arasında VL şüphesi ile Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarına gönderilmiş olan tüm serum örneklerinin serolojik inceleme sonuçları ve olgu verileri değerlendirilecektir.



Türkiye’de Olgularla Kutanöz Leishmaniasis

İ. Cüneyt BALCIOĞLU

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, MANİSA

E-posta: drcbal@yahoo.com

Leishmaniasis, tropikal ve subtropikal bölgelerde görülen *Leishmania*'nın neden olduğu paraziter bir hastalıktır. Vektörü olan kum sineklerinin 30'dan fazla türü, 20'den fazla türü bulunan *Leishmania* parazitini insanlara bulaştırır. İnsanlar da dahil olmak üzere 70 hayvan türü doğal rezervuar olarak bildirilmiştir. Kutanöz leishmaniasis (KL), visseral leishmaniasis (VL) ve mukokutanöz leishmaniasis (MKL) olmak üzere üç ana klinik formu bulunmaktadır.

Dünyada endemik bölgelerde yaşayan yaklaşık 1 milyar insan bulunmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü tarafından leishmaniasis vakalarını rapor eden 200 ülkenin bulunduğu, Ekim 2018 itibarıyla dünya genelinde VL açısından 50 ülke ve KL açısından 52 ülkenin endemik olarak kabul edildiği bildirilmiştir (1). Dünya genelinde son 5 yılda 1 milyon KL rapor edilirken, yıllık 300.000 VL vakası rapor edileceği tahmin edilmektedir (2). Ülkemizde 2008– 2017 yılları arasında 26.356 KL vakası bildirilmiştir (3). 2016 yılında 23 yerli VL, 14 import VL vakası bildirilirken, 1474 yerli KL, 1089 import KL vakası bildirilmiştir (4). Ülkemizde dört farklı *Leishmania* türü (*L. tropica*, *L. major*, *L. infantum*, *L. donovani*) KL ve VL etkeni olarak saptanmıştır. Dört türünde neden olduğu KL vakaları ile *L. infantum*, *L. donovani* ve *L. tropica*'nın neden olduğu VL vakaları bulunmaktadır.

Kutanöz leishmaniasisin kliniği, konak ve parazitin türüne bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Genel olarak konağın immün sistemi hastalığın kliniği ile yakın ilişkilidir (5). Kutanöz leishmaniasis, vücudun giysi ile örtülmeyen alanlarının enfekte dişi kum sinekleri tarafından ısırılması ile ısırılan bölgede eritemli bir papül olarak başlar. Konağın immün sistemine ve parazitin türüne bağlı olarak papül yavaş bir şekilde büyüyerek 2-8 ay içerisinde nodül veya plağa dönüşür. Tek bir lezyon olabileceği gibi çok sayıda lezyonda görülebilmektedir. Oluşan lezyonlar kuru, yaş, rezidivan, lupoid ve sporotrikoid tipte olabilmektedir (6).

Kutanöz leishmaniasis tanısında lezyonun sağlam doku ile birleştiği bölgeden alınan kazıntı örneği veya lezyondan alınan aspirasyon sıvısı örneğinden hazırlanan preparatların giemsa boyaması sonucu amastigotların görülmesi ile tanı konur. Diğer bir tanı yöntemi Novy-MacNeal (NNN) besiyerine alınan örneğin ekimi sonucu besiyerinin 26°C'lik etüv içerisinde inkübasyona sonucu besiyerinde promastigotların üremesi ile tanı konmaktadır. Son yıllarda moleküler yöntemlerin gelişmesi ile lezyondan alınan örneğin DNA izolasyon kitleri ile izolasyon işleminden sonra moleküler yöntemler ile parazitin internal transcribed spacer (ITS1), heat-shock protein 70 gene (hsp70), mini-exon, kinetoplast minicircle DNA (kDNA minicircles) gibi bölgelerine özgü tasarlanan primerler ile parazitin DNA'sı aranarak tanı konmaktadır.

Kaynaklar

1. WHO, https://www.who.int/gho/neglected_diseases/leishmaniasis/en/, erişim tarihi : 15.08.2019
2. WHO, <https://www.who.int/leishmaniasis/en/>, erişim tarihi : 15.08.2019
3. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/zoontikvektorel-sarkicibani/istatistik>, erişim tarihi : 28.08.2019
4. WHO, Weekly epidemiological record, 2018, 93, 521-540
5. Douba MD, Abbas O, Wali A, et al. Chronic cutaneous leishmaniasis, a great mimicker with various clinical presentations: 12 years experience from Aleppo. J Eur Acad Dermatol Venerreol 2012;26:1224-9 .
6. Harman M. 2015. Kutanöz Leishmaniasis, Turk J Dermatol, 9:168-176



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 04

3

30 Eylül 2019 – 13:30-15:00

Türkiye’de Kanin Leishmaniasis ve Anket Sonuçları

Gökhan ÖZDEMİR¹, Mehmet KARAKUŞ²

¹İzmir Veteriner Hekimler Odası, İZMİR;

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Üsküdar, İSTANBUL

E-posta: gozdemir68@gmail.com

Kanin Leishmaniasis (KanL) Akdeniz havzası ülkelerinde köpeklerde yaygın bir şekilde görülen *Leishmania* spp. kaynaklı bir paraziter bir hastalıktır. Hastalığın yayılımında sosyoekonomik ve iklimsel faktörler önemli rol oynamakta ve iklim değişikliğine bağlı olarak hastalık kuzeye doğru yayılım göstermektedir. Ülkemizde yapılan epidemiyolojik çalışmalar, KanL’nin insan VL olgularından çok daha fazla olduğunu ve ortalama prevalansın %15,76 olduğunu ortaya koymuştur.

Türkiye’de KanL farkındalığını artırmak adına Türkiye Parazitoloji Derneği ve İzmir Veteriner Hekimleri Odası ortaklığıyla çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiş ve bu çalışmalar sonrasında “Kanin Leishmaniasis Ulusal Tanı, Tedavi ve Korunma Rehberi” hazırlanmıştır. Rehber ülkemizde KanL farkındalığının artırılmasında, uluslararası standartlara ve tek sağlık konseptine uygun olarak klinik evrelendirmede/izlemede, tanı konulmasında, tedavi ve korunma protokollerinin doğru olarak uygulanmasında ülkemizdeki veteriner hekimlere yardımcı olmak amacıyla hazırlanmıştır.

Türkiye Parazitoloji Derneği ve İzmir Veteriner Hekimleri Odası olarak, ülkemizde KanL farkındalığı ve epidemiyolojisi hakkında bilgi toplamak amacı ile “Türkiye Kanin Leishmaniasis Anketi” hazırlanmış ve bu anket Dernek ve Oda kanalıyla veteriner hekimlerin erişimine sunulmuştur. Hazırlanan anket 16 sorudan oluşmakta ve katılımın kontrol edilebilmesi amacıyla katılımcıların e-posta adreslerini girmeleri zorunlu kılınmıştır. Anket sonunda bütün katılımcılardan ankette yer almayıp eklemek istedikleri başka bir bilgi olup olmadığı sorulmuş ve verilen cevaplar kaydedilmiştir. Ankette temel olarak klinik hasta profili, haftalık hasta sayısı, son 12 ayda başvuran hasta sayısı, leishmaniasis şüphesinin dayandırıldığı klinik bulgular, son 12 ayda tanısı konulan vaka sayısı, bu vakaların yeni-eski vaka oluşu, tanının hangi yöntemlerle konulduğu, tanının nerede konuldu, tanı konulan köpeklerin nerede bakıldığı, tedavide ne kullanıldığı, son 10 yıllık vaka sayısındaki artış-azalış durumu, hastalığın bölgedeki yaygınlığı gibi sorular sorulmuştur.

Türkiye Kanin Leishmaniasis Anketi’ne toplam 81 veteriner hekim/klinik katılmıştır. Katılımcıların %93,8 lik kısmı hasta profillerinin pet olduğunu belirtmiştir. Katılımcılar arasında haftada 50 ve üzeri hasta başvurusu alan klinik oranı %33,8 bulunurken bu oranı %31,3 ile haftalık 21-50 arası hasta başvurusu izlemektedir. Katılımcıların verdikleri cevaplar sonrasında, tanıda en sık yararlanılan bulgunun yaralar ve lokalize tüy dökülmesi olduğu anlaşılmaktadır. Kanin leishmaniasis tanısında en nadir bulgunun dalak büyümesi olduğu ve onu takiben ve görme bozuklukları olduğu bildirilmiştir. Anket seçenekleri arasında yer almayan fakat katılımcılar tarafından belirtilen bulguların birkaçı ise kaşıntı, iştahsızlık, kusma, ishal ve karaciğer problemleri olarak kaydedilmiştir. Son 12 ayda tanı konulan vaka sayısının 1-5 arası olduğu klinik sayısı %42 ile en yüksek değer olarak kaydedilmiştir. Katılımcı klinikler bu vakaların %48,1’lik oranının yeni vaka olduğunu bildirmişlerdir. Tanı koymada kullanılan yöntemler arasında %87,7 gibi yüksek bir oranla hızlı tanı testi (Dipstick) tercih edilmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Katılımcı veteriner hekimlerin %27,4'lük kısmı tanıyı sadece klinik bulgulara dayandırdığını belirtmektedir. Moleküler tanı sadece %8,2 lik bir oranda kalmıştır. Katılımcıların %86,3'ü tanıyı kendi muayenehanesinde koyduğunu belirtmiştir. Sadece %1,4'lük bir oranı Veteriner Fakültesinden yardım aldığını belirtmiştir. Katılımcı veteriner hekimlerin %79,2'lik bir kısmı bu enfeksiyonun çalıştıkları bölgede meydana geldiğini düşünmektedir. Kliniğe getirilen köpeklerin büyük bir çoğunluğunun (%92,2) evin dışında bakıldığı ortaya çıkmıştır.

Veteriner hekimlerin %91,4'ü tedavide Allopurinol kullandığını belirtirken bunu %10,3 ile Miltefosin kullanımı takip etmektedir. Ayrıca katılımcıların %10'u Antimon kullandığı belirtmiştir. Ankete katılan veteriner hekimler son 10 yıllık süreçte KanL oranında %64,9'luk bir artış olduğunu düşünmektedir. Katılımcıların %93,4'ü insektisikli tasma kullanımını koruyucu yöntem olarak hasta sahiplerine tavsiye ettiğini belirtmiştir. Ayrıca katılımcıların %63,2'si tasma kullanımının yanında Spot On kullanımını da önermektedir. Ankete katılan veteriner hekimlerin %52,5'i vektör yakarcalarla mücadele ile ilgili bir sunum, broşür ve bilgilendirme aldığını belirtirken, %47,5'i herhangi bir bilgilendirme materyali almadığını beyan etmişlerdir.

Anket sonunda katılımcıların anket ve hastalık hakkında iletmek istediklerine yer verilmiş ve anket, katılımcıların çoğu tarafından başarılı bulunmuştur. Fikir beyanında bulunan bir katılımcı soruların özel klinik sahiplerine yönelik hazırlandığını, ancak sokak köpeklerinde KanL vakalarının daha fazla olduğunu ve bulaşı sokak köpeklerinin artırdığını belirtmiştir. Bir katılımcı KanL tedavisinde kullanılan ilaçların ithalatının sorunu çözeceğini belirtmiştir. Bir diğer katılımcı hasta sahiplerinin KanL hakkında hiçbir bilgisi olmadığını ve bu konuda detaylı bir bilgilendirme çalışması yapılması gerektiğini belirtmiştir. Türkiye Parazitoloji Derneği ve İzmir Veteriner Hekimleri Odası olarak gerçekleştirdiğimiz bu anket çalışmasında ortaya çıkan veriler ışığında KanL olgularının bir artış trendi izlediği ve hasta sahiplerinin hastalık hakkında bilgilerinin az olduğu sonucuna ulaşılmaktadır. Kanin leishmaniasis konusunda bilgilendirme çalışmalarının tek sağlık konsepti altında gerçekleştirilmesi vektör-parazit-konak ilişkisini daha etkin bir şekilde anlamamızı sağlayacaktır.



Türkiye’de Kum Sineklerinin Güncel Durumu

Metin PEKAĞIRBAŞ¹, Yusuf ÖZBEL²

¹Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, AYDIN;

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, İZMİR

E-posta: metinpekagirbas@gmail.com

Kum sinekleri aracılığı ile bulaşan *Leishmania* parazitlerinin neden olduğu leishmaniasisin, tedavi edilmediğinde ölümcül olabilen visseral leishmaniasis (VL, kala-azar), tedavi edilmese de kendiliğinden iyileşebilen kutanöz leishmaniasis (KL, şark çıbanı) ve deri ile birlikte mukozaları da tutarak daha ağır tabloya neden olan mukokutanöz leishmaniasis olmak üzere üç klinik şekli bulunmaktadır. Ülkemizin önemli halk sağlığı sorunlarından biri olan ve bildirim zorunlu leishmaniasisin kontrol altına alınması için, endemik bölgelerde hastalık dağılımlarının belirlenmesi, risk faktörlerinin saptanması ve bu hastalığa vektörlük eden kum sineklerinin dağılımlarının bilinmesi, hastalıkla mücadelede önemli bir yer tutmaktadır.

Dünyada yedi cinsle ait 1000 kadar türü tanımlanan, tropik ve subtropik kuşakta yer alan ülkelerde uygun ısıya bağlı olarak yaygın olarak bulunan kum sineklerinin sadece 70’inin hastalık etkenlerine vektörlük yaptığı bilinmektedir. Hastalığı bulaştıran kum sinekleriyle ilgili yapılan çalışmalarda Türkiye’de günümüze kadar en az 28 kum sineği türünün bulunduğu, bunların bazılarının Dünya’nın diğer ülkelerinde kanıtlanmış vektör oldukları, Avrupa’daki ülkeler arasında en zengin kum sineği faunasının ülkemizde bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca *Phlebotomus neglectus*, *P. tobbi*, *P. papatasi*, *P. alexandri*, *P. similis*, *P. sergenti* gibi olası ya da kesin vektörlerin Türkiye’de tespit edildiği çeşitli çalışmalarla bildirilmiştir.

Türkiye’de yayılım gösteren kum sinekleri *Phlebotomus* ve *Sergentomyia* cinslerine ait türlerden oluşmaktadır ve şimdiye kadar *Phlebotomus* cinsine ait 24 ve *Sergentomyia* cinsine ait 4 olmak üzere 28 türün varlığı gösterilmiştir. Türkiye’nin de içinde bulunduğu Akdeniz havzasında *Phlebotomus* cinsine bağlı türler *Phlebotomus*, *Paraphlebotomus*, *Adlerius*, *Larroussius* ve *Transphlebotomus* alt cinsleri içinde incelenmektedir. Türkiye’de daha önce yapılan kum sineği çalışmalarında toplanan bilgilere göre 42 ilde kum sineği fauna araştırması yapıldığı görülmüş ve özellikle leishmaniasis açısından endemik olduğu halde vektörlerle ilgili herhangi bir çalışma yapılmamış olan illerimiz bulunduğu (Muğla, Diyarbakır, Mardin, Osmaniye, Nevşehir, Kayseri, Muş, Hakkari, Şırnak, Gaziantep, Adıyaman) tespit edilmiştir. Şimdiye kadar kum sinekleri ile ilgili olarak yayınlanmış / yayınlanmamış çalışmalardaki veriler analiz edilerek bir veri tabanı oluşturulmuş ve ilçe düzeyinde kum sineği kesin/olası vektör türlerinin dağılımını gösteren haritalar Coğrafi bilgi sistemleri yazılımları ile hazırlanmıştır. Buna göre dünyada yapılan uygulamalara benzer şekilde kum sineği veri tabanı kullanılarak önem taşıyan 10 kum sineği türü için dağılım haritaları hazırlanmıştır. Dinamik olarak hazırlanan veri tabanı ve harita sistemi, yeni veriler elde edildikçe güncellenebilecek şekilde arşivlenmiştir.



Paratransgenesis ve Vektör Mikrobiyotasının Deneysel Düzenlenmesi

Mehmet KARAKUS

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Üsküdar, İSTANBUL

E-posta: mehmet.karakus@sbu.edu.tr

Paratransgenesis veya diğer adıyla paratransgenik vektör kontrolü, vektör endosimbiont bakterileri kullanarak vektörün parazit bulaştramaz hale getirilmesi olarak tanımlanmaktadır. Paratransgenetik düzenleme çalışmalarında vektör organizmanın mikrobiyotasının tüm bileşenleri tanımlanmış ve Colony Forming Unit (CFU) değerleri belirlenmiş olmalıdır. Mide bakteri çeşitliliğinin transforme bakteri grupları kullanılarak deneysel olarak düzenlenmesinde microRNA yapıları kullanılmakta ve ekspresyon seviyeleri kantitatif olarak değerlendirilmektedir. Vektör kontrolünde kullanılması planlanan bakteri türünün belirlenen microRNA dizisini ifade edebilmesi ve etkinliğinin parazit yaşam döngüsünde bir anlam ifade azaltıcı veya artırıcı bir anlam ifade etmesi gerekmektedir.

Paratransgenesis konusunda çalışmalar son yıllarda önemli ölçüde hız kazanmıştır fakat henüz tam anlamıyla başarılı bir sistem kurulmamıştır. Ülkemizde bu konuda gerçekleştirilen çalışma sınırlı sayıda olmakla birlikte elde edilen veriler mide koloni verilerinin oluşturulması bakımından anlamlıdır. Ülkemizde bu konuda tamamlanmış çalışmalardan elde edilen veriler ışığında leishmaniasis vektörü *Phlebotomus papatasi* mide bakteriyel kolonisinde Anaplasmatacea grubunun baskın olduğu ortaya konmuştur. Bu bakteri grubunun vektör koloni grubunda ve doğadan toplanan bireylerinde baskın olarak belirlenmesi başarılı bir paratransgenesis adayı olabileceğine işaret etmektedir. Aynı şekilde bir vektör zararlısı bakteri olarak bilinen *Serratia* spp. Kolonilerinin yoğun oranda gözlenmesi transgenik kontrolde önemli bir aday olabileceğini göstermektedir.

Vektör kaynaklı hastalıkların başında gelen Leishmaniasis'in daha vektör basamağında kontrol edilmesi ve döngünün vektör midesinde kırılması için ülkemiz vektör mide bakteriyel zenginliğinin belirlenmesi gerekmektedir. Böylece endosimbiont bakteri türleri ve bunların birbirleri ile olan ilişkileri başarılı bir şekilde değerlendirilip paratransgenik mücadele kapsamında çalışmalara geçilebilecektir. Bakteriyel zenginlik coğrafi konum itibarıyla farklılık gösterebileceği için mikro popülasyonlarda incelemeler gerçekleştirilip hedef vektör türler üzerinde etkinlik denemeleri gerçekleştirilmelidir.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA OTURUMU 05

Önemi Artan Enfestasyonlar

Düzenleyenler	Nevin TURGAY / Seray TÖZ	
01 Ekim 2019		09:00 – 10:00
Nurhadiye KURU	Demodex folliculorum'un Deri Hastalıkları ve Blefarit ile Bağlantısı, Tanı ve Tedavisi	09:00 – 09:15
Orçun ZORBOZAN	Uyuz	09:15 – 09:30
Mehmet KARAKUŞ	Türkiyede Baş Biti Enfestasyonu, Genetik Yapısı ve Direnç Durumu	09:30 – 09:45
Evren TİLEKLİOĞLU	Miyazis Deneyimi: Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Nazlı-Selim Eren Kronik Yara ve İnfeksiyonları Bakım Ünitesi	09:45 – 10:00



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 05

1

01 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Demodex folliculorum'un Deri Hastalıkları ve Blefarit ile Bağlantısı, Tanı ve Tedavisi

Nurhadiye KURU, Orçun ZORBOZAN, Kardelen YETİŞMİŞ, Özlem ULUSAN, Ayşegül ÜNVER

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, Bornova, İZMİR

E-posta: nurhadiye@yahoo.com

Amaç: *Demodex* spp. *Arachnida* sınıfı, *Acarida* alt sınıfı, *Demodiacidae* ailesine ait bir akardır. İnsanın en yaygın daimi parazitlerinden olan *Demodex* spp. özellikle ergenlikten sonra her yaşta görülür, yaş arttıkça sıklığı artar ve tüm ırklarda bulunabilir. İnsana yakın temasla bulaşan 2 türü bulunmaktadır. *Demodex brevis* sebaceöz bezlerin derinliklerinde çoğunlukla tek olarak yaşamaktadır. *Demodex folliculorum* daha çok folliküler açıklıklarda tek veya gruplar halinde bulunmaktadır, yüzde ve kirpik diplerindeki infestasyonlarda karşımıza çıkmaktadır. Yaşamaları için uygun olan yağ bezlerinin yoğun olduğu foliküllerinde; özellikle alın, yanaklar, nazolabial kıvrımlar ve burun bölgelerinde daha sık rastlanırlar. Pek çok çalışma, inflamasyonlu ciltte parazitlerin normal ciltte olduğundan daha yoğun bulunduğunu göstermiştir, bu inflamasyonun nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu tartışmalıdır. Ancak tedaviye verdiği hızlı cevap bu organizmaların patojen olduğunun en güçlü kanıtıdır (1-3).

Demodex folliculorum tedavisinde topikal permetrin %5 krem, topikal sülfür, oral ivermektin, oral metronidazole kullanılmaktadır (4). Randomize bir çalışmada kombine oral ivermektin ve metronidazole tedavisi tekli oral ivermektine göre daha etkili bulunmuştur (5). Genel kabul gören yaklaşım ise Topikal permetrin %5 krem veya oral ivermektin tedavilerinden biri ile tedavi etmektir. Ülkemizde İvermektin preparatı bulunmamaktadır. *Demodex folliculorum* blefaritinde tedavi göz hijyeni sağlamak amacıyla uzun sürmektedir. Primer amaç *Demodex folliculorum*'i tedavi ederek göz kapağı ve kirpiklerdeki parazit miktarını azaltıp inflamasyonu ortadan kaldırmaktır. Klasik blefarit tedavisi olan ılık kompresyon ve antibiyotik/steroid kombinasyonu *Demodex folliculorum*'u eradike etmez, tam tersine direnç gelişimine neden olur (6). Son zamanlarda en etkili ve yaygın kullanılan tedavi çay ağacı yağıdır. İçerisinde bulunan aktif madde Terpinen-4-ol; antimikrobiyal, antifungal, antiviral, antiseptik ve akarisit özelliklerine sahiptir (7, 8).

Demodex folliculorum'un farklı deri hastalıklarındaki rolü ve tedavisinde permetrinin etkisini görmek üzere Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarında yapılan çalışmada değişik dermatit şikayetleriyle tanı alan toplam 217 hastada *Demodex folliculorum* yoğunluğu ve permetrin tedavisinin etkinliği araştırılmıştır.

Yöntem: Çalışmaya 91 rozasea, 43 akne vulgaris, 40 perioral dermatitis, 31 seboreik dermatit ve 12 non-spesifik dermatit olgusu dahil edilmiştir. Her hastadan yüzeysel deri biopsisi ile örnekler alınmış, *Demodex folliculorum* yoğunluğu 5/cm²'nin üzerinde olan hastalar 2 hafta süreyle permetrin ile tedavi edilmişlerdir. Ayrıca 2013-2019 yılları arasında ciltte kızarıklık ve dermatit yakınmaları ile Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Direkt Tanı Laboratuvarı'na gelen 720 hastanın sonuçları da geriye dönük olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen toplam 217 hastadan, 43 akne vulgarisli hasta grubu dışındaki 174 hastada (%80) *Demodex* yoğunluğu tespit edilmiştir. Sağlıklı gönüllülerden oluşan 70 hastadan alınan



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

örneklerde ise *Demodex* yoğunluğu saptanmamıştır. %5'lik permetrin krem kullanan Akne vulgarisli grubu oluşturan 43 hastanın 1'i dışındakilerde akar yoğunluğu tedavi sınırlarının altında tespit edildiği için tedavi uygulanmamıştır. Parazit yoğunluğu 8/cm² bulunanacnevulgarisli 1 hastaya tedavi uygulanmış ve tedavi sonrası parazit yoğunluğunun 1,6/cm² olduğu tespit edilmiştir. Rozasealı 91 hastanın tedavi öncesi ortalama parazit yoğunluğu 18,05/cm², 40 perioral dermatitisli hastanın 18,61/cm², 31 seboreik dermatitli hastanın 20,26/cm², 12 non-spesifik dermatitli hastanın 62/cm² olup, tedavi sonrası ortalama parazit yoğunluğu sırasıyla 4,56/cm², 4,25/cm², 5,40/cm², 6,3/cm² olarak tespit edilmiştir. Ocak 2013 - Temmuz 2019 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Direk Tanı Laboratuvarına *Demodex folliculorum* şüphesi ile başvuran hastaların yapılan yüzeysel deri biyopsisi verileri retrospektif olarak değerlendirilmiş, bu dönemde başvuran toplam 720 hastanın 549'unda (%73,2) *Demodex folliculorum* pozitif olarak bulunmuştur. Bu hastaların 48'i (%8,7) Akne vulgaris, 132'si (%24) rosecea, 347'si (%63,2) dermatit, 12'si (%2,2) derinin inflamatuvar hastalığı ve 10'u (%1,8) blefarit ön tanısı ile bize geldikleri saptanmıştır.

Sonuç: Kısa süreli permetrin tedavisinin akar yoğunluğunu azaltmada başarılı olacağı ve *Demodex folliculorum*'in dermatit, akne vulgaris, rozasea ve blefarit gibi klinik tabloların etiyopatogenezinde rol oynadığı akılda tutulmalıdır.

Kaynaklar

1. Dorota LITWIN, WenChieh CHEN, Ewa DZIKA, et al. Human Permanent Ectoparasites; Recent Advances on Biology and Clinical Significance of *Demodex* Mites: Narrative Review Article. *Iran J Parasitol.* 2017;12(1):12-21.
2. Elston CA, Elston DM. *Demodex* mites. *Clin Dermatol.* 2014; 32(6):739-43.
3. Moran EM, Foley R, Powell FC. *Demodex* and rosacea revisited. *ClinDermatol.* 2017; 35(2):195-200.
4. Elston DM. *Demodex* mites: facts and controversies. *Clin Dermatol.* 2010; 28(5):502-4.
5. Salem DA, El-Shazly A, Nabih N, et al. Evaluation of the efficacy of oral ivermectin in comparison with ivermectin-metronidazole combined therapy in the treatment of ocular and skin lesions of *Demodex olliculorum*. *Int J Infect Dis.* 2013;17(5):e343-7.
6. Leibowitz HM, Capino D. Treatment of chronic blepharitis. *Arch Ophthalmol.* 1988;106(6):720.
7. Gao YY, DiPascuale MA, Elizondo A, Tseng SC. Clinical treatment of ocular demodocosis by lidscrub with tea tree oil. *Cornea.* 2007;26(2):136-143.
8. Gao YY, DiPascuale MA, Li W, et al. Invitroand in vivokilling of ocular *Demodex* byteatreeoil. *Br J Ophthalmol.* 2005;89(11):1468-1473.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 05

2

01 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Uyuz

Orçun ZORBOZAN

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, Bornova, İZMİR

E-posta: orcun-zorbozan@hotmail.com

Uyuz; *Sarcoptes scabiei* parazitin enfestasyonunun sebep olduğu kaşıntılı eritemli papül ve ekskoriasyonlarla karakterize bir hastalıktır. Hastalık yakın temas veya ortak eşya kullanımı yoluyla bulaşır. Belirtiler enfestasyon geliştikten 3-6 hafta sonra ortaya çıkarken daha önce parazitlerle karşılaşmış kişilerde 24 saat içerisinde gelişebilir. Lezyonlar genellikle parmak araları, el bileği fleksör yüzler, aksilla, periumbrikal alan, dirsek, gluteal alan, ayaklar, erkeklerde genital alan, kadınlarda meme etrafı gibi nemli bölgelerde gözlenir. Bebeklerde, yaşlılarda ve bağışıklığı baskılanmış hastalarda yüz ve kafa derisi tutulumu da görülebilir. Patognomonik bulgusu parazitin deride kazdığı tüneldir. Kabuklu uyuz ya da Norveç uyuzu bağışıklığı baskılanmış hastalarda görülen, yaygın hiperkeratozun gözlendiği şiddetli hastalık formudur. Tanı klinik muayene bulguları, deri kazıntısında parazit veya ürünlerinin ışık mikroskopunda gösterilmesi, dermoskopik bakı ve histopatolojik inceleme ile konulabilir. Hastalar ve yakın temasta buldukları kişiler belirti olmasa dahi tedavi edilmelidir. Parazit konak dışında ortalama 48-72 saat yaşayabildiği için son 3 günde kullanılan eşyalar hava alması engellenen bir plastik torbada en az 72 saat bekletilmelidir. Kıyafetler ve nevresimler en az 60 °C derece sıcak su ile yıkanmalıdır. Topikal tedavi seçenekleri arasında %5 permetrin, %1 lindan, presipite sülfür, krotamiton, benzil benzoat ve malatyon bulunmaktadır. Sistemik tedavide tek seçenek ivermektindir.

Son yıllarda uyuz hastalığı önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Laboratuvarımıza uyuz nedeni ile başvuran hasta sayısında da 2018 yılından itibaren dramatik bir artış gözlenmiştir (2017; 46 başvuru, 2018; 248 başvuru). Buna ek olarak konvansiyonel tedavilere yanıt azalmaktadır. Tedavi sonrası geçmeyen belirti ve bulguların nedenleri yanlış tanı, duyarlılığı düşük tanı yöntemlerinin kullanımı, uygun olmayan ilaç kullanımı, kremin uygun kullanılmaması, kreme lokal reaksiyon gelişmesi, parazit ve ürünlerine bağlı postskabiyetik reaksiyon gelişmesi, re-enfestasyon, parazit delüzyonu ve direnç gelişimi olabilir. Uyuzda standart tedavi %5'lik konsantrasyonda permetrinin topikal olarak uygulanmasıdır. Piretroid insektisitlerin hedef bölgesi nöronlarda voltaja duyarlı sodyum kanalıdır (VSSC). Sodyum kanallarının aktivasyon ve inaktivasyon kinetiğini yavaşlatarak kanalların uzun süre açık kalmasına ve sonucunda paralizi ve ölüm gelişmesine neden olur. Piretroid direnci VSSC genindeki spesifik mutasyonlar nedeniyle direnç görülmektedir.

Uyuz sıklığındaki artışa rağmen laboratuvara başvuru beklenen ölçüde olmamaktadır. Başvuran hastalar genellikle klinik tanı ile tedavi başlanmış ancak yakınlmaları kaybolmayan hastalardır. Uyuz sıklığının artması ve tedaviye karşı gelişen direnç de göz önünde bulundurulduğunda hastanın ilk başvurusunda parazitolojik incelemenin yapılarak tanının konması önem kazanmaktadır. Tedavi alan ancak belirtileri kaybolmayan hastalarda etkenin tanınması zorlaşmakta ve tedavi başarısızlığının nedeninin yanlış tanı mı yoksa ilaç direnci mi olduğu anlaşılmamaktadır. Uyuz tanısında laboratuvar kullanımının oranı kullanılan laboratuvar tanı araçlarının duyarlılığı ile orantılıdır. Uyuz şüphesinde mikroskopik inceleme için standart olarak deri kazıntı örneği alınarak inceleme yapılmaktadır. Ancak



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

bu yöntemle örnek alımı çeşitli dezavantajlara sahiptir. Deri kazıntısı ile elde edilen örnek miktar bakımından yetersiz olabilmektedir. Ayrıca etken parazitin yerleştiği alanlar derinin nemli ve ince kısımları olduğu için deri kazıntısı almak her zaman mümkün olamamaktadır. Bu nedenle laboratuvarımızda uyuz tanısı için esasen *Demodex* enfestasyonlarının tanısında kullanılan standart yüzeysel deri biyopsisi (SYDB) yöntemi uygulanmaktadır. SYDB ile deri kazıntısını kıyasladığımız bir çalışmada SYDB'nin duyarlılığı (%57,1) deri kazıntısının duyarlılığından (%42,9) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Sonuç olarak uyuz hastalığının laboratuvar tanısının hastalığın ilk aşamasında yapılması önemlidir. Laboratuvara başvurunun artması için duyarlılığı yüksek tanı yöntemlerine ve iyi bir klinik-laboratuvar iletişimine ihtiyaç olduğu gözlenmektedir.

Kaynaklar

1. Khalil S, Abbas O, Kibbi AG, Kurban M. Scabies in the age of increasing drug resistance. PLoS Negl Trop Dis. 2017 Nov 30;11(11):e0005920.
2. Pasay C, Arlian L, Morgan M, Vyszynski-Moher D, Rose A, Holt D, Walton S, McCarthy J. High-resolution melt analysis for the detection of a mutation associated with permethrin resistance in a population of scabies mites. Med Vet Entomol. 2008 Mar;22(1):82-8.
3. Pasay C, Walton S, Fischer K, Holt D, McCarthy J. PCR-based assay to survey for knockdown resistance to pyrethroid acaricides in human scabies mites (*Sarcoptes scabiei* var *hominis*). Am J Trop Med Hyg. 2006 Apr;74(4):649-57.
4. Walton SF, Myerscough MR, Currie BJ. Studies in vitro on the relative efficacy of current acaricides for *Sarcoptes scabiei* var. *hominis*. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2000 Jan-Feb;94(1):92-6.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 05

3

01 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Türkiye’de Baş biti Enfestasyonu, Genetik Yapısı ve Direnç Durumu

Mehmet KARAKUS

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Üsküdar, İSTANBUL

E-posta: mehmet.karakus@sbu.edu.tr

Baş bitleri (*Pediculus humanus capitis*) insanlarda parazitlenen zorunlu ektoparazitlerden olup ülkelerin ekonomik gelişmişliklerinden bağımsız bir şekilde dünya çapında değişen oranlarda enfestasyonlara neden olmaktadır. Baş bitlerinin coğrafi kökenini inceleyen filogenetik çalışmalar sonrasında 25 milyon yıllık bir geçmişe sahip oldukları ve popülasyon farklılıklarının son 2 milyon yıllık süreçte meydana geldiği düşünülmektedir. Ülkemizde gerçekleştirilen çalışmalarda enfestasyon oranı %1,8-%29 arasında değişiklik gösterdiği bildirilmiştir. Ülkemizde bit enfestasyonunu araştıran çalışmaların büyük bir kısmı (%90,5) ilkokullarda gerçekleştirilmiş dolayısıyla verilerin büyük bir kısmı çocuk yaşta hastalardaki dağılımı göstermektedir. Aile ilişkili durumlarda bit enfestasyon varlığı %44 seviyelerinde kaydedilmiş ve bu değer in sosyoekonomik durum ile ters orantılı olduğu önceki çalışmalarda bildirilmiştir.

Mitokondrial genlerin incelenmesi ile coğrafi dağılımları göz önüne alındığında günümüze kadar belirlenmiş 5 farklı Clade yapısı (Clade A, Clade B, Clade C, Clade D ve Clade E) ve bunun alt popülasyon yapıları bulunmaktadır. Önceki çalışmalarda önerilen *P. h. capitis* yayılış rotası incelendiğinde ülkemizde A Clade yapısına dahil popülasyon yapılarının olması bekleniyordu. Fakat tek merkezli olarak gerçekleştirilen son çalışmada ülkemizde Clade A popülasyonun yanı sıra Clade B popülasyonunun da bulunduğu gösterilmiştir.

Baş bitlerinin kontrolünde karşılaşılan en büyük sorunlardan biriside tezgah üstü olarak adlandırılan insektisit bazlı kontrol ajanlarına karşı geliştirilen direnç durumdur. Ülkemizde bu konuda yayınlanmış bir çalışma bulunmamakla birlikte, yayınlanmamış fakat çeşitli bilimsel etkinliklerde sunulmuş verilere göre yüksek oranda permethrin direnç frekansı gözlenmiştir (0.99-1.00). Gerçekleştirilen bir diğer çalışmada Manisa bölgesinde direnç allele frekansının bazı markerlar için 1.00 (tam dirençli) seviyesine kadar geldiği bildirilmiştir. Baş biti enfestasyonunun kontrolü için düzenli frekans sürveyansı gerçekleştirilmeli ve direnç tespit edilen ürünler kullanılmamalıdır.

Bu çalışmada sunulan verilerin bir kısmı Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünün 2018/067 nolu projesi kapsamında ulaşılan verilerdir.



Miyazis Deneyimi: Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Nazlı-Selim Eren Kronik Yara ve İnfeksiyonları Bakım Ünitesi

**Evren TİLEKLİOĞLU¹, İbrahim YILDIZ¹, Fürüzan BOZKURT KOZAN²,
Mustafa Bülent ERTUĞRUL³, Hatice ERTABAKLAR¹**

¹Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD; ²Uygulama ve Araştırma Hastanesi Kronik Yara ve Enfeksiyonları Bakım Ünitesi; ³Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, AYDIN

E-posta: etileklioglu@gmail.com

TAM METİN

ÖZET

Miyaz etkeni sinek türlerinin (Diptera takımı) erişkinleri doğada serbest halde yaşarken yumurta ve larva evleri ise taze ya da hayvan leşleri gibi çürümüş organik maddeler gibi ortamlarda gelişim sürdürmektedir. Erişkin dişi sinekler yaşam döngülerini devam ettirmek için genellikle yumurta ve larvalarını hayvanların canlı ya da ölü dokularına bırakmaktadır. Ancak insanlar da bu döngüye dahil olmaktadır. Böylelikle larvalar yerleştiği dokularda patolojik bozukluklara neden olarak miyazisi meydana getirmektedir. Psikolojik rahatsızlıklar, düşük sosyoekonomik seviye, ileri yaş, kötü hijyen koşulları, damarsal bozukluklar, bakımsız yaralar ve özellikle diyabet miyazis gelişimi için en önemli risk faktörlerindedir. Tedaviyi planlamada ve koruyucu önlemlerin alınmasında larvaların doğru tiplendirilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma hastanesi Nazlı-Selim Eren Kronik Yara ve İnfeksiyonları Bakım Ünitesinde saptanan miyaz olguları irdelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yara miyazis, *Calliphoridae* spp, *Sarcophagidae* spp, Aydın

Myiasis Experience: Aydın Adnan Menderes University Research and Training Hospital, Nazlı-Selim Eren Chronic Wounds and Infections Care Unit

SUMMARY

Adults of the myiasis fly species (Diptera order) live free in nature, but eggs and larvae develop in places such as fresh or rotten organic matter such as animal carcasses. Adult female flies often leave their eggs and larvae to the living or dead tissues of animals to maintain their life cycle. But people are also involved in this cycle. Therefore, the larvae cause myiasis by causing pathological disorders in the tissues where they settle. Psychological disorders, low socioeconomic status, advanced age, poor hygiene conditions, vascular disorders, neglected wounds and especially diabetes are risk factors for the development of myiasis. Correct identification of larvae is of great importance in the treatment of myiasis and in taking protective measures. Therefore, in this study, eight cases of myiasis investigated due to *Calliphoridae* and *Sarcophagidae* family in diabetic foot diagnosed were presented to Nazlı-Selim Eren Chronic Wound and Infections Care Unit of Aydın Adnan Menderes University Hospital.

Key Words: Wound myiasis, *Calliphoridae* spp, *Sarcophagidae* spp, Aydın



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

GİRİŞ

Diptera dizisinde bulunan Calliphoridae, Sarcophagidae, Oestridae, Muscidae, Hipodermatidae ailesi başta olmak üzere birçok türdeki sinek larvalarının insan ve hayvanların ölü ya da canlı doku ve organlarına yerleşmesi sonucu miyazis meydana gelmektedir. Enfestasyona neden olan sineklere, kırsal bölgelerde özellikle hayvancılığın yaygın olduğu yerlerde, kentlerde ise büyük çöplükler veya uzun süre toplanmayan çöplerde sıklıkla rastlanılmaktadır (1). Miyazis, sağlıklı insanlarda nadiren görülmektedir. Ancak psikolojik rahatsızlıklar, düşük sosyoekonomik seviye, ileri yaş, kötü hijyen koşulları, damarsal bozukluklar, bakımsız yaralar ve özellikle diyabet gibi durumlar miyazis gelişimi için en önemli risk faktörlerindedir (2). Klinik olarak larvalar yerleştiği yere göre kutanöz, aural, nazal, oküler, gastrointestinal ve genitoüriner miyazis olarak tanımlanmakta ve en sık rastlanan klinik formun kutanöz miyazis olduğu bildirilmektedir (3).

Hastalığın tanısı, larvaların dokuda veya organlarda görülmesine dayanmaktadır (4). Miyazisin mevcut tedavisinde ve koruyucu önlemlerin alınmasında larvaların doğru tiplendirilmesi büyük önem taşımaktadır. Çalışmada Calliphoridae ve Sarcophagidae ailesine bağlı on miyaz olgusu sunulmuştur.

OLGULAR VE YÖNTEM

Çalışmaya Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma hastanesi Nazlı-Selim Eren Kronik Yara Ve İnfeksiyonları Bakım Ünitesine diyabetik ayak ile başvuran ve miyazis tanısı alan olgular değerlendirilmiştir. Larva tespit edilen açık yaralarda yatak başında larval debridman tedavisi uygulanmıştır. Toplama kabına alınan larvalar en kısa sürede Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı'na tür tayini için gönderilmiştir. Laboratuvara gönderilen larvaların bir kısmı mikroskopta incelenerek ağız-yutak iskeletinin şekline, anterior ve posterior stigmaların yapı ve delik sayılarına bakılarak, larvaların evreleri ve hangi sinek türüne ait olduğu belirlenmeye çalışılmıştır (5). Geri kalan canlı larvalar evrelerini tamamlaması ve erişkin sinek hale gelmeleri için bir kap içerisinde önceden oda ısısına getirilmiş tavuk karaciğerine alınmıştır. Tavuk karaciğerinde beslenen larvalar pupa haline geçmeleri için odun talaşına alınmış ve pupalardan erişkin sinekler elde edilerek türleri belirlenmiştir.

TARTIŞMA

Dünyada ve ülkemizde miyazisin en sık karşılaşılan klinik formu kutanöz miyazistir. Kutanöz miyazis temelde furunkular, migratuvar ve travmatik (yara) miyazis olmak üzere üç ana klinik belirtiyeye ayrılmaktadır (6). Travmatik (yara) miyazisinin en önemli sebebi açıkta bırakılan ve bakımsız yaralardır. Bu bölgede bulunan nekrotik, kanamalı veya irin dolu lezyonların miyaz gelişimi için uygun koşulları oluşturduğu ifade edilmektedir (7). Aynı zamanda bu tür olgularda yara bölgesinden kaynaklanan kötü kokulu akıntının da sinekleri cezbediği bildirilmiştir (8). Yara miyazisine genellikle *Muscidae*, *Calliphoridae* ve *Sarcophagidae* ailesindeki türler neden olmakla birlikte bu türler çeşitli habitatlarda gelişim evrelerini tamamlamaktadırlar. Calliphoridae ailesinde yer alan sineklerin dişileri fakültatif olup, yumurtalarını genellikle taze ya da çürümüş etlere, hayvan leşlerine, dışkıya, yaralara, çürümüş ve kokuşmuş organik maddelere bırakmaktadırlar (9). *Sarcophagidae* ailesinin üyeleri ise çürümekte olan organik materyaller ve yumuşak hayvan dokuları üzerinden beslendikleri için "et veya pislik sinekleri" olarak da bilinmektedirler (10). Miyazise neden olan türlerin yaşadıkları habitatlarına ek olarak birçok faktörün (iklim, hayvancılık, damarsal bozukluklar, felç, psikoz belirtiler kötü hijyen koşulları vb) bu hastalığın meydana gelmesinde etkin rol oynadığı bildirilmektedir (11,12). Özellikle diyabetli olgular da oluşan periferik nöropatiye bağlı koruyucu duyu kaybı miyazis oluşumunda en önemli risk grubunda olduğu ifade edilmektedir (13, 14). Çalışmamızdaki tüm olgular diyabet tanısı almıştır. Altı erkek olgudan toplanan larvaların *Calliphoridae*, ikisi erkek ve biri kadın olmak üzere saptanan



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

larvaların da *Sarcophagidae* ailesine ait oldukları belirlenmiştir. Sadece bir olguda *Lucilia sericata* larvaları saptanmıştır. Kutanöz miyazisin, tropik bölgelerde yıl boyunca, ılıman bölgelerde ise sıklıkla yaz aylarında neden olduğu bildirilmektedir (15) Bu yüzden sunduğumuz olguların daha çok yaz aylarında miyazis meydana gelmesi dikkat çekmektedir.

SONUÇ

İlimiz, bulunduğu iklim koşulları ve hayvancılığın yaygın olması gibi nedenlerden dolayı miyazis açısından risk altındadır. Çalışmadaki olguların hayvancılıkla uğraşmaları ve ileri yaşta olmaları ve bakımsız yaraların olması bu kanıyı desteklemektedir. Predispozan faktörlerin yanı sıra özellikle sunduğumuz olgulardaki gibi diyabet tanısı almış olan olgularda kolaylıkla miyazis meydana gelebilmektedir. Bu nedenle çalışmada, diyabetli insanlarda oluşan yaralar açıkta bırakılmamalı, günlük olarak bakımı yapılmalı ve tüm sağlık çalışanlarıyla beraber özellikle endemik bölgelerde yaşayan insanların miyazis açısından bilgilendirilmesi gerektiği vurgulanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Singh A, Singh, Z. Incidence of myiasis among humans—a review. *Parasitol Res* 2015; 114: 3183-199. doi: 10.1007/s00436-015-4620-y.
2. Francesconi F, Lupi O. Myiasis. *Clin Microbiol Rev* 2012; 25, 79-105. doi: 10.1128/cmr.00010-11.
3. McGraw TA, Turiansky GW. Cutaneous myiasis. *J Am Acad Dermatol* 2008; 58: 907-26. doi: 10.1016/j.jaad.2008.03.014.
4. De Tarso P, Pierre P, Minguini N, Pierre LM, Pierre AM. Use of ivermectin in the treatment of orbital myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax*. *Scand. J. Infect. Dis* 2004; 36:503–505. doi: 10.1080/00365540410020136.
5. Mathison BA, Pritt BS. Laboratory identification of arthropod ectoparasites. *Clin Microbiol Rev* 2014 ;27:48-67. doi: 10.1128/CMR.00008-13.
6. Diaz JH. Myiasis and tungiasis. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R editors *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. Churchill: Livingstone; 2009. p. 3255-60.
7. Burgess, IF Myiasis: maggot infestation. *J Bone Joint Surg Am* 2003; 13: 438-75.
8. Olea MS, Centeno N, Aybar C, Ortega ES, Galante GB, Olea L, et al. First report of myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) in a diabetic foot ulcer patient in Argentina. *The Korean journal of parasitology* 2014; 52: 89-92. doi: 10.3347/kjp.2014.52.1.89.
9. Singh A, Singh D. Wound myiasis due to *Chrysomya bezziana* (Diptera: Calliphoridae) in patients of diabetic foot. *Int. J. Entomol. Res.* 2006; 30: 367-69.
10. Kara K, Pape T. Check list of Turkish *Sarcophagidae* (Insecta, Diptera) with new records. *Dtsch. entomol. Z* 2002; 49: 291-95. doi: 10.1002/mmnd.20020490213.
11. Balcıoğlu IC, Ecemiş T, Ayer A, Özbel Y. Subungual myiasis in a woman with psychiatric disturbance. *Parasitol. Int* 2008; 57: 509-11. doi: 10.1016/j.parint.2008.04.014.
12. Dagci H, Zeyrek F, Gerzile YK, Sahin SB, Yagci S, Uner A. A case of myiasis in a patient with psoriasis from Turkey. *Parasitol Int* 2008; 57: 239-41.
13. Abdel-Hafeez EH, Mohamed RM, Belal US, Atiya AM, Takamoto M, Aosai, F. Human wound myiasis caused by *Phormia regina* and *Sarcophaga haemorrhoidalis* in Minia Governorate, Egypt. *Parasitol Res* 2015; 114: 3703-09. doi: 10.1007/s00436-015-4599-4.
14. Delhaes L, Bourel B, Scala L, Muanza B, Dutoit E, Wattel F, et al. Case report: recovery of *Calliphora vicina* first-instar larvae from a human traumatic wound associated with a progressive necrotizing bacterial infection. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 64: 159-161. doi: 10.4269/ajtmh.2001.64.159.
15. Robbins K, Khachemoune A. Cutaneous myiasis: a review of the common types of myiasis. *Int. J. Dermatol* 2010; 49: 1092-98. doi.org/10.1111/j.1365-4632.2010.04577.x.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA OTURUMU 06

Vektörlere Karşı İsektisit Kullanım Stratejileri ve Alternatif Biyoteknolojik Mücadele

Düzenleyen	Abdullah İNCİ	
01 Ekim 2019		11:00 – 12:30
Önder DÜZLÜ	Vektörlerle Entegre Mücadelenin Önemi	11:00 – 11:20
Oğuzhan YAVUZ	İsektisitlerin Çevre Sağlığında Kullanımları ve Güvenli Uygulama İlkeleri	11:20 – 11:50
Murat KANBUR	İsektisitlerin Veteriner Hekimlikte Güvenli Kullanımı	11:50 – 12:10
Alparslan YILDIRIM	Vektör Mücadelesinde Alternatif Biyoteknolojik Mücadeledeki Gelişmeler	12:10 – 12:30



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 06

1

01 Ekim 2019 – 11:00-12:30

Vektörlerle Entegre Mücadelenin Önemi

Önder DÜZLÜ

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD; Vektörler ve Vektörlerle Bulaşan Hastalıklar Uygulama ve Araştırma Merkezi, KAYSERİ

E-posta: onderduzlu@erciyes.edu.tr

Entegre vektör mücadelesi (EVM), vektör kontrolünde önem arz eden tüm kaynakların kullanımının optimize edilmesi için gerekli rasyonel bir karardır. EVM, uygun araç ve kaynaklarla vektör kontrolünün sürdürülebilirliği, ekolojik denge, maliyet etkinliği vb. konularda iyileştirmelere olanak tanıyan güçlü bir yönetim yaklaşımı ve mücadele programı gerektirmektedir. Mevcut vektör kontrol mücadeleleri göz önüne alındığında, ulusal ve küresel bazda vektör kaynaklı hastalıkların kontrolünde hedefe ulaşılmasında EVM hayati öneme sahip bir programdır. EVM, kimyasal, biyolojik, mekanik ve kültürel mücadele gibi farklı kontrol programlarıyla birlikte vektörler, hastalıklar ve hastalık belirteçleri hakkındaki yöresel bazdaki bilgilerin entegre edilmesiyle ancak başarıya ulaşabilir. Çünkü her bölge, her ne kadar birbirine benzese de kendi dinamiği içerisinde farklılıklar göstermektedir.

EVM, sağlık sektörü ve diğer kamu sektörleri ile etkili bir kalleberasyon sağlayarak güçlü ve bilinçli toplum oluşumunu teşvik eder. Ulusal bazda EVM programının uygulanması için halk sağlığı çerçevesindeki kurumların bir araya gelmesi gerekmektedir. Uluslararası düzeyde ise ilgili Birleşmiş Milletler kuruluşlarından ve kuruluşlarından ortak bir strateji amacıyla koordineli bir şekilde destek alınması şarttır. EVM stratejisinin belirlenmesinde; yasal hükümler, sosyal mobilizasyon, mevzuat, sağlık sektörü ile diğer sektörler arasında iş birliği, entegrasyon, kanıt dayalı karar verme, kapasiteyi geliştirme gibi farklı anahtar unsurlar bulunmaktadır. Bu unsurların mevzuat ve düzenlemelerle desteklenmesi gerekmektedir. EVM, vektör kontrolü amacıyla, içerisinde mevcut ve geçmiş saha gözlemleri, sörveyans çalışmaları ve durum analizlerini de kapsayan problem çözmeye yönelik bir yaklaşıma gereksinim duymaktadır. Çünkü her durum kendi içerisinde farklı ve karmaşık olup, bu durum standart eylem ve stratejilerin belirlenmesini olanaksız hale getirmektedir. Bunun yerine, sörveyans, analiz ve uyarlanabilir yönetim gibi faktörlerin tüm yönetsel katmanlarda teşvik edilmesi daha iyi sonuçlar doğuracaktır. Durum analizlerinin belirlenmesinde, alan ne kadar küçük olursa, veriler o kadar ayrıntılı ve doğru olacak ve böylelikle uygulanacak kontrol yöntemlerinin daha duyarlı olması sağlanacaktır. Bu yüzden problem çözmeye yönelik yapılacak EVM’de, il, ilçe ve köy düzeyinde yapılacak kontrol programları daha sağlıklı sonuçlar alınmasını sağlayacaktır. Bu durum, sağlık sisteminde kaynak kullanımının ve etkinliğin iyileştirilmesine olanak tanıyacaktır. EVM’nin başarıya ulaşmasında ulusal ve uluslararası düzeyde politik desteğe ihtiyaç bulunmaktadır. Bu bağlamda; sağlık sektörü (sektörler arası işbirliği, hastalık kontrol politikası, halk sağlığı pestisit yönetimi), tarım sektörü (pestisit kullanımı ve entegre pest yönetimi politikası, sulama ve hidroelektrik), çevresel sektörler (çevresel yönetim politikası, şehir ve bölge planlaması), yerel yönetimler (sanitasyon politikası, toplumun bilinçlendirilmesi), sektörler arası (ulusal EVM politikası, bakanlıklar düzeyinde toplantılar, EVM yönetim kurulu oluşturulması, yerleşme politikası, toplum bilincinin güçlendirilmesi) ve uluslararası (EVM ve vektör kaynaklı hastalıklar konusunda Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) politikaları) düzeyde kalleberasyonlar oluşturulmasına ihtiyaç bulunmaktadır.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

EVM programının oluşturulması şu ana başlıklar altında toplanabilmektedir:

- a. Vektör mücadelesinin yapılacağı bölgenin belirlenmesi
- b. Coğrafik ve ekolojik özellikler bakımından farklı pilot bölgelerin tespiti
- c. Popülasyon dinamiğinin saptanması
- d. Kimyasal, biyolojik, mekanik ve kültürel mücadele yöntemlerinin seçimi
- e. Tüm çalışmalar sonucunda toplanan verilerin değerlendirilerek sonuç raporunun yazımı

Yukarıdaki ana başlıkların yanısıra EVM stratejilerinin belirlenmesinde; vektörlerin ve naklettikleri patojenlerin tür/alt türlerinin belirlenmesi, vektörün yaşam döngüsünü tamamlayabileceği ortamın durumu, vektör-konak ilişkileri, vektörlerin davranışsal özellikleri, bölgedeki konak dağılımı, bölgenin alt yapı durumu, bölgenin mevsimsel, hidrojeolojik ve topoğrafik yapısı gibi faktörleri ayrıntılı olarak irdelenmek gerekmektedir. Bu faktörler doğrultusunda fiziksel alt yapının düzenlenmesi, vektörlerin üreme habitatlarının tespiti, coğrafik haritalama sistemiyle ilgili alanların işaretlenmesi, vektör popülasyonlarında biyo-ekolojik çalışmaların yapılması, direnç testlerinin yapılması ve uygun insektisitlerin seçilmesi gibi faaliyetlerin tam anlamıyla yerine getirilmesi başarılı bir EVM için son derece kritik öneme sahiptir.

Anahtar Kelimeler: Ekoloji, entegre vektör mücadelesi, popülasyon dinamiği, vektör



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 06

2

01 Ekim 2019 – 11:00-12:30

İnsektisitlerin Çevre Sağlığı Alanında Kullanımları ve Güvenli Uygulama İlkeleri

Oğuzhan YAVUZ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji AD, SAMSUN

E-posta: oguzhany@omu.edu.tr

İnsektisitler günümüzde bireysel ve endüstriyel (profesyonel) boyutta, tarımsal üretim, toplum hijyeni, veteriner hekimlik, bahçecilik, ormancılık, ahşap ve duvar koruma, denizlerin zararlılardan korunması, gıdaların saklanması gibi çok geniş bir kullanım alanına sahiptir. İnsektisitlerin insan ve evcil hayvanlar üzerindeki zararlı böceklerle mücadele amacıyla doğrudan vücuda uygulanmasını kapsayan beşeri ve veteriner hekimlik uygulamaları önemli kullanım alanları olarak değerlendirilse de temel anlamda insektisitlerin en fazla kullanıldığı iki alan zirai mücadele ve çevre (halk) sağlığıdır.

İnsektisitlerin çevre sağlığı alanında kullanımları, insan ve evcil hayvanların ev, ofis, park-bahçe, barınak gibi yerleşim, çalışma ve gündelik yaşamıyla ilgili fiziki çevrede zararlılara karşı yapılan mücadeleyi kapsamaktadır. Yıllar içerisinde zirai mücadele dışındaki insektisitler ve zararlılarla mücadelede kullanılan diğer kimyasal maddeler “biyosidal ürün” başlığı altında ele alınmaya başlanmış ve Avrupa Komisyonunun 98/8 EC sayılı direktifi ile bu terim resmîyet kazanmıştır. Ülkemiz mevzuatının bu direktife uygun hale getirilmesi için yapılan uzun soluklu çalışmalar sonunda 2009 yılının sonunda yayımlanan Biyosidal Ürünler Yönetmeliği (31.12.2009 tarih ve 27449 sayılı Resmi Gazete) ile çevre sağlığı alanında kullanılan insektisitler biyosidal ürün şemsiyesi altına alınmıştır. Biyosidal ürünler “Bir veya birden fazla aktif madde içeren, kullanıma hazır hâlde satışı sunulmuş, kimyasal veya biyolojik açıdan herhangi bir zararlı organizma üzerinde kontrol edici etki gösteren veya hareketini kısıtlayan, uzaklaştıran, zararsız kılan, yok eden aktif maddeleri ve müstahzarlar” olarak tanımlanmaktadır. Biyosidal ürünler Direktifin 2012 yılında yapılan güncelleme ile 4 ana grup altında 22 ürün tipi belirlenmiştir. İnsektisitler 3. ana grup olan “Haşere Kontrolü İçin Kullanılan Biyosidal Ürünler” altında 18. ürün tipi olarak değerlendirilmektedir.

Diğer pestisitlerde olduğu gibi insektisitler de kimyasal yapıları, etki şekilleri, hedef zararlıların gelişim evreleri, etki hızları, kalıcılıkları, zehirlilikleri vb. kriterlere göre sınıflandırılmaktadır. Kimyasal yapılarına göre çevre sağlığı alanında kullanılan en önemli insektisitler arasında organik klorlular, asetil kolin esteraz inhibitörleri (organik fosforlular ve karbamatlar), piretrin ve sentetik piretroidler ve neonikotinoidler sayılabilir. Bunun yanında zararlı böceklerin larva formlarına karşı kullanılan böcek gelişim düzenleyicileri (kitin sentez inhibitörleri ve juvenil hormon analogları) ve bakteriyel ürünler ile böcekleri öldürmeyip ortamdan veya insan ve evcil hayvanların vücutlarından uzak tutan repellent maddeler de çevre sağlığı kapsamında ele alınması gereken ürünlerdir.

Geçmişte çevre sağlığı alanında çok geniş boyutlarda kullanılan organik klorlu insektisitler, çevrede çok uzun süre kalmaları, ekolojik dengeyi bozmaları, besin zincirine girerek insanlarda kanser başta olmak üzere birçok istenmeyen etkilere neden olmaları nedeniyle günümüzde tamamen terkedilmiş ve neredeyse bütün dünyada yasaklanmıştır. Aynı şekilde son yıllara kadar yaygın kullanıma sahip olan organik fosforlu insektisitlerin, özellikle hedef dışı organizmalar için akut zehirliliklerinin yüksek olması nedeniyle çevre sağlığı alanında kullanımları sınırlanmış ve tamamen terkedilmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Günümüzde çevre sağlığı alanında zararlı mücadelesinde en fazla kullanılan insektisit grubu ise, hedef zararlılardaki güçlü etkileri ve memeliler üzerindeki nisbeten güvenli profilleri ile sentetik pretroidlerdir.

Zararlı ve vektör mücadelesinde kimyasal mücadele içerisinde yer alan insektisitler sayesinde insanlar ve hayvanlar için son derece tehlikeli ve ölümcül hastalığın önüne geçilmiş ve hayat standartlarının yükselmesi sağlanmıştır. Bugün için bütün dünyada insektisitler olmaksızın bir mücadele mümkün görülmemektedir. Ancak, insektisitlerin bu kadar geniş ölçekte ve bilinçsiz kullanımları nedeniyle dirençli türlerin ortaya çıkması, akut ve özellikle kronik zehirlilik, karsinojenik, mutajenik, teratojenik etkiler ve çevre ve besin kirlenmesi gibi çok önemli sakıncalar ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, insektisitlerin çevre sağlığı alanında kullanımları sırasında belirli güvenlik kural ve prensipleri geliştirilmiştir. Bu prensiplere titizlikle uyulması ve bu konuda uygulayıcılar ve toplumun bilgilendirilmesi insan, hayvan ve çevre sağlığının korunması açısından hayati önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Biyosidal ürün, insektisit, çevre sağlığı, güvenli uygulama ilkeleri



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 06

3

01 Ekim 2019 – 11:00-12:30

Insektisitlerin Veteriner Hekimlikte Güvenli Kullanımı

Murat KANBUR

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji AD; Vektörler ve Vektörlerle Bulaşan Hastalıklar Uygulama ve Araştırma Merkezi, KAYSERİ

E-posta: kanburm@erciyes.edu.tr

GİRİŞ

Hayvanlarda hastalıkların sağaltımı ve önlenmesi, gelişmenin hızlandırılması, verimin ve yemden yararlanmanın artırılması, paraziter hastalıkların kontrolü ve beslenmenin desteklenmesi amacıyla çok sayıda ilaç ve benzeri ürünler (vitamin, mineral, aşı vb) maddeler kullanılmaktadır. Hangi amaçla yetiştirilirse yetiştirilsin hayvanların hemen tamamı yaşamları süresince bir veya birkaç ilaca yine bir ya da birkaç kez maruz kalmaktadırlar. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nda ruhsatlı 1849 civarında veteriner ilacı bulunmakta ve bunlardan 199'unu insektisitler (ektoparazitler ve endektositler). Bu kadar fazla sayıdaki ilaç çeşidinin yaygın bir şekilde kullanılması hayvanlarda zehirlenme riski doğurması yanında, besin değeri olan hayvanlarda ilaç kalıntısı problemi de beraberinde getirmektedir. Hayvanlarda bilinçsiz ilaç kullanımı söz konusu olduğu sürece bunlardan sağlanan et, süt, yumurta, bal gibi besin maddelerinde ilaç kalıntısının bulunması kaçınılmazdır. Bu durumda yapılması gereken, veteriner ilaçlarının hayvanlarda bilinçli ve kontrollü kullanımının sağlanarak hayvansal besinlerdeki ilaç kalıntı riskinin en aza indirilmesine çalışılmasıdır.

Insektisitlerin Uygulama Şekilleri:

Bu ilaçlar hayvanlara banyo (amitraz), püskürtme, dökme, damlatma (fibronil, imidakloprid), kulak ve boyun tasma şeklinde; bazıları ilaçlı yem (metopren, cyromazin vb) ve enjeksiyon (avermektinler, milbemisiner) şeklinde uygulanırlar. Kullanılan pek çok insektisit ÖD50 değeri düşük, yani zehirliliği yüksek olmaları nedeniyle gerek hazırlanmaları gerekse uygulanmaları esnasında hazırlayan ve uygulayan, dolaylı olarak maruz kalan insanlarda, hedef ve hedef olmayan hayvanlarda zehirlenmelere yol açabilmektedirler. Bu kadar fazla sayıdaki ilaç çeşidinin yaygın bir şekilde kullanılması, doğal olarak besin değeri olan hayvanlarda ilaç kalıntısı problemi de beraberinde getirmektedir. Uygulama şekillerine bağlı olarak değişen oranlarda dokulara geçen ve hayvansal ürünlerde (et, süt, yumurta, yağ, bal vb) bulunabilen insektisit kalıntıları günümüzde önemli bir halk sağlığı problemi olarak kabul edilmektedir.

İlaç Kalıntılarının Sebepleri:

Et ve süt gibi hayvansal besinlerde ilaç kalıntısı oluşturan ve genellikle uygulama hatalarından kaynaklanan birçok sebep vardır. Kısaca özetlemek gerekirse:

- * Doz aşımı ve aşırı miktarda ilaç yüklemesinin yapılması,
- * İlaç uygulanan hayvanların, ilacın formülasyonu, verilme yolu vb durumlara göre, belli bir süre geçmeden veya bekletilmeden kasaplık olarak kesilmesi ya da böyle hayvanlardan elde edilen et, süt, yumurta ve bal gibi besinlerin tüketilmesi,
- * Hayvanlarda onaylanmamış ruhsatsız ilaç kullanılması,
- * İlaç kullanımı esnasında prospektüsüne veya hekimin talimatına uyulmaması,



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

- * Hatalı ilaç, müstahzar, uygulama yolu veya formülasyon seçilmesi ve kullanılması,
- * Beşeri hekimlikte kullanılan ruhsatlı ilaçların (kanseri ilaçları, kalp glikozidleri, insülin gibi) hayvanlarda kullanılması,
- * İlaç kullanılan hayvanlarda ilacın vücuttan atılmasını yavaşlatan hastalık vb durumların (böbrek yetmezliği gibi) bulunması,
- * Hayvanlara ilaç yemlerin fazla miktarda ve uzun süreli yedirilmesi

Vücudun İlaç Kalıntılarından Arınma Süresi:

Bu terim besin değeri olan doku ve organlarda istenmeyen veya zehirleyici etkileri bakımından önem taşıyan ilaç veya kimyasal madde kalıntılarının tüketiciler için güvenli bir düzey veya yoğunluğuna inene kadar ilaç uygulanan hayvanların kesilmemesi gereken süreyi ifade eder. Bu aynı zamanda hayvanlarda sağaltımın durdurulması ile kasaplık olarak kesilmeleri arasında geçmesi gereken süre anlamına da gelir. Kesim öncesi bekleme süresi sağlıklı hedef hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalarla belirlenir.

Kullanılan ilacın çeşidi, üretici firma, ilaç formülasyonu ve şekli, ilacın vücuttaki hareketi, uygulama yolu ve hayvanın türü gibi çeşitli faktörlere göre bekleme süresi değişir; buna göre de bir etkin madde için birden çok kesim öncesi bekleme süresi bulunabilmektedir. Aynı durum süt ve yumurta için de söz konusudur. Genel Kural Olarak; İlaçla ilgili herhangi bir kayıt yoksa kanatlı ve memeliler için kesim öncesi bekleme süresi 28 gün olarak belirlenir. Yumurta ve sütlerin insan kullanımına sunulması için ise 7 gün beklenmelidir.

Akılcı İlaç Kullanımı

Hayvan sağlığı hizmetlerinde faaliyet gösteren ve aynı şekilde reçete yazan bir veteriner hekimin iki önemli sorumluluğu olduğunu ifade etmek mümkündür. Bunlar; Etkin Tedavi ve Gıda Güvenliğidir. Söz konusu iki başlığı da karşılayacak şekilde bu kavramı; “veteriner ilaçlarının kullanımında iyi pratikler”, “veteriner ilaçlarının bilinçli ve güvenli” ya da “akılcı ilaç kullanımı” şeklinde ifade etmek doğru bir yaklaşım olacaktır. Akılcı ilaç kullanımı yaklaşımında hekim birçok durumu gözetmek zorundadır. Bunlar;

- Doğru bir şekilde hastalığın tanısı, ilaç kullanımı
- İlaçlar için zararlı etkilerinin olabileceği yaklaşımı
- Tedavide bireysel uygulamaların dikkate alınması
- İlaçların prospektüslerine uyulması
- Aşırı ve bilinçsiz ilaç kullanımından kaçınılması
- İyi bakım besleme ve koruyucu hekimlik uygulamaları
- İlaç kalıntısı riskinin değerlendirilmesi
- Reçetenin uygun şekilde düzenlenmesi
- İlaçlar için miada uyulması
- Kayıt tutulması
- İlaçların uygun şekilde muhafazası ve bertaraf edilmesi
- Uygulayıcı personel için olası risklerin dikkate alınması



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

İnsektisitler kullanılırken dikkat edilecek hususlar

- * Dış parazit ilaçlarının çoğu son derece zehirlidirler, istenmese de uygulanan hayvanlarda ve hedef olmayan hayvan ve insanlarda zehirlenmelere, hatta ölümlere yol açabilir. Bazı tedbirler alınarak bu istenilmeyen durumlar büyük ölçüde engellenebilir:
- * Bu ilaçlar kendileri için önerilen kullanım yerleri ve talimatlarına göre belirtildiği şekilde kullanılmalıdır.
- * İlaçların uygulama çözeltileri hazırlandıktan sonra kaplar iyice yıkanmalı; yıkantılar banyo veya püskürtme çözeltilerine katılmalı, boş kaplar başka amaçlarla kullanılmaksızın imha edilmelidir.
- * Hayvanın türü, fizyolojik durumu (sağılan, kuruda, gebe, hasta vb) ve beslenme şekli dikkate alınarak ilaç ve uygulama yolu seçilmelidir, şöyle ki sağılan hayvanlarda banyo tarzında uygulamadan kaçınılmalıdır.
- * Özellikle et, süt, yumurta gibi gıda için yetiştirilen hayvanlarda bu maddelerin kullanılmasından ileri gelebilecek kirlenmeler dikkate alınarak ya bu türden etkisi önemsiz veya hiç olmayan ilaçlar seçilmeli ya da hayvan kesime gönderilmeden önce belli bir süre bekletilmeli; süt ve yumurtanın kullanılmama süreleri gözönünde bulundurulmalıdır.
- * Aynı etken maddeyi ihtiva etseler bile, tarım ve çevre sağlığı için hazırlanan ilaçların hiçbir zaman hayvanlarda kullanımına müsaade edilmemelidir.

Ürün etiket üzerinde

- * Ürünün ticari adı ve ürünü tanıttıcı her türlü tanımlama ve ürünün Tarım ve Orman Bakanlığı onayı
- * Her aktif maddenin adı ve bulunan miktarı
- * Ürünün formülasyon şekli
- * Belirtilen her kullanım için kullanım talimatları ve kullanılacak doz miktarları
- * Olası istenmeyen doğrudan ya da dolaylı yan etkiler “Örn bal arılarına zehirlidir; astım, saman nezlesi ve alerjisi olanlar temas etmemelidirler gibi”
- * İlacı hazırlarken veya uygularken alınması gereken tedbirler “Mutlaka tulum, şapka, çizme, eldiven gibi koruyucu malzemeler kullanınız. Çocuklardan uzak tutunuz. Gıda maddelerinden, hayvan yemlerinden ve bunların kaplarından uzak tutunuz. Cildinize ve gözüne temas ettirmeyiniz. Bulaşma olursa bol su ve sabun ile yıkayınız. Uygulama yaparken ve hazırlık aşamasında kesinlikle bir şeyler yemeyiniz, içmeyiniz. Sigara kullanmayınız”
- * İlk yardım talimatları ve ilgili ek bilgiler “Ürün yanlışlıkla yutulmuşsa hastayı kusturmayınız. Ürünü yutan kişiyi ve ürünün etiketini hemen doktora götürünüz. Cildinize ve gözüne bulaşma olursa bol su ve sabun ile yıkayınız”
- * İnsektisit güvenli bertarafı ve ambalajlanmasına, bunun yanı sıra ambalajın tekrar kullanımının (gıda ve yem muhafazası, gıdaların pişirilmesi vb) önlenmesiyle ilgili talimatlar,
- * Ürünün imal tarihi, son kullanma tarihi, normal saklama/depolama koşulları gibi bilgiler bulunmaktadır.

Bu bilgilere göre hareket edilmesi son derece önemlidir.

Kullanılması tehlikeli ilaçlar

Uygulama yerinden emilme hızı yavaş ve emilme oranı düşük; vücuttaki yarı ömürleri uzun (12 saat üstü), dağılım hacmi büyük (0.6 L7kg'dan büyük), vücutta iki veya daha fazla bölgede dağılan, doku ve organlara yüksek ilgiyle bağlanan ilaçlar hayvansal ürünlerde kalıntı tehlikesine sebep olurlar; bundan dolayı besin değeri olan hayvanlarda kullanılmaya uygun değildir; kullanılmaları zaruri



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

olan durumlarda besin kirlenmesine yol açmamaları için çok dikkatli olunmalıdır (kesim öncesi bekletme, süt ve yumurtanın tüketilmeme, balın hasat edilmeme, balıkların tutulmama sürelerine uymak vb)

Bazı türlerde ve durumlarda kullanılması yasak olan insektisitler

Sağılan hayvanlarda: Abamektin, doramektin, flumetrim, foksim, ivermektin, klorsulon, siromazin.

Balıklarda: Triklorfon,

Bal: Balda amitraz (200 mikrogram/kl bal) ve koumafos (100 mikrogram/kg bal) dışında başka bir maddenin ilaç olarak kullanılması yasaktır.

Muhtemel karsinojen insektisitler: Diklorvos, malatyon, permetrin

Pestisitlerin güvenli kullanımında sorumluluklar

Veteriner hekim:

Veteriner hekim tedavide kullandığı ilacın besinlere geçen kalıntılarıyla insan sağlığına yönelik sakıncaları bilmesi yanında, hayvan sahibi veya yetiştiriciyi eğitmesi ve uyarması gerekir. Veteriner hekim ayrıca ilaç verilmiş hayvanların besin üretiminde kullanılma durumunu da, konuyla ilgili kanun, tüzük, yönetmelik vb. düzenlemelere uygunluğu yönünden sürekli izleme yükümlülüğündedir.

Yetiştirici, gıda üreticisi:

Ticaret ahlakı ve toplumsal değerler yönünden hayvan yetiştiricileri ve gıda üretici/hazırlayıcılarının insan sağlığı üzerinde tehlikeli olmayacak besin maddelerini üretmek zorunda olduklarının bilincinde olmalıdır. Kesim öncesi bekletme sürelerine uyulmamasının özellikle hayvan sahibi ve bakıcılarca yapılan ilaçlardan kaynaklandığı unutulmamalıdır.

İlaç firmaları:

İlaç firmaları prospektüs ve diğer uygulama kılavuzlarında ilaçların yararlı etkileri yanında, bilinçsizce kullanılmaları halinde yol açabilecekleri sakıncaları da belirtmeli; ilaç tanıtımlarında meslek ahlakı ve etiği ilkelerini ihlal etmemelidir.

Kamu:

Kamu, tüketiciler için halk sağlığı ve gıda güvenliğinin tam güvencesi olmalıdır. İlgili kurumlar ilaçların etkinliği ve güvenli kullanımları yanında, kalıntı izleme programları dahil, kalıntıya yönelik uygulamaların ve hataların tespit edilmesi ve giderilmesi, konuyla ilgili kurumların bilgilendirilmesi, ilgili politikaların belirlenmesi konularında gerekli stratejiye sahip olmalıdır (Ulusal gıda güvenliği stratejik planı). Bu kapsamda kesim öncesi bekletme süresi, süt, yumurta, bal gibi gıdaların tüketilmeme süreleri belirlenmeli; yasak ilaçlar listelerinin hazırlanmalı ve sürekli güncellenmeli, kullanılan ilaçların kayıtlarının tutulması sağlanmalı, sürekli eğitim programlarının yapılmalı ...

Kalıntısı aranacak maddeler: AB 96/23EC direktiflerine göre Grup B'de yer alan veteriner ilaçları. 2b: karbamat ve piretroid insektisitler (ruminant ve domuz, kanatlı, tavşan ve av hayvanlarında) 3a: organik klorlu insektisitler (ruminant, domuz, kanatlı, tavşan ve av hayvanları, balık ve benzeri su ürünleri, süt, yumurta ve balda), 3b: organik fosforlu, insektisitler (ruminant, domuz, süt ve bal)

Ülkemizde durum:

Ülkemizde insanların veteriner alanda kullanılan insektisitlerle zehirlendiği olgular bulunmaktadır. Hacettepe Üniversitesi İlaç ve Zehir Bilgi Birimi (HİZBİM) verilerine göre pestisit zehirlenmeleri tüm zehirlenmelerin içinde ilaçlardan sonra ikinci sırayı (%10) almakta; pestisitler içinde de organik fosforlu



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

insektisitlerle zehirlenme olguları %25 ile ilk sırayı almaktadır. Veteriner hekimliğinde kullanılan amitrazın da zehirlenmeye neden olma bakımından önemli olduğu görülmektedir. Ulusal Zehir Danışma Merkezi (UZEM)'nin 2008 tarihli raporunda toplam zehirlenme vakalarının (77 988) %0,68'ini (534 vaka) hayvan sağlığı ürünleri oluşturmakta; bu zehirlenmelerin de % 29,21'i amitraz kaynaklı olduğu bildirilmektedir.

SONUÇ

Sonuç olarak, ilaçların suiistimal derecesinde tüketilmesi, yetiştiriciler ve bakıcılar tarafından gelişigüzel kullanılması, geçmişte reçetesiz alınabilmeleri, ilaçların piyasaya verilmesinden sonra piyasa kontrollerinin yapılmayışı (kalitesiz etken madde ve taşıt maddelerin kullanılması ve kalıntı sorunu) gibi nedenlere bağlı olarak ülkemizde insektisitlerle zehirlenmelerin ve hayvansal besinlerdeki kalıntı probleminin ülkemizde sorun olarak varlığını koruduğu, insektisit kaynaklı risklerin en aza indirilmesi için ilgili kişi, kurum ve kuruluşların işbirliği içinde hareket etmelerinin gerekli olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Veteriner hekimlik, insektisit, endektosit, ektoparaziter, güvenli kullanım



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 06

4

01 Ekim 2019 – 11:00-12:30

Vektör Mücadelesinde Alternatif Biyoteknolojik Mücadeledeki Gelişmeler

Alparslan YILDIRIM

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-posta: yildirima@erciyes.edu.tr

Global olarak halk sağlığını tehdit eden vektör kaynaklı hastalıkların (VKH) yayılışı 21. yüzyılın en önemli sorunlarından biri olarak nitelenmektedir. VKH dünyada bilinen enfeksiyöz hastalıkların oluşturduğu yükün %17'sinden fazlasını teşkil etmekte olup yıllık bir milyarın üzerinde olgu ve bir milyonun üzerinde ölüm ile seyretmektedir. VKH'nin büyük bir kısmının taşınmasında sivrisinek ve keneler sorumludur. Günümüzde sivrisinek kaynaklı hastalıklar daha çok tropik ve subtropik bölgelerde olmak üzere 125'in üzerinde ülkede görülmekte olup dünya nüfusunun yarısından fazlası için majör risk oluşturmaktadır. Vektörlük potansiyeli açısından sivrisineklerden sonra ikinci sırada gelen keneler de naklettikleri çeşitli patojenler ile birçok bölgede insan ve hayvan sağlığını tehdit etmektedir. Entegre vektör mücadelesi kapsamında uygulanan çevre kontrolü, vektörlerle temasın azaltılması, insektisit ve akarisit uygulamaları ve biyolojik kontrol yöntemlerinin yanısıra günümüzde geliştirilen veya geliştirilmekte olan biyoteknolojik yöntemler mücadele noktasında etkin, güvenilir ve çevre dostu alternatif çözüm önerileri ortaya çıkarmaya başlamıştır. Bunlar arasında popülasyon azaltım ve modifikasyon yaklaşımları ile gen düzenleme teknolojileri, başta sivrisinek mücadelesinde önemli bir gelişim ve yeni bir bakış açısı sağlamış, kene ve naklettikleri hastalıkların kontrolü için ise kene ve patojen derive kombin yeni ve etkili aşuların geliştirilmesi üzerine araştırmalar yeni çözüm önerileri ortaya çıkarmıştır.

Sivrisinek mücadelesinde yeni biyoteknolojik kontrol yaklaşımları, vektör popülasyonunun azaltılmasını veya patojenlerin naklini engellemek için vektörün modifikasyonunu hedefleyen iki geniş alanı kapsamaktadır. Baskılayıcı yaklaşımlarla sivrisinek popülasyonlarının azaltılması yaklaşımı, patojen bulaşmasının enfekte sivrisineğin sokmasına bağlı olması ve dolayısıyla sivrisineklerin azaltılması ile bulaşma ve hastalığın azaltılacağı hipotezine dayanmaktadır. Ancak bu hipotez sivrisinek popülasyonunun tamamen ortadan kaldırılabilmesi durumunda doğru bir yaklaşım olmakla birlikte, popülasyon baskısının kısmi kalması durumunda hastalık üzerine etkisi soru işaretleri taşımaktadır. Yeni popülasyon azaltma yaklaşımları, doğada dişilerle çiftleşme sonrası yeni nesil oluşturamayan yüksek sayıda erkek sivrisineğin yetiştirilmesi ve salınımını içermektedir. Bu tip yaklaşımla vektör popülasyon genişliğini kademeli olarak indirmek ve böylece hastalık naklini de azaltmak hedeflenmektedir. İlgili yaklaşımlar steril insekt tekniği (SIT), uyumsuz insekt tekniği (IIT) ve çeşitli genetik modifikasyon stratejilerini içermektedir. Buna karşın popülasyon modifikasyonu yaklaşımları virüs nakletme yeteneğini azaltan veya bloklayan bir kalıtsal faktör taşıyan hem erkek hem de dişi sivrisineklerin salınımını kapsamaktadır. Bu modifiye sivrisinekler doğadaki sivrisineklerle çiftleşeceklerinden, kalıtsal faktör popülasyon boyunca yayılacak ve sivrisinekleri popülasyon baskılamasına ihtiyaç duymadan patojen naklinde elverişsiz hale getirecektir. Bu yaklaşımlar patojen-bloklayan endosimbiont *Wolbachia pipientis*'in yerleşiminin ve yayılımının sağlanması ve transmisyon-bloklama gen yapıları ile bağlantılı CRISPR-Cas9 gibi gen-drive mekanizmalarını içermektedir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Popülasyon modifikasyonu yaklaşımlarından virüs transmisyonunu hedef alan *Wolbachia* yerleşimi ve yayılımı vektör kaynaklı hastalıkların kontrolünde oldukça önemli bir yöntem olarak ortaya çıkmıştır. Endosimbiyotik bir bakteri olan *Wolbachia*'nın tüm insekt türlerinin %40-60'ını doğal olarak enfekte ettiği tahmin edilmektedir. Bu bakteri konak yumurtası ile vertikal olarak bulaşmakta olup birçok *Wolbachia* suşu yaygın olarak sitoplazmik uyumsuzluğu (CI) indükleyerek buldukları dişi sivrisinelere avantaj oluşturmak üzere konak reproduksiyonunu manipüle eder. Enfekte dişiler hem enfekte hem de enfekte olmayan erkeklerle başarılı bir şekilde çiftleşebilir. Bu da *Wolbachia*'nın popülasyon boyunca hızlı bir şekilde yayılmasına olanak sağlar. CI'nın ekspresyonu, *Wolbachia*-enfekte erkeklerin doğal non-enfekte dişi insekt popülasyonu içerisine salınmasıyla dişileri efektif olarak sterilize hale getiren insekt popülasyonlarını baskılamadaki bir yöntemdir. Ayrıca *Wolbachia* suşlarının bir dizi virüs ve parazitin insketlerdeki replikasyonunu engelleyerek bu etkenlerin transmisyonunu da engelleyebildiği çeşitli laboratuvar çalışmalarında gösterilmiştir. Tüm bu yönleriyle *Wolbachia* aracılı virüs patojen replikasyonunun inhibisyonuyla birlikte CI özellikleri, sivrisinek-kaynaklı hastalıkların kontrolü noktasında yeni ve özgün bir yaklaşım ve strateji oluşturmuştur.

Popülasyon azaltma yaklaşımları, epidemiyolojik etkinlikleri üzerine sınırlı sayıda deneysel kanıt olmasına karşın hastalık kontrol programlarında hedeflerden biri olmuş ve yaygın olarak kullanılmıştır. Bu yaklaşımların arasında yer alan SIT, irradiye veya kimyasal olarak muamele edilmiş erkek sivrisineklerin sterilize edilmeleri prosesini kapsamaktadır. Bu şekilde doğaya salınan erkeklerin dişilerle çiftleşmesi sonucu yeni nesil oluşumunun önüne geçilmekte ve dolayısıyla popülasyon genişliğinde kademeli olarak azalma oluşmaktadır. Bu yöntemin tarımsal pest türleri ile mücadelede daha başarılı olduğu bilinmesine karşın sivrisinek popülasyonlarının azaltılmasında kısmi başarı sağladığı kaydedilmektedir. Ayrıca SIT kullanımının bir dizi avantajı da bulunmaktadır. Bu yöntemle dişiler salınmadığı için, toplumda sivrisinek sokma oranı artış göstermemekte ve bu yönüyle de popülasyon modifikasyonu yaklaşımlarından daha kabul edilebilir bir yöntem olarak görünmektedir. Neticede eğer popülasyon baskılanırsa, buna bağlı olarak patojen direnç gelişimi için az bir olasılıkla birlikte hastalık bulaşmasında da azalma beklenmektedir. Ancak vektör popülasyon baskısının geçici karakterde olması bazı dezavantajlar göstermektedir. Bir bölgedeki vektör popülasyonunun tamamen eliminasyonu için çok fazla sayıda erkeğin uzun bir zaman periyodu içerisinde salınması gerekmektedir. Eğer popülasyon tamamen ortadan kaldırılamaz ve bölgede takiben kontrol yöntemleri uygulanmaz ise çok kısa bir zaman içerisinde sivrisinek popülasyonunun yeniden yükselmesi beklenebilir. Benzer olarak, uygulama yapılmamış bölgelerden sivrisinek göçleri de sivrisinek popülasyonunun yeniden yükselmesine yol açabilir. Tüm bu yönleriyle toplumun hastalıklardan korunmasının devamlılığı için SIT uygulamalarının muntazam olarak tekrarlanması gerekmektedir. Ayrıca bu yöntem salınımdan önce zor bir proses olan sivrisineklerin cinsiyete göre ayırımını gerektirmekte olup ayrıca bu ayırım esnasında kaçabilecek dişilerin uygun hastalık vektörü olma riski bulunmaktadır. SIT kullanımındaki diğer bir zorluk da kondisyonu yüksek olan ve doğadaki vahşi erkeklerle üreme prosesinde yarışabilecek steril erkeklerin üretilebilmesidir. Sonuç olarak diğer baskılayıcı yöntemlerde olduğu gibi, SIT yaklaşımları için de sivrisinek popülasyonlarının yalnızca azaltılabildiği fakat ortadan kaldırılamadığı söylenebilir. Bunun yanında yetersiz baskılamının epidemiyolojik sonuçları üzerine etkisini açıkça ölçebilecek deneysel çalışmalar henüz bulunmamakta ve dolayısıyla da hastalıklar üzerine etkileri de bilinmemektedir.

SIT'in modifiye bir versiyonu olan uyumsuz insekt tekniği (IIT), erkekleri sterilize etmekte *Wolbachia*'yı kullanarak irradiye veya kimyasal muamele kısırlaştırmasıyla ilişkili kondisyon giderlerinin önüne geçmede uygun bir teknik olarak öne çıkmıştır. IIT uygulamaları için, bir *Wolbachia* suşu sivrisinek türüne ait koloninin içerisine kalıcı olarak aktarılmalıdır. Popülasyon modifikasyonu yaklaşımlarının aksine, doğadaki popülasyonun içerisine vahşi dişilerle çiftleşmek üzere yalnızca *Wolbachia* taşıyan erkek sivrisinekler salınmaktadır. Böylece *Wolbachia* tarafından indüklenen CI sebebiyle, yeni nesiller üretilememektedir. Eğer erkekler yeterli sayıda salınırsa daha fazla sayıda uyumsuz çiftleşmeler



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

şekillenecek ve neticesinde sivrisinek popülasyonu çökecektir. IIT tekniğinin çeşitli avantajları yanında SIT uygulamalarında olduğu gibi benzer sınırlamaları da bulunmaktadır. IIT yaklaşımı 50 yıl öncesinden küçük çaplı pilot çalışmalarla test edilmiş olmasına karşın, bu yöntemin hastalıkların kontrolünde etkili bir müdahale aracı olarak yeterli düzeyde adaptasyonu üzerine araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır. IIT ve SIT'in kombine olarak kullanılmasının, salınımdan önce dişilerin erkeklerden dikkatli ayırım ihtiyacını azaltan bir yaklaşım olabileceği kaydedilmektedir. Bu yöntemde *Wolbachia*-enfekte sivrisinekler düşük düzeyde radyasyonla muamele edilmekte ve böylece dişiler sterilize edilirken erkekler etkilenmemektedir. Cinsiyet seperasyonundan kaçan ve doğaya salınan dişiler yeni nesil verememekte ve dolayısıyla CI indüklenen sivrisinek popülasyonu ile karışmamaktadır. Laboratuvar bazında düşük doz radyasyonun erkeklerin kondüsyonu üzerine minimal etkisi olduğu tespit edilmiş olup bu kombine yöntemin sahada etkili olabileceği vurgulanmaktadır.

Genetik olarak modifiye sivrisinek yaklaşımlarında, popülasyonları baskılamak için her ne kadar bir takım transgenik sistemler geliştirilmiş olsa da bunlardan çok azı saha uygulamalarına aktarılmıştır. Bu transgenik yaklaşımlardan biri Oxitec firması (UK) tarafından geliştirilen bir dominant lethal taşıyan insekt (RIDL) metodolojisidir. OX513A sivrisinek suşu günümüze kadar başarı ile uygulanmıştır. Bu sivrisinek suşu, kendine özgü bağlanma kısmı tetracycline operatorün (TetO) kontrolü altında bir tetracycline-baskılayıcı transkripsiyonel aktivatore (tTAV) sahip olup bu aktivatör bir pozitif geribildirim oluşumunu sağlar. Böylece tTAV ekspresyonu geç-lava ölümü ile sonuçlanır. Sivrisineklerin tetracycline katkılı diyet ile yetiştirilmeleri durumunda, tetracycline tTAV'a bağlanarak TetO'ya bağlanmasını engellemekte, böylece tTAV üretimi azalmakta ve dolayısıyla sivrisinekler hayat döngülerini devam ettirebilmektedir. OX513A erkek sivrisinekler doğaya salındığında ve vahşi dişiler ile çiftleştiğinde, transgeni yeni nesillere aktarırlar; bu nesiller beslenmelerinde tetracycline olmadığından, transgen eksprese olur ve bu da geç-larva ölümü ile sonuçlanır. RIDL metodolojisinin geleneksel baskılayıcı yaklaşımlardan çeşitli avantajları bulunmaktadır. Ancak RIDL teknolojisinin de başarılı bir baskılama için yüksek sayıda erkek sivrisineğin salınımına ihtiyaç göstermesi gibi sınırlayıcı yanları bulunmakta olup bu durum teknolojik ve finansal açıdan oldukça zordur. SIT ve IIT'de olduğu gibi, bu yöntemde de başarılı cinsiyet ayrımı gerekmektedir. Ayrıca genetik olarak modifiye sivrisineklerin doğaya salınımı noktasında, kamu ve toplumda yeterli güven oluşturmak için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Gelişmekte olan yeni teknolojiler arasında henüz saha denemeleri yeterince bulunmayan bazı transgenetik yaklaşımlar bulunmakta olup laboratuvar çalışmaları bu transgenlerin kullanılmasıyla, patojeni hedef alan genlerin ekspresyonu, reproduksiyonda görev alan genlerin hedef alınıp veya cinsiyet bozukluğu sistemlerini kullanarak sivrisinek popülasyon baskılanmasına yol açan yaklaşımla patojen naklinin sınırlanabileceğini veya engellenebileceğini ortaya çıkarmıştır. Tüm bu sistemler ümit verici olsa da buradaki esas zorluk bu transgenlerin bir popülasyon içerisindeki tüm sivrisineklere nasıl yayılacağı hususudur. Bu noktada problemin çözümü için en ümit verici yöntemlerin başında gene-drive sistemi oluşturan transgenlerin kullanımı gelmektedir. Gene-drive sistemleri Normal Mendel kalıtımına dahil olarak drive sisteminin yeni nesillere geçişi için olasılıkları oldukça artırmaktadır. Etkili bir gene-drive sistemi, hastalık inhibitörlerinin veya popülasyon baskılayıcılarının keşfedilmesinde kullanılabilir. Homing endonuclease genleri (HEGs) gene-drive sistemleri için ön fikir oluşturmuştur. HEGs, 15-30 bp bir DNA sekansını tanıyan ve bağlanan proteinleri kodlamaktadır. HEGs'in hedef sekanslara yerleştirilmesiyle, bulunduğu kromozom ayrılmaya dirençli hale gelir. Yalnızca tanıma bölgesi bulunduran kromozomların ayrılması gerçekleşir ve homology-directed repair (HDR) sebebiyle heterozigot yapı homozigot yapıya dönüştürülür. HEGs bazı *Anopheles* ve *Aedes* türleri için deneysel zeminde geliştirilmiştir. CRISPR-Cas9 sistemi birkaç yıldan bu yana çeşitli organizmalarda genom editlemeye kullanılan bir yaklaşımdır. Yapılan çalışmalarda HDR için kullanılan bir kalıba Cas9'u kodlayan genlerin ve bir guide RNA (gRNA) yerleştirilmesi sonucu gene-drive yapabilen bir mutajenik zincir reaksiyonunun şekillendiği gösterilmiştir. Laboratuvar bazında takip eden araştırmalar, CRISPR-



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Cas9'un anti-*P. falciparum* efektör genlerinin *Anopheles stephensi* popülasyonu içerisine yayılmasında, *Anopheles gambiae*'de dişi fertillitesi için gerekli genleri hedef almada ve *A. gambiae* dişilerini hedef alan seks bozulma sisteminin oluşturulmasında kullanılabileceğini göstermiştir. Tüm bu ön veriler bu sistemin hem popülasyon baskılanmasında hem de popülasyon modifikasyonunda kullanılabileceğine dair kanıtlar ortaya koymuştur. Ancak bu yöntemin saha uygulamalarının başlatılması noktasında hala optimizasyon çalışmalarına ihtiyaç bulunmaktadır. Yine de CRISPR-Cas9 gene-drive metodolojisinin potansiyel güçlü bir yaklaşım olduğu ortadadır. Modifikasyonun sivrisinek popülasyonu boyunca kendini yönlendirebilmesi ve neredeyse ilgili her sekansın hedef alınabilmesi ile yalnızca az sayıda modifiye sivrisineğin salınımı yeterlidir. Ancak HEGs'de olduğu gibi CRISPR-Cas9 sistemi de tanıma bölgesinde oluşabilecek mutasyonlar sebebiyle direnç gelişimine duyarlıdır. OX513A suşu kendini sınırlayıcı karakterde olmasına karşın CRISPR-Cas9-drive kendini teşvik edici karakterdedir. Genetik modifikasyonların kontrolsüz yayılımı noktasındaki potansiyel, çeşitli bilimsel topluluklar arasında endişelere yol açmış ve bu modifiye organizmaların doğaya salınımıyla ilgili ve modifiye organizmaların laboratuvarından kazara salınımını engelleme noktasında yönergeler yayınlanmıştır. Kene kaynaklı hastalıkların (TBDs) riskini azaltma amacıyla repellent veya öldürücü etkili kimyasalların kullanımı, habitat düzenlemesi ve diğer kişisel veya çevresel bazlı koruyucu ve kontrol önlemleri, kenelere dirençli konakların genetik seleksiyonu ve aşı uygulamaları gibi birçok yaklaşım geçmişten günümüze uygulanmaktadır. Ancak, akarisitlere karşı kenelerdeki dirençlilik, kısa etkili kimyasallar ve güvenlik problemleri gibi zorluklar, aşıların TBDs'den korunma ve kontrol noktasında en etkili ve çevresel olarak güvenli bir yaklaşım olduğunu ortaya çıkarmıştır. Günümüzde, kene-derive ve patojen-derive antijenlerin identifikasyonunda farklı deneysel yaklaşımlar kullanılmıştır. Bu yaklaşımlar (a) koruyucu antijenlerin doğrudan taranması, (b) kene ve patojen biyolojisi temelinde antijen seçimi için rasyonel yaklaşım, (c) revers genetik, (d) vaccinomics ve (e) protein-protein interaksiyonunu ve korunmuş metabolik yolların hedeflenmesini içermektedir. Tüm bu yaklaşımlarla belirli kene türleri için değişken aralıklarda etki düzeyiyle aşı adayları olabilecek çeşitli rekombinant antijenler identifiye edilmiş olmasına karşın günümüze kadar yalnızca *Rhipicephalus microplus* BM86 veya BM95 rekombinant antijenleri, kene ve kene kaynaklı hastalıkların azaltılması noktasında ticari olarak üretilmiş aşılardır. Bu antijenler bazında üretilen aşılar halen Latin Amerika ülkelerinde sığır kene enfestasyonlarının kontrolünde ticari olarak kullanılmaktadır. Ayrıca tick-borne encephalitis, Louping ill, Spanish goat encephalitis, Lyme hastalığı ve Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi için farklı etkinlik ve güvenilirlikte aşılar da geliştirilmiştir. Ancak, tüm bu gelişimlere karşın kene enfestasyonlarının azaltılması ve TBDs'den etkili ve güvenli korunma ve kontrol için yeni aşılarda geliştirilmesine ihtiyaç bulunmaktadır. Yakın gelecekte hayvanlarda hastalıklara karşı direnç oluşturmak amacıyla genom düzenleme için CRISPR-Cas9 gibi yeni teknolojiler, sivrisinekler için geliştirilmiş ve Receptor-Mediated Ovary Transduction of Cargo (ReMOT Control) olarak adlandırılan yeni gen düzenleme aracı üzerinden kenelerde de uygulanabilir gözükmektedir. Sivrisineklerde CRISPR-Cas9 yaklaşımları ve kenelerde RNA interferans ile gösterildiği gibi, eğer başarılı olursa ReMOT control teknikleri, popülasyonları azaltmak için kene cinsiyetinin manüplasyonuna, kene enfestasyonları için biyolojik uyumlu molekülleri hedef alarak autocidal kene kontrolüne ve patojen bloklayan kene genotiplerinin üretimine olanak tanıyacaktır. Buna ilave olarak rekombinant patojenik veya kene mikrobiyotasından kommensal bakterileri kullanarak düşük vektör yeterliliği olan paratransgenik kenelerin geliştirilmesi de TBDs kontrolünde bir strateji olarak ifade edilmektedir. Genetik olarak manüple edilerek virulansı artırılan *Metarhizium* spp. mantarlarının kullanımının kene popülasyonlarının kontrolü için entegre programlarda uygulanabilir olduğu da vurgulanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Biyoteknolojik kontrol, kene, sivrisinek, vektör, vektör kaynaklı hastalıklar



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA OTURUMU 07

Parazitler ve Nörodejenerasyon

Düzenleyen	Erol AYAZ	
01 Ekim 2019		13:30 – 15:00
Hayriye SOYTÜRK	Parazitler, Nörotransmitterler ve Davranış	13:30 – 13:45
Özlem MİMAN	Nörodejeneratif Hastalıklar ve Parazit İlişkisi	13:45 – 14:00
Şule AYDIN TÜRKOĞLU	<i>Toxoplasma gondii</i> ve Klinik Bulgular	14:00 – 14:15
Kerem YAMAN	<i>Toxoplasma gondii</i> ve Nöropatoloji: Epilepsi	14:15 – 14:30
Muhammed Nur ÖĞÜN	<i>Toxoplasma gondii</i> ve Nöropatoloji: Alzheimer ve Parkinson	14:30 – 14:45
Ayhan ÇETİNKAYA	DeneySEL Modellerimiz: Alzheimer ve Epilepsi Hastalıklarında DeneySEL Modellemeler	14:45 – 15:00



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 07

1

01 Ekim 2019 – 13:30-15:00

Toxoplasma gondii, Nörotransmitterler ve Davranış

Hayriye SOYTÜRK

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi,
Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliği Bölümü, BOLU

E-posta: hayriyeorallar@ibu.edu.tr

Toxoplasma gondii (*T. gondii*) tüm hayati organları tutabilen, akut dönemde kan, beyin-omurilik sıvısı (BOS), meni, gözyaşı, tükürük, idrar gibi tüm vücut sıvılarında bulunabilen, transplasental bulaş ile fetal yıkımlara, düşüklere yol açabilen, son konağı kedigiller, arakonağı insan dahil tüm memeliler olan zoonoz bir parazittir. İnsanlara, enfeksiyon kist içeren etlerin az pişmiş veya çiğ olarak tüketilmesiyle, kedi dışkı ile atılan ookistlerin su ve gıdalarla alınmasıyla, anneden fetusa transplasental yolla, enfekte organ transplantasyonu, kan nakli, laboratuvar kazaları ve kaprofüaj omurgasızların mekanik vektörlüğü ile bulaşır. Akut dönemde hücre enfekte olduğunda ilk önce makrofüaj aktivasyonu olur. Daha sonra kemokinlerin, sitokinlerin (interlökin-12 (IL-12), tumor nekrosiz faktör alfa (TNF α), Interferon alfa (IFN α) ve parazit antijenlerinin miktarı artar. Beyindeki *T. gondii* enfeksiyonunda katekolaminlerin miktarı sitokinlerin miktarındaki artmaya bağlı olarak artmaktadır. Parazitin aracılık ettiği konak hücrede transkripsiyonal değişiklikler meydana gelerek biyokimyasal aktivitelere adaptasyonlar gerçekleşmektedir. Bu mekanizmanın konaktan mı yoksa parazitten dolayı mı gerçekleştiği henüz bilinmemektedir. Fakat *T. gondii*'nin DNA hasarlanmasına sebep olduğu gösterilmiştir. *T. gondii*; serebral korteks, amigdala, hipokampus ve basal ganglion bölgelerine yerleştiği ve öğrenme, anksiyete ve istemli hareketlerin kontrolünü etkilediği tespit edilmiştir. *T. gondii* konak davranışlarını beyinde kistin tercih ettiği yere bağlı olarak değiştirmektedir. Hormonların ve nörotransmitter maddelerin seviyelerindeki değişimine bağlı olarak nöronların aracılık ettiği davranışsal değişiklik meydana gelebilir. Daha sonra konak hücrelerindeki değişikliğe bağlı olarak genel hastalık durumu başlar. *T. gondii* enfeksiyonun ara konak kemirgenlerde davranış değişikliklerine sebep olmakta, insanlarda ise şizofreni, depresyon ve kişilik bozukluklarında risk faktörü olarak kabul edilmektedir. *T. gondii* genomunda iki adet aromatik amino asit ekspirasyonunun gerçekleştiği bölgeler bulundurur. Bu amino asitler L-DOPA enziminin sentezini sağlar ve bu şekilde dopamin ve serotonin biyosentezini etkiler. Dopaminerjik hücrelerde parazit K⁺ iyonu seviyesini arttırarak, dopaminin 3 kat daha fazla salınmasına sebep olur. *T. gondii* kisti bulunan beyin dokusunda da dopamin seviyesi yüksek bulunmuştur. Parazit amigdala bölgesine yerleştiğinde dopamin seviyesi ve konsantrasyonu artar. Bu bölge korku merkezidir ve insanlarda post travmatik stres hastalarında hiperaktivite gözlenir. Amigdala, hipokampus ve frontal korteks korku ve anksiyetenin kontrolünde çok önemlidir. Memeli merkezi sinir sisteminde anksiyetenin mekanizmasında görev alan Gama aminobütirik asit (GABA), Serotonin (5-HT), Glutamat, Dopamin gibi birçok sayıda nöromodülatör bulunur. Ayrıca, *T. gondii* enfeksiyonu triptofan metabolizması ve hipotalamik-hipofiz-adrenal akışı üzerindeki etki sebebiyle davranış değişikliğine sebep olduğu düşünülebilir. Literatürde *T. gondii* enfeksiyonunun davranış değişikliği üzerindeki etkileri gösterilmiş olmasına rağmen, nörotransmitter madde değişimine bağlı davranış değişikliğinin mekanizmasının araştırılması gerekmektedir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 07

2

01 Ekim 2019 – 13:30-15:00

Nörodejeneratif Hastalıklar ve Parazit İlişkisi

Özlem MİMAN

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, İZMİR

E-posta: ozlmiman@yahoo.com

Alzheimer hastalığı (AH), Parkinson hastalığı (PH), Amiyotrofik lateral skleroz (ALS), Lewy cisimli demans (LBD) ve frontotemporal demans (FTD) gibi pekçok nörodejeneratif hastalık etyolojisi için, büyüyen bir epidemiyolojik ve deneysel veri infeksiyon ajanlarına işaret etmektedir. Özellikle kronik-ilerleyici karakterli santral sinir sistemi (SSS) enfeksiyonları, infekte ve komşu hücrelerde çoklu hasara neden olabilmektedir. Tüm bunlar inflamatuvar süreçlerin aktivasyonu, konak immune yanıtına bağlı ya da tetiklenen nörotoksik yollar üzerinden nöronal fonksiyon kaybı ve/veya doğrudan nöronal kayıplar olarak gerçekleşmektedir. Nörodejeneratif hastalıklarla ilişki hususunda uzun yıllardır literature veri sağlayan serolojik çalışmalar bakteriyel, viral kadar paraziter potansiyel tutulumun da altını çizmektedir. Bugüne kadar kanıtlar çoklukla bir nörotrop protozoon parazit olan *Toxoplasma gondii* üzerine yoğunlaşmıştır. Ancak *Trypanosoma* ailesi, *Leishmania*, *Microsporidia*, *Plasmodium* gibi protozoal; *Schistosoma*, bazı sestod larvaları, *Angiostrongylus*, *Toxocara* gibi metazoal paraziter ajanlar için de nöroinflamasyon üzerinden zayıf/güçlü kanıtlar literatürde yerini bulmaktadır.

Nörodejeneratif hastalıkların anlaşılmasına katkıda bulunan yeni moleküler mekanizmalara ışık tutan inflamazomlar; birer sitozolik proteinlerdir ve kaspaz aktivasyonu üzerinden inflamatuvar tepkileri başlatmaktadırlar. İnflamazomları modüle ettiği yönünde pek çok kanıt elde edilmiş birçok parazit (özellikle kan parazitleri-*Schistosoma*, *Plasmodium*, *Toxoplasma*, *Leishmania*, *Microsporidia* gibi) bu kanaldan nörodejenerasyon ile ilişkili ajan-patojen listesine adılarını yazdırmaktadır.

Beyin hasarı ile ilgili biyobelirteçlerin (GFAP, A β PP, TGF- β 1, NF-L, S100B, tTG, and p-tau gibi) bazı parazitler infeksiyon durumlarında (*Toxocara* larvaları gibi) artan ifadeleri ise; Alzheimer hastalığının başı çektiği bazı nörodejeneratif hastalıkların progresyon süreçleri hakkında etyopatogenetik ve olası yeni tedavi trendleri açısından bize yeni veriler sunmaktadır.

Tüm bunlara tezat; çeşitli nörodejeneratif hastalıklardaki klinik semptomların ilerleyişini baskılama konusunda ve/veya mevcut nöronal fonksiyonun iyileştirilmesi yönünde olsun "kronik inflamasyonun immunomodülasyonu" bir tedavi/profilaksi stratejisi olarak önerilebilmektedir. Semptomatik nörodejeneratif tedavi için bağırsak mikrobiyotası ve nematodlar (güçlü immünomodülatör etki, konak immun yanıtını değiştirebilme ve baskılayabilme özellikleri ile) güncel çalışmalarda umut verici bir yol olarak sunulmaktadır.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 07

3

01 Ekim 2019 – 13:30-15:00

Toxoplasma gondii ve Klinik Bulgular

Sule AYDIN TÜRKOĞLU

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroloji AD, BOLU

E-posta: suleaydin@ibu.edu.tr

Toxoplasma gondii (*T. gondii*) intrasellüler yerleşim gösteren zoonotik bir parazittir. Günümüzde yaklaşık olarak dünya nüfusunun 1/3'ünün bu parazitte enfekte olduğu bildirilmektedir. Herhangi bir belirti vermeden uzun süre vücutta taşınabilir. Parazitin biyolojisinde takizoit, bradizoit (doku kistinde) ve sporozoit (ookist içinde) olarak adlandırılan üç enfektif safha bilinmektedir. Latent dönemde çok uzun yıllar bu formda kalır. Bu dönemde sadece moleküler düzeyde bulgular mevcuttur. Kronik *T. gondii* enfeksiyonu oluşturulan farelerde öğrenme ve kısa dönem hafıza bozuklukları olduğu görülmüştür. Farelerde kronik *Toxoplasma* takizoitlerinin enfeksiyonunun uzaysal öğrenme ve hafıza kapasitesine zarar verdiği gösterilmiştir. Hamile farelerde oluşturulan *T. gondii* enfeksiyonunun reproduktif toksisiteye sebep olarak F₁ jenerasyonunda öğrenme ve hafıza kapasitesini etkilediği tespit edilmiştir. İnsanlardaki *Toxoplasma* enfeksiyonu konjenital, akut ve kronik olarak gelişebilmektedir. Konjenital toksoplazmosis mental fonksiyonları etkilemekte, hidrosefalus, intrakranial kalsifikasyon görülmektedir. Çok yüksek prevalansa sahip olan *T. gondii* enfeksiyonunun asemptomatik olarak bilinmesine rağmen kognitif fonksiyonları bozduğu tespit edilmiş, konak vücudunda ve hücrelerinde daha başka nelere sebep olduğu tam olarak anlaşılamamıştır. Amigdalanın korku merkezi olduğu ve post travmatik stres hastalarında bu bölgede hiperaktivitenin görüldüğü bilinmektedir. *Toxoplasma gondii* enfeksiyonunun amigdala bölgesinde dopamin seviyesini ve konsantrasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir. Genel anksiyete bozukluğu (GAD) ve travma sonrası stres bozukluğu (PTSD) yetişkinlerde görülen en önemli depresif hastalıklardandır. Enfeksiyon hastalıklarının özellikle de nöroparazitlerden Toxoplazmosisin insanda mental hastalıkların gelişiminde risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Hücre içi latent enfeksiyona neden olan parazitin sinir sisteminden temizlenmesi zordur, ancak hücrenin aracılık ettiği immün yanıt patojenik aktiviteyi baskılar. Bu durumun bugün zarar vermeyen bir durum olduğu bilinmesine rağmen *T. gondii* enfeksiyonunu birçok mental hastalıkla bağlantılı olduğu kanıtlanmıştır. *Toxoplasma gondii*'ye maruz kalmış vücutta mental hastalık riski ve kısmi olarak da şizofreni riskinin arttığı bilinmektedir. Yeni yapılan çalışmalarda bu enfeksiyonun duygusal bozukluklar (mood disorder) (depresyon, bipolar hastalığı) ve intihar girişimi ile ve azda olsa bazı kontrol çalışmalarında obsesif-kompulsif bozukluk gibi nöropsikiyatrik hastalıkla da ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Epilepsi çok çeşitli semptomatoloji ve multifaktoriyel nedenlerle ortaya çıkan ve tekrarlayan nöbetlerle karakterize bir hastalıktır. İdyopatik epilepsinin altta yatan nedenin tespit edilemeyen anatomik anormallikler veya sinaptik, membran, nörotransmitter veya bağlantı değişikliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. *T. gondii* beyinde oluşturduğu doku kistlerinin ensefalopati oluşturarak epileptik nöbetlere sebep olduğu tespit edilmiştir. *Toxoplasma gondii* enfeksiyonunun nasıl epileptik odak oluşturduğu konusunda farklı görüşler mevcuttur. Yapılan çalışmalarda konakta oluşturulan doku kistlerinden bazılarının rüptüre olarak inflamasyon ve skar dokusu oluşturarak epileptik odak oluşturduğu ileri sürülmektedir. Bir diğer öne sürülen görüşte ise *T. gondii* konak hücre içine girdiğinde özellikle mikroglyalarda Ca²⁺ pompasını inhibe edip hücre lisisi yaparak nöbetlere neden olduğu ileri



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

sürülmektedir. Nöropatoifizyolojik çalışmalarda *T. gondii* enfeksiyonunun mikroglial nodul formasyonu ile epileptik nöbete neden olabileceği gösterilmiştir.

Sonuç olarak; transplasental bulaş ile fetal yıkımlara, düşüklere yol açabilen *T. gondii*'nin, immun sistemi baskılanmış insanlarda parazitin beyinde oluşturduğu doku kistlerinin ensefalopati tablosu oluşturduğu, epileptik nöbetlere sebep olduğu ve şizofreni, anksiyete, depresyon gelişiminde risk faktörü olduğu bildirilmektedir. Yapılan birçok çalışmada konak vücuduna giren takizoitlerin akut safhada vücudun tüm organlarına yayılabileceği fakat en fazla beyin, göz ve kalp kasını tercih ettiği bilinmektedir. Parazitin alınması ile aktif hale geçen immun sistem, buna bağlı olarak nörotransmitter maddelerin salınımındaki ve hücre içi Ca^{+2} 'unda yaptığı değişikliklerle hücrenin elektriksel aktivitesini etkileyebileceği düşünülmektedir. Bunların sonucunda da hem konağın bilişsel ve psikolojik durumunda değişiklikler şekillenebilir ve hem de hücrelerde deşarjlar oluşabilir. Bu deşarjların senkronize olması ile de epileptik nöbetler görülebilir. Klinikte karşılaşılan ve etiyojisi aydınlatılamamış epileptik nöbet, kişilik ve davranış değişiklikleri gibi nöropsikiyatrik hastalıkların ayırıcı tanısında *T. gondii* enfeksiyonu açısından da değerlendirilmesi önemli olacaktır. Bu konuda farkındalığın artırılması gerekmektedir.



Toxoplasma gondii ve Nöropatoloji: Epilepsi

Kerem YAMAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, BOLU

E-posta: keremyamantbb@yahoo.com.tr

Enfeksiyon etkenleri arasında MSS'ye yerleşenler konaklarında çeşitli davranış değişiklikleri gösterebilirler. Parazitler açısından düşünüldüğü takdirde, hayat döngülerini tamamlayabilmek için farklı konak organizmalarda yer almaları gerektiği için bu davranış değişikliklerinin hem ara hem de son konaklarda, manipüle edilmesi normal kabul edilmektedir. Manipülasyon sıklıkla hormon ve nörotransmitter düzeylerini etkileyerek meydana gelmektedir.

Toxoplasma gondii kozmopolit olarak görülen zoonoz paraziter enfeksiyonlardan birisidir. Son konağı kedigiller olan *T. gondii*'nin ara konak yelpazesi oldukça geniştir ve özgüllük gözetmeden sıcak kanlı canlıların hepsini enfekte edebilir. İntrasellüler yerleşen parazitin, hayat döngüsünde ookist, bradizoit ve takizoit olarak, üç formu bulunmaktadır ve insanlar dahil konaklarına bu formların hepsiyle bulaşabilmektedir. Parazitin suşlarının genotiplendirilmesinde tip I, tip II, tip III ve hiçbir tipe uymayanlar için atipik suşlar şeklinde bir sınıflandırılma yapılmıştır. Tip I suşlar virulandır, tip II ve tip III suşlar ise avirulan olup, yerleştikleri dokularda kist oluşturmaya yatkındırlar. Avrupa ve Kuzey Amerika'da daha çok bu genotiplerin dağılımı görülmektedir. Tip I ve tip II suşlar konjenital toksoplazmoz olgularında ve immün yetmezlik çeken olgularda parazitin reaktivasyonuna bağlı olarak oluşan klinik tablolardan sorumlu oldukları saptanmıştır. Oluşan davranış değişiklikleri parazitin yerleştiği noktaya, enfeksiyonu gerçekleştiren genotipe ve parazit yüküne göre farklılık göstermektedir. Araştırmalarda, *T. gondii*'ye ait doku kistlerinin MSS içerisinde amigdala, nukleus accumbens, serebral korteks, serebellum, medulla oblongata, olfaktör bulbus, bazal gangliyon ve hipokampusu yerleştiği anlaşılmıştır.

Toxoplasma gondii haricinde farklı parazitlerin de epilepsi ve epileptiform aktivite ile ilişkileri vardır. Protozoonlar içinde *P. falciparum*'un neden olduğu serebral yerleşimli sıtma tablosu, *T. solium* larvası *C. cellulosa* tarafından meydana getirilen nörosistiserkoz ve *T. canis*'de MSS dokularına yerleşen parazitler arasında yer almaktadır ve davranış kalıplarının benzer değişikliklerinden sorumlu olabilirler.

Yapılan çalışmalarda *T. gondii*'nin kemirgenlerde, doğal ortamındaki avcılarını olan kedigillere karşı olan korku ve stres ortamını azalttıkları anlaşılmıştır. Buna parazit manipülasyonu adı verilmektedir. Özellikle nörotransmitterler hakkında yapılan çalışmalarda, *T. gondii* ile enfekte bölgelerde dopamin seviyesinin yükseldiği anlaşılmıştır. Parazitin genomunun araştırılmasında, aromatik amino asitlerin eksprese edildiği bölgeler görülmüştür ve bu amino asitler L-DOPA sentezini arttırarak dopamin ve serotonin sentezlerini etkilerler. Yerleşen parazite karşı, konağın geliştirdiği immün yanıt *T. gondii*'nin kistleşmesi ve latent hale geçmesi için önem taşımaktadır. Özellikle pro-enflamatuar karakterde olan sitokinler, dönüşümü tetiklemektedir. Bu aşamada parazit tarafından oluşturulan kistlerin, içlerindeki bradizoitler metabolik açıdan aktif olmasalar



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

da, kistin içinde barındırdığı parazit sayısına ve dolayısıyla büyüklüğüne bağlı olarak mekanik hasarlamayla nörodejenerasyona yol açacağına ilişkin çalışmalar mevcuttur.

Epilepsi farklı semptomlarla kendini gösteren ve multifaktöryel nedenlere bağlı olarak ortaya çıkan nörolojik bir hastalıktır. Dünya genelinde yaklaşık %1'lik dağılım gösteren epilepsi, etyolojik kökenlerine bakıldığında idyopatik, kriptojenik, semptomatik ve provake edilmiş epilepsi olarak dört grupta değerlendirilmektedir. Enfeksiyon etkenlerinin yapmış oldukları etkiler dahil, nöroanatomi hasarların yol açtığı epilepsiler semptomatik gruba girmektedirler. Etkenin tam olarak belirlenemediği fakat semptomatik olması muhtemel olan epilepsiler kriptojenik epilepsi sınıfına dahil olmaktadır. Farklı sınıfların oluşturdukları nöbet tipleri karşılaştırıldığı takdirde, semptomatik olanların sıklıkla generalize karakterde nöbete neden oldukları anlaşılmıştır. Epileptiform aktivitenin çoğunlukla kortikal ve hipokampal nöronlarda tekrarlayan ve senkronize hiperaktivasyon ile meydana geldiği saptanmıştır. Neden olan faktörler arasında enfeksiyon etkenleri de bulunmaktadır. Meydana gelen deşarjların nedeni olarak ekstrasellüler magnezyum düzeyinde azalma, potasyum düzeyinde artma, sodyum pompasının inhibe olması veya GABA reseptörlerinin antagonize olması, görülmektedir. Antiepileptik tedavide, nöbetlerin kontrol altına alınması amaçlanmakta ve semptomlara yönelik bir tedavi uygulanmaktadır. Altta yatan nedenin ortaya konulması ve buna yönelik bir tedaviyle nöbetlerin önüne geçilmesi hedeflenmektedir. Özellikle tanı ve takip anlamında kullanılabilir olan birtakım biyobelirteçlerin düzeylerinin değiştirilmesi haricinde, invaze edilen hücrede hem mitokondriyal membranın bütünlüğünü bozarak hem de NFkB üzerinden kaspaz enzimlerinin ekspresyonunu düzenleyerek hücrenin apoptoza yönlendirilmesi de söz konusu olmaktadır. Yanı sıra hücre meydana gelen elektrolit dengesizliklerine, ağırlıklı biçimde kalsiyuma bağlı olarak lizise gitmektedir. Oluşan elektrolit dengesizlikleri içinde özellikle kalsiyum düzeyinin intrasellüler artış göstermesi önem taşır, bu hem kaspaz enzimlerinin stabil çalışması için gerekli, hem de mikroglial aktivasyona sebebiyet vermektedir.

Yapılan çalışmalarda düzeyi değişen nörotransmitterlerin, önceden takip edilebilmesi ve *T. gondii* ile ilişkisinin belirlenebilmesi ile parazit kökenli kriptojenik epilepsi vakalarının tedavi edilmesinin mümkün olabileceği düşünülmektedir. Gelecekte bu konuda daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerekmektedir.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 07

5

01 Ekim 2019 – 13:30-15:00

***Toxoplasma gondii* ve Nöropatoloji: Alzheimer ve Parkinson**

Muhammed Nur ÖĞÜN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroloji AD, BOLU

E-posta: dr.mogun@gmail.com

Bir zoonotik patojen olan *Toxoplasma gondii* tüm insan popülasyonunun yaklaşık %30 kadarı enfekte etmektedir. Bir intrasellüler parazit olan *T. gondii* uzun süre santral sinir sisteminde (MSS) kalarak nöron yapısını ve fonksiyonlarını bozar ve konakta bir takım nörolojik bulgular ortaya çıkarabilir. Toksoplazmozisin en sık etkilediği MSS alanları serebral hemisfer, bazal ganglia, serebellum ve beyin sapıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalar *Toxoplasma gondii* enfeksiyonunun ile nörodejeneratif hastalıklar olan Parkinson Hastalığı (PH) ve Alzheimer Hastalığı (AH) gelişiminde etkili olabileceğini göstermiş, bu hasta gruplarında anti-*Toxoplasma gondii* IgG antikorunun sağlıklı erişkinlerden anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Nörodejenerasyonun gelişiminde birçok moleküler ve hücresel değişiklikler yer almaktadır. Nöroinflamatuvar mekanizmalar da nörodejenerasyona neden olan sebeplerden biri olduğu düşünüldüğünde *T. gondii* enfeksiyonunun PD ve AH hastalığı gelişiminde önemli olabileceği düşünülebilir. Tedavi edilebilir bir intrasellüler paraziter enfeksiyonu olan Toksoplazma gondii'nin PH ve AD gibi nörodejeneratif hastalıkların etyolojisinde yer alması bu hastalıklara yaklaşımı tümüyle değiştirebilir.

Anahtar Kelimeler: *Alzheimer Hastalığı, Parkinson Hastalığı, Toxoplasma gondii*



Deneyisel Modellerimiz: Alzheimer ve Epilepsi Hastalıklarında Deneyisel Modellemeler

Ayhan ÇETİNKAYA

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fiziyojji AD, BOLU

E-posta: ayhancetinkaya@ibu.edu.tr

Nörolojik açıdan idiopatik nedenli hastalıkların başında alzheimer ve epilepsi hastalıkları gelmektedir. Epilepsi, bebeklikten yaşlılık aşamasına kadar birçok evrede farklı sınıflandırmalarla dünya nüfusunun %1'inde görülmektedir. Alzheimer hastalığı (AH) ise, gençlerde görülmekle beraber yaşlılarda demansla karakterize olan diğer önemli nörodejeneratif hastalıklardandır. Her iki hastalıkta da idiopatik sınıflandırmanın bulunması aslında hastalığın patofizyolojisinde viral, bakteriyel, çevresel, toksik veya paraziter kaynaklı başka bir hastalığın neden olduğu sekonder durumu düşündürmektedir. Klinikte çoğu kez göz ardı edilen birçok hastalığın patofizyolojisinde rol alan paraziter enfeksiyonlardan *Toksoplasma gondii* kalp kası, göz, iskelet kası gibi önemli organlara yerleşmesinin yanı sıra merkezi sinir sistemine afinitesi bulunmaktadır. *Toksoplasma gondii* 'nin motor nöronlara afinitesinin bulunması ve TUBİTAK destekli yaptığımız projede epilepsi patofizyolojisinde rol alması idiopatik nedenli nörodejeneratif hastalıkların teşhisi için olası bir neden olabileceğini düşündürmektedir. Bu bağlamda nörolojik hastalıkların patofizyolojisinin araştırılmasında *in vivo* ve *in vitro* olarak deneyisel modelleme çalışmaları son on yıl içerisinde sıklıkla görülmektedir. Ancak *in vitro* çalışmalar hücre düzeyinde mekanizmaların araştırılmasında sınırlı bir yaklaşım sağlarken, *in vivo* olarak deneyisel modellemeler hastalığın organizma ve sistemler düzeyinde bütüncül olarak yaklaşım nedeniyle daha efektif sonuçlar sunabilmektedir. Bu nedenle deneyisel modellemelerde bir örnekliği sağlamada öne çıkacak hayvana ait faktörleri mikro düzeye indirmek için çalışmanın yapılacağı hayvanın seçiminde taksonomik olarak en alt sınıfta yer alan tür seçiminin yanı sıra aynı veya farklı genetik kökene sahip türün seçilmeside önemlidir. En iyi deneğin belirlemenin yanı sıra hangi modellemenin yapılacağı ise çalışmanın lokasyonuna göre farklılık gösterebilmektedir. Bu farklılığa en iyi örnek epilepsi çalışmalarında modelleme tipinin parsiyel veya jeneralize olmasıdır. Bu ayrışımın yanı sıra epilepsi modellemesinde, sonuçların analizi için çalışmanın kronik veya akut olup olmaması da yapılacak skorlamanın tipi, kullanılacak materyalin şekli ve yöntemi hakkında da belirleyici bir unsur olabilmektedir. Kronik epilepside uzun süreli alınacak kayıtların olması nedeniyle (günlük, haftalık veya aylık) kullanılacak elektrotun anestezi altında yerleşimi (ksilazine/ketamine uygulanarak) ve çeşidi uyanık tip kayıt almaya uygun olmalıdır. Akut epilepsi modellemesinde ise alınacak kayıt için elektrotun uygulanış şekli (üretan anestezisi altında) ve tipi uykuda kayıt alma yöntemine göre şekillenebilmektedir. Nörolojik çalışmalarda hastalıkların patofizyolojini belirlemek için elektrofizyolojik, davranış, biyokimyasal analiz skorlamalarını içeren farklı modellemeler kullanılmaktadır.

Hem epilepsi hem de AH hayvan deneyleri çalışmaları için kullanılacak materyal-metod her iki hastalığın doğada meydana gelişini birebir benzerini yapabilmek için önemlidir. Bu hastalıklar için laboratuvarımızda rutin modelleme uygulamaları yapılmaktadır. Bu uygulamalar, steriotaksi adlı alet



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

ile Paxinos Stereotaksik Sıçan Beyin Atlası kullanılarak beynin bölgelerine gerek elektrot yerleşimi gerek enfeksiyon ve enjeksiyon uygulamaları için önemlidir. Bu yöntemin *in vivo* AH modellemesinde kullanılması, hastalığa neden olan amiloid- β 'nın hipokampüse belirli bir doz ve hızda (4 μ l/10 dk) koordinat hesaplamaları ile enjekte edilmesi ile gerçekleşmektedir. Epilepsi modelinde ise yine Paxinos ve arkadaşlarının belirlediği atlasa göre frontal kortekste elektrot yerleşimi ve penisilin ile epilepsi modeli oluşturma (0,2 μ l/1,2 μ m intrakorteks) sağlanır. Model oluşturulduktan sonra elektrofizyolojik veya beyin omurilik sıvısı, serum alımları ile biyokimyasal olarak deneyin skorlaması yapılmaktadır. Elektrofizyolojik değerlendirme bilgisayar programları aracılığı ile değerlendirilmektedir. Beyin omurilik sıvısının ratta alımı mikrodializ işlemi ile gerçekleştirildikten sonra ultra yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazı (ultra HPLC) cihazı ile analiz edilmektedir.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA OTURUMU 08

Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıpta Parazitolojinin Yeri: Biyoterapi

Düzenleyen	Kosta MUMCUOĞLU	
01 Ekim 2019		17:00 – 18:30
Kosta MUMCUOĞLU	Maggot Debridement Therapy Worldwide	17:00 – 17:30
Ayşegül TAYLAN ÖZKAN	Türkiye’de Biyoterapi	17:30 – 18:00
Erdal POLAT	Maggot Terapi: Cerrahpaşa Deneyimi	18:00 – 18:30



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 08

1

01 Ekim 2019 – 17:00-18:30

Maggot Debridement Therapy Worldwide

Kosta MUMCUOGLU

Parasitology Unit, Department of Microbiology and Molecular Genetics, The Hebrew University-Hadassah
Medical School, Jerusalem, ISRAEL

E-mail: kostasm@ekmd.huji.ac.il

Maggot debridement therapy (MDT) grew out of observations on some fly larvae (maggots) to feed on necrotic material found in human and animal wounds (facultative myiasis). In the late 1920s, Dr. William S. Baer, an orthopedist from the USA, was the first to use sterile maggots for the treatment of chronic wounds, and this method was used for about 20 years to be practically forgotten with the brought use of newly discovered antibiotics. MDT was re-introduced to modern medicine by Dr. Ronald Sherman in the 1990's to meet the need for better wound care, and has been slowly spreading throughout the world ever since. The sterile maggots of the green bottle fly, *Lucilia sericata*, are widely used for this purpose. Maggots are either introduced directly on the wound using a cage-like dressing or concealed in tea-bug-like nettings (also known as biobags). The first international biotherapy conference took place in UK in 1996, when at this occasion also the International Biotherapy Society was created. Since then 10 international conferences took place, two of them in Sivas and Istanbul. In the last 10 years MDT become very popular and today this treatment modality is being used in over 40 countries. Approximately 120,000 chronic wounds of 80,000 patients (average 1.5 wounds per patient) were treated with maggots. With an average of 3-4 treatment cycles per wound these makes 360,000 to 480,000 single treatments worldwide since the early 1990's. Since 1996, over 3,000 patients have been treated with MDT in Israel, close to 50% of them had diabetic ulcers, while additional 8% of patients were treated for their pressure sores. In over 80% of the cases a complete debridement was achieved. Today, at least 10 companies are producing sterile maggots in 7 countries, while there are close to 30 academic and other non-profit laboratories which are producing such maggots worldwide. In 2004, MDT received the permission from FDA to be used in the treatment of chronic wounds. Today, MDT is recognized by health authorities as a complementary treatment modality in many countries. Research over the past 30 years has flourished especially regarding clinical studies and biochemical and molecular investigations. Research has also focused on improved methods of application, including treatment of the biochemical extracts without the live maggot.

Key Words: *Lucilia sericata*, maggot debridement therapy, chronic wounds, worldwide



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 08

2

01 Ekim 2019 – 17:00-18:30

Türkiye’de Biyoterapi

Ayşegül TAYLAN ÖZKAN^{1,2}, Mehmet Zafer KALAYCI³, Kosta Y. MUMCUOĞLU⁴

¹Hitit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, ÇORUM; ²Department of Medical Microbiology and Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Near East University, NICOSIA, TRNC;

³TC. Sağlık Bakanlığı, Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Daire Başkanlığı, ANKARA;

⁴Parasitology Unit, Department of Microbiology and Molecular Genetics, The Kuvın Center for the Study of Infectious and Tropical Diseases, Hebrew University-Hadassah Medical School, Jerusalem, ISRAEL

E-posta: aysegultaylan@hotmail.com

Biyoterapi canlı organizmaların kullanımı yoluyla hastalıkların tedavi edilmesi veya tanıya yardımcı olunmasıdır. Ülkemizde çok eski zamanlardan beri tedavi amacıyla sülük, arı ve balıkların kullanıldığı bilinmektedir. 27 Eylül 2014 tarihinde “Geleneksel Tamamlayıcı Tıp Yönetmeliği”nin yayımlanması ile birlikte de üç biyoterapi uygulaması resmen kabul edilmiştir. Bunlar sinek larvaları ile yapılan “Maggot Terapi” diğer bir deyişle “Larva Tedavisi”; sülüklerle yapılan “Hirudoterapi” ile arı ve arı ürünleri ile yapılan “Apterapi”dir. Her üç yöntem için de hekimlere yönelik sertifikasyon programları açılmış bulunmakta olup eğitimler Sağlık Bakanlığınca yetkilendirilmiş kurumlarca sürdürülmektedir. Henüz biyoterapi de dahil olmak üzere herhangi bir geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulaması sağlık ödemeleri sistemi tarafından karşılanmamakta olup hastalar kendi ücretlerini yatırmaktadırlar. Biyoterapi ile ilgili Türkiye’de iki uluslararası kongre yapılmıştır. Bunlardan ilki 16-20 Haziran 2003 yılında Sivas’ta Cumhuriyet Üniversitesi ev sahipliğinde gerçekleştirilmiştir. İkincisi ise 4-9 Ekim 2017 yılında İstanbul’da Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi’nin himayesinde ve Sağlık Bakanlığının desteğiyle başarıyla tamamlanmıştır. Biyoterapi Derneği’nin başkanlığı ve sekreteryası Türk bilim insanları tarafından yürütülmektedir. Ayrıntılı bilgilere <http://biotherapysociety.org> adresinden ulaşılabilir. Larva Uygulaması (Maggot/Larva Debridman Tedavisi) İlk kez 25-29 Eylül 2000 tarihinde II. Ulusal Tropikal Hastalıklar Kongresi’nde gündeme gelmiştir. Sinek larvaları ilk olarak İsrail’den Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı aracılığıyla getirilen pupalardan Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Ekoloji Laboratuvarında üretilmiştir. Daha sonra Gülhane Askeri Tıp Akademisinde bir larva üretim laboratuvarı kurulmuş ve 2002 yılından itibaren de hastalara uygulanmaya başlanmıştır. 2007 yılında da TÜBİTAK projesi ile İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi bünyesinde bir laboratuvar kurulmuş olup larva üretimine devam edilmektedir. 2018 yılında da Konya’da Selçuk Üniversitesi bünyesinde larva üretimine başlanmıştır. 13.07.2016 tarih ve 45 sayılı Sağlık Alanı Sertifikalı Eğitim Programları ile “Larva Uygulaması” için alınması gereken eğitim, eğitimciler ile ilgili detaylar belirlenmiştir. Bu tedavi yönteminin yalnızca hekimler tarafından ve kronik yara ile ülserlere uygulanmasına yasal olarak izin verilmiştir. 2019 yılı içerisinde ilk sertifikasyon eğitim programları başlamıştır. Sülük Tedavisi (Hirudoterapi) Anadolu’da halk arasında çok eski zamanlardan itibaren uygulanagelen bir tedavi yöntemidir. 15.10.2015 tarih ve 25 sayılı Sağlık Alanı Sertifikalı Eğitim Programları ile “Sülük Uygulaması” için alınması gereken eğitim, eğitimciler ile ilgili detaylar belirlenmiştir. Her ne kadar halk arasında yaygın olarak kullanılmaktaysa da yasal olarak bu tedavi yönteminin yalnızca hekimler tarafından uygulanmasına izin verilmiştir. Larva tedavisine göre



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

endikasyon alanı biraz daha geniş tutulmuştur. Ağrı, kas-iskelet sistemi hastalıkları, kulak çınlaması/ağrısı, bazı göz ve diş rahatsızlıkları yanı sıra kalp ve dolaşım sistemi hastalıklarının tedavisinde ayrıca plastik cerrahi sonrasında kullanılabilir. Uygulamada en sık kullanım amacı replantasyon ve ve revaskülarizasyona destek olmaktır. Özellikle flep cerrahisi sonrası görülen venöz yetmezliklerde plastik cerrahlar tarafından sıklıkla tercih edilmektedir. Tıbbi amaçlı sülük üreten birçok firma bulunmaktadır. Ancak Aeromonas gibi bakterilerin suluk florasında bulunması nedeniyle tam anlamıyla steril bir sülük elde etmenin pek mümkün olamayacağı da göz ardı edilmemelidir. Bu nedenle yetkisiz ve sağlık eğitimi almamış kişilerce uygulanması sepsise kadar varabilen tehlikeli sonuçlara yol açabilir. Arı Tedavisi (Apiterapi) Anadolu'da halk arasında arı soktuğunda romatizma olmayacağına dair yaygın bir inanış vardır. Artrit şikayeti olan pekçok insan ağrılı eklem bölgelerini arılara sokturmaktadır. Arı ürünlerinden balın mide bağırsak sistemi hastalıklarında şifa kaynağı olduğu da yüzlerce yıldır bilinmektedir. 10.04.2016 tarih ve 37 sayılı Sağlık Alanı Sertifikalı Eğitim Programları ile "Apiterapi" için alınması gereken eğitim, eğitimciler ile ilgili detaylar belirlenmiştir. Apiterapinin özellikle arı zehiri veya canlı arı uygulamasının endikasyonunun olduğu grupta kas-iskelet, sinir ve immun sistemi tutan hastalıklar ile yaralar ve cilt sorunları da bulunmaktadır. Özellikle multiple skleroz başta olmak üzere nörodejeneratif hastalıklarda başarılı sonuçlar alındığı bildirilmektedir. Bu uygulamanın en önemli yan etkisi anafilaksidir. Bu nedenle yetkisiz ve sağlık eğitimi almamış kişilerce ve donanımı yetersiz koşullarda uygulanması ölüme kadar varabilen tehlikeli sonuçlara yol açabilir. Diğer Yöntemler Ülkemizde balıklarla tedavi (ihtiyoterapi; ichthyotherapy) yönteminden özellikle Sivas Kangal yöresinde yararlanılmaktadır. Helmintlerle tedavi veya bazı hayvanların koku duyularından yararlanılarak biyodiyagnostik konularında herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca bu konularla ilgili herhangi bir yasal düzenleme veya eğitim programı da mevcut değildir. Sonuç Tıpta ana prensip "önce zarar verme"dir. Anadolu'da çok eski zamanlardan beri kullanılan sülük ve arı ile tedavi yöntemleri "Geleneksel Tamamlayıcı Tıp Yönetmeliği" ile yasal bir zemine oturtulmuş ve buna larva uygulaması da dahil edilmiştir. Her ne kadar endikasyonları dahilindeki hastalıklarda çok önemli başarılar elde edilse de bu yöntemlerin ehil olmayan kişilerce ve uygunsuz koşullarda yapılması hayatı tehdit eden sonuçlara yol açabilir. Bu nedenle eğitimli hekimler tarafından uygulanması ve gerekli önlemlerin alınması şarttır. Biyoterapi yöntemlerinin sağlık ödemeleri sistemi kapsamına alınması bu tedavilerin sağlık kurumlarında uygulanmasının yaygınlaşması açısından son derece gerekli görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Apiterapi, larva tedavisi, maggot debridman tedavisi, hirudoterapi, biyoterapi, Türkiye



Maggot Terapi: Cerrahpaşa Deneyimi

Erdal POLAT

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İSTANBUL

E-posta: erdalp@istanbul.edu.tr

Maggot debridman tedavisi (MDT)'nde *Lucilia sericata*'nın I. ve II. dönem larvaları kullanılmaktadır. 1940 yılında ara verilen tedavi yöntemi 1990 yılının başlarında; Amerika, İsrail, Britanya Krallığı, Almanya, İsveç, İsviçre, Ukrayna ve Tayland'da yeniden kullanılmaya başlanmıştır. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nde ise, MDT 2007 yılında kurulan "TÜBİTAK Biyoterapi Araştırma ve Geliştirme Laboratuvarında *L. sericata*'nın üretimi ile başlamıştır (1, 2). Laboratuvarımızda üretilen larvalar günümüze kadar; 3210 diyabet, 513 osteomyelit, 314 bası, 327 amputasyon, 201 varis, 105 buerger, 92 yanık, 5 radyasyon yanığı, 15 romatoidartrit, 7 CA, 2 kaposi sarkomu, 29 Piyoderma Gangrenozum ve 12 Hidradenitis suppurati yarası olmak üzere toplamda 4832 hastanın yarasına uygulanmıştır. Dolaşım sorunu olmayan, tedavi protokolüne uyan hastaların yaraları tamamen kapanmıştır. Laboratuvarımızda antimion bileşiklerine dirençli 193 kutanöz leishmaniasis hastası larvalar ile başarılı bir şekilde tedavi edilmiştir (3-5). Larvaların immün sistem hücresi hemositler; plasmatositler, prohemositler, granulositler, oenositoidler ve adipohemosit olmak üzere 5 tiptir. Plasmatositler I. ve II. evre larvada bulunur ve fagositoz yaparlar. Düşük enzimatik aktiviteye sahip prohemositler, patojenlerin kapsülasyonu ve fagositozunu yapan granulositler, proteolitik enzimler ve fagositozik aktivite ile bakterilerin çoğalmasının önleyen oenositoidler ve larva evresinden pupa evresine geçişi sağlayan adipohemositler ise III. evre larvada bulunur (6). Bundan dolayı III. evre larvalarının salgısı daha etkilidir. İkinci evreden üçüncü evreye geçen larvalardan elde edilen salgı ile; yüzünde şark çıbanı olan 23, ağız içi aftı ve diş eti hastalığı olan 33, rozeaseali 11, akne vulgaris ve izleri olan 35, malezma hastalığı olan 7, keratoid olan 12, güneş lekesi olan 17 ve gözaltı kırışıklığı olan 35 hasta olmak üzere toplamda 173 hastaya uygulama yapılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır. *L. sericata*'nın II. dönemden III. döneme geçmek üzere olan steril larvalarının salgıları *Leishmania tropica*'nın promastigot ve amastigot şekillerine in-vitro ve in-vivo koşullarda etkili olduğu dünyada ilk kez tarafımızca tespit edilmiştir (3-5). Deneysel olarak yaptığımız çalışmalarda; 104 miRNA'nın ekspresyon kat sayısının 1.5 kat ve üzeri arttığı veya azaldığı belirlenmiştir. Yaranın iyileşme sürecine bağlı olarak miRNA'lar: - Ekstraselüler matriks (ECM) yeniden yapılanmasını sağlar. - Hücrelerin çoğalmasını, göçünü arttırır ve azaltır. - Nükleer faktör kapp B (NF-kB) sinyalleterek endotelial hücreleri aktive eder. - Vasküler inflamasyonu azaltır. - Fibröz oluşumunu azaltarak hücre göçünü hızlandırır. - Anjiyogenezde artışa ve azalmaya neden olur. - Kollajen üretimini pozitif ve negatif yönde etkiler. - Trombosit kaynaklı büyüme faktörünü arttırır. - Larva salgısı uygulanan yaralarda 10. günde 11.54 kat artan miR-34c* serviks kanserinde hücre göçünü inhibe ederek apoptozu arttırır. - Onkojen Rat sarkoma (Ras)'ı negatif yönde düzenleyerek akciğer kanser dokularında let-7a'nın ekspresyonunda azalmaya neden olur. - Tümör baskılayıcı olan Sufu ve Fus-1'i inhibe ederek anjiogenezi geliştirir (7, 8). Diğer bir deneysel çalışmada 37 genin ifadesinin 5 kat ve üzeri arttığı veya azaldığı görülmüştür. Yaranın iyileşme sürecine bağlı olarak ifadesi artan veya azalan genler: - Ölü dokuları sindirerek yarayı temizler ve



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

enfeksiyondan korur. - Yarada dengeyi sağlayarak yaranın kronikleşmesini önler. - Anjiogenezi arttırarak ve fibrillar kollajenlerin sentezini başlatarak yaranın iyileşmesini hızlandırır. - Kollajen tip 1 ve bazal laminayı oluşturan kollajen tip 4'ün öncü genlerin ifadesini artırarak cildin gerilim kuvvetini oluşturur. - Yeni kollajenlerin, elastinlerin yapımını, fazla ve kalınlaşmış kollajenlerin, elastinlerin yıkımını sağlayarak denge oluşturur. - ECM elemanlarının yıkımını ve yeni ECM elemanlarının oluşmasını sağlayarak granülasyon oluşturur. - Heparine bağlı epidermal büyüme faktörünü artırır. - Yaranın kapanmasına yakın tedavinin 10. gününde epitelizasyon için önemli olan keratinositlerin göçünü başlatarak yaranın kendiliğinden kapanmasını sağlar (8-10). MDT, basınç ülserleri, venöz staz ülserleri, temporal mastoiditis, fournier gangreni, nekrotize tümör kitlelerinin ve diğer yumuşak doku yaralarının tedavisinde başarı ile kullanılmaktadır (1, 2, 11). Bizim ünitemizde ise larva tedavisi bu yaraların yanı sıra; radyasyon yanıkları, yanık yaraları, romatoid artrit ve Behçet hastalığı dolayısıyla açılan yaraların, piyoderma gangrenozum, hidradenitis suppurati, kutanöz leishmaniasis tedavisinde de kullanılmakta olup başarılı sonuçlar elde edilmiştir (3-5). MDT'ye başlamadan önce ve her tedavi sonrasında yaptığımız bakteri kültürlerinde, tedavi ilerledikçe enfeksiyonun belirgin bir şekilde azaldığı görülmüştür. *L. sericata* larvalarının salgıladıkları enzimlerin ve maddelerin değişik bakteri türleri üzerine öldürücü ve üremeyi durdurucu etkisinin olduğu görülmüştür. Bu çalışmada; *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, MRSA, MSSA, *S. agalactiae*, β hemolitik Streptokoklar ve Gram pozitif çomaklar ile enfekte yaraların üzerine larva konup 48 saat tutulduktan sonra alınan materyallerde bu bakterilerin üremediği belirlenmiştir (12, 13). Yaralardan 48 saat sonra uzaklaştırılan larvaların kursakları çıkarılarak moleküler yöntemler ile beslediği insanın DNA'sı, STR'ler ve SNP'ler araştırılmıştır. DNA, kurtçukların bağırsak içeriğinden geri kazanılsa bile, tam bir insan profili ancak STR'ler ve SNP'ler kullanılarak ortaya konabilir. Cesedin tanımlanamadığı ve birçok kurtçuk veya başka böceklerin bulunduğu bir olayla karşılaşıldığında adli entomolojinin önemi kaçınılmaz hale gelir. Adli entomolojinin en yaygın uygulaması, numuneleri veya insan kalıntılarını tanımlamak için böcek kullanmaktır. Bir larvanın bağırsak içeriğinden geri kazanılan DNA analizi eksik bir cisim tanımlamak için kullanılabilir. Larvalardan elde edilen insan STR ve SNP profili, bir larvanın belirli bir hasta veya cesetle ilişkisini gösterir (14). Larvalar ayakta zayıf venöz dolaşımı nedeni ile açılmış ve zor iyileşen yaraların tedavisinde de kullanılmaktadır. Venöz staz ülserlerinin tedavisinde larvalar ve sülükler birlikte kullanılarak hızlıca iyileşme sağlanmıştır. Tedavi yöntemi tamamıyla doğal olduğundan çalışanlar ya da çevre açısından herhangi bir kötü etki oluşturmaz. MDT klasik tedavi yöntemine göre daha ucuz olduğundan uygulanan ülkelerde ekonomiye ciddi katkı sağlamaktadır. MDT birçok araştırmacının da belirttiği gibi günümüzde yaraların tedavisinde uygulanan klasik tedavi yöntemlerine göre daha ucuz, kolay ve başarılı bir tedavi yöntemidir. Genellikle hastalarda tedavi esnasında herhangi ciddi bir rahatsızlık olmaz. Larvalar nadir olarak gıdıklanma ve kaşıntıya neden olabilirler. Ağrılı yüzeysel yarası olan hastaların yaklaşık %20 ile 25'i larva tedavisi esnasında ağrının artışından şikayet ederler. Bu şikayetler ağrı kesiciler ile giderilebilir. Yapılan çalışmalar ve bizim çalışmamızdaki bulgulara göre açık yaralarının tedavisinde altta yatan nedenlerden bağımsız olarak MDT başarılı bir şekilde kullanılabilir. Halen Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yara Tedavi Ünitesi'nde haftanın Salı ve Cuma günleri olmak üzere iki kez, aylık ortalama 250-300 hastaya MDT uygulanmaktadır. Ayrıca TÜBİTAK Biyoterapi Araştırma ve Geliştirme Laboratuvarından devlet ve özel hastanelere 5x3 cm ölçüsündeki paketler içinde larva satışı yapılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Maggot, terapi, Cerrahpaşa

KAYNAKLAR

1. Polat E, Çakan H, İpek T. Larva debridman tedavisi. *Türk Aile Hek Derg.* 2010; 14(4), 188-91.
2. Polat E. Larva Debridman Tedavisi (LDT). Editörler. Topalan M, Aktaş Ş. Güncel yönleriyle kronik yara. İstanbul Tıp Fak. Kronik Yara Konseyi. I. baskı. 2010.p. 181-93.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

3. Polat E, Çakan H, Aslan M. ve ark. Detection of anti-leishmanial effect of the *Lucilia sericata* larval secretions in vitro and in vivo on *Leishmania tropica*: First work. *Experimental Parasitol.* 1012; 132(2): 129-34.
4. Polat E, Kutlubay Z, Sirekbasan S. Treatment of Glucantime-resistant/tolerant cutaneous leishmaniasis with *Lucilia sericata* larvae and its larval secretions: The first study in the world. *Tropical Biomedicine* 2016; 33(4), 668-74.
5. Polat E, Kutlubay Z. Four Cutaneous Leishmaniasis Case Resistant to Meglumine Antimoniate Treatment. *Türk Parazitol Derg.* 2014; 38(3): 177-180.
6. Melis G. *Lucilia sericata* (Meigen,1826) (Diptera: Calliphoridae)'de larvalarında immün sistem hücrelerinin ışık mikroskobu ile incelenmesi (Tez). Arkan H. (Danışman). Ege Üniversitesi. 2017.
7. Coskunpinar E, Arkan H, Dedeoglu BG, Aksöz I, Polat E, Araz T, Aydos A, Oztemur Y, Akbas F, Onaran I. Determination of effective miRNAs in wound healing in an experimental rat model. *Cell. Mol. Biol.* 2015; 61(8): 89-96.
8. Tombultork FK, Kasap M, Tuncdemir M, Polat E, Sirekbasan S, Kanli A, Kanigur-Sultuybey G. Effects of *Lucilia sericata* on wound healing in streptozotocin of its secretome at the proteome level. *Human and Experimental Tox.* 2018; 37(5): 508-520.
9. Tombulturk FK, Soydas T, Sarac EY, Tuncdemir M, Coskunpinar E, Polat E, Sirekbasan S, Kanigur-Sultuybek G. Regulation of MMP 2 and MMP 9 expressions modulated by AP-1 (c-jun) in wound healing: improving role of *Lucilia sericata* in diabetic rats. *Acta Diabetol.* 2019 Feb;56(2):177-186.
10. Polat E, Aksöz İ, Arkan H. ve ark. Gene expression profiling of *Lucilia sericata* larvae extraction/secretion-treated skin wounds. *Gene* 2014; 550(2): 223-9.
11. Polat E, Kutlubay S, Sirekbasan S, Gökalp H, Akarırmak Ü. Treatment of pressure ulcers with larvae of *Lucilia sericata*. *Turk J Phys Med Rehab* 2017; 63(4):307-312.
12. Bolaban D. *Lucilia sericata* larvaları ve salgılarının metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) üzerine antibakteriyel etkilerinin in- vivo ve in-vitro koşullarda araştırılması (Tez). Polat E (Danışman) İstanbul Üniversitesi. 2009.
13. Aydın B, Çift T, Duran M, Polat E, Sirekbasan S, Öner G. Postoperative larval debridement therapy in gynaecology practice. *Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Derg.* 2015; 2(1): 50-56.
14. Kondakçı GO, Bulbul O, Shahzad MS, Polat E, Cakan H, Altuncul H, Filoglu G. STR and SNP analysis of human DNA from *Lucilia sericata* larvae's gut contents. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 2009; 2(1): 178-179.



YUVARLAK MASA OTURUMU 09

Theileriosis in Mediterranean/European Countries (MeTVAC-LEAP-AGRI-220)

Düzenleyen	Tülin KARAGENÇ	
02 Ekim 2019		11:00 – 12:30
William WEIR	Molecular and Serological Survey of <i>Theileria equi</i> and <i>Babesia equi</i> in the UK Equine Population	11:00 – 11:20
Ziam HOCINE	Clinical signs of Tropical Theileriosis in, Wilayate of Tizi Ouzou, Algeria	11:20 – 11:40
Shawky Ahmed MOUSTAFA	An Overview of Blood Parasites in the Egyptian Field with Special Reference to <i>Theileria</i> spp.	11:40 – 12:00
Tülin KARAGENÇ / Hüseyin Bilgin BİLGİÇ	Current Status and Future Prospects for Vaccines Against Tropical Theileriosis	12:00 – 12:30



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 09

1

02 Ekim 2019 – 11:00 - 12:30

Molecular and Serological Survey of *Theileria equi* and *Babesia equi* in the UK Equine Population

**William WEIR¹, Paul PHIPPS², Charlie DALLEY², Jane LEWIS², Toni-Ann HAMMOND³,
Brian SHIELS⁴, David SUTTON¹, Robert COULTOUS¹**

¹ School of Veterinary Medicine, College of Medical, Veterinary and Life Sciences, University of Glasgow, Glasgow, UK; ²Animal and Plant Health Agency, Addlestone, Surrey, UK; ³Diagnostic Laboratory Services, Animal Health Trust, Newmarket, Suffolk, UK; ⁴Institute of Biodiversity Animal Health and Comparative Medicine, College of Medical, Veterinary and Life Sciences, University of Glasgow, Glasgow, UK

E-mail: willie.weir@glasgow.ac.uk

Aim: Equine piroplasmiasis (EP) has historically been of limited concern to equine practitioners in the UK, primarily due to a lack of competent tick vectors. EP screening is not currently required for equine importation, and when combined with recent relaxations in movement regulations, there is an increased risk regarding disease incursion and establishment into the UK.

Methods: We evaluate the prevalence of EP by both serology and PCR among a large collection of equine blood samples submitted for EP screening in 2016 to two major UK laboratories.

Results: Serological prevalence of EP was 8%, and parasite DNA was found in 0.8% of samples. Subsequent analysis of PCR sensitivity indicated that the proportion of PCR-positive animals is likely to be considerably higher.

Conclusions: We conclude that the current threat imposed by EP-carrier horses is not adequately monitored and further measures are required to improve biosecurity in the UK and prevent endemic disease.



Clinical Signs of Tropical Theileriosis in, Wilayate of Tizi Ouzou, Algeria

Ziam HOCINE^{1,2}, Saidani KHELAF², Kelanemer RABAH², Kernif TAHAR³, Geysen DIRK⁴

¹Laboratory of Biotechnology, Environment and Health, Saad Dahlab University, Ouled Yaich, Blida, ALGERIA; ²Institute of Veterinary Sciences, Saad Dahlab University, Ouled Yaich, Blida, ALGERIA;

³Laboratory of Parasitic Eco-epidemiology and Population Genetics, Pasteur Institute of Algeria, Dely-Brahim, Algiers, ALGERIA; ⁴Institute of Tropical Medicines, Department of Biomedical Sciences, Antwerp, BELGIUM

E-mail: veziamocine@gmail.com

Aim: In Algeria, tropical theileriosis is one of the fatal tick-borne diseases transmitted by *Hyalomma scupense*. It is an economically important bovine disease causing a high morbidity and mortality. This study is to highlight the clinical prevalence of tropical theileriosis in cattle raised in Wilayate of Tizi Ouzou, Algeria.

Methods: The study was conducted during the tick activity Tizi Ouzou. A total of 136 cattle showing clinical signs were suspected for theileriosis. Giemsa stained blood smear was performed from ear vein and ticks were collected. Nineteen blood samples were collected in EDTA-tubes for amplification for *Theileria* DNA.

Results: *T. annulata* was identified from 130 positives cattle for at least one merozoite in the blood. Six animals were co-infected by *T. annulata* and *A. marginale*. Three ticks were identified; *Hyalomma scupense*, *Rhipicephalus bursa*, *Boophilus annulatus*. The more frequent clinical signs in decreasing order were hyperthermia, adenitis, anaemia, icterus and haemoglobinuria. A total of 119 animals showed gluttony for up to 24 h followed by complete anorexia. The latter clinical picture might be complicated by clinical acidosis, when fed concentrate or overload indigestion when fed hay and straw. The prevalence of *T. annulata* was maximal in July. The nineteen blood samples gave positive amplification for *T. annulata* DNA.

Conclusion: These results emphasize the preponderance of tropical theileriosis in the Wilayate of Tizi Ouzou for which gluttony coupled to anorexia is prodromal symptom during the incubation period of the disease.

Key Words: *Theileria annulata*, clinical signs, *Hyalomma scupense*, *Rhipicephalus bursa*, *Boophilus annulatus*, Algeria.



An Overview of Blood Parasites in the Egyptian Field with Special Reference to *Theileria* spp.

Shawky Ahmed MOUSTAFA¹, Mohamed EL-DIASTY²

¹Faculty of Veterinary Medicine, Benha University, EGYPT; ²Animal Health Research Institute, EGYPT

E-mail: dr.shawky.gesriha@gmail.com

Egyptian bovine population reached eight million head (4 million cattle and 4 million buffaloes), most of them are reared in a sporadic manner in rural areas suffering from tick infestation and other blood-sucking insects like mosquito, horn, and stable flies, etc transmitting blood parasites which considered to be one of the most destructive obstacles to livestock production. The most prevalent blood parasites are *Theileria*, *Anaplasma*, and *Babesia*; moreover, the majority of Theileriosis are chronic in water buffaloes. Theileriosis, Anaplasmosis, and Babesiosis are present as clinical cases all over the year infecting cattle, buffaloes, and sheep, but the incidence increases during the summer season and after the outbreaks of lumpy skin disease and bovine ephemeral fever in cattle. Tropical theileriosis is a severing, often fatal disease caused by *Theileria annulata*. The parasite is transmitted by the bite of a tick from *Hyalomma* spp.

The majority of animals in the dairy farms in the Delta area are treated with imidocarb as metaphylactic treatment especially in the summer season because of the high incidence of *Anaplasma* infection. Whereas in Upper Egypt and Elwady Elgeded Governorate, animals are treated mainly with buparvaquone because of the high incidence of Theileriosis between animals. The high infection with these pathogens in the clinically ill cows necessitates implementing serious programs to minimize their economic burden on the Egyptian farming industry.



Current Status and Future Prospects for Vaccines Against Tropical Theileriosis

Tülin KARAGENÇ, Hüseyin Bilgin BİLGİÇ

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, İZMİR

E-mail: tulinkaragenc@yahoo.com / hbilgic@adu.edu.tr

Tropical theileriosis is an important and frequently fatal disease of cattle caused by the protozoan parasite *Theileria annulata* [1]. It is transmitted by ixodid ticks of the genus *Hyalomma* [2] and disease is widespread between longitudes 30°W-150°E and latitudes 15°N - 60°N covering North Africa, Southern Europe, India and Asia. Tropical theileriosis imposes serious constraints upon breed improvement programmes and livestock production in many developing countries. On a global basis, the economic impact of tick-borne diseases is immense and enhanced control measures would improve livestock production in many parts of the world [3]. Losses directly and/or indirectly attributed to tropical theileriosis include mortality, production losses (reduction in milk production and weight gain) together with the costs of veterinary diagnosis/treatment and tick control [4-6].

Tropical theileriosis has largely been controlled by four strategies; (i) the use of acaricides to reduce tick burdens, (ii) treatment of infected animals, (iii) use of disease-resistant breeds of cattle and (iv) vaccination against disease. Among these control methods, immunisation of cattle against disease is an effective and widely used control method. To date, many different vaccination regimens were used to protect cattle against disease. Early attempts were either vaccination with blood from cattle infected with a low virulence strain of *T. annulata*, which was used in the 1930s in Algeria [7] and in Israel in the 1940s [8] or infection with a titred dose of *T. annulata* sporozoites and simultaneous treatment with tetracyclines [9]. However, these vaccination regimens induced a poor protection against the local virulent isolates and considered relatively expensive and pose a risk to the recipient such as transmission of other blood-borne pathogens [10] and may precipitate clinical cases due to the incorrect administration of parasites or drug.

Theileria annulata infects mononuclear lineages and these infected cells are aggressively invasive giving the virulence trait of tropical theileriosis. The capability of inoculated macroschizonts to invade and establish themselves in mononuclear lineages formed the basis for the cell line vaccines. Furthermore, the successful cultivation of *T. annulata* schizonts *in vitro* by [11] led to the development of a culture-derived vaccine against tropical theileriosis [12]. Attenuation of virulence of schizont-infected cell line cultures via long term *in vitro* passage has been associated with a reduction in the number of genotypes contained within the cell line [8, 13]. Complete attenuation is achieved when the cultured schizonts no longer cause parasitaemia or clinical and parasitological symptoms in inoculated cattle [14]. The use of attenuated live-cell line vaccines remains as the most effective control option against tropical theileriosis [15, 16] and these vaccines have been successfully developed in several endemic countries for controlling disease. Immunisation of cattle with the attenuated live cell line vaccines intended to be safe for exotic highly selected dairy cattle breeds and they can induce solid immunity against homologous challenge and partial cross-protection against heterologous challenge [9, 13, 17]. These attenuated cell



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

lines are efficiently reducing disease incidence under field conditions, as recorded in Tunisia and Turkey [18-20]. Although being capable to protect cattle against disease, these vaccines are not able to eliminate nor to prevent the infection since breakthrough piroplasms are still abundantly produced in challenged vaccinated calves. Thus, the induced partial protection has the potential to positively select genotypes that are non-protected against, thereby altering the genetic composition of the parasite population under heavy experimental heterologous challenges [21] and field conditions [22]. This has been supported by the observed clinical theileriosis in vaccinated cattle during the disease season in Turkey [19] and increasing number of 'breakthrough' cases in vaccinated animals under field conditions (unpublished observation). Recently published data indicated the presence of an effect of the vaccine genotype on the genetic diversity of the *T. annulata* populations [22]. Together with the existence of a high level of genotypic diversity in *T. annulata* field populations with large numbers of distinct parasite genotypes detected within limited geographical areas [23-26] and presence of infection with more genotypes in the cell line vaccinated cattle than unvaccinated [27], it is clear that these vaccines are less efficient under endemic contexts characterised by high pressure of infection. The long-term effectiveness of cell line vaccines in endemic regions and the influence of vaccination on field parasite populations needs to be frequently investigated. Besides the above-mentioned risks vaccination using live attenuated *T. annulata* cell lines still remains as the most effective control options against tropical. Despite the success of attenuated culture vaccines and its extensive usage to protect cattle against disease, there is still a need for development of an effective sub-unit vaccine that could remove some of the inherent problems of the live vaccines. Based on this, research on the identification of *T. annulata* protective antigens that could be used for the development of recombinant vaccines has been undertaken over the last three decades. So far, three recombinant antigens have been used for experimental vaccination against tropical theileriosis, namely SPAG-1, Tams-1 [21, 28] and more recently TaSP (Hussein et al. unpublished data). The use of SPAG-1 as a vaccine induced humoral response that is able to neutralize *T. annulata* sporozoites and limiting the severity of infection. Vaccination with Tams-1 and SPAG-1 resulted in a partial protection against homologous [29, 30] and/or heterologous challenges, respectively [21, 30]. The results of immunization utilizing a cocktail of SPAG-1 and Tams-1 antigens indicated that vaccination with these two parasite surface antigens, lead to a synergistic protective response that significantly improves the effectiveness of vaccination against bovine tropical theileriosis [31]. However, vaccination with recombinant antigens have limited efficacy and so far obtained results showed that recombinant *T. annulata* surface antigens are unable to induce a good protective response against challenge compared to existing attenuated cell-line vaccines. As indicated previously, the humoral immune response alone cannot protect against *Theileria* infections, and thus both humoral and cellular immunity are required for an effective protective response [32, 33]. In recent years alternative vaccination strategies have been developed by combining live attenuated cell lines with surface antigens and this resulted in a significant synergy in terms of protection against challenge [21]. This supported the evidence that hybrid vaccines produced by combining attenuated schizont infected *T. annulata* cell lines with recombinant surface antigens may be used to accomplish a better protection induced by both cellular and humoral immune mechanisms. Besides, its ability for inducing a better protection as a part of hybrid vaccines, *T. annulata* surface antigens exhibit certain amount of sequence divergence at both nucleotide and amino acid level and this diversity was demonstrated both within alleles of the same gene and between different isolates of *T. annulata* [26, 34]. Thus, identification of the conserved and diverse regions harbouring the conserved B-cells epitopes among isolates of *T. annulata*, of the genes encoding immunogenic antigens that are under positive selection among isolates of *T. annulata* will have an undeniably important impact in terms of eliciting a broader protection against challenge with diverse and heterologous isolates as they are responsible for eliciting protective humoral immunity. This will contribute to the development of multi epitope based



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

hybrid vaccines and eventually would increase the protection rate of vaccination against tropical theileriosis in endemic countries.

Over the last decade, researchers have focused on vaccines capable of preventing onward transmission of the pathogen by the tick vector. The efficacy of targeting ticks to block disease transmission is well known and the potential for anti-tick subunit vaccines to control tick infestation and decrease acaricide use has been demonstrated [35]. A partial protection against homologous tick challenge in cattle vaccinated using the HAA86 protein of *Hyalomma anatolicum* has been demonstrated by Jeyabal et al [36]. Also, in the same study a reduced transmission of *T. annulata* to cattle has been indicated. In addition to targeting the tick midgut proteins, parasite-derived antigens capable of inducing a transmission-blocking response against *T. annulata* in transmitting vector *Hyalomma* spp. should be used as an alternative method to control tropical theileriosis. This approach was investigated for the potential of targeting *T. annulata* immunodominant merozoite surface antigen, Tams1. And this protein has been shown to be involved in blocking transmission of predominant genotypes [37]. However, the presence of a degree of antigenic diversity of this protein in *T. annulata* populations restricted its effectiveness as vaccine candidates [38-40]. This obstacle may be overcome by targeting proteins sharing invariant domains in the parasite population or conserved across isolates and function in the sexual phase of the life cycle, which is obligatory for transmission of these parasites through their arthropod hosts [41]. Recently, candidate genes having potential role in the sexual phase of the life cycle were identified [41]. However the efficacy of these transmission-blocking antigen candidates to induce an immune response in cattle still need to be tested.

Key Words: Future prospects, *Theileria annulata*, vaccine

REFERENCES

1. Dschunkowsky E, Luhs J. Die piroplasmen der rinder, zentralblatt für bacteriologie. Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene Abteilung I originale. 1904; 35:486-492.
2. Robinson PM. *Theileria annulata* and its transmission - a review. Trop Anim Health Prod 1982;14:3-12.
3. Barnett FS. Theileriosis. In: Weinmann D, Ristic M, editors. Infectious Blood Diseases of Man and Animals. New York: Academic press; 1968.p.269-328.
4. Gharbi M, Sassi L, Dorchies P, Darghouth MA. Infection of calves with *Theileria annulata* in Tunisia: Economic analysis and evaluation of the potential benefit of vaccination. Vet Parasitol 2006;137(3-4):231-241.
5. Inci A, Nalbantoglu S, Cam Y, Atasever A, Karaer Z, Cakmak A et al. Theileriosis and tick infestations in sheep and goats around Kayseri. Turk J Vet Anim Sci 2003;27(1):57-60.
6. Gharbi M, Mabrouk M, Hassni M, Zroud W, Mhadhbi M, Sassi L, et al. Impact of the carrier state by *Theileria annulata* on milk yield in Tunisian crossbred (*Bos taurus*) cattle. Asian Pac J Trop Dis 2015; 5:884-887.
7. Sergeant E, Parrot L, Lestoquard F. Etudes sur les piroplasmoses bovines. Institut Pasteur d'Algerie 1945.
8. Pipano E, Shkap V. Vaccination against tropical theileriosis. In: House JA, Kocan KM, Gibbs EPJ editors. Tropical Veterinary Diseases: Control and Prevention in the Context of the New World Order. Volume 916; 2000: 484-500.
9. Gill BS, Bhattacharyulu Y, Kaur D. Immunization against bovine tropical theileriasis (*Theileria annulata* infection). Res Vet Sci 1976;21(2):146-149.
10. Rogers RJ, Dimmock CK, de Vos AJ, Rodwell BJ. Bovine leucosis virus contamination of a vaccine produced *in vivo* against bovine babesiosis and anaplasmosis. Aust Vet J 1988;65(9):285-287.
11. Tsur I. Multiplication *in vitro* of Koch bodies of *Theileria annulata*. Nature 1945;156:391-393.
12. Tsur I, Pipano E. Attenuation of virulence of strains of *Theileria annulata* by growth and passage through tissue culture. J Protozool 1966;S 13:33-38.
13. Darghouth MA, Bouattour A, BenMiled L, Kilani M, Brown CGD. Epidemiology of tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection of cattle) in an endemic region of Tunisia: Characterisation of endemicity states. Vet Parasitol 1996;65(3-4):199-211.
14. Pipano E. Virulence and immunogenicity of cultured *Theileria annulata* schizonts. J S Afr Vet Assoc 1979;50(4):332-333.
15. Darghouth MA, Bouattour A, Kilan M. Tropical theileriosis in Tunisia: epidemiology and control. Parasitologia 1999;41 Suppl 1:33-36.
16. Seitzer U, Ahmed J. Tropical theileriosis: cytotoxic T-lymphocyte response to vaccination. Vaccine 2008;26 Suppl 6:G24-28.
17. Hashemi-Fesharki R. Control of *Theileria annulata* in Iran. Parasitol Today 1988;4(2):36-40.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

18. Darghouth MA. Review on the experience with live attenuated vaccines against tropical theileriosis in Tunisia: considerations for the present and implications for the future. *Vaccine* 2008;26 Suppl 6:G4-G10.
19. Aysul N, Karagenc T, Eren H, Aypak S, Bakirci S. Prevalence of tropical theileriosis in cattle in the Aydin region and determination of efficacy of attenuated *Theileria annulata* vaccine. *Turkiye Parazitol Derg* 2008;32(4):322-7
20. Onar E. Investigations on preparation and application of vaccine against tropical theileriosis (*Theileria annulata*) in Turkey. In: International Symposium on Mycoplasmosis and Theileriosis. Pendik Animal Diseases Central Research Institute; 1989:47-52.
21. Darghouth MA, Boulter NR, Gharbi M, Sassi L, Tait A, Hall R. Vaccination of calves with an attenuated cell line of *Theileria annulata* and the sporozoite antigen SPAG-1 produces a synergistic effect. *Vet Parasitol* 2006;142(1-2):54-62.
22. Bilgic HB, Aksulu A, Bakirci S, Unlu AH, Kose O, Hacilarlioglu S, et al. Infection dynamics of *Theileria annulata* over a disease season following cell line vaccination. *Vet Parasitol* 2019;265:63-73.
23. Al-Hamidhi S, H Tageldin M, Weir W, Al-Fahdi A, Johnson EH, Bobade P, et al. Genetic diversity and population structure of *Theileria annulata* in Oman. *Plos One* 2015;10(10):e0139581.
24. Gomes J, Salgueiro P, Inacio J, Amaro A, Pinto J, Tait A, et al. Population diversity of *Theileria annulata* in Portugal. *Infect Genet Evol* 2016;42:14-19.
25. Yin FY, Liu ZJ, Liu JL, Liu AH, Salih DA, Li YQ, et al. Population genetic analysis of *Theileria annulata* from six geographical regions in China, determined on the basis of micro and mini-satellite markers. *Front Genet* 2018;19:9:50. Doi: 10.3389/fgene.2018.00050
26. Weir W, Ben-Miled L, Karagenc T, Katzer F, Darghouth M, Shiels B, et al. Genetic exchange and sub-structuring in *Theileria annulata* populations. *Mol Biochem Parasit* 2007;154(2):170-180.
27. Weir W, Karagenc T, Gharbi M, Simuunza M, Aypak S, Aysul N, et al. Population diversity and multiplicity of infection in *Theileria annulata*. *Int J Parasitol* 2011;41(2):193-203.
28. Williamson S, Tait A, Brown D, Walker A, Beck P, Shiels B, et al. *Theileria annulata* sporozoite surface antigen expressed in *Escherichia Coli* elicits neutralizing antibody. *P Natl Acad Sci USA* 1989;86(12):4639-4643.
29. d'Oliveira C, Feenstra A, Vos H, Osterhaus AD, Shiels BR, Cornelissen AW, et al. Induction of protective immunity to *Theileria annulata* using two major merozoite surface antigens presented by different delivery systems. *Vaccine* 1997, 15(16):1796-1804.
30. Boulter N, Brown D, Wilkie G, Williamson S, Kirvar E, Knight P, et al. Evaluation of recombinant sporozoite antigen SPAG-1 as a vaccine candidate against *Theileria annulata* by the use of different delivery systems. *Trop Med Int Health* 1999;4(9):A71-77.
31. Gharbi M, Darghouth MA, Weir W, Katzer F, Boulter N, Adamson R, et al. Prime-boost immunisation against tropical theileriosis with two parasite surface antigens: evidence for protection and antigen synergy. *Vaccine* 2011;29(38):6620-6628.
32. Preston PM, Brown CGD, Spooner RL. Cell-Mediated Cyto-Toxicity in *Theileria annulata* infection of cattle with evidence for BoLa restriction. *Clin Exp Immunol* 1983;3(1):88-100.
33. Preston PM, Hall FR, Glass EJ, Campbell JDM, Darghouth MA, Ahmed JS, et al. Innate and adaptive immune responses cooperate to protect cattle against *Theileria annulata*. *Parasitol Today* 1999;15(7):268-274.
34. Bilgic HB, Karagenc T, Bakirci S, Shiels B, Tait A, Kinnaird J, et al. Identification and analysis of immunodominant antigens for ELISA-based detection of *Theileria annulata*. *Plos One* 2016;11(6):e0156645.
35. Merino O, Alberdi P, Perez de la Lastra JM, de la Fuente J. Tick vaccines and the control of tick-borne pathogens. *Front Cell Infect Microbiol*. 2013;9:3:30. Doi: 10.3389/fcimb.2013.00030
36. Jeyabal L, Kumar B, Ray D, Azahahianambi P, Ghosh S. Vaccine potential of recombinant antigens of *Theileria annulata* and *Hyalomma anatolicum anatolicum* against vector and parasite. *Vet Parasitol* 2012;188(3-4):231-238.
37. Gubbels MJ, Katzer F, Shiels BR, Jongejan F. Study of *Theileria annulata* population structure during bovine infection and following transmission to ticks. *Parasitology* 2001;123:553-561.
38. Gubbels MJ, Katzer F, Hide G, Jongejan F, Shiels BR. Generation of a mosaic pattern of diversity in the major merozoite-piroplasm surface antigen of *Theileria annulata*. *Mol Biochem Parasit* 2000;110(1):23-32.
39. Katzer F, Mckellar S, Ben Miled L, D'Oliveira C, Shiels B. Selection for antigenic diversity of Tams1, the major merozoite antigen of *Theileria annulata*. *Ann N Y Acad Sci* 1998;849:96-108.
40. Shiels BR, Doliveira C, Mckellar S, Benmiled L, Kawazu S, Hide G. Selection of diversity at putative glycosylation sites in the immunodominant merozoite piroplasm surface antigen of *Theileria* parasites. *Mol Biochem Parasit* 1995;72(1-2):149-162.
41. Lempereur L, Larcombe SD, Durrani Z, Karagenc T, Bilgic HB, Bakirci S, et al. Identification of candidate transmission-blocking antigen genes in *Theileria annulata* and related vector-borne apicomplexan parasites. *Bmc Genomics* 2017;18(1):438.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA OTURUMU 10

Entomofobi ve Delüzyonel Parazitöz

Düzenleyen	Kosta MUMCUOĞLU	
02 Ekim 2019		13:30 – 14:30
Ayşegül TAYLAN ÖZKAN	Entomofobi ve Delüzyonel Parazitöz	13:30 – 14:00
Burcu ÖZAYDIN YAKIŞTIRAN	Edebiyat Dünyasında Eklembacaklılar	14:00 – 14:30



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 10

1

02 Ekim 2019 – 13:30 - 14:30

Delüzyonel Parazitöz

Ayşegül TAYLAN ÖZKAN^{1,2}, Kosta Y. MUMCUOĞLU³

¹Hitit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, ÇORUM; ²Department of Medical Microbiology and Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Near East University, Nicosia, TRNC;

³Parasitology Unit, Department of Microbiology and Molecular Genetics, The Kuvın Center for the Study of Infectious and Tropical Diseases, Hebrew University-Hadassah Medical School, Jerusalem, ISRAEL

E-posta: aysegultaylanozkan@yahoo.com

Delüzyonel parazitöz (DP), bu hastalığa yakalananların inançlarını destekleyecek objektif hiçbir kanıt olmamasına karşın, hayvan parazitleri ile enfeste olduklarına inanmalarındır. Bir çeşit hipokondriyal psikoz olan bu hastalık genellikle monosemptomatiktir. Hastaların şikayetleri genellikle deri enfestasyonu ile ilişkindir, ancak gastrointestinal sistemin tutulumu tarif eden hastalar da bulunmaktadır. DP'liler derileri, giysileri ve çevreden topladıkları çok sayıda örneği incelenmesi amacıyla getirirler yanı sıra saptadıkları "parazit"lerle ilgili ayrıntılı açıklamalar da bulunurlar. Primer olgular monodelüzyonel bir hastalık gibi spontan ortaya çıkarken; sekonder DP tıbbi, nörolojik ya da psikiyatrik bir hastalığı takip eder. Aynı ailedeki birden fazla kişide benzer bulguların görüldüğü "Paylaşılan DP (folie a deux)" ile de oldukça sık karşılaşmaktadır. Ailedeki kurbanlar genellikle tahakküm altına alınmış çocuklar ya da aile düzenini korumaya çalışan bireylerdir. Hastaların çoğu psikiyatrik tedaviyi reddederler. Delüzyonu şiddetli olmayan olgulara herhangi bir ilaç verilmeksizin sempatik yolla danışmanlık verilerek ve güveni kazanılarak yardımcı olunabilir. Kaşıntı, ağrı ve diğer bulguları hafifletmek için ilaç tedavisi ağır olgularda ise yaşa uygun dozlarda antipsikotikler uygulanabilir. DP'nin tanı ve tedavisinde dermatologlar, psikiyatristler ve parazitologlar arasında yakın bir iş birliği gerekli olup hastaları empatiyle tedavi etmek ve yargılamadan sıkıntılarını ifade edebilecekleri bir ortam sağlamak çok önemlidir.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

YUVARLAK MASA 10

2

02 Ekim 2019 – 13:30 - 14:30

Edebiyat Dünyasında Eklembacaklılar

Burcu ÖZAYDIN YAKIŞTIRAN¹, Ayşegül TAYLAN ÖZKAN^{2,3}

Hitit Üniversitesi, ¹Fen-Edebiyat Fakültesi Türk Dili ve Edebiyatı Bölümü; ²Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, ÇORUM; ³Department of Medical Microbiology and Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Near East University, Nicosia, TRNC

E-posta: burcuozaydin@hitit.edu.tr

Edebiyat, hayatın her yönünü içinde barındırabilen bir sanat olarak çeşitli bilim dallarıyla yakın bir ilişki içindedir. Bu ilişkide akla ilk olarak tarih, sosyoloji, psikoloji gibi sosyal bilim dalları gelir. Ancak uzak gibi görünse de edebiyat ile fen ve doğa bilimleri arasında da bir ilişkiden söz etmek mümkündür. Bu çalışmada ise parazitoloji ile edebiyat arasında bir bağlantı kurulacak, çeşitli parazitlerin dünya ve Türk edebiyatında nasıl yansıma bulduğu ele alınacaktır. Bu anlamda akla ilk gelen ve temel oluşturan ilk örnek Franz Kafka'nın *Dönüşüm* adlı romanıdır. Roman kahramanı bir gün uyandığında kendini böcek olarak bulur. Romandaki böcek imajı, edebiyat dünyası içinde en meşhur sembollerden biri haline gelir. Böcek sembol olmasının yanında yarattığı hastalıklar sebebiyle sembolize edilmeden, gerçekçi bir biçimde de edebi eserler içinde yer bulur. Bu anlamda akla gelen eser ise Türk edebiyatının en önde gelen yazarlarından Yaşar Kemal'in Çukurova romanlarının en korkutucu boyutlarından bir tanesi olan sıtma hastalığını konu aldığı *Teneke* adlı romanıdır. Eserde sivrisinekler yüzünden hasta olan köylülerle halkın sağlığını hiçe sayarak para kazanmak hırsıyla tutuşan çeltik ağalarının çatışması ele alınır. Yine Yaşar Kemal'in *Hüyükteki Nar Ağacı*, Orhan Kemal'in *Eskici ve Oğulları* gibi romanlar Çukurova'da sivrisineklerin yarattığı tehlikeyi göz önüne koyan eserlerdir. Sinemamızın ünlü aktörlerinden Tarık Akan'ın hapisane anılarını kaleme aldığı *Anne Kafamda Bit Var*, Orhan Kemal'in yine hapisane hayatını anlattığı *72. Koşuş* ve işçilerin hayatını ele aldığı *Bereketli Topraklar Üstünde* romanları bit üzerinde durulan eserlerdir. Usta romancılarımızdan Peyami Safa da eserlerinde tifo, tifüs yanı sıra uyuz gibi parazitlerin sebep olduğu hastalıklardan söz eder. Diğer yandan yarattıkları tehlikelere rağmen böceklere hayran olan yazarlarımız da vardır. Türk edebiyatının büyük şairlerinden ve düzyazı ustalarından olan Ahmet Haşim "*Müthiş Bir Böcek*" adlı denemesinde uyurken kendisini ısırın tahtakurusunun cesaretine hayranlık duyar. Disiplinler arası bu çalışmamızda bu gibi örnekler üzerinden gidilerek uzak görünen edebiyat ile parazitoloji dalları arasında bir köprü kurulmaya çalışılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Edebiyat, Parazitoloji, Eklembacaklı



YUVARLAK MASA OTURUMU 11

Blastocystis: Güncel Gelişmeler ve Aydın Deneyimi

Düzenleyen	Sema ERTUĞ	
02 Ekim 2019		14:30 – 15:30
Erdoğan MALATYALI	<i>Blastocystis Tanısında Kullanılan Yöntemlerin Değerlendirilmesi ve Klinik Çalışmalar</i>	14:30 – 14:50
Hatice ERTABAKLAR	<i>Hayvanlarda Blastocystis ve Deneysel Çalışmalar</i>	14:50 – 15:10
Sema ERTUĞ	<i>Blastocystis İzolatlarının Genotiplendirilmesi ve Mikrosatellite Veri Tabanı Oluşturulması</i>	15:10 – 15:30



Blastocystis Tanısında Kullanılan Yöntemlerin Değerlendirilmesi ve Klinik Çalışmalar

Erdoğan MALATYALI

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, AYDIN

E-posta: erdogan.malatyalı@adu.edu.tr

TAM METİN

ÖZET

Blastocystis intestinal yerleşimli anaerobik bir protozoon olup bir milyar insanın enfekte olduğu tahmin edilmektedir. *Blastocystis*'in patojenitesi ve genetik çeşitliliği tartışmalı konuların başında gelmektedir. Son yıllarda artan metagenomik ve intestinal mikrobiyota çalışmaları bu tartışmaları farklı bir boyuta taşımıştır. *Blastocystis* enfeksiyonu olan kişilerin çoğunun klinik belirtiler göstermediği hatta *Blastocystis*' in sağlıklı bağırsak mikrobiyotasının bir göstergesi olabileceği bildirilmiştir. Bununla birlikte, semptomatik vakalarda spesifik olmayan birçok gastrointestinal semptom ve ürtiker görülebilmektedir. Bazı çalışmalarda irritabl barsak sendromu (IBS) gibi bazı kronik gastrointestinal hastalıklarla *Blastocystis* ilişkilendirilmiştir. Son araştırmalarda *Blastocystis* patojenitesi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişen karmaşık bir fenomen olarak tanımlanmaktadır. *Blastocystis* tedavisi için ön koşulun *Blastocystis* dışında başka bir patojen olmaması ve vakaların semptomatik olmasıdır.

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalında uzun süredir *Blastocystis* konusunda çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalardan insan dışı örnekleri kullanılarak yapılanlar burada özetlenmeye çalışılmıştır. *Blastocystis* ile ülseratif kolit, obezite, kanser gibi klinik çalışmalara ek olarak genetik çeşitliliğe ilişkin çalışmalar anabilim dalımızda gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Blastocystis*, tanı, klinik

The Evaluation of The Techniques Using in the Diagnosis of *Blastocystis* and Clinical Studies

SUMMARY

Blastocystis is an intestinal anaerobic protozoan and one billion people are estimated to be infected. Pathogenicity and genetic diversity of *Blastocystis* are amongst the most controversial issues. In recent years, metagenomic and intestinal microbiota studies have carried these discussions to a different dimension. It has been reported that the majority of people with *Blastocystis* infection do not represent clinical symptoms, and even *Blastocystis* may be an indicator of healthy intestinal microbiota. However, many non-specific gastrointestinal symptoms and urticaria can be seen in symptomatic cases. In some studies *Blastocystis* has been associated with some chronic gastrointestinal diseases such as irritable bowel syndrome (IBS). In recent research, *Blastocystis* pathogenicity has been described as a complex phenomenon that varies with various factors. The prerequisite for the treatment of *Blastocystis* is that there is no other pathogen other than *Blastocystis* and the cases should be symptomatic.

Aydın Adnan Menderes University Faculty of Medicine Department of Parasitology has carried out many studies about *Blastocystis* for a long time. In this review, we tried to summarize the studies with human fecal samples. In addition to clinical studies such as ulcerative colitis, obesity and cancer with *Blastocystis*, studies on genetic diversity were performed in our department.

Key Words: *Blastocystis*, diagnosis, clinical importance



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Blastocystis dünya genelinde en yaygın görülen intestinal protozoonların başında gelmektedir, öyle ki yaklaşık 1 milyar insanın *Blastocystis* ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir. Türkiye’de farklı çalışma gruplarında *Blastocystis* görülme sıklığı %1,4 ile %23,5 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir (1,2). Yüksek derecede polimorfik bir genoma sahip olan *Blastocystis*’in 17-23 alt tipinin bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca günümüze kadar bu alt tiplerden dokuz tanesi insanlardan izole edilmiştir (3,4). *Blastocystis* alt tiplerinin belirlenmesinde genelde tercih edilen yaklaşım 18S rRNA geninin tam veya kısmi amplifikasyonu ve sekanslanması temeline dayanan “DNA barcoding” yöntemidir (5). Oldukça korunmuş olan bu bölge için tasarlanan primer çiftleri ile daha kısa polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ürünü elde ederek sekanslama işleminin maliyeti ve süresi azaltılmaktadır (6). *Blastocystis*’in rutin laboratuvar tanısı karmaşık bir işlem olarak görülmekte olup genelde mikroskopi ve kültür yöntemleri esas alınarak yapılmaktadır (7). Bununla birlikte kist formları küçük nedeniyle gözden kaçabilmekte, insan dışkıında *Blastocystis*’ e benzer canlı veya cansız bileşenlerin yer alması tanıyı zorlaştırmaktadır (8). Kültür yöntemi tercih edildiğinde ise bazı *Blastocystis* izolatlarının kültürde yavaş çoğalması veya hiç çoğalmaması göz önüne alınmalıdır (9). *Blastocystis*’in laboratuvar tanısında son yıllarda öncelikle PZR olmak üzere moleküler yöntemler daha sık kullanılmaya başlanmıştır. Bu sayede hem geleneksel tanı yöntemlerinin etkinliği daha iyi değerlendirilebilmekte hem de *Blastocystis*’in moleküler epidemiyolojisi dahi iyi anlaşılabilir (10).

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalında yaptığımız çalışmalardan birinde ülseratif kolitli hastalarda *Blastocystis* sıklığı ve alt tipleri (ST) belirlenmiştir (11). Buna ek olarak, *Blastocystis* pozitif ve negatif olgular arasındaki bazı laboratuvar bulgularının analiz edilmiştir. Bu araştırma kapsamında 150 ülseratif kolitli hastadan alınan dışkı örnekleri direkt mikroskopi ile incelendi ve Jones besiyerinde çoğaltıldı. *Blastocystis* pozitif kültürlerden DNA izolasyonu yapıldı ve alt tipler barkod bölgesine göre tanımlandı. C reaktif protein (CRP), lökosit sayıları (WBC), nötrofil sayıları ve sedimentasyon oranları üzerine retrospektif bir analiz yapıldı. *Blastocystis* pozitifliği %8 (12 hasta) ve en sık alt tip ST3 (sekiz izolat %66,7) saptandı. *Blastocystis* ile enfekte olan ve olmayan ülseratif kolit hastaları arasındaki laboratuvar bulguları istatistiksel olarak farklı bulunmadı. *Blastocystis* sıklığı aktif evrede %3,8 iken remisyon evresinde %11,8 olarak bulunmuştur. Bu çalışma, aktif evredeki ülseratif kolit hastalarında *Blastocystis* enfeksiyonunun düşük kolonizasyonunu ortaya koymasında önemli görülmüştür.

Kanser hastalarında *Blastocystis*’in sıklığını ve genetik çeşitliliğini araştırdığımız bir diğer çalışmada dışkı örnekleri hem mikroskopi hem de kültür yöntemleriyle incelendi. Kültür pozitif örnekleri, DNA izolasyonu ve Site Tagged Site (STS) - PCR yapıldı. *Blastocystis* enfeksiyonunun olası etiyolojik faktörleri ve klinik özellikleri de analiz edildi ve *Blastocystis* ile enfekte olmuş ve enfekte olmayan alt gruplar arasında karşılaştırıldı. *Blastocystis* mikroskopi ile 232 dışkı örneğinden 15’inde (%6,5), kültür yöntemleriyle 25’inde (%10,8) saptandı. 25 kültür pozitif izolatından en yaygın alt tür ST3 (%59), ardından ST1 (%23) ve ST2 (%18) olarak saptandı. *Blastocystis* sıklığı erkek hastalarda kadınlardan daha yüksek ve kentsel alanlarda yaşayanlarda kırsaldan daha fazla bulundu. *Blastocystis* akciğer kanseri olan hastalarda diğer kanser türlerine göre daha sık ve ayrıca en az sekiz kemoterapi döngüsü almış olanlarda daha yüksek bulundu. Gastrointestinal semptomlar, enfekte olmuş ve olmamış hastalar arasında anlamlı bir farklılık göstermedi (12).

Blastocystis genotiplerinin Multilocus Sequence Typing (MLST) yöntemiyle araştırdığımız çalışmada toplam 11 izolat, alt tip 3 MLST primerleri ile amplifiye edildi ve bütün lokuslar için sekanslandı; bununla birlikte izolatların hiçbirisi 4ML alt tip primerleri ile amplifikasyon görülmedi. Yeni allel ve sekans tipleri belirlendi. Bu Türkiye’den ilk *Blastocystis* MLST çalışması olup *Blastocystis*’in yüksek genetik çeşitliliği doğrulanmıştır (13).

Aydın’da *Blastocystis* alt tiplerinin araştırıldığı 2015 yılındaki çalışmamızda *Blastocystis* alt tipleri ST-spesifik primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile tespit edildi ve hastaların semptomları retrospektif olarak değerlendirildi (14). Toplam 61 izolatın 44’ü (%72,1) PCR ile alt



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

tiplendirildi ancak 17'si (%27,9) belirlenemedi. *Blastocystis* alt tiplerinin dağılımı: 17'de ST3 (%38,6), 13'te ST2 (%29,5), 9'da ST1 (%20,5), 4'te ST1 + ST3 (%9,1) ve birinde (%2,3) ST1 + ST2. *Blastocystis* ile enfekte kişilerde en sık görülen semptomlar: karın ağrısı (n = 24, %39,4), prurit (n = 22, %36,1), diyare (n = 4, %6,6) ve kabızlık (n = 2, %3,3) olarak saptandı.

Muğla ilinden çocuklardan toplanan dışkı örneklerde *Blastocystis* araştırılan çalışmamızda 468 dışkı örneği direkt mikroskopi ile incelenmiş ve Jones besiyerine ekilmiştir. *Blastocystis* pozitifliği, ksenik in vitro kültür (XIVC) ile %7,4 (n=35) olarak saptanmıştır. Alt tipler, 33 (%94,2) izolat için tanımlanabildi; 12 (%34,2) ST3, 11 (%31,4) ST1, 9 (%25,7) ST2, bir (%2,8) ST7. *Blastocystis* ile enfekte olmuş ve enfekte olmamış vakalar arasında gastrointestinal semptomlar açısından ilişki bulunamadı. Ek olarak, olası risk faktörlerinden hiçbiri *Blastocystis* enfeksiyonu ile ilişkili saptanmadı (15).

Bir diğer çalışmada direkt mikroskopik (DM) inceleme sonucunda *Blastocystis* saptanan ve saptanmayan 100'er dışkı örneklerinden hem direkt DNA izolasyonu yapılmış hem de Jones besiyerine ekim yapılmıştır. Toplam 95 *Blastocystis* izolatının alt tip dağılımı: ST3 (n=50, %52,6), ST2 (n=21, %22,1), ST1 (n=17, %17,9), ST7 (n=4, %4,2), ST2+ST3 (n=2, %2,1) ve ST1+ST3 (n=1, %1,1) şeklinde saptanmıştır. *Blastocystis* pozitif ve negatif olgular demografik özellikler ve semptomlar yönünden karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (16). Bu çalışmada yöntemler de ayrıca değerlendirilmiştir.

Blastocystis ve obezite arasındaki ilişkinin araştırıldığı projemiz devam etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Hamamcı B, Çetinkaya Ü, Delice S, Erçal BD, Gücüyetmez S, Yazar S. Investigation of intestinal parasites among primary school students in Kayseri-Hacilar. Türkiye Parazit Derg 2011; 35(2), 96.
2. Tüzemen NÜ, Doğan N. Entamoeba histolytica'nın tanısında direkt mikroskopi, kültür, ELISA ve moleküler yöntemlerin karşılaştırılması. Mikrobiyol Bul 2014; 48(1), 114-22.
3. Wawrzyniak I, Poirier P, Viscogliosi E, Dionigia M, Texier C, Delbac F, Alaoui HE. *Blastocystis*, an unrecognized parasite: an overview of pathogenesis and diagnosis. Therap Adv Inf Dis 2013; 1(5), 167-178.
4. Maloney JG, Lombard JE, Urie NJ, Shivley CB, Santin M. Zoonotic and genetically diverse subtypes of *Blastocystis* in US pre-weaned dairy heifer calves. Parasitol Res 2019; 118(2), 575-582.
5. Stensvold CR, Arendrup MC, Jespersgaard C, Mølbak K, Nielsen HV. Detecting *Blastocystis* using parasitologic and DNA-based methods: a comparative study. Diagn Microbiol Inf Dis 2007; 59(3), 303-307.
6. Forsell J, Granlund M, Stensvold CR, Clark GC, Evengård B. Subtype analysis of *Blastocystis* isolates in Swedish patients. Eur J Clin Microbiol Inf Dis 2012; 31(7), 1689-1696.
7. Santos HJ, Rivera WL. Comparison of direct fecal smear microscopy, culture, and polymerase chain reaction for the detection of *Blastocystis* sp. in human stool samples. Asian Pac J Trop Med 2013; 6(10), 780-784.
8. Tan KSW. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. Clin Microbiol Rev 2008; 21.4: 639-665.
9. Lepczyńska M, Dzika E. The influence of probiotic bacteria and human gut microorganisms causing opportunistic infections on *Blastocystis* ST3. Gut pathogens 2019; 11(1), 6.
10. Srichaipon N, Nuchprayoon S, Charuchaibovorn S, Sukkapan P, Sanprasert V. A Simple Genotyping Method for Rapid Differentiation of *Blastocystis* Subtypes and Subtype Distribution of *Blastocystis* spp. in Thailand. Pathogens 2019; 8(1), 38.
11. Coskun A, Malatyali E, Ertabaklar H, Yasar MB, Karaoglu AO, Ertug S. *Blastocystis* in ulcerative colitis patients: Genetic diversity and analysis of laboratory findings. Asian Pac J Trop Med 2016; 9(9), 916-919.
12. Yersal O, Malatyali E, Ertabaklar H, Oktay E, Barutca S, Ertug, S. *Blastocystis* subtypes in cancer patients: analysis of possible risk factors and clinical characteristics. Parasitol Int 2016; 65(6), 792-796.
13. Ertug S, Malatyali E, Ertabaklar H, Bozdoğan B. Multilocus sequence typing of *Blastocystis* isolates in Aydın, Turkey. Parasitol Int 2016; 65(6), 760-762.
14. Ertuğ S, Malatyali E, Ertabaklar H, Özlem SÇ, Bozdoğan B. Subtype distribution of *Blastocystis* isolates and evaluation of clinical symptoms detected in Aydın province, Turkey. Mikrobiyol Bul 2015; 49(1), 98-104.
15. Sankur F, Ayturan S, Malatyali E, Ertabaklar H, Ertug S. The Distribution of *Blastocystis* Subtypes among School-aged Children in Muğla, Turkey. Iranian J Parasitol 2017; 12(4), 580.
16. Malatyali E, Ertabaklar H, Ertuğ S. Subtype Distribution of *Blastocystis* spp. with DNA Barcoding and Evaluation of Diagnostic Methods. Mikrobiyol Bul 2019; 53(3), 308-318.



Hayvanlarda *Blastocystis* ve Deneysel Çalışmalar

Hatice ERTABAKLAR

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, AYDIN

E-posta: hatice@adu.edu.tr

TAM METİN

ÖZET

Blastocystis insanlarda ve çok sayıda hayvan türünde yaygın görülen bir intestinal protozoon olup küresel bir dağılım göstermektedir. *Blastocystis* izolatları oldukça yüksek genetik çeşitlilik göstermektedir. Bugüne kadar memeli ve kanatalı konaklardan izole edilmiş 26 farklı alt tip olarak adlandırılan genotip tanımlanmıştır. Hem insanda hem de hayvanlarda aynı alt tiplerin saptanması ve deneysel çalışmalar *Blastocystis* 'in zoonotik karakterli bir protozoon olduğunu ortaya koymuştur. Hayvanlarda yapılan deneysel ve epidemiyolojik araştırmalar hem *Blastocystis* genetik çeşitliliği hem de patogenez konusunda oldukça önem taşımaktadır. Başta patogenez olmak üzere ve parazit-konak ilişkisi konulu çalışmalar için uygun hayvan modellerinin geliştirilmesine yönelik araştırmalar devam etmektedir. Hayvanlarda *Blastocystis* alt tiplerin araştırıldığı çok sayıda çalışma literatürde yer almaktadır. Bu çalışmalarda konak özgülüğü ile parazit alt tipi arasında kısmen bazı bağlantılar kurulmuş olmakla birlikte bu alanda yeni çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı olarak hayvanlarda *Blastocystis* ve deneysel çalışmalar: obezite-*Blastocystis* ilişkisi sıçan modelinde, sığırlarda ve kanatlılarda *Blastocystis* genetik çeşitliliği olarak sıralanabilir. Bu derlemede hem anabilim dalmız tecrübeleri hem de güncel literatür ışığında hayvanlardaki *Blastocystis* çalışmaları ele alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Blastocystis*, hayvanlar, *in vivo* modeller

***Blastocystis* in Animals and Experimental Studies**

SUMMARY

Blastocystis is a common intestinal protozoan found in humans and many animal species; it has a global distribution. *Blastocystis* isolates exhibit a high genetic diversity. To date, 26 different genotypes have been identified from mammalian and avian hosts. Detection of the same subtypes in both humans and animals and experimental studies showed that *Blastocystis* was a zoonotic protozoon. Experimental and epidemiological studies in animals are of great importance both for *Blastocystis* genetic diversity and pathogenesis. Researches continuous to develop suitable animal models for the studies on pathogenesis and parasite-host relationship. A number of studies have investigated *Blastocystis* subtypes in animals such as wild or captures ones. Although some correlations have been established between host specificity and parasite subtype in these studies, novel studies and approaches are required in this area. We performed some studies about *Blastocystis* and animals in the Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Aydın Adnan Menderes University: the relationship between obesity and *Blastocystis*, genetic diversity in cattle and avian hosts. In this review, both our experiences and *Blastocystis* studies in animals are discussed in the light of current literature.

Key Words: *Blastocystis*, animals, *in vivo* models



GİRİŞ

Blastocystis anaerobik intestinal yerleşim gösteren bir protist olup hem insanları hem de hayvanları enfekte etmektedir. Halen bir milyondan fazla insanı etkilemekle birlikte kliniği tartışmalı olup patofizyolojisi ise tam olarak anlaşılamamıştır. İnsanda enfeksiyon yaptığı bilinen tek stramenopiles ailesine mensup heterotropik ve fotosentetik bir protozodur. Parazitin dışkı ve kültürde vakuoler, granüler, emeboid ve kist olmak üzere dört farklı morfolojik formu tanımlanmıştır. Enfeksiyonun kist şekli ile bulaştığı düşünülmüş ve deneysel çalışmalar ile de desteklenmiştir (1).

Blastocystis endüstriyel toplumlarda daha az saptanmakla birlikte son yıllarda bu ülkelerde de artış eğiliminde olduğu dikkate çekmektedir. Parazitin bulaş yolu dikkate alındığında fekal-oral bulaştığı için gelişmekte olan ülkelerde daha fazla görülmesinin düşük hijyen koşullarına, hayvanlarla temasın fazla olmasına, kontamine gıda ve suların tüketimine bağlı olabileceği belirtilmektedir (2). Son yıllarda saptanan artış eğilimi ve zoonotik potansiyeli bu parazitin halk sağlığını nasıl etkilediği önemli araştırma konularından biri haline gelmiştir. Bu nedenle Dünya sağlık örgütü bu paraziti içme suyunun kalitesini etkileyen parazitler listesine almıştır (3). *Blastocystis* enfeksiyonları insanlarda büyük oranda asemptomatik seyretmektedir. Ancak başta karın ağrısı ve ishal olmak üzere non-spesifik gastrointestinal semptomlar görülebilmektedir. Ayrıca, *Blastocystis* ve ürtiker arasında bir korelasyon olabileceği de birçok çalışmada ortaya konulmuştur (1,2).

İnsanlarda saptanan parazit ile hayvanlarda saptanan parazit morfolojik olarak birbirinden ayrılamamaktadır. Fakat PCR RFLP ile insanlardan ve hayvanlardan saptanan *Blastocystis* izolatlarında genetik olarak çeşitlilik saptanmıştır. Daha sonra SSU-rDNA sekanslama ile ise moleküler filogeni yapılmıştır. Elde edilen verilerle farklı subtipler tanımlanmış olup sürekli yenilenmektedir. Yakın zamana kadar 17 olarak kabul gören subtip sayısı son yıllarda yapılan çalışmalar ile önce 22 ve daha çok yeni olarak da 26 olarak bildirilmektedir. Bunlardan on tanesi ise insanda saptanmıştır (4).

Son yıllarda dünyanın pek çok bölgesinde evcil ve vahşi hayvanlarda *Blastocystis* araştırmalarının arttığı dikkate çekmektedir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde zamanla yeni yeni bilgilerin eklendiği dikkate çekmektedir.

DENEYSEL HAYVAN MODELİ ÇALIŞMALARI

Blastocystis patogenezi çalışmanın önündeki en büyük engellerden birinin Koch postülatını başaran bir hayvan modelleri eksikliği olduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte, sıçanlar, fareler, kobaylar ve tavuklar dahil farklı hayvanları içeren çeşitli deneysel enfeksiyonlar denenmiş ve hayvan modeli olarak farelerin uygun olmadığı görüşüne varılmış (1,5). Enfeksiyonda bazı farelerde kilo kaybı ve letarji saptanmakla birlikte genellikle kendi kendini sınırladığı gözlenmiştir. Ancak histolojik incelemede ise çekum ve kolonda yoğun enflamatuar hücre infiltrasyonu ve ödemli lamina propria ve mukozada şişkinlik saptandığı bildirilmiştir. Ayrıca yaşla enfeksiyona yatkınlık açısından farelerde infantların daha hassas oldukları belirtilmiştir. Özellikle 8 haftalık BALB/c farelerin ise *Blastocystis* dirençli oldukları bildirilmiştir. Fakat bu çalışmada kullanılan parazitin ST'i bildirilmemiştir (6). Daha sonra ratların daha uygun model olabileceği düşünülmüştür. Üç haftalık Wistar ratlara 10–100 *Blastocystis* kisti intraçekal veya oral olarak verilmesiyle enfeksiyon oluşturulduğu bildirilmiş (7).

Hussein ve arkadaşları (2008), semptomatik ve asemptomatik olgulardan elde ettikleri dört günlük ST1-4 *Blastocystis* izolatlarını 4 haftalık Wistar ratlara vermişler ve ilginç olarak altı hafta sonra semptomatik olgulardan elde edilen izolatların verildiği ratlarda patolojik değişiklikler saptanırken asemptomatiklerde saptanmadığı bildirilmiştir. Ayrıca semptomatik ST1'in ratlarda mortaliteyi %25 artırdığı bildirilmiştir. Bu çalışmada diğer bakteriyel ve viral ajanlar dışlanmamıştır (8).

Li ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada; *Blastocystis* 'in enfektif etkisi ve yaptığı doku hasarını saptamak amacı ile Sprague Dawley (SD) sıçanlara 2007 yılında diyareli bir olgudan izole edilerek kültürü yapılan *Blastocystis* subtype1 (ST1) kist formu farklı dozlarda (100, 1000, 10000) oral yolla vererek oluşturdukları enfeksiyonda histolojik değişiklikleri incelemişler. Farklı sayılardaki dozlarda *Blastocystis* ST1 ile



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

enfekte gruplar arasında hastalık insidansında bir fark saptanmadığı bildirilmiştir. Histolojik incelemede lamina propriyanın, vakuoler formda *Blastocystis* ST1 ile infiltre olduğu ve enflamatuvar hücre infiltrasyonu ile mukozada ödem olduğu bildirilmiştir. Enfekte olmayan grupla karşılaştırıldığında, histolojik bulguların enfekte olan gruplarda anlamlı olarak daha yüksek olduğu bununla birlikte, çeşitli dozlarda *Blastocystis* ST1 ile enfekte olan gruplar açısından ise farklılık göstermediği belirtilmiştir. Sonuç olarak, bu çalışma, SD sıçanlarının *Blastocystis* ST1 ile düşük doz kistlerle bile kolayca enfekte edilebileceğini ve enfekte olmuş sıçanların bağırsaklarındaki enfeksiyonun histopatolojik etkilerinin bireysel farklılıklar gösterdiğini belirtmişlerdir (9).

Blastocystis deneysel modellerde daha fazla araştırma gerekli olduğu bilinen bir gerçek olup buradan yola çıkan bilim çalışanları uygun model arayışına devam etmişlerdir. Araştırmacılar *Blastocystis* 'in erkek Swiss farelerinin gastrointestinal kanalındaki patojenitesini, inokulum büyüklüğü ve enfeksiyon süresine göre değerlendirmek amacıyla hayvanlara Jones besiyerinde aksenik olarak üretilen sekiz insan izolatu karışımına ait vakuoler formdaki parazitleri intragastrik olarak farklı sayıda (100, 500, 1.000, 5.000 ve 10.000) vermişler ve 7, 14, 21, 28 ve 60. gün yapılan nekropside ince bağırsak (duodenum), kalın bağırsak ve çekum bölgesi histopatolojik olarak incelenmiş ve mononükleer hücrelerin baskınlığı ile analiz edilen farklı dokularda enflamatuvar bir yanıtın tetiklendiği saptanmıştır. Parazit çekumun kas katmanında saptanmış ve istilacı karakterini gösteren bir bulgu olarak değerlendirilmiştir. Parazit sayısı fazla olanlarda, enflamatuvar sürecin daha erken (yedi gün) az olanlarda daha sonra (21 günden) daha fazla tetiklendiği bildirilmiştir. Bu önerilen modelde *Blastocystis* inoküle edilen parazit sayısı ve enfeksiyon süresi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada ilk kez farklı sayılarda verilen parazit sayısı ve farklı sürelerde değerlendirilen histopatolojik değişiklikler deneysel fare modelinde incelendiği bildirilmiştir (10).

Defaye M ve ark. (2018) deneysel şartlarda sıçanları aksenik olarak elde ettikleri ST4'ün vakuoler formları ile enfekte edemediklerini bildirmişlerdir. Bunun kültürlerinde sadece vakuoler form bulunması nedeniyle mide asiditesini geçememesine veya inokülasyon esnasında oksijene maruz kalınmasına bağlı olabileceğini düşünmüşler ve ratlarda 3.2-3.9 olan mide pH'ını yükselterek ve paraziti intraçekal vererek tekrar denediklerinde yine enfekte edemediklerini bildirmişlerdir. Bu başarısızlığın suşun uzun dönem kültürü ve aksenizasyonu esnasında diğer parazitlerde de olduğu gibi enfektivitesinin kaybına bağlı olabileceğini düşünmüşler (11). Fakat, insan dışkısından izole ettikleri ST3 ve ST4 kistleri ile dört haftalık sıçanları oral yoldan enfekte ederek kronik enfeksiyon oluşturduklarını bildirmişlerdir. Sıçanlarda enfeksiyon oluşturabilmek için gereken parazit sayısı ST3 alt tipinde ST4'e göre daha yüksek bulunmuş ve ST4' ün ratlarda daha bulaşıcı olduğu daha önce belirtildiği şekilde doğrulayıcı bir sonuç olarak yorumlanmıştır. Bu çalışma enfekte hayvanlardan sağlıklı hayvanlara yapılan mikrobiyaya transferine benzemekte ve yeni konak kolayca enfekte olmakta ve barsak florası zarar görmemektedir. Bu modelin doğal enfeksiyon modeli ile geliştirilen *Blastocystis* kronik enfeksiyon modeli olarak kullanılabilirliği belirtilmiştir. Modelin konak parazit etkileşimini incelemek için iyi bir sıçan modeli olabileceği bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada dört haftalık ratlara *Blastocystis* (ST2, ST3, ST4, ve ST7) içeren taze dışkı örneği verilmiştir. Bunlardan sadece ST 7 vakuoler formu diğerleri ise hem kistik hem de vakuoler formları içeriyormuş. Fekal Mikrobiyaya Transferini (FMT) takiben rat dışkısından ksenik kültür ile takip edilmiş. Vakuoler forma ST2, ST3 ve ST4 ile yapılan kültürlerde saptanırken ST7 de canlı parazit saptanamamış.

Ayrıca araştırmacılar insandan ratlara aynı insandan insana yapılan yöntemle *Blastocystis* ST4 içeren FMT yapmışlar (12). Dışkı örneği iki ay -80°C de bekletildikten sonra çözülmüş ve ratlara verilmiş. Tüm hayvanlar enfekte olmuş bu nedenle insandan insana FMT için kullanılan bu yöntemde *Blastocystis* 'in canlı kaldığı şeklinde yorumlanmıştır (11).

Anabilim dalımızda yaptığımız çalışmada ilk kez, sıçan hayvan modelinde obezite ve *Blastocystis* kolonizasyonu arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla 10 haftalık erkek Sprague-Dawley sıçanları, çalışma boyunca yüksek yağlı diyet (HFD) (n = 30) ve standart besleme (n = 24) ile beslenmiştir. Otuz



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

ikinci haftada *Blastocystis* varlığı SSU 18S rRNA geninin PCR'ı ile belirlenmiştir. *Blastocystis* sıklığı obez sıçanlarda %56,6 ve kontrol grubunda ise %95,8 olarak saptanmıştır. *Blastocystis* sıklığı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiş olup 18S rDNA dizilerinin filogenetik analizi, tüm *Blastocystis* izolatlarının alt tip 4 (ST4) olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada obez sıçanlarda *Blastocystis* kolonizasyonu ilk kez incelenmiş olup *Blastocystis* kolonizasyonunun sağlıklı bağırsak göstergesi olabileceği fikrini desteklediği görüşüne varılmıştır ([yayınlanmamış bilgi](#)). Ek olarak, sıçan dışkı örneklerinde bol miktarda *Blastocystis* saptanmasının araştırmacılara çalışmalar esnasında enfeksiyon bulaş riski olabileceği de dikkati çekmektedir.

HAYVANLARDA *Blastocystis*

Son yıllarda parazitin tüm dünyada artış eğiliminde olması parazitin diğer konaklardaki varlığı ve bunların insana olan muhtemel bulaş riski araştırılmaktadır. Gelişen moleküler yöntemler değişik konaklarda saptanan morfolojik olarak ayırt edilemeyen *Blastocystis* 'lerin farklı alt tiplerde olduğunu bildirilmesi ile çalışmalar hız kazanmıştır. Özellikle insanlarla yakın teması olan hayvanlar başta olmak üzere çok geniş yelpazede memeli, kuş ve sürüngenler dahil parazitin varlığı ve potansiyel etkileri araştırılmaktadır. Yapılan çalışmalarda her geçen gün yeni alt tipler tanımlanmaktadır. *Blastocystis* konak özgüllüğü çok az göstermekte olup potansiyel zoonotik bir patojen olarak kabul edilmektedir. Son olarak tanımlanan alt tipler ile saptanan ST sayısı 26'ya ulaşmıştır (4). Alt tip ST1-ST9 ve yeni olarak ST12 insanlarda saptanan alt tipler olup aynı zamanda bunlardan ST9 hariç diğerleri hayvanlarda da saptanmıştır (13, 14). Özetle, *Blastocystis* alt tipleri ve izole edildikleri konaklar: ST1-9, ST24 insanlar; ST4, ST8, ST10, ST12, ST13-15 insan dışındaki primatlar; ST1 ve ST5 domuzlar; ST6-8 kanatlılar; ST1-3, ST10 ve ST11 köpekler; ST2, ST4 ve ST17 kemirgenler; ST11 filler; ST12, ST13 ve ST16 kangurular; ST10, ST12 ve ST14 sığırlar şeklindedir (2,15).

Bu konuda yapılan en geniş çaplı araştırmalardan biri Alfellani ve ark. tarafından 2013 yılında yapılmıştır. Bu çalışmada araştırmacılar 53 çeşit hayvana (damızlık hayvanlar, tesadüfi yakalanan vahşi kemiriciler, hayvanat bahçesindeki hayvanlar, arşiv DNA vb.) ait 557 örnek incelenmişler. Bunlardan 118 (%21,2) örnek pozitif saptanmış ve sekanslanan örneklerden en büyük grubu oluşturan kemiricilerde %8,8 (6/68), tek tırnaklılarda %26 (110/416) pozitiflik saptandığı bildirilmiştir. Araştırmacılar bu verilerin prevalansı yansıtmadığı fakat pozitif saptanan örneklerdeki konaklarda *Blastocystis* varlığını ve alt tipini gösterdiğini belirtmişlerdir. Fakat parazit saptanan konakların enfekte dışkıları yemeleri ve çok miktarda alınan parazitin barsak pasajından geçiş esnasında saptanmış olabileceği de bu yöntemler ile dışlanamamaktadır. Bu çalışmada 2013 yılında yeni olarak deve ve sığırdaki ST15 ve kemirgende (gundi) ST17 bulduklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada en sık ST5 (%33) ve ST 10 (%23) saptandığı bildirilmiş olup develerin en çok çeşitli ST ile enfekte oldukları bunun da örnek sayısının fazlalığına bağlı olabileceği belirtilmiştir. Daha önce atlarda saptandığı bilinmekle birlikte bu çalışmada zebra, eşek ve atlarda pozitif saptanmamış. Pozitif konaklar arasında, *Blastocystis* 'in daha önce hiç bildirilmemiş olan, Barbary koyunlarında, ceylan, gundi, yabani koyunlarda, cüce manda ve fare geyiğinde de parazitin saptandığı bildirilmiştir (16).

Udonsom ve ark Tayland'da 2018 yılında yaptıkları çalışmada insanlardan ve hayvanlarda *Blastocystis* araştırmışlardır. Bu amaçla ülkenin iki farklı bölgesinden domuz, keçi, sığır, kedi, köpek tavuk ve insanlardan toplam 331 örnek toplamışlar. Hayvanlarda batı Tayland'da %76,1 (86/117) ve orta bölgede ise %11,88 (12/101) ve insanlarda ise sadece Batı Tayland'da %12,82 (15/117) oranında *Blastocystis* saptandığı bildirilmiş. Domuzlarda ST5 in yaygın olarak bulunurken ST10 ve ST12 sığır ve keçilerde saptanmış. Domuzlarda düşük oranda *Blastocystis* ST1 ve keçilerde ise ST 14 saptanmış. İnsanlarda ise sadece en çok ST3 olmak üzere ST1,2 ve 3 saptanmıştır. Bu çalışmada domuzların *Blastocystis* 'in doğal konağı olabileceği ve ST-5'in ise bu bölgede domuzlara adapte alt tip olabileceği bildirilmiştir (17).

Amerika'da yapılan geniş çaplı bir araştırmada ise 10 farklı eyaletten 2539 sığır örneği incelenmiştir. Çalışma sonucunda örneklerin %2,9'unda *Blastocystis* saptandığı ve bunlarda 11 farklı ST saptandığı



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

rapor edilmiştir. Ayrıca bunların yedisinin daha önce tanımlanan ST ler (ST3, ST4, ST5, ST10, ST14, ST17) iken 4 yeni (ST-23, ST 24, ST 25, ST 26) olarak bildirilmiştir. En sık olarak zoonotik subtipler ST 4 (%24,7) ve ST5(%37) olarak saptanmıştır. Zoonotik potansiyeli olan ST 3-5 'in toplamının %67 olduğu bildirilmiştir. Dolayısıyla sığırların insanlar ve diğer hayvanlar için önemli bulaştırıcı bir kaynak olabileceği belirtilmiştir. Sığırlarda 12 aya kadar olan dönemlerde prevelansın düşük olduğu yaş arttıkça insanlardakine benzer olarak prevelansın da arttığı bildirilmektedir (4).

Avustralya ve İngiltere'de ST1-8 primatlarda ve onların bakıcılarında saptanmıştır (18). Nepal'de ST2 maymunlarda ve çocuklarda saptanmış (19) Çin ve Avustralya'da ST5 domuzlarda ve bakıcılarında saptanmış (9, 20, 21).

Türkiye'de insan *Blastocystis* izolatlarının epidemiyolojisi çalışılsa da bu parazitlerin özellikle de büyükbaş hayvanlardan elde edilen epidemiyolojisi hakkında pek fazla çalışma bulunmamaktadır. Sığırlar ülkemizde de yaygın olarak beslenmekte olup dünyada yapılan diğer çalışmalara bakıldığında Amerika, Japonya, Çin, Nepal, Kolombiya, İngiltere, İran, Libya, Danimarka vb. ülkelerde sığırlarda *Blastocystis* saptanmış olup çok geniş bir ST çeşitliliği (ST 1-6,10,12,14,17,21-26) dikkati çekmektedir. Saptanan alt tiplerin bir kısmı çok yeni bildirilmiştir. Bu alt tiplerin görüldüğü üzere bir kısmı aynı zamanda insanları da enfekte etmekte olup sığırların rezervuarlık yapabileceği düşünülmektedir. Ülkemizde ise hayvanlarda saptanan ST ler ile ilgili fazla çalışma bulunmamaktadır. Bu konu güncel olup çalışmalar devam etmektedir. Tarafımızdan Aydın ve Burdur bölgesinde 13 farklı çiftlikten toplanan 80 sığır ve danaya ait dışkı örnekleri incelenmiş ve dokuz örnek (%11,2) pozitif olarak saptanmıştır. Yedi tanesinde ST14 ve diğer iki tanesinde ise ST 10 saptanmıştır. Bu alttipler daha önce insanlarda saptanmamıştır. Bu çalışma Türkiye'de sığırlarda *Blastocystis* ST bildiren ilk çalışma olup daha geniş çaplı araştırmaların yapılması gerektiği vurgulanmıştır (22).

Ayrıca yine tarafımızdan yapılan bir çalışma kapsamında tavuklardan alınan 20 tane örneğin beşinde *Blastocystis* saptanmış olup ST 7 olarak saptanmıştır (yayınlanmamış bilgi). Bu da insanları enfekte edebilen bir ST olup daha önce ülkemizde yapılan çalışmalarda insanlardan saptanmıştır. Dolayısı ile kümes hayvanlarının da insanlarla yakın teması olduğu düşünüldüğünde ülkemizde kümes hayvanlarının kaynaklık yapabileceği düşünülmüştür.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Blastocystis son yıllarda yaygın olarak çalışılan bir protozoon olup rezervuar hayvanların saptanması ve önemi konusunda birçok bilinmeyenle birlikte bu parazitin epidemiyolojisi hakkında araştırılacak daha çok şey bulunmaktadır. İnsanlardan ve diğer memelilerden ve kuşlardan izole edilen alttiplerin aynı ST olarak saptanması *Blastocystis* 'in zoonotik olabileceğini desteklemektedir (18, 19, 23). Fakat hayvanların kaynaklık yaptığı tam olarak söylemek mümkün değildir ve enfeksiyonun kimden kime geçtiği bilinmemektedir.

Blastocystis hem insanlarda hem de geniş bir çeşitlilikte hayvanlarda belirli ST 'ler saptanmasına karşın insan enfeksiyonları için memelilerin ve kuşların rezervuarlık yaptığı düşünülmektedir (7, 18, 23, 24). Ayrıca hayvanlarla yakın teması olanlarda *Blastocystis* prevelansının daha yüksek olduğu belirtilmektedir (25). Diğer yandan bazı insanda nadir görülen alt tiplerin örneğin hayvanat bahçesinde maymunlarla çalışan kişilerde görülebildiği bildirilmektedir (16, 26).

Konakların hangi ST'ler ile enfekte oldukları tam olarak bilinmemektedir bu nedenle çok geniş çaplı değişik coğrafyadaki farklı konakların incelenmesi ile gerçek tablo ortaya çıkarılabilir. Yapılan deneysel çalışmalar hız kazanmakla birlikte bazı zorlukları taşımaktadır. Çok fazla ST olması, her ST' nin aksenik olarak izolasyon güçlüğü, konakların cins ve yaşa göre parazite gösterdikleri duyarlılığın farklı olması, parazitin çok farklı morfolojik şeklinin bulunması vb. nedenlerden dolayı tam olarak enfeksiyonu yansıtan bir modelleme çalışmasında zorlanılmaktadır. Bu konudaki çalışmalar hızla devam etmektedir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KAYNAKLAR

1. Tan KS. New Insights on Classification, Identification, and Clinical Relevance of *Blastocystis* spp. Clin Microbiol Rev 2008; 21:639–65.
2. Wawrzyniak I, Poirier P, Viscogliosi E, Dionigia M, Texier C, Delbac F, Alaoui HE. *Blastocystis*, an unrecognized parasite: an overview of pathogenesis and diagnosis. Therapeutic Advances in Infectious Disease 2013, 1, 167-78.
3. WHO. Guidelines for drinking-water quality. 4th ed WHO press: Colorado; 2011.
4. Maloney JG, Lombard JE, Urie NJ, Shivley CB, Santin M. Zoonotic and genetically diverse subtypes of *Blastocystis* in US pre-weaned dairy heifer calves. Parasitol Res 2019; 118(2), 575-582.
5. Tan K, Mirza H, Teo J, Wu B, Macary P. Current views on the clinical relevance of *Blastocystis* spp. Curr Infect Dis Rep 2010; 12: 28-35.
6. Moe KT, Singh M, Howe J, Ho L, Tan S, Chen X. et al. Experimental *Blastocystis* hominis infection in laboratory mice. Parasitol Res 1997; 83: 319-25.
7. Yoshikawa H, Morimoto K, Wu Z, Singh M, Hashimoto T. Problems in speciation in the genus *Blastocystis*. Trends Parasitol 2004; 20: 251-55.
8. Hussein E, Hussein A, Eida M, Atwa M. Pathophysiological variability of different genotypes of human *Blastocystis* hominis Egyptian isolates in experimentally infected rats. Parasitol Res 2008; 102: 85-60.
9. Li J, Deng T, Li X, Cao G, Li X, Yan Y. A rat model to study *Blastocystis* subtype 1 infections. Parasitol Res. 2013; 112:3537–41.
10. Pavanelli M, Kaneshima EN, Uda CF, Colli CM, Falavigna-Guilherm AL, Gomes ML. Pathogenicity of *Blastocystis* sp. to the Gastrointestinal Tract of Mice: Relationship Between Inoculum Size and Period of Infection. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2015; 57: 467–72.
11. Defaye M, Nourrisson C, Baudu E, Warwzyniak I, Bonnin V, Bonnet M. Efficient and reproducible experimental infections of rats with *Blastocystis* spp. PLoS ONE 2018; 13: 1-15.
12. Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, Rajilić-Stojanović M, Kump P, Satokari R. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. Gut 2017; 66:569–80.
13. Ramírez JD, Sánchez A, Hernández C, Flórez C, Bernal MC, Giraldo JC, et al. Geographic distribution of human *Blastocystis* subtypes in South America. Infect Genet Evol 2016; 41:32–35.
14. Stensvold CR, Clark CG. Current status of *Blastocystis*: a personal view. Parasitol Int 2016; 65:763–71.
15. Jiménez PA, Jaimes JE, Ramírez JD. A summary of *Blastocystis* subtypes in North and South America. Parasites Vectors 2019; 12: 376.
16. Alfellani MA, Taner-Mulla D, Jacob AS, Imeede CA, Yoshikawa H, Stensvold CR, Clark, CG. Genetic diversity of *Blastocystis* in livestock and zoo animals. Protist 2013; 164(4), 497-509.
17. Udonsom R, Prasertbun R, Mahittikorn A, Mori H, Changbunjong T, Komalamisra C, Popruk S. *Blastocystis* infection and subtype distribution in humans, cattle, goats, and pigs in central and western Thailand. Infection, Genetics and Evolution 2018; 65, 107-111.
18. Parkar U, Traub RJ, Kumar S, Mungthin M, Vitaliet S, Leelayoova S. Direct characterization of *Blastocystis* from faeces by PCR and evidence of zoonotic potential. Parasitology 2007; 134:359–367.
19. Yoshikawa H, Wu Z, Pandey K, Pandey BD, Sherchand JB, Yanagi T. Molecular characterization of *Blastocystis* isolates from children and rhesus monkeys in Kathmandu, Nepal. Vet Parasitol 2009; 160:295–300.
20. Yan Y, Su S, Ye J, Lai X, Lai R, Liao H. *Blastocystis* sp. subtype 5: a possibly zoonotic genotype. Parasitol Res 2007; 101:1527–32.
21. Wang J, Gong B, Yang F, Zhang W, Zheng Y, Liu A. Subtypedistribution and genetic characterizations of *Blastocystis* in pigs, cattle, sheep and goats in northeastern China's Heilongjiang Province. Infect Genet Evol 2018; 57: 171–76.
22. Aynur ZE, Güçlü Ö, Yıldız İ, Aynur H, Ertabaklar H, Bozdoğan B. Molecular characterization of *Blastocystis* in cattle in Turkey. Parasitol Res 2019; 118:1055-59.
23. Stensvold CR, Alfellani MA, Nørskov-Lauritsen S, Prip K, Victory EL, Maddox C. Subtype distribution of *Blastocystis* isolates from synanthropic and zoo animals and identification of a new subtype. Int J Parasitol 2009; 39:473–79.
24. Fayer R, Santin M, Macarasin D. Detection of concurrent infection of dairy cattle with *Blastocystis*, *Cryptosporidium*, *Giardia*, and *Enterocytozoon* by molecular and microscopic methods. Parasitology Research 2012; 111(3), 1349-1355.
25. Salim HR, Kumar GS, Vellayan S, Mak JW, Anuar AK, Init I, Ramakrishnan K. *Blastocystis* in animal handlers. Parasitology research 1999; 85(12), 1032-1033.
26. Stensvold CR, Alfellani M, Clark CG. Levels of genetic diversity vary dramatically between *Blastocystis* subtypes. Infection, Genetics and Evolution 2012;12(2), 263-273.



Blastocystis İzolatlarının Genotiplendirilmesi ve Mikrosatellit Veri Tabanı Oluşturulması

Sema ERTUĞ

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, AYDIN

E-posta: sertug@adu.edu.tr

TAM METİN

ÖZET

Blastocystis sp., insanlarda ve diğer omurgalı/omurgasız canlılarda enfeksiyon oluşturabilen anaerobik bir stramenopil türüdür. Polimorfik bir genoma sahip olan *Blastocystis* sp.'in genetik çeşitliliği farklı moleküler yöntemlerle araştırılmakta olup çok sayıda alt tipi (ST) tanımlanmıştır. Mikrosatellit belirteçler, ökaryot genomunda yer alan polimorfik tekrar dizileri olup popülasyon genetiği ve genotiplendirme çalışmalarında tercih edilmektedir. Bu çalışmada ilk kez *Blastocystis* sp. genetik çeşitliliğinin mikrosatellite yöntemi kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

Parazitoloji rutin laboratuvarından toplanan direkt mikroskopisi pozitif 62 örnek Jones besiyerine ekilmiş ve 50'sinde (%80,6) üreme gözlenmiştir. Besiyerinde üreme gözlenen izolatlardan genomik DNA izolasyonu yapılmış olup *Blastocystis* sp. STleri barkotlama yöntemi ile belirlenmiştir. İzolatların ST dağılımı: ST3 21 (%42) izolat, ST2 12 (%24) izolat ve ST1 10 (%20) izolat ve ST7 toplam 7 (%14) izolat şeklinde saptanmıştır. Öncelikle *Blastocystis* sp. genomundaki mikrosatellitler Glenn ve Schable (2005) yöntemiyle araştırılmıştır. Özgün mikrosatellitlerin eldesi aşamasında bakteri DNA'larının da ortamda bulunmasından kaynaklanan sorunlar nedeniyle bu yöntem ile başarılı olunmamıştır. İkinci yöntem olarak *Blastocystis* sp. ST7 ve ST3'ün tüm genom sekansında mikrosatellitler belirlenmiştir. *Blastocystis* sp. ST7 tüm genom sekansında mikrosatellit bölgeleri belirlenmiş olup 12 izolatta 11 farklı mikrosatellit tipi tanımlanmıştır. *Blastocystis* sp. ST7'de mikrosatellitleri belirlemek için tasarlanan primerlerin diğer yaygın STler (ST1, ST2, ST3) ile reaksiyon vermediği saptanmıştır. Aynı şekilde *Blastocystis* sp. ST3'ün genomu da taranmış ve 18 izolatın her birinin farklı mikrosatellit tipinde olduğu belirlenmiştir. Her iki alt tip (ST7 ve ST3) sekiz farklı mikrosatellit lokusu kullanılarak genotiplendirilmiştir. Elde edilen bulgular diğer bilim insanlarının ortak kullanımına bir web sayfası (<http://mttype.adu.edu.tr>) aracılığıyla sunulmuştur.

Bu çalışma ile *Blastocystis* sp. izolatları mikrosatellit yöntemiyle ilk kez genotiplendirilmiş olup bir internet sitesi aracılığıyla araştırmacıların açık erişimine sunulmuştur. Alt tipler içinde genetik varyasyonun yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca elde edilen bulgular ST3 ve ST7 genomlarının birbirinden oldukça farklı olduğu fikrini desteklemektedir. Çalışmamız *Blastocystis* sp. popülasyon yapısının ve genetik çeşitliliğinin daha iyi anlaşılmasına fayda sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Blastocystis* sp., mikrosatellit, genotiplendirme, mikrosatellit tiplendirmesi (MT)



Genotyping of *Blastocystis* Isolates and Creating Microsatellite Database

SUMMARY

Blastocystis sp. is an anaerobic stramenopile species that can cause infection in humans and many other vertebrates/invertebrates. The genetic diversity of *Blastocystis sp.*, a highly polymorphic genome, has been studied with a variety of molecular methods and many subtypes (ST) have been identified. Microsatellite markers are polymorphic repeat sequences in the eukaryotic genome and are highly preferred in population genetics and genotyping studies. The aim of this study was to determine the genetic diversity of *Blastocystis sp.* using microsatellite method.

Direct microscopy of 62 samples from the parasitology routine laboratory were inoculated into Jones medium and growth was observed in 50 (80.6%) of them. Genomic DNA was extracted from the culture positive isolates and *Blastocystis sp.* subtypes were determined with barcoding method. Subtype distribution of the isolates: ST3 21 (42%) isolates, ST2 12 (24%) isolates and ST1 10 (20%) isolates and ST7 seven (14%) isolates. First, Glenn and Schable (2005) method investigated microsatellites in *Blastocystis sp.* genome. This method gave unsuccessful results due to problems from the presence of bacterial DNA in the microsatellite stage. In the second method, *Blastocystis sp.* microsatellites were determined in the whole genome sequence of *Blastocystis sp.* ST7 and ST3. *Blastocystis sp.* microsatellite regions in ST7 whole genome sequence were determined and 11 different microsatellite types were identified in 12 isolates. The designed primers for ST7 microsatellites were not react with other common subtypes (ST1, ST2, and ST3). Similarly, *Blastocystis sp.* ST3 genome screened and each of the 18 isolates was carried different microsatellite type. Both subtypes (ST7 and ST3) were genotyped using eight different microsatellite loci. The findings are presented via a web page (<http://mttype.adu.edu.tr>) for the public use of other scientists.

In this study, *Blastocystis sp.* isolates were genotyped for the first time by microsatellite method and presented to the use of researchers through a web site. The genetic variation was high between the subtypes. In addition, the findings suggest that *Blastocystis sp.* ST3 and ST7 genomes are very different from each other. Our study will help to a better understanding of *Blastocystis sp.* population structure and genetic diversity.

Key Words: *Blastocystis sp.*, microsatellite, genotyping, microsatellite typing (MT)

GİRİŞ

Blastocystis sp. gastrointestinal yerleşimli anaerobik bir protozoon olup insan, sürüngen, çiftlik hayvanları, kuş, amfibi, balık, kemirgen ve hamamböceği gibi birçok canlıda görülebilmektedir (1). Stramenopile filumunda yer alan *Blastocystis sp.* kozmopolit bir yayılım göstermekte olup rutin dışkı incelemelerinde en sık karşılaşılan protozoonlardan biri olarak bildirilmiştir (2). *Blastocystis sp.* görülme sıklığı ülkemiz genelinde %1,4 ile %44,3 arasında değişen oranlarda bildirilmiş olup Aydın'da %2,3 ve %15,5 olarak rapor edilmiştir (3-7).

Satellit DNA'lar 1968 yılında yapılan çalışmalarla ortaya çıkarılmış, 80'li yılların sonlarından itibaren çalışmalarda genetik belirleyici (marker) olarak kullanılmaktadır. Satellit DNA'lar sıralı tekrar eden nükleotid dizilimlerinden meydana gelmektedir. Minisatellit ve mikrosatellit olarak ikiye ayrılırlar. Minisatellitlerin oluşturduğu tekrar dizilimleri genellikle 9-64 bp'lik DNA dizilerinden oluşmaktadır. Mikrosatellitler 2-5 nükleotidden oluşan ve 2 ila 40 kez tekrarlanan DNA dizileridir. Mikrosatellitlerdeki bu tekrarlar iki, üç, dört veya beş nükleotidden oluşan ve polimorfik özellik gösteren kısa DNA dizilerinin değişken sayıda ardı ardına tekrarlanmasından oluşurlar. Bu tekrarlar (GT)_n, (ACC)_n veya (TAGA)_n şeklinde gösterilmekte ve n ardışık tekrar sayısını göstermektedir. Omurgalılarda mikrosatellitlerin büyük çoğunluğu (%30-%67) dinükleotid tarzında bulunur.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Mikrosatellitler gerekli olan genetik çeşitliliğin kaynağını sağlarlar. Küçük coğrafik bölgeler içinde bile birey ve populasyonlar arasında farklılaşma göstermektedir. Mikrosatellitler hem anneden hem babadan kalıtılırlar, böylece heterozigotlarda bir lokustaki her iki allel de tespit edilir. Mikrosatellitler bireyler arasında büyük varyasyonlar göstermesinden dolayı genetiğin birçok alanında moleküler marker olarak kullanılmaktadır. Bugüne kadar mikrosatellit varyasyon çalışmaları, mikrosatellitleri içeren DNA dizisinin uzunluğu ve bu dizi içerisindeki mikrosatellitlerin sayısının belirlenmesi üzerine yapılmaktadır. Mikrosatellit tekrarların bulunduğu genom bölgelerindeki genetik varyasyonlar genellikle DNA kayması sonucunda meydana gelir. Mikrosatellit lokuslardaki mutasyonlar, replikasyon sırasında tekrar bölgesindeki yanlış bir eşleşmeden veya bu yanlış eşleşmenin tamiri sonucunda lokusun kısalması veya uzaması şeklinde meydana gelir. Omurgalılarda genellikle (CA)_n gibi ikili tekrarlar görülmekte, en yaygın değişim ise yalnızca tek bir tekrar ünitesinin kaybı veya fazladan oluşması ile oluşmaktadır. Mikrosatellitler her jenerasyondaki her gamet için ortalama olarak 10⁻² ve 10⁻⁵ arasında mutasyon oranına sahiptir (8).

Mikrosatellitler, yüksek çeşitlilik içermelerinden dolayı birden fazla etkenle oluşan hastalıklarda etkenin doğrulukla belirlenmesine olanak sağlamaktadır. Mikrosatellit markerlar günümüzde ökaryotik parazitlerin populasyon yapılarının belirlenmesinde büyük katkı sağlamıştır. Nüfus hareketliliği açısından oldukça zengin olan ülkemizde bu yöntemin *Blastocystis sp.*'e de uygulanması ile bu etkenin genetik çeşitliliği daha iyi anlaşılacaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Parazitoloji rutin laboratuvarından toplanan direkt mikroskopi pozitif 62 örnek Jones besiyerine ekilmiştir. Besiyerinde üreme gözlenen izolatlardan genomik DNA izolasyonu yapılmış olup *Blastocystis sp.* STleri barkotlama yöntemi ile belirlenmiştir. Öncelikle *Blastocystis sp.* genomundaki mikrosatellitler Glenn ve Schable (9) yöntemiyle araştırılmıştır. İkinci yöntem olarak *Blastocystis sp.* ST7 ve ST3'ün tüm genom sekansında mikrosatellitler belirlenmiştir. Elde edilen bulgular diğer bilim insanlarının ortak kullanımına bir web sayfası (<http://mtype.adu.edu.tr>) aracılığıyla sunulmuştur.

BULGULAR

Direkt mikroskopi pozitif Jones besiyerine ekilmiş 62 örneğin 50'sinde (%80,6) *Blastocystis* üreme gözlenmiştir. İzolatların ST dağılımı: ST3 21 (%42) izolat, ST2 12 (%24) izolat ve ST1 10 (%20) izolat ve ST7 toplam 7 (%14) izolat şeklinde saptanmıştır.

Glenn ve Schable (9) yöntemiyle araştırılan özgün mikrosatellitlerin eldesi aşamasında bakteri DNA'larının da ortamda bulunmasından kaynaklanan sorunlar nedeniyle bu yöntem ile başarılı olunmamıştır. İkinci yöntemle *Blastocystis sp.* ST7 tüm genom sekansında mikrosatellit bölgeleri belirlenmiş olup 12 izolatda 11 farklı mikrosatellit tipi tanımlanmıştır. *Blastocystis sp.* ST7'de mikrosatellitleri belirlemek için tasarlanan primerlerin diğer yaygın STler (ST1, ST2, ST3) ile reaksiyon vermediği saptanmıştır. Aynı şekilde *Blastocystis sp.* ST3'ün genomu da taranmış ve 18 izolatın her birinin farklı mikrosatellit tipinde olduğu belirlenmiştir. Her iki alt tip (ST7 ve ST3) sekiz farklı mikrosatellit lokusu kullanılarak genotiplendirilmiştir.

TARTIŞMA

Leishmania tropica (10), *Trypanosoma sp.* (11, 12), *Plasmodium sp.* (13) ve *Toxoplasma gondii* (14) gibi birçok parazit de mikrosatellitler genotiplendirme amacıyla kullanılmıştır. Ancak *Blastocystis sp.* için herhangi bir çalışma literatürde yer almamaktadır.

Kültür yöntemiyle elde ettiğimiz *Blastocystis sp.* izolatlarının STleri Genbank ve "http://pubmlst.org" veri tabanındaki 18S rRNA gen sekansları ile karşılaştırılarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre 21 (%42) örneğin ST3 STine, 12 (%24) örneğin ST2 STine, 10 (%20) örneğin ST1 STine ve 7 (%14) örneğin de ST7 alt tipi olduğu bulunmuştur.



Glenn ve Schable (9) yöntemi (I. Yöntem) ve karşılaşılan sorunlar

Bu yöntem (1. Yöntem) kullanılarak *Blastocystis* sp.'in mikrosatellit lokuslarının belirlenmeye çalışılmıştır ancak başarılı olunamamıştır. Elde ettiğimiz ampliconların BLAST analizi sonucu *Blastocystis* sp.'ye özgü olmadığı insan dışkıdaki bakteri türlerinin de çoğaltıldığı görülmüştür. *Blastocystis* sp. kültürü sırasında dışkıdan bir miktar alınıp besiyerine ekildiğinde *Blastocystis* sp. 'in yanı sıra floradaki bakterilerin büyük bir kısmı da kültüre geçmektedir. Ayrıca zorunlu anaerobik bir protist olan *Blastocystis* sp. 'in Jones besiyerinde üremesi için ortamın anaerobik olması gerekmektedir. Bu ortamı da dışkıyla gelen bakteriler sağlamaktadır. Buna ek olarak, bakteriler *Blastocystis* sp. tarafından besin kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bakteri ve *Blastocystis* sp. arasındaki simbiyotik ilişki, Glenn ve Schable (2005) tarafından ortaya konan türe özgü mikrosatellit lokuslarının belirlenmesine ilişkin uyguladığımız yöntemin özellikle biotin-streptavidin etkileşimi sonucunda özgün mikrosatellitlerin eldesi aşamasında problem oluşturmaktadır. Bu sonuca göre, kültürden DNA izolasyonu aşamasında *Blastocystis* sp. DNA'sıyla birlikte yoğun şekilde bakteri DNA'sının da zorunlu olarak elde edilmesinin sadece *Blastocystis* sp.'ye özgü mikrosatellitlerin eldesinde sorun yarattığı tespit edilmiştir. *Blastocystis* sp.'e göre çok daha yoğun bulunan bakteri DNA'larının bu yöntem kullanılarak *Blastocystis* sp.'ye nazaran çok daha fazla oranda elde edildiği belirlenmiştir. Burada bahsedilen sorunlardan dolayı çalışmanın başlangıç aşamasında mikrosatellitler saptanamamıştır. Bu nedenle mikrosatellitleri saptamaya yönelik tüm genomun taranarak mikrosatellitlerin belirlenmesi yaklaşımı değerlendirilmiştir. İlk genotiplendirilen ve kullanıcıların erişimine sunulan (<https://www.ebi.ac.uk/ena>) *Blastocystis* sp. genomu olması nedeniyle ST7 ile çalışılmıştır.

Tüm genom sekansı tarama yöntemi (II. yöntem) ile *Blastocystis* sp. ST7 mikrosatellit lokuslarının belirlenmesi

Genoscope veri tabanında *Blastocystis* sp. ST7 tüm genom sekansı incelenmiş olup genomda en az 15 tekrar içeren 78 mikrosatellit bölgesi belirlenmiştir. Bunların çoğaltılması için primerler dizayn edilmiştir. Dizayn edilen primerler ile gerçekleştirilen PCR sonucunda mikrosatellit lokuslarından 47 tanesinin reaksiyonundan pozitif sonuç alınmıştır. Ayrıca dizayn edilen primerlerin *Blastocystis* sp. ST7 dışındaki diğer STlerdeki lokusları da çoğaltıp çoğaltmadığını belirlemek amacıyla *Blastocystis* sp. 'in ülkemizde tespit edilen ST1, ST2 ve ST3 izolatlarının ikişer örneğinde de PCR gerçekleştirilmiş ve bu primerlerle amplifikasyon gözlenmemiştir. Sonuç olarak bu primerlerin *Blastocystis* sp. ST7'ye özgü olduğu ortaya konulmuştur. Mikrosatellitleri yakın türlerde de yüksek oranda reaksiyon vermesi kuvvetle muhtemel olmaktadır. PCR ile çoğaltılan lokuslar sekanslanarak hedef bölgelerin doğru çoğaltıldığı ve tekrar bölgelerini içerdiği görülmüştür. Bu sonuç alt tip genomlarının oldukça farklı olabileceğini fikrini ortaya çıkarmaktadır. Gentekaki vd., (15), *Blastocystis* sp. ST1, ST4 ve ST7 ve STler arasında genom büyüklüğü, guanin-sitozin (GC) içeriği, protein kodlayan gen sayısı, ortalama gen büyüklüğü (bp) ve intron sayısı açısından çok büyük farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur. Örnek olarak ST1'in genom büyüklüğü 16.5 Mb, ST4'ün genom büyüklüğü 12.9 Mb ve ST7'ninki 18.8 Mb olarak bildirilmiştir. STlerin GC içerik yüzdeleri aynı sıra ile %54,6, %39,6 ve %45,2 olarak bulunmuştur. Yine protein kodlayan gen sayıları sırasıyla 6544, 5713 ve 6020 olarak rapor edilmiştir. *Blastocystis* sp. ST1'de 6.544 protein-kodlayan gen bulunduğu bu sayının da ST4 ve ST7'den büyük oranda fazla olduğu rapor edilmiştir. STlere özgü protein oranları da yine büyük farklılıklar göstermektedir (%6,2 - %20,5). Farklı STler arasında kinaz ve proteaz gen aileleri dağılımının farklı olduğu ve bu durumun *Blastocystis* sp. patojenitesinde rol oynayabileceği de bildirilmiştir. Diğer parazitlerle karşılaştırıldığında *Blastocystis* sp.'in GC içeriğindeki varyasyon yüzdesi çok yüksek bulunmuştur. *Blastocystis* sp.'de bu oran %15 iken, *Giardia* ve *Leishmania* izolatlarında sadece %2 olarak rapor edilmiştir (16, 17).



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Blastocystis sp. ST7 izolat sayısı, popülasyon genetiği analizlerinde istatistiksel olarak daha güvenilir sonuçlar elde etmek amacıyla arttırılmıştır. Bu amaçla *Blastocystis* sp. ST7'nin popülasyon genetiğinin belirlenmesi aşamalarında insan dışkısından 7, tavuk dışkısından da 5 olmak üzere toplam 12 örnek kullanılmıştır. *Blastocystis* sp. ST7 için belirlenmiş 47 mikrosatellit lokusundan 10 tanesi elimizdeki bu 12 izolattın hepsinden elde edilmiştir. Buna göre fragman analizi gerçekleştirilen 10 lokusun tamamının da polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Tüm polimorfik lokuslar için en yüksek allel sayısının 7, en az allel sayısının ise 2 bulunmuştur. *Blastocystis* sp. ST7 türünün Aydın izolatlarının etkili allel sayıları ve popülasyon içi allel çeşitliliği hesaplamalarına göre; türün Aydın ili için ortalama etkili allel sayısı 3.031 (Min: 1.385, Maks: 6.000) olarak hesaplanmıştır. Ayrıca Aydın ili içerisindeki *Blastocystis* sp. 'e ait her mikrosatellit lokusunun izolatları arasında allel çeşitliliği ortalaması 0.564 olarak hesaplanmıştır (Min. 0.278; Maks. 0.833). Sonuç olarak *Blastocystis* sp. ST7 izolatları arasında yüksek oranda genetik çeşitlilik olduğu düşünülmektedir.

Tüm genom sekansı tarama yöntemi (II. yöntem) ile *Blastocystis* sp. ST3 mikrosatellit lokuslarının belirlenmesi

NCBI veri tabanında *Blastocystis* sp. ST3 izolatına ait tüm genom, 917 ayrı sekans dizisi halinde bulunmaktadır. Bu çalışmada *Blastocystis* sp. ST3'e ait daha fazla mikrosatellit lokusu üzerinde çalışabilmek için mikrosatellit tekrar sayısı kriteri en az 8 tekrar olarak belirlenmiş ve bunların çoğaltılması için 12 primer çifti dizayn edilmiştir. Bu primerlerle PCR yapıldığında ve 11'inde amplifikasyon gözlenmiştir. Bu primer setleri floresan boyalarla işaretlenmiş ampikonlar fragman analizine gönderilmiştir. *Blastocystis* sp. ST3 izolatından elde edilen 11 lokus için fragman analizi gerçekleştirilmiştir. Buna göre 11 lokusun da polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen analizler sonucunda elde edilen veriler Aydın ilindeki *Blastocystis* sp. ST3 izolatının önemli bir oranda genetik çeşitlilik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Elimizdeki 18 örneğin her birinin farklı mikrosatellit tiplerine sahip olduğunun belirlenmesi bunun önemli kanıtlarından biridir. Ancak, *Blastocystis* sp. ST7 ile karşılaştırıldığında *Blastocystis* sp. ST3'ün kendi içerisindeki mikrosatellit çeşitliliğinin daha düşük olduğu düşünülmektedir. Alinaghizade vd., *Blastocystis* sp. ST1, ST2 ve ST3 izolatlarında farklı STlerin kendi içindeki çeşitliliğini 18S rRNA geni üzerinden araştırmış ve en fazla benzerliğin *Blastocystis* sp. ST3'de, en az benzerliğin ise *Blastocystis* sp. ST2'de olduğu bildirmişlerdir (18).

Çalışma bulgularımızda *Blastocystis* sp. izolatlarında genetik çeşitliliğin zengin olduğu dikkati çekmektedir. Aydın ili özellikle insan hareketliliğinin yoğun olduğu turizm bölgesinde olup parazit bulaş yolu düşünüldüğünde coğrafik olarak parazit lokalize kalmasının mümkün olmayacağından dolayı Aydın ilinde *Blastocystis* sp. genetik çeşitliliğinin fazla olduğu düşünülmektedir. Türkiye genelinde türün genetik çeşitliliğinin daha net olarak ortaya konabilmesi için ülkenin diğer bölgelerinden elde edilecek izolatlarda da mikrosatellit lokus taraması yapılması gerekmektedir.

SONUÇ

Blastocystis sp. izolatlarının mikrosatellit yöntemiyle genotiplendirilmesi ilk defa bu çalışma ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında insanlarda saptanan en yaygın alt tip olan ST3'ün yanı sıra ST7'de bu yöntemle tiplendirilmiştir. Aydın ilinden izole edilen suşların mikrosatellit tiplerinin belirlenmesi ile diğer bölgelerden veya ülkelerden genotiplendirilen suşlarla karşılaştırılabilmesi için mikrosatellit tip veri bankası oluşturulmuştur. Bu şekilde küresel ölçekte araştırmacıların kullanabileceği ve katkı sağlayabileceği bir alan ortaya çıkarılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Noel, C., Dufernez, F., Gerbod, D. 2005. "Molecular phylogenies of *Blastocystis* sp. isolates from different hosts: implications for genetic diversity, identification of species, and zoonosis", *Journal of Clinical Microbiology*, 43(1), 348-355.
2. Stenzel, D. J. ve Boreham, P. F. 1996. "*Blastocystis* sp. hominis revisited", *Clinical Microbiology Reviews*, 9(4), 563-584.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

3. Çelik, T., Daldal, N., Karaman, U., Aycan, O. M. ve Atambay, M. 2006. "Incidence of intestinal parasites among primary school children in Malatya", *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 30(1), 35-38.
4. Hamamcı, B., Çetinkaya, U., Delice, S., Ercal, B. D., Gücüyetmez, S. ve Yazar, S. 2011. "Investigation of intestinal parasites among primary school students in Kayseri-Hacılar", *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 35(2), 96-99.
5. Tüzemen, N. U. ve Doğan, N. 2014. "Comparison of direct microscopy, culture, ELISA and molecular methods for diagnosis of *Entamoeba histolytica*", *Mikrobiyoloji Bülteni*, 48(1), 114-122.
6. Karadam, S.Y., Ertabaklar, H. ve Ertuğ, S. 2008. "Aydın'da üç farklı kreş ve anasınıfındaki çocuklarda bağırsak parazitlerinin dağılımı", *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 32(3), 257-260.
7. Yazıcı, V., Sırken, F., Ertabaklar, H. ve Ertuğ, S. 2007. "Investigation of intestinal parasites in food workers in hospitals in Aydın, Turkey", *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 31(2), 136-138
8. Page, R.D.M, Holmes, E.C. 1998. "Molecular Evolution: A Phylogenetic Approach". Blackwell Science, Oxford, U.K.
9. Glenn, T. C., ve Schable, N. A. 2005. "Isolating microsatellite DNA loci. In *Methods in Enzymology*". Academic Press. 395, 202-222.
10. Schwenkenbecher, J.M., Wirth, T., Schnur, L.F. 2006. "Microsatellite analysis reveals genetic structure of *Leishmania tropica*", *Int J Parasitol*, 36(2):237-46.
11. Oliveira, R.P., Broude, N.E., Macedo, A.M., Cantor, C.R., Smith, C.L., Pena, S.D. 1998. "Probing the genetic population structure of *Trypanosoma cruzi* with polymorphic microsatellites", *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 95(7), 3776-80.
12. Simo, G., Njiokou, F., Tume, C. 2010. "Population genetic structure of Central African *Trypanosoma brucei* gambiense isolates using microsatellite DNA markers", *Infection Genetics Evolution*, 10(1), 68-76.
13. Imwong, M., Nair, S., Pukrittayakamee, S. 2007. "Contrasting genetic structure in *Plasmodium vivax* populations from Asia and South America", *International Journal of Parasitology*, 37(8-9), 1013-1022.
14. Ajzenberg, D., Banuls, A.L., Tibayrenc, M., Dardé, M.L. 2002. "Microsatellite analysis of *Toxoplasma gondii* shows considerable polymorphism structured into two main clonal groups", *International Journal of Parasitology*, 32(1), 27-38.
15. Gentekaki, E., Curtis, B. A., Stairs, C. W., Klimeš, V., Eliáš, M., Salas-Leiva, D. E., Hilliou, F. 2017. "Extreme genome diversity in the hyper-prevalent parasitic eukaryote *Blastocystis sp.*", *PLoS Biology*, 15(9), e2003769.
16. Jerlstrom-Hultqvist, J., Franzen, O., Ankarklev, J., Xu, F., Nohynkova, E., Andersson, J.O. 2010. "Genome analysis and comparative genomics of a *Giardia intestinalis* assemblage E isolate", *BMC Genomics*, 543,2164.
17. Rogers, M.B., Hilley, J.D., Dickens, N.J., Wilkes, J., Bates, P.A., Depledge, D.P. 2011. "Chromosome and gene copy number variation allow major structural change between species and strains of *Leishmania*", *Genome Res*, 21(12), 2129-42.
18. Alinaghizade, A., Mirjalali, H., Mohebbi, M., Stensvold, C. R., Rezaeian, M. 2017. "Inter-and intra-subtype variation of *Blastocystis sp.* subtypes isolated from diarrheic and non-diarrheic patients in Iran", *Infection, Genetics and Evolution*, 50, 77-82.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

ÇALIŞTAY



Kenelerin İdentifikasyonu ve Laboratuvarında Kolonizasyon Yöntemleri

Serkan BAKIRCI¹, Hüseyin Bilgin BİLGİÇ¹, Zati VATANSEVER², Selin HACILARLIOĞLU¹,
Metin PEKAĞIRBAŞ¹, Tülin KARAGENÇ¹

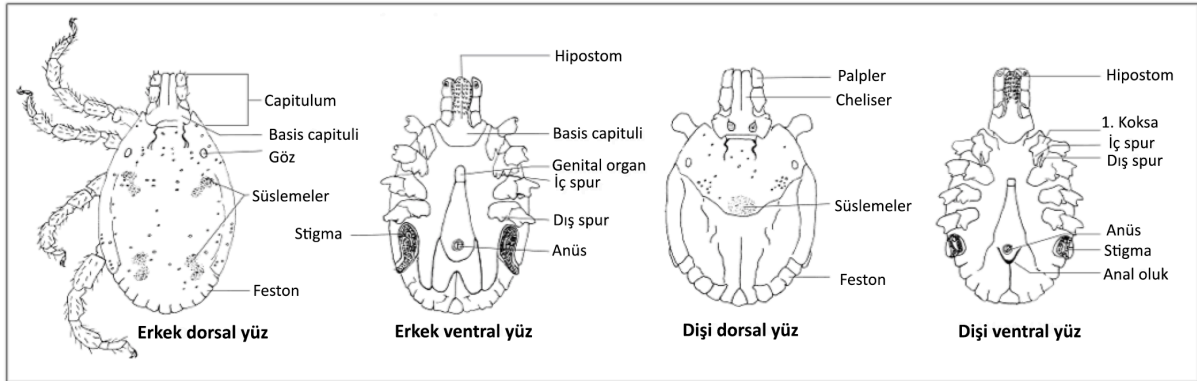
¹Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, AYDIN; ²Kars Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KARS

Keneler memeli, kuşlar ve sürüngenleri kapsayan geniş konak spektrumuna sahip, zorunlu kan emici arthropodlar olup, özellikle tropik ve subtropik iklim kuşaklarında sıklıkla gözlenmektedirler. Günümüzde Dünya’da bilinen 899 kene türünü barındıran üç aile (Argasidae, Ixodidae, Nuttalliellidae)’de yer alan keneler, insan ve hayvanlara 200 kadar hastalık etkenini (virüs, bakteri, protozoon, helmint) nakledebilmektedirler. Türkiye’de ise şimdiye kadar yapılan çalışmalarda iki aileye bağlı 10 soyda toplam 47 kene türü bulunmuştur. Bunların içinde *Ixodes ricinus*, *Haemaphysalis parva*, *H. punctata*, *H. sulcata*, *H. concinna*, *Hyalomma aegyptium*, *H. anatolicum*, *H. excavatum*, *H. marginatum*, *H. scupense* (= *H. detritum*), *H. dromedarii*, *Dermacentor marginatus*, *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*, *Rhipicephalus bursa*, *R. sanguineus*, *R. turanicus*, *Argas persicus*, *A. reflexus* gibi veteriner hekimliği ilgilendiren türlere, ülkemizin pek çok bölgesinde sıklıkla rastlanılmaktadır.

Ixodidae ve Argasidae ailesindeki keneler morfolojik, biyolojik ve ekolojik açıdan birbirlerinden farklılıklar göstermektedirler. Buna karşın her iki aileye mensup kenelerin gelişmelerinde yumurta, larva, nimf ve olgun olmak üzere dört ayrı gelişme dönemi vardır. Argasidae ailesindeki keneler beş soyda toplanmış olup (*Antricola*, *Argas*, *Nothoaspis*, *Ornithodoros* ve *Otobius*) bunlarda göz ve kitin plaklar yoktur. Larva dışındaki gelişme formlarında ağız organelleri ventralde olup dorsalden bakıldığında görülmez. Bazı türlerinde dorsal ve ventral yüzü birbirinden ayıran bir çizgi mevcuttur. Bu kenelerin erkek ve dişilerinde seksüel dimorfizm dışarıdan bakıldığında belirgin değildir. Argasidae ailesindeki keneler daha çok kış aylarında, nem oranı düşük bölgelerdeki hayvanlar üzerinde ve barınaklardaki yarı ve çatlaklarda saptanmıştır. Ixodidae ailesindeki keneler genel olarak baş, vücut ve bacaklar olmak üzere üç kısımdan ibarettir. Bu üç kısım yapıları itibarıyla bu ailedeki kenelerin soy ve tür özellikleri ile erkeklik ve dişilik açısından önem taşımaktadır. Baş ve vücut üzerindeki çeşitli organellerin varlığı, şekilleri ve büyüklükleri morfolojik açıdan soy ve tür teşhisinde ayırıcı kriterler olarak değerlendirilmektedir. Ixodidae ile Argasidae’yi birbirinden ayıran skutum adı verilen bir yapı vardır.

Argasidae’lerde bu yapıya rastlanmazken, Ixodidae’lerde ise skutum dişilerde, larva ve nimflerde ön dorsal yüzeydedir, ancak erkeklerdeki skutum tüm dorsal vücut yüzeyini örter. Skutum üzerinde tür tayininde önem arz eden, çukurluklar, noktalamalar, servikal oluklar, lateral oluk ya da sırtlar ve gözler bulunmaktadır. Bu tabaka erkek bireylerin fazla miktarda kan emmelerine engel olur. Buna bağlı olarak, kan emmiş dişi bireyler erkeklere göre hacimce daha büyük yapıdadırlar. Bazı türlerde skutumun üzeri adeta nakışla işlenmiş gibi süslüdür. Yine bazı türlerin vücudunun arka kenar kısımlarında festoon olarak adlandırılan oluşumlar vardır. Ventral yüzeyde ise genital açıklık, genital oluk, coxa’lar ve erkeklerde kitini plaklar mevcuttur (Şekil 1).

Zorunlu kan emici dış parazitler olan keneler, bütün yaşam dönemlerinde konaklarından kan emmek zorundadırlar ve kan emdikleri konaklarında güç kaybı, verim düşüklüğü, hatta küçük hayvanlarda aşırı anemi dolayısı ile ölümlere sebep olurlar. Bazı türlerin (*Dermacentor* spp., *Amblyomma* spp., *Ixodes* spp. vs.) tükürük salgısında bulunan birtakım bileşikler, konakta toksik etki oluşturmak suretiyle kene felcine neden olabilmektedir.



Şekil 1. Ixodid kenelerde genel morfolojik yapı (Erişkin erkek ve dişi, dorsal ve ventral yüz)

Direkt etkilerinin dışında, kenelerin konaklarındaki diğer bir zararlı etkileri, yaşam tarzları itibarı ile kan emme ve konak değiştirme özelliklerine bağlı olarak virüs, bakteri, riketsia, protozoon ve helmint gibi birçok hastalık etkenini nakletme kabiliyetine sahip olmalarıdır. Kene ve kenelerin taşıdıkları hastalıklar ile ilgili çalışmaların daha sağlıklı yürütülebilmesi için ilgili kene türlerinin uygun koşullar altında kolonizasyonlarının yapılması büyük önem taşımaktadır. Bunun yanında farklı kene türleri ve bunların gelişme dönemlerinin laboratuvar şartlarında üretilmesi ve kolonizasyonu, kene ile bulaşan hastalıkların kenede ve konaktaki seyirinin ve patogenezinin ortaya konması ve hastalıklara karşı nasıl önlem alınabileceği konusunda yeni fikirler oluşturması açısından da önem arz etmektedir.

ERA-NET programında Leap-Agri Avrupa-Afrika Ortak Çağrısı kapsamında sunulan 2170399 numaralı ve “*Theileria annulata* ve vektör kenelerine karşı çevreye duyarlı alternatif kontrol stratejileri” isimli TÜBİTAK projemiz kapsamında; 21. Parazitoloji Kongresi içerisinde de “**Kenelerin İdentifikasyonu ve Kolonizasyonu**” ismiyle düzenlenecek çalıştayda katılımcılara, kenelerin soy ve tür bazında identifikasyonu kapsamında, yukarıda bahsedilen morfolojik ayırım kriterleri teorik olarak anlatılacak ve aynı zamanda gerekli ekipmanlar (stereo mikroskop, ilgili kene türleri, vb.) kullanılarak uygulamalı eğitim verilecektir. Katılımcılara ayrıca kenelerin kolonizasyonu ile ilgili teorik bilgiler de verilecektir.

Bu çalıştay, TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (TÜBİTAK -2170399).

SÖZLÜ BİLDİRİLER



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01

29 Eylül 2019 – 16:00 – 17:30

Oturum Başkanları: Ahmet ÜNER / Nogay GİRĞINKARDEŞLER

SB01. Buzağılarda Cryptosporidiosis Tedavisinde Alternatif Yaklaşım

Selin HACILARLIOĞLU, Metin PEKAĞIRBAŞ, Hüseyin Bilgin BİLGİÇ, Serkan BAKIRCI, Tülin KARAGENÇ

SB02. Onkoloji Hastalarında *Cryptosporidium* Parazitinin Değerlendirilmesi:

Mehmet KARABEY, **Ayşegül AKSOY GÖKMEN**, Ahmet ALACACIOĞLU, Selçuk KAYA

SB03. Bağışıklığı Baskılanmış Hastalarda Koksidiyen Protozoon Sıklığının 10 Yıl Ara ile Karşılaştırılması

Özlem ULUSAN, Orçun ZORBOZAN, Kardelen YETİŞMİŞ, Sema AYDOĞDU, Fatma AKDENİZ, Ayşe GÖKENGİN, Mehmet KANTAR, Eren SOYALTIN⁷, Önder YAVAŞCAN, Fehmi AKÇİÇEK, Nevin TURGAY

SB04. Kanser Hastalarında Fırsatçı İntestinal Parazitlerin Görülme Sıklığı ve Lenfosit Alt Gruplarıyla İlişkisi

Sefa MÜLAYİM, Semih DALKILIÇ, Hatice Handan AKBULUT, Asude AKSOY, Mustafa KAPLAN

SB05. *Dientamoeba fragilis*'in Patojenitesini Destekleyen Bir Faktör Olarak Fekal Kalprotektin

Mehmet AYKUR, Güliz ARMAGAN, Rukiye VARDAR, Hande DAĞCI

SB06. *Enterobius vermicularis* pozitif Olguların Dışkılarında *Dientamoeba fragilis* Sıklığının PCR ile Araştırılması

İbrahim YILDIZ, Sema ERTUĞ, Evren TİLEKLİOĞLU, Erdoğan MALATYALI, Hatice ERTABAKLAR

SB07. *Dientamoeba fragilis*'in Ülseratif Kolit ve İrritabl Bağırsak Sendromlu Hasta Gruplarında Farklı Yöntemlerle Araştırılması ve Genotiplendirilmesi

Tuğçe ÜNALAN, Cavanşir VAHABOV, Koray ERGÜNAY, Özgür KURT, Taylan KAV, Yakut AKYÖN, Sibel ERGÜVEN

SB08. Amebiyazisde ELISA Sonuçlarının Mikroskopik Değerlendirme Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

Fatma ESENKAYA TAŞBENT

SB09. Toprak Örneklerinde Saptanan Serbest Yaşayan Amiplerin Moleküler Yöntem İle Tanımlanması; Topraktaki Gizli Tehlike!

Mehmet AYKUR, Hande DAĞCI

SB10. BD MAX™ Enteric Parasite Panel Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi ve Rutin Parazitolojik İncelemeyle Karşılaştırılması

Büşra Betül ÖZMEN ÇAPIN, Sema TORTOP, Tuğçe ÜNALAN, Alpaslan ALP, Sibel ERGÜVEN

SB11. İç Anadolu Yöresinde Sığırlarda *Giardia duodenalis*'in Moleküler Prevalansı ve Filogenetik Karakterizasyonu

Zuhal ÖNDER, Emrah ŞİMŞEK



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01

SB01

29 Eylül 2019 – 16:00-17:30

Buzağılarda Cryptosporidiosis Tedavisinde Alternatif Yaklaşım

Selin HACILARLIOĞLU, Metin PEKAĞIRBAŞ, Hüseyin Bilgin BİLGİÇ, Serkan BAKIRCI, Tülin KARAGENÇ

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, AYDIN

E-posta: selin-uner@hotmail.com

Amaç: Neonatal buzağı hastalıkları ve ölümleri ülkemizde ve dünyada önemli sağlık problemlerinden birisi olup, neonatal dönemde görülen ölüm tablolarında *Cryptosporidium* türleri de rol oynamaktadır. Son yıllarda enfeksiyonun kontrol ve tedavisinde alternatif bitkisel ekstraktlar araştırılmaya ve kullanılmaya başlanmıştır. Ticari bir firmanın bitkisel ekstraktlar, esansiyel yağlar, çeşitli maya hücre duvarları, karbonhidratlar ve organik minarelleri kullanarak oluşturduğu bir ürün (Natustat®; Alltech Inc, ABD); coccidiosis etkenleri üzerinde denenmiş ve hastalıktan korunmada, protozoon sayısının azaltılmasında ve epitel doku onarımının artarak hastalığın atlatılmasında etkili olduğu yapılan çalışmalarla desteklenmiştir. Bu çalışmada, *Cryptosporidium* ile coccidiosis etkenleriyle biyolojik yakınlıklarından yola çıkılarak *Cryptosporidium* spp. ookistleri üzerine Natustat®'ın etkisi değerlendirilmiştir.

Yöntem: Kinyoun asit fast yöntemi kullanılarak *Cryptosporidium* spp. ile doğal enfekte olan bir buzağıdan tedavi öncesinde dışkı örnekleri toplanmış ve gradient dansite yöntemiyle santrifüj işlemi uygulanarak ookistler elde edilmiştir. Daha sonra Caco-2 epitel hücreleri kullanılarak ookistler hücre kültürüne adapte edilmiştir. Enfeksiyon denemelerinde 12 kuyucuklu plaklarının içine 18 mm steril yuvarlak lameller yerleştirilerek üzerlerine Caco-2 hücreleri ekilmiştir. Hücrelerin lamellerin yüzeyinin %80'ini kapladıktan sonra her bir kuyucuğa %0,75 sodium thaurocholic içeren Hank's balans solüsyonu kullanılarak enkiste edilmiş 1x10⁶ *Cryptosporidium* ookisti ilave edilmiştir. *Cryptosporidium* spp. ile enfekte enterositlere 4 farklı konsantrasyonda (5, 1, 0,5 ve 0,1mg/ml) Natustat® ve bir gruba da PBS ilave edilip kontrol grubu oluşturulmuş ve her bir gruptan üç tekrar yapılmıştır. Hücrelerde oluşan enfeksiyonun varlığı Vicia villosa lectin (VVL) kullanılarak gerçekleştirilmiş ve enfeksiyon oranları belirlenmiştir.

Bulgular: Elde edilen sonuçlara göre kontrol grubunda %10,25 olan enfeksiyon oluşma yüzdesi Natustat® içeren farklı konsantrasyonlarda (5mg/ml, 1mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,1 mg/ml) sırasıyla %2,80, %3,21, %6,87 ile %9,25 olarak belirlenmiştir.

Sonuç: *Cryptosporidium* spp. sporozoitlerinin *in vitro* ortamda hücreleri enfekte etmesi sırasında Natustat®'ın özellikle 5mg/ml ve 1mg/ml oranlarda kullanımında belirgin ölçülerde enfeksiyona engel olduğu saptanmıştır. Ürünün parazit üzerine kesin etkisinin anlaşılabilmesi, tedavi veya koruma/kontrol programlarının oluşturulabilmesi için *in vitro* ve *in vivo* olarak daha detaylı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Cryptosporidium* spp., Natustat®, buzağı



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01

SB02

29 Eylül 2019 – 16:00-17:30

Onkoloji Hastalarında *Cryptosporidium* Parazitinin Değerlendirilmesi: Ön Çalışma

Mehmet KARABEY¹, Ayşegül AKSOY GÖKMEN¹, Ahmet ALACACIOĞLU², Selçuk KAYA¹

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Tıbbi Mikrobiyoloji AD;

²İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıbbi Onkoloji BD, İZMİR

E-posta: aaksoygokmen@hotmail.com

Amaç: Tıp biliminin teknolojik gelişmeler sayesinde hızla ilerlemesi ile transplantasyon ve kanser tedavilerinde immun supresif ajanların kullanımı artmakta ve buna bağlı olarak fırsatçı parazitlerin oluşturduğu hastalıklarda artmaktadır. İmmun sistemi baskılanmış (kanser kemoterapisi, kortikosteroid tedavisi, organ transplantasyonu) veya immun sistem yetmezliği (AIDS) bulunan hastalarda hastalık etkeninin tanısı tedavinin hızla başlanması ve etkisi açısından önem kazanmıştır. Bu çalışmada immunsupresif hastalarda ciddi mortalite ve morbidite nedeni olan *Cryptosporidium* parazitinin mikroskopik ve serolojik yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıbbi Onkoloji bilim dalına başvuran solid organ tümörlü/hematolojik malignitesi olan 48 saat süren ishal şikayeti olan 94 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışma grubundaki dışkı örneklerine aynı gün Modifiye Asit Fast (MAF) boyama yöntemi (AFB Kinyoun kit) uygulanarak mikroskopta 100X objektifde ookistler incelendi. Toplanan dışkı örneklerinin bir kısmı ise hiçbir koruyucu madde ilave edilmeden ependorflara alınarak -20 °C'de saklandı. Saklanmış bu örnekler daha sonra *Cryptosporidium* antijenlerini aramaya yönelik hazırlanmış ELISA yöntemiyle ticari kit kullanılarak (Ridascreen, R-Biopharm-Germany) çalışıldı. Kit üretici firmanın önerdiği şekilde uygulandı.

Bulgular: 94 hastanın 65'i erkek, 29'u kadındı. Hastaların yaş ortalaması 64.11 idi. Çalışmada, toplam 94 hastadan alınan dışkı örneğinin 2 (%2,1)'sinde modifiye aside dirençli boyama yöntemi ile *Cryptosporidium* ookistleri saptanırken, ELISA yöntemi ile 5 (%5,3) hastanın dışkıсында *Cryptosporidium* antijeni pozitif saptandı.

Sonuç: Sonuç olarak, MAF boyama yöntemi ekonomik olmasına rağmen çok sayıda fekal örneğin incelenmesi için zamana ihtiyaç duyması ve yine mikroskopik değerlendirme için deneyimli bir uzmana gerek duymaktadır. ELISA yönteminin ise maliyeti boyama yöntemine göre yüksek olmasına rağmen, testin yapılmasında ve değerlendirilmesinde tecrübeli personele ihtiyaç duymaması, çok sayıda hasta örneğinin kısa sürede sonuç vermesi gibi avantajlara sahiptir. Bu nedenlerle *Cryptosporidium* tanısında küçük merkezlerde boyama yönteminin kullanılmasının, özellikle büyük hastane laboratuvarlarında ise ELISA yönteminin tercih edilmesi gerektiği düşüncesindeyiz

Anahtar Kelimeler: *Cryptosporidium*, Onkolojik hastaları, ELISA, Modifiye-Kinyoun Asit Fast Boyama



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01

SB03

29 Eylül 2019 – 16:00-17:30

Bağışıklığı Baskılanmış Hastalarda Koksidiyen Protozoon Sıklığının 10 Yıl Ara ile Karşılaştırılması

**Özlem ULUSAN¹, Orçun ZORBOZAN¹, Kardelen YETİŞMİŞ², Sema AYDOĞDU³,
Fatma Ömür AKDENİZ⁴, Ayşe Deniz GÖKENGİN⁵, Mehmet KANTAR⁶, Eren SOYALTIN⁷,
Önder YAVAŞCAN⁸, S. Fehmi AKÇİÇEK⁴, Nevin TURGAY¹**

Ege Üniversitesi, ¹Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD; ²Sağlık Bilimleri Enstitüsü; ³Tıp Fakültesi Çocuk Gastroenteroloji BD; ⁴Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD; ⁵Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD; ⁶Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, İZMİR; ⁷Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Nefroloji Kliniği, İZMİR; ⁸Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Nefroloji BD, İSTANBUL

E-posta: drozlemulusan@gmail.com

Amaç: Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda, koksidiyen protozoonların ağır ishaller, dehidratasyona ve ileri olgularda ölüme neden olduğu bilinmektedir (1, 2). Çalışma kapsamında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Direkt Tanı Laboratuvarı'na 2009 yılında ve Ocak 2016-Ağustos 2019 tarihleri arasında, laboratuvar istem kağıdında bağışıklık sistemi baskılanmış olduğu belirtilerek gönderilen hastaların dışkı inceleme sonuçları, koksidiyen protozoonlar (*Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp. ve *Isoospora belli*) açısından geriye dönük olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada farklı kliniklere sahip özel hasta gruplarında koksidiyen protozoon prevalansının 10 yıl ara ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmamızda 2009 yılında ve Ocak 2016-Ağustos 2019 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Direkt Tanı Laboratuvarı'na gelen sırasıyla 138 ve 154 hastanın sonuçları geriye dönük olarak değerlendirilmiştir. Bağışıklığı baskılanmış hastalar "immün yetmezlik"(Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik, Ağır Kombine İmmün Yetmezlik, HIV+lığı)(n=83), "organ nakli/kemik iliği transplantasyonu" (n=117), "malignite" (n=51), "bağ dokusu hastalığı nedeniyle steroid kullanan" (n=33) şeklinde gruplandırılmıştır. Laboratuvarımıza rutin dışkı incelemesi için gelen bu hastaların örnekleri önce makroskopik, sonra salin ve iyot boyası ile mikroskopik olarak incelenmiştir. Tüm dışkı örnekleri modifiye formol etil asetat çöktürme yöntemi ile çoklaştırılmış, çoklaştırma sonrası hazırlanan yayma preparatlar kinyoun asid fast, asid fast trikrom, modifiye trikrom ve giemsa yöntemleri ile boyanmıştır. Boyalı preparatlar koksidiyen protozoonlar açısından 100'lük objektifte değerlendirmeye alınmıştır.

Bulgular: Retrospektif olarak değerlendirilen 292 hastanın %60'ı erkek, %40'ı kadındır. *Cryptosporidium* spp. saptanma oranı 2009 yılında %51,4 (71/138), 2016-2019 yılları arasında ise %40,9'dur. (63/154). *Cyclospora* spp. görülme oranı ise 2009 yılında %24,6 (34/138) iken 2016-2019 yılları arasında %7,8'e (12/154) gerilemiştir. En fazla koksidiyen protozoon 2009 yılında 0-18 yaş grubunda saptanmıştır. Koksidiyen protozoonlar en fazla 2009 yılında bağ dokusu hastalığı nedeniyle kortikosteroid kullanan



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

grupta ve 2016-2019 yılları arasında malignite nedeniyle kemoterapi alan hasta gruplarında saptanmıştır.

Sonuç: 2009 yılında *Cryptosporidium* spp. saptanma oranı %51,4 iken, 2016-2019 yılları arasında %40,9 bulunmuştur. 2014 yılında yayınlanan bir çalışmada 644 tane akut böbrek nakli hastası intestinal protozoonlar açısından değerlendirilmiş ve bizim çalışmamıza benzer olarak %50,3'ünde *Cryptosporidium* spp. saptanmıştır (3). HIV+ hastalarda yapılan çalışmalarda *Cryptosporidium* spp. görülme oranının ortalama %32 olarak saptandığı belirtilmektedir (4). HIV ile enfekte olan ishali hastalarda oran yüksek bulunurken, ishali olmayanlarda %6,6 olarak bildirilmiştir (5). Çalışmamızda yüksek oranda *Cryptosporidium* spp. bulunmasının, hastaların bağışıklık sistemi baskılanmış ve ishali olmalarına bağlı olduğu düşünülmüştür. Laboratuvarımızda 2012 yılında başvuran tüm hastaları kapsayan bir çalışmada *Cryptosporidium* spp. görülme oranı %7.5 olarak saptanırken (6), 2019 yılında yayınlanan, 10 yıllık bir dönemi kapsayan ve 58.669 hastanın incelendiği bir diğer çalışmada ise *Cryptosporidium* spp. oranı %6,8, *Cyclospora* spp. %1,4 olarak bildirilmiştir (7). Bağışıklığı baskılanmış hastalar ile bağışık yetmezliği olmayan hastalar, dışkılarında koksidiyen parazit görülme oranları açısından büyük farklılıklar göstermektedirler (8). Bu nedenle dışkı örneği laboratuvara gönderilirken hastanın klinik durumunu belirten bir ön bilgilendirme eklenmesinin doğru tanı yöntemlerinin uygulanmasına olanak tanıyacağı unutulmamalıdır. *Cryptosporidium* spp.'nin tedavisinde kullanılan birinci seçenek ajanlar olan nitazoksanid, paramomisin Türkiye'de bulunmadığı için tercih edilen azitromisin'in bağışıklığı baskılanmış hasta gruplarında tedavi başarısının düşük olduğu gösterilmiştir (9). Bağışıklığı baskılanmış hastalarda *Cryptosporidium* spp. tedavisinde yaşanan zorluklar göz önüne alınarak, bu hasta gruplarına bilgilendirme amacıyla koksidiyen protozoonların dirençli ookistler aracılığıyla su, gıda kaynaklı veya zoonotik olarak bulaşma yolları anlatılmalı; insani amaçlı tüketilen su ve gıda hijyenin önemi vurgulanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Azitromisin, koksidiyen, bağışıklık, kinyoun, ookist

KAYNAKLAR

1. Stark D, Barratt JLN, van Hal S, Marriott D, Harkness J, Ellis JT. Clinical significance of enteric protozoa in the immunosuppressed human population. Clin. Microbiol. Rev. 2009, 22:634-650.
2. Taye B, Desta K, Ejigu S, Dori GU. The magnitude and risk factors of intestinal parasitic infection in relation to human immunodeficiency virus infection and immune status, at ALERT hospital, Addis Ababa, Ethiopia. Parasitol Int. 2014, 63:550-556
3. Raja K, Abbas Z, Hassan SM, Luck NH, Aziz T, Mubarak M. Prevalence of cryptosporidiosis in renal transplant recipients presenting with acute diarrhea at a single center in Pakistan. J Nephropathol 2014, 3: 127-31.
4. Hunter PR, Nichols G. Epidemiology and Clinical Features of Cryptosporidium Infection in Immunocompromised Patients. Clinical Microbiology Reviews 2002, 15(1): 145-154.
5. Pedersen CS, Danner A, Lazzarin MP, Glauser RW, Katlama C, Barton SE and Lundgren JD. Epidemiology of cryptosporidiosis among European AIDS patients. Genitourin. Med. 1996, 72:128-131.
6. Turgay N, Ünver-Yolasığımaz A, Oyur T, Bardak-Özdemir S, Töz S. İzmir ve çevresinde bir yılda (Mayıs 2009-Nisan 2010) saptanan bağırsak parazitlerinin aylara göre dağılımı-Asit fast ve modifiye trichrome boyama sonuçları. Türkiye Parazitoloj Derg. 2012, 36(2):71-4.
7. Uluhan Ö, Zorbozan O, Yetişmiş K, Töz S, Ünver A, Turgay N. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Direkt Tanı Laboratuvarında Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı; On Yıllık Değerlendirme. Türk Mikrobiyoloji Cem Derg. 2019, 49(2):86-91.
8. Ok ÜZ, Balçoğlu İC. Cryptosporidiosis. M.A. Özcel, Y. Özbel, M. Ak (Editörler). "Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları". Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını. İzmir, 2007, 363-377.
9. Sparks H, Nair G, Castellanos-Gonzalez A, White AC. Treatment of Cryptosporidium: What We Know, Gaps, and the Way Forward. Current Tropical Medicine Reports 2015, 2(3): 181-187.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01

SB04

29 Eylül 2019 – 16:00-17:30

Kanser Hastalarında Fırsatçı İntestinal Parazitlerin Görülme Sıklığı ve Lenfosit Alt Gruplarıyla İlişkisi

**Sefa MÜLAYİM¹, Semih DALKILIÇ², Hatice Handan AKBULUT³, Asude AKSOY⁴,
Mustafa KAPLAN¹**

Fırat Üniversitesi, ¹Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD; ²Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik AD;
³Tıp Fakültesi, İmmünoloji AD; ⁴Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Tıbbi Onkoloji Bölümü, ELAZIĞ

E-posta: smulayim@firat.edu.tr

Amaç: Bağırsak parazit enfeksiyonları, ülkemizin de içinde olduğu gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere tüm dünyada ciddi bir sağlık problemi olarak düşünülmektedir. Parazit enfeksiyonları genellikle asemptomatik seyirlidir. Paraziter enfeksiyonun kendisi genellikle ölümcül olmamakla birlikte, bağışıklık sisteminin baskılanması durumunda morbidite ve mortalitenin artmasına neden olabilir. Kanser özellikle hücresel immünite olmak üzere tüm bağışıklık sistemini zaafa uğratabilir. Bu çalışmada, kanser ve/veya kemoterapi nedeniyle immünitesi baskılanan hastalarda fırsatçı bağırsak parazitlerin görülme sıklığını araştırmayı amaçladık.

Yöntem: Yetişkin yaştaki 201 kanser hastasından alınan dışkı örneklerinde nativ-lugol ve modifiye trikrom yöntemi ile mikroskopik inceleme ve Nested PCR yöntemi kullanılarak, *Blastocystis hominis*, *Cryptosporidium parvum* ve *Microsporidium* spp. görülme sıklığı araştırıldı. Hastalardan alınan kan örneklerinde akım sitometri yöntemi ile lenfosit alt grupları belirlenerek bu fırsatçı bağırsak parazitlerinin görülme sıklığı ile CD4⁺ yardımcı (Th) ve CD8⁺ sitotoksik (Tc) lenfosit, B lenfosit ve doğal öldürücü (NK) hücre düzeyleri arasındaki ilişki araştırıldı.

Bulgular: Hastaların 51'inde (%25,37) *Microsporidium* spp. 15'inde (%7,46) *C. parvum* ve 47'sinde (%23,38) *B. hominis* saptandı. *Microsporidium* spp.'nin CD3⁺CD4⁺Th lenfosit yüzdesi düşük hastalarda, *C. parvum*'un CD3⁺ T lenfosit ve CD3⁺CD4⁺ Th lenfosit yüzdesi düşük olan hastalarda, *B. hominis*'in ise CD3⁺ lenfosit yüzdesi düşük ve CD4/CD8 oranı yüksek olan hastalarda daha sık görüldüğü saptanmıştır.

Sonuç: Kanser hastalarında lenfosit yüzdesi, T lenfosit ve Th hücre sayısında azalma ve CD4/CD8 oranının düşük olması, bağırsak parazit enfeksiyonlarının sıklığını artırmaktadır. Bulgularımız, hastalığın klinik seyrini ve hastaların yaşam kalitesini etkileyen fırsatçı parazit enfeksiyonların, klinisyenler tarafından, hastaların takip ve tedavi sürecinde dikkate alınmaları gerektiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Kanser hastaları, fırsatçı bağırsak parazitleri, lenfosit alt grupları



***Dientamoeba fragilis*'in Patojenitesini Destekleyen Bir Faktör Olarak Fekal Kalprotektin**

Mehmet AYKUR¹, Güliz ARMAĞAN², Rukiye VARDAR³, Hande DAĞCI¹

Ege Üniversitesi, ¹Tıp Fakültesi Parazitoloji AD; ²Eczacılık Fakültesi Biyokimya AD; ³Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD, Bornova, İZMİR

E-posta: mehmetaykur@gmail.com

Amaç: Kalprotektin çoğunlukla nötrofil, monosit, makrofaj ve submukozal epitel hücrelerinden salınan bir proteindir. Fekal kalprotektin (f-KP) gastrointestinal sistemin noninvazif bir enflamasyon belirtecidir. *D. fragilis*'in gastrointestinal sistemdeki patojenitesi hakkında bazı tartışmalar vardır. Bu çalışmada, dışkı örneklerinde f-KP seviyesinin *D. fragilis*'in patojenitesini destekleyen bir faktör olup olmadığı araştırılmıştır. Sağlıklı kontrol gönüllüleri ile sadece *D. fragilis* pozitif olan hastaların ve *D. fragilis* negatif olup gastrointestinal semptomları olan hastaların dışkı örneklerinde f-KP seviyeleri arasındaki ilişki değerlendirilmiştir.

Yöntem: Dışkı örnekleri üç gruptan toplanmıştır. Birinci grupta (Grup 1, n = 34): Sadece *D. fragilis* pozitif olan gastrointestinal semptomlu (diğer patojenler olmadan) hasta dışkı örnekleri; İkinci grupta (Grup 2, n = 31): *D. fragilis*'in negatif olduğu gastrointestinal semptomları olan hasta dışkı örnekleri; Kontrol grubunda (Grup 3, n = 23) herhangi bir enfeksiyon veya gastrointestinal şikayeti olmayan sağlıklı gönüllülerden toplanan örnekler bulunmaktadır. Toplanan dışkı örneklerine insan kalprotektin ELISA kiti kullanılarak f-KP seviyeleri belirlenmiştir.

Bulgular: Bu çalışmada üç farklı grupta toplam 88 dışkı örneği toplanmıştır. Dışkı örneklerinde f-KP seviyeleri grup 1'de 33.40 ng/mg protein, grup 2'de 15.99 ng/mg protein ve sağlıklı kontrol grubunda (grup 3) 1.54 ng/mg protein elde edilmiştir. Sağlıklı kontrol grubu ile grup 1 ve grup 2 karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fekal kalprotektin seviyelerinde anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0.0001$). Ancak, grup 1 ile grup 2 arasında f-KP seviyeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir anlamlılık saptanamaz ($p > 0.99$).

Sonuç: Dışkı örneklerinde artmış f-KP seviyeleri, enfekte hayvanlarda ve insanlarda alt gastrointestinal sistemin enflamatuvar hastalığının bir belirteci olarak gösterilmektedir. Semptomatik ve asemptomatik hastalarda *D. fragilis*'in patojenitesi hakkında tartışmalar devam etmektedir. Araştırmamızda dışkı örneklerinde tespit edilen f-KP konsantrasyonunun yüksek bulunması, *D. fragilis*'in potansiyel patojenitesi ilişkili olabileceği kanısına varılmıştır. Özetle, *D. fragilis* pozitif hastaların dışkılarında bulunan yüksek f-KP seviyesi bu parazitin patojenitesini destekleyen bir araştırma olması ve süregelen tartışmalara katkıda bulunması açısından önemlidir.

Anhtar Kelimeler: *Dientamoeba fragilis*; Fekal kalprotektin; Patojenite; Gastrointestinal semptomlar



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01

SB06

29 Eylül 2019 – 16:00-17:30

Enterobius vermicularis Pozitif Olguların Dışkılarında Dientamoeba fragilis Sıklığının PCR ile Araştırılması

İbrahim YILDIZ, Sema ERTUĞ, Evren TİLEKLİOĞLU, Erdoğan MALATYALI, Hatice ERTABAKLAR

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, AYDIN

E-posta: dr.ibrahimyildiz@gmail.com

TAM METİN

ÖZET

Amaç: *Dientamoeba fragilis*, 5-15 µm büyüklüğünde, amip benzeri morfolojiye sahip, gastrointestinal yerleşimli kamçılı bir protozoon parazittir. *Dientamoeba fragilis* enfeksiyonları sıklıkla asemptomatik seyretmekle birlikte semptomatik olgularda iştahsızlık, karın ağrısı, diyare, bulantı-kusma, gaz ve kilo kaybı gibi şikayetler görülebilmektedir.

Dientamoeba fragilis'in kist formu hakkında sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Dış ortam koşullarına son derece dayanıksız olan *D. fragilis*'in trofozit formunun ise fekal oral bulaşa neden olamayacağı düşünülmektedir. Parazitin bulaş yolu hakkında en yaygın olarak kabul edilen görüş *Enterobius vermicularis* yumurtalarının *Dientamoeba fragilis* trofozoitlerini taşıdığı hipotezidir. Çalışmamızda *Enterobius vermicularis* ile *Dientamoeba fragilis* birlikteliği araştırılmıştır.

Yöntemler: Çalışmamızda 1 Haziran 2018- 1 Ocak 2019 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Parazitoloji Laboratuvarına gönderilen rutin dışkı ve selofanlı lam örnekleri kullanılmıştır. Selofanlı lam örneklerinde *E. vermicularis* saptanan 45 olgunun dışkı örneği ile *E. vermicularis* negatif 45 olgudan oluşan kontrol grubunun dışkı örnekleri PCR yöntemiyle *D. fragilis* açısından incelenmiştir. Ayrıca olgular yaş, cinsiyet, yaşadıkları yer ve semptomlar açısından değerlendirilmiştir.

Bulgular: İncelenen toplam 90 dışkı örneğinin 29 unda *D. fragilis* DNA'sı saptanmış olup bunların 19'unu (%65,5) *E. vermicularis* pozitif olgular oluşturmaktadır. *Dientamoeba fragilis* pozitif olguların yaş ortalaması 19,75 olarak saptanmıştır. *Dientamoeba fragilis* pozitif olguların %62'si erkek cinsiyettedir. Kaşıntı ve iştahsızlık en sık olarak görülen (%27,5) semptom olmuştur. Olguların çoğunluğunu il ve ilçe merkezlerinde yaşayanlar oluşturmuştur (%62).

Sonuç: Boyama yöntemlerine rağmen parazitin çoğunlukla atlanmasından dolayı son yıllarda yapılan çalışmalarda *D. fragilis* tanısında moleküler yöntemlerin önemi vurgulanmakta ve hatta tüm dışkı incelemelerinde moleküler yöntemlerin rutin olarak uygulanması gerektiği önerilmektedir. Çalışmamızda parazitin popülasyonda sık görüldüğü saptanmış ve *D. fragilis*'in önemi vurgulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Enterobius vermicularis*, *Dientamoeba fragilis*, Aydın



Investigation of *Dientamoeba fragilis* Frequency in Feces of *Enterobius vermicularis* Positive Cases by PCR

SUMMARY

Aim: *Dientamoeba fragilis* is a 5-15 µm amoeba-like morphology with a flagella, located in the gastrointestinal tract. *D. fragilis* infections are often asymptomatic, but symptoms such as anorexia, abdominal pain, diarrhea, nausea and vomiting, gas and weight loss can be seen in symptomatic cases.

There are a limited number of studies on the cyst form of *D. fragilis*. It is thought that the trophozoite form of *D. fragilis*, which is extremely vulnerable to outdoor conditions, cannot cause fecal oral transmission. The most widely accepted view of the transmission path of the parasite is the hypothesis that *Enterobius vermicularis* eggs carry *D. fragilis* trophozoites. In our study, the association of *Enterobius vermicularis* and *D. fragilis* was investigated.

Methods: Routine stool and perianal sticky tape test sent to the the Aydın Adnan Menderes University, Faculty of Medicine, Parasitology Laboratory between June 1, 2018 and January 1, 2019 were used. Stool samples of 45 *E. vermicularis* positive cases and 45 *E. vermicularis* negative control cases were examined for *D. fragilis* by PCR. In addition, cases were evaluated in terms of age, sex, place of residence and symptoms.

Results: *D. fragilis* DNA was found in 29 of 90 stool samples and 19 (65.5%) of them were *E. vermicularis* positive. The average age of *D. fragilis* positive cases was found to be 19.75. 62% of *D. fragilis* positive cases were male. Itching and loss of appetite were the most common symptoms (27.5%).

Conclusion: Despite the staining methods, the importance of molecular methods in the diagnosis of *D. fragilis* has been emphasized in recent studies and it is recommended that molecular methods should be routinely applied in all stool examinations. In our study, parasites were found to be common in the population and the importance of *D. fragilis* was emphasized.

Key Words: *Enterobius vermicularis*, *Dientamoeba fragilis*, Aydın

GİRİŞ

Dientamoeba fragilis (*D. fragilis*), dünya çapında kozmopolit bir dağılıma sahip kalın bağırsak yerleşimli bir protozondur (1).

Dientamoeba fragilis ilk kez 20.yy başlarında tanımlanmış ve patonejitesi belirsiz bir amip olarak bildirilmiştir. Bunu takiben günümüze kadar yapılan morfolojik, immünolojik ve moleküler çalışmalar ise bu parazitin trikomonad kamçılılar ile filogenetik olarak yakın ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Şu anki taksonomik sınıflamasında Parabasalia Şubesi Trichomonadidae sınıfı içerisindeki Dientamoebidae ailesinde konumlandırılmıştır (2).

Dientamoeba fragilis varlığının saptandığı olgular tüm kıtalarda birçok ülkeden bildirilmiş olmakla beraber gelişmiş ülkelerden bildirilen çalışmalar gelişmekte olanlara oranla daha fazla olduğu dikkati çekmektedir (2-3).

Farklı tanı yöntemlerinin kullanıldığı çalışmalarda parazitin prevalansının %0,2 ila %82 gibi çok değişken bir aralıkta olduğu ve diğer bağırsak protozoonları için gözlemlenenden farklı olarak, genellikle gelişmiş ülkelerde daha yüksek olarak saptandığı bildirilmektedir. Ancak, bu farklılıkların güvenilir olduğuna karar vermek oldukça zordur, çünkü tanı yöntemleri farklı duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir. Ayrıca çalışmaların tasarlanış şekilleri arasındaki farklılıklar da bildirilen oranlardaki büyük farklılıkların nedeni olabilir. Bununla birlikte, sadece moleküler testleri içeren epidemiyolojik çalışmalar



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

dikkate alındığında, Avrupa, Orta Doğu ve Güney Amerika'daki ülkeler de dahil olmak üzere dünyanın çeşitli bölgelerinde prevalansın oldukça yüksek (>%20) olduğu görülmektedir (4-8).

Klinisyenler ve mikrobiyologlar patojen olmadığı düşüncesi ile uzun yıllar boyunca *Dientamoeba fragilis*'i göz ardı etmiştir. *Dientamoeba fragilis*'in patojenitesini destekleyen kanıtlar son yıllarda yapılan çalışmalarda artmış olsa da *D. fragilis*'in gerçekten bir patojen olup olmadığı halen tartışılmaya devam edilmektedir (9).

Dientamoeba fragilis'in çocuklarda ve yetişkinlerde akut ve kronik enfeksiyonlara neden olabildiğini belirten çalışmalar mevcuttur (5,8). En yaygın görülen klinik semptomlar diyare ve karın ağrısı olarak belirtilmektedir. Birçok çalışma, organizmayı ortadan kaldıran tedavinin klinik iyileşme ile sonuçlandığını göstermiştir; dolayısıyla semptomatik olgular için tedavi önerilmektedir. Enfeksiyonun tedavisinde metronidazol, tetrasiklin ve iyodokinol vb. ajanlar başarıyla kullanılmaktadır (10-11).

Dientamoeba fragilis'in kesin tanısı, karakteristik nükleer yapının boyanmamış dışkı örneklerinde görülememesi nedeniyle kalıcı boyama yöntemlerini gerektirmektedir (12). Parazitin dış ortama oldukça dayanıksız yapısı, değişken bir morfolojiye sahip oluşu, deneyimli laboratuvar çalışanına gereksinim duyulması parazitin kalıcı boyalı preparatlarla da sıklıkla tanısının atlanmasına neden olmaktadır ve son yıllarda moleküler yöntemlerin bu parazitin tanısındaki popülaritesi artmıştır (13).

GEREÇ VE YÖNTEM

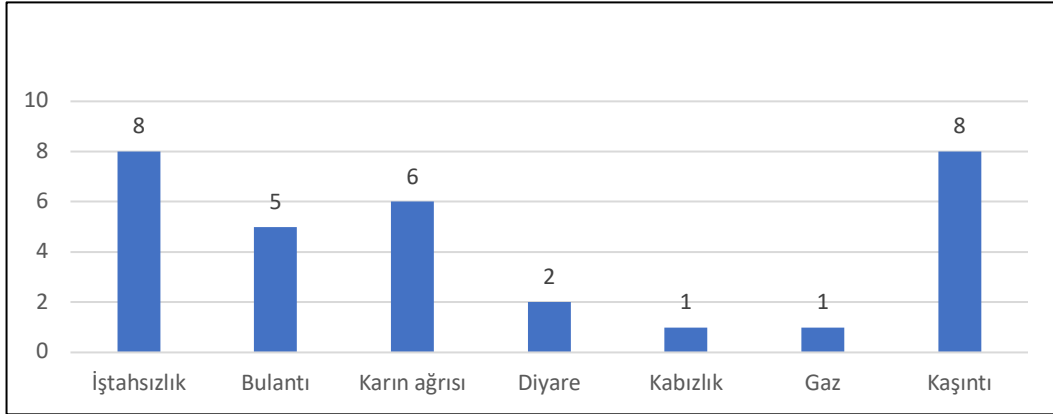
Çalışmamızda 1 Haziran 2018- 1 Ocak 2019 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Parazitoloji Laboratuvarına gönderilen rutin dışkı ve selofanlı lam örnekleri kullanılmıştır. Selofanlı lam örneklerinde *E. vermicularis* yumurtaları saptanan ardışık 45 olgunun rutin kapsamında laboratuvara gönderilen dışkı örnekleri çalışmaya alınmıştır. Olgulara ulaşılarak bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu imzalatılmış ve katılmak isteyenler çalışmaya dahil edilmiştir. Gönüllü olan olgulara yaş, cinsiyet, şikayetler ve yaşadıkları yer bilgilerini kapsayan anket uygulanmıştır.

Çalışma kapsamına alınan dışkı örneklerinden DNA izolasyonu için QIAamp Fast DNA Stool Mini kit kullanılmış ve kitle belirtilen yöntemler uygulanarak DNA elde edilmiştir. PCR yöntemi için DF400 (5'-TATCGGAGGTGGTAATGACC -3) ve DF1250 (5'-CATCTTCCTCCTGCTTAGACG-3') primerleri kullanılmıştır. Ön denatürasyon 94 °C 3 dk, 94 °C'de 1 dk denatürasyon, 57 °C'de 1,5 dk annealing ve 72 °C'de 2 dk elongasyon ile 30 döngü gerçekleştirilmiştir. Final uzama ise 72° C de 10 dk şeklinde yapılmıştır.

Enterobius vermicularis pozitif ve negatif olgularda *D. fragilis* varlığının karşılaştırılması için ki kare testi kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmamız kapsamında incelenen 90 dışkı örneğinin 29'unda (%32) *D. fragilis* DNA'sı saptanmıştır. *Enterobius vermicularis* pozitif 45 olgunun 19'unda (%65,5), *E. vermicularis* negatif 45 olgunun ise 10'unda (%34,5) *D. fragilis* saptanmıştır ($p>0,05$). Enfekte olguların yaş aralığı 5-66 arasında değişmekte olup yaş ortalaması 19,75 olarak bulunmuştur. *Dientamoeba fragilis* pozitif olguların %62'sini (18) erkekler %38'ini (11) kadınlar oluşturmaktadır. *Dientamoeba fragilis* DNA'sı saptanan olgular yaşadıkları yerlere göre incelendiğinde ilçe merkezinde ve köylerde yaşayan olguların sayısı 11 olarak eşit bulunmuş ve kalan 7 olgu ise il merkezinde yaşadığını beyan etmiştir. Semptomlara göre yapılan incelemede en sık görülenler iştahsızlık ve kaşıntı olmuştur (%27,5).



Şekil 1. *Dientamoeba fragilis* saptanan olgularda görülen semptomlar

TARTIŞMA

Son yıllarda artan farkındalık ve moleküler testlerin yaygınlaşması ile *Dientamoeba fragilis* prevalansını araştıran çalışmalar artmıştır.

Incane ve ark'ın 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada Venezuela'da Real-Time PCR ve mikroskopi yöntemleri kullanılarak *D. fragilis* sıklığını araştırmışlar ve incelenen 228 dışkı örneğinde %40,4 pozitiflik saptamışlardır (4).

Gastrointestinal sistem (GİS) semptomlarının *Dientamoeba fragilis* ile ilişkili olup olmadığının araştırıldığı Hollanda merkezli bir çalışmada ortalama yaşı 9 olan GİS semptomlu 107 çocukta Real-Time PCR ile parazit varlığı araştırılmış ve 59 (%55,1)'unda *D. fragilis* DNA'sı saptanmıştır (5). David ve ark'ın 2015 yılında Brezilya'nın iki farklı bölgesinde yaptıkları bir çalışmada toplamda 88 insanın dışkı örneğinde Real-Time PCR ile *D. fragilis* varlığı incelenmiş ve %21,6 pozitiflik bildirilmiştir (6). Çalışma grubu İBS hastalarından oluşan 171 olgunun dahil edildiği Pakistan'da yapılmış bir araştırmada Yakoob ve ark. alınan dışkı örneklerini PCR ile *B. hominis* ve *D. fragilis* DNA'sının varlığı açısından incelemiş, *B. hominis*'in %32 ve *D. fragilis*'in %4 oranında saptandığını belirtmişlerdir (7). İsveç'te Real-Time PCR kullanılarak Gastrointestinal sistem semptomlarına sahip 180 çocuğun dışkı örneğinin incelendiği bir araştırmada Ögren ve ark. *Dientamoeba fragilis*'in %20,1 oranında tespit edildiğini bildirmişlerdir (8).

Türkiye'deki duruma bakıldığında, Girginkardeşler ve ark 2003 yılında yaptıkları bir çalışmada Celal Bayar Üniversitesi Parazitoloji laboratuvarına gönderilen 400 dışkı örneğinde *D. fragilis* varlığını araştırmışlar ve incelenen örneklerin 35 (%8,8)'inde *D. fragilis* saptandığını belirtmişlerdir (14).

İBS hastalığında *D. fragilis* ve *B. hominis*'in rollerinin araştırıldığı 2013 yılında yapılan bir çalışmada Mumcuoğlu ve ark toplam 185 olgunun dışkı örneğini iki parazitin varlığı açısından incelenmiştir. Tanıda direkt mikroskopi, trikrom boyama ve kültür yöntemlerinin kullanıldığı bu çalışmada 36 (%19) örnekte *B. hominis* varlığı saptanmışken hiçbir dışkı örneğinde *D. fragilis*'in tespit edilemediği bildirilmiştir (15).

Araştırmamızda ise toplam 90 dışkı örneğinin 29'unda (%32) *D. fragilis* DNA'sı saptanmıştır. Çalışmamızda *dientamoebasis*'in popülasyonda sık şekilde bulunduğu ve çoğunlukla tanısı atlanan bu protozoonun saptanmasında moleküler yöntemlerin kullanılmasının gerekliliği vurgulanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Windsor JJ, Johnson EH. *Dientamoeba fragilis*: the unflagellated human flagellate. Br. J. Biomed. Sci 1999; 56, 293–306
2. Stark D, Barratt J, Chan D, Ellis JT. *Dientamoeba fragilis*, the neglected trichomonad of the human bowel. *Clinical microbiology reviews* 2016; 29(3), 553-580.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

3. Barratt JL, Harkness J, Marriott D, Ellis JT, Stark D. A review of *Dientamoeba fragilis* carriage in humans: several reasons why this organism should be considered in the diagnosis of gastrointestinal illness. *Gut Microbes* 2011; 2(1), 3-12.
4. Incani RN, Ferrer E, Hoek D, Ramak R, Roelfsema J, Mughini-Gras L, Pinelli E. Diagnosis of intestinal parasites in a rural community of Venezuela: Advantages and disadvantages of using microscopy or RT-PCR. *Acta tropica* 2017; 167, 64-70.
5. Holtman G A., Kranenberg JJ, Blanker MH, Ott A, Lisman-van Leeuwen Y, Berger MY. *Dientamoeba fragilis* colonization is not associated with gastrointestinal symptoms in children at primary care level. *Family practice*, cmw 2016; 111.
6. David ÉB, Guimarães S, de Oliveira AP, de Oliveira-Sequeira TCG, Bittencourt GN, Nardi ARM, Bella A. Molecular characterization of intestinal protozoa in two poor communities in the State of São Paulo, Brazil. *Parasites & vectors* 2015; 8(1), 103.
7. Yakoob J, Jafri W, Beg MA, Abbas Z, Naz S, Islam M, Khan R. Blastocystis hominis and *Dientamoeba fragilis* in patients fulfilling irritable bowel syndrome criteria. *Parasitology research* 2010; 107(3), 679-684
8. Ögren J, Dienus O, Löfgren S, Einemo IM, Iveroth P, Matussek A. *Dientamoeba fragilis* prevalence coincides with gastrointestinal symptoms in children less than 11 years old in Sweden. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2015; 34(10), 1995-1998.
9. Johnson EH, Windsor JJ, Clark CG. Emerging from obscurity: biological, clinical, and diagnostic aspects of *Dientamoeba fragilis*. *Clinical microbiology reviews* 2004; 17(3), 553-570.
10. Priess U, Ockert G, Broemme S, Otto A. On the clinical importance of *Dientamoeba fragilis* infections in children. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol* 1991; 35, 27-34.
11. Butler WP. *Dientamoeba fragilis*. An unusual intestinal pathogen. *Dig. Dis. Sci* 1996; 41, 1811-1813.
12. Dobell C. Researches on the intestinal protozoa of monkeys and man. X. The life history of *Dientamoeba fragilis*: observations, experiments and speculations. *Parasitology* 1940; 32, 417-461.
13. Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Evaluation of three diagnostic methods, including real-time PCR, for detection of *Dientamoeba fragilis* in stool specimens. *J Clin Microbiol* 2006; 44(1): 232-235.
14. Girginkardesler N, Coskun S, Cuneyt Balcioglu I, Ertan P, Ok UZ. *Dientamoeba fragilis*, a neglected cause of diarrhea, successfully treated with secnidazole. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9:110-113.
15. Mumcuoglu I, Coskun FA, Aksu N, Purnak T, Gungor C. Role of *Dientamoeba fragilis* and *Blastocystis* spp. in irritable bowel syndrome. *Turkiye Parazitol Derg* 2013; 37:73-77.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01

SB07

29 Eylül 2019 – 16:00-17:30

***Dientamoeba fragilis*'in Ülseratif Kolit ve İrritabl Bağırsak Sendromlu Hasta Gruplarında Farklı Yöntemlerle Araştırılması ve Genotiplendirilmesi**

Tuğçe ÜNALAN¹, Cavansir VAHABOV², Koray ERGÜNAY¹, Özgür KURT³, Taylan KAV², Yakut AKYÖN YILMAZ¹, Sibel ERGÜVEN¹

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Tıbbi Mikrobiyoloji AD; ²Gastroenteroloji BD, ANKARA;
³Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İSTANBUL

E-posta: t.unalan91@gmail.com

Amaç: *Dientamoeba fragilis* insan çekum ve kalın bağırsak lümeninde yaşayan bir protozoondur. Yaşam döngüsü ve bulaş yolları kesin olarak bilinmemektedir, ancak fekal-oral yolla bulaş ve *Enterobius vermicularis* yumurtalarıyla birlikte taşınma teoriler arasındadır. Tipik izlenen formu iki çekirdekli formudur. İki farklı genotipi gösterilmiştir ancak genotip 2'nin çok nadir görülmesi genotipler arası patojenite farklılıklarını ortaya koymayı güçleştirmektedir. *Blastocystis* türleri kolon lümeninde yaşayan ve farklı morfolojik formlara sahip enterik bir protozoondur. Bulaş yolu kistlerin fekal oral yolla alınmasıdır. Altı farklı morfolojik formu bulunmaktadır, en sık izlenen formu vakuollerdir. Patojenik potansiyeli tam olarak bilinmemektedir. Geniş bir genetik çeşitliliğe sahiptir, günümüzde 17 alt tür tanımlanmıştır. İnsanlarda en sık görülen genotip subtip 3'tür. Bu çalışmanın amacı aktif ve remisyon ülseratif kolit (ÜK) hastalarında ve irritabl bağırsak sendromu (İBS) tanısı alan hastalarda *D. fragilis* protozoonunun direk bakı, trikrom boyama ve moleküler yöntemlerle araştırılması ve genotiplerin saptanmasıdır. Ayrıca bu hastalarda eşlik eden diğer parazitler hastalıkların (*Blastocystis*, *Cryptosporidium*, *Cyclospora*, *Cystoisospora* türleri) araştırılmış ve pozitiflik saptanan *Blastocystis* türlerin subtipleri saptanmıştır.

Yöntem: Çalışmamıza 1 Nisan 2018- 31 Mart 2019 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Erişkin Gastroenteroloji Polikliniği'ne başvuran 35 İBS, 35 aktif ÜK ve 30 remisyon ÜK olmak üzere toplam 100 hasta dahil edilmiştir. ÜK aktif ve remisyon ayrımı Mayo skoruna göre yapılmıştır. Dışkı sıklığı, rektal kanama, endoskopi bulguları ve global değerlendirmeye göre yapılmış, toplam skor >2 olanlar remisyon kabul edilmiştir. İBS hastaları ise ROMA IV kriterlerine göre tanı almıştır. Hastalardan toplanan dışkıları ilk olarak lugollü taze bakı yöntemi ile incelenmiştir. Taze dışkıdan trikrom boyama yöntemi uygulanmıştır. Dışkıdan DNA ekstraksiyonu QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, ABD) kullanılarak yapılmıştır. *D. fragilis*'in moleküler olarak saptanması için 5 farklı gen bölgesi araştırılmıştır. 18S gen bölgesi konvansiyonel PCR ile, sistein peptidaz, serin peptidaz, metallopeptidaz virulans genleri ise nested PCR ile çoğaltılmıştır. Ek olarak *D. fragilis* varlığı q-PCR ile araştırılmıştır. *Blastocystis* türleri ise SSU rRNA gen bölgesi çoğaltılarak araştırılmıştır. Tüm amplikonlar sekanslanmış ve GenBank ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Taze dışkı örnekleri modifiye Kinyoun aside dirençli boyama yöntemi ile *Cryptosporidium*, *Cyclospora* ve *Cystoisospora* yönünden değerlendirilmiştir. İshali olan hastaların dışkıları SS, EMB agar ve Campy-BAP besiyerlerine ekilerek *Salmonella*, *Shigella* ve *Campylobacter* türlerinin varlığı açısından incelenmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Bulgular: *D. fragilis* lugollü taze bakı ve trikrom boyama ile 3 İBS, 1 remisyon ÜK hastasında; konvansiyonel PCR ile 3 İBS, 1 aktif ÜK hastasında; nested-PCR yöntemiyle sistein peptidaz bölgesinin çoğaltılması sonucu 4 İBS, 2 remisyon ÜK; serin peptidaz bölgesinin çoğaltılmasıyla 4 İBS, 1 aktif ÜK, 1 remisyon ÜK; metallopeptidaz bölgesinin çoğaltılmasıyla 3 İBS, 2 aktif ÜK, 1 remisyon ÜK; q-PCR yöntemiyle 4 İBS, 2 aktif ÜK, 2 remisyon ÜK hastasında saptanmıştır. Toplam 4 İBS, 2 aktif ÜK, 2 remisyon ÜK hastasında tespit edilmiştir. Tüm amplikonlar Genotip 1 olarak değerlendirilmiştir. *Blastocystis* türleri lugollü taze bakı yöntemiyle 3 İBS, 2 aktif ÜK hastasında, trikrom boyama ile 3 İBS, 3 aktif ÜK hastasında, konvansiyonel PCR ile 3 İBS, 5 aktif ÜK, 1 remisyon ÜK hastasında saptanmıştır. Toplamda 3 İBS, 5 aktif ÜK ve 1 remisyon ÜK hastasında *Blastocystis* türleri saptanmıştır. Tüm pozitif amplikonlar Subtip 3 olarak değerlendirilmiştir. Modifiye Kinyoun aside dirençli boyama yöntemiyle *Cryptosporidium*, *Cyclospora* ve *Cystoisospora* türleri saptanmamıştır. Kültürlerde *Salmonella*, *Shigella* ve *Campylobacter* türleri ürememiştir.

Sonuç: q-PCR yöntemi referans yöntem olarak alındığında; taze bakı ve trikrom boyama ve konvansiyonel PCR yöntemleriyle 4; nested PCR yöntemiyle 6; q-PCR yöntemiyle 8 hasta *D. fragilis* pozitif olarak bulunmuştur. q-PCR yöntemi referans yöntem olarak alındığında en duyarlı yöntem nested PCR (%75) olarak belirlenmiştir. q-PCR cihazına ulaşımı olmayan laboratuvarlarda nested PCR yöntemi kullanılabilir. *D. fragilis* için tüm dünyada baskın genotip Genotip 1'dir. Çalışmamızdaki hastalar da Genotip 1 olarak saptanmıştır. Bildiğimiz kadarıyla Türkiye'de *D. fragilis* genotipleriyle ilgili yayınlanmış bir çalışma bulunmamaktadır. *Blastocystis* türleri için insanlarda en sık saptanan genotip subtip 3'tür. Bizim çalışmamızda tüm hastalar subtip 3 olarak saptanmıştır. *Blastocystis* türleri 5 aktif ÜK, 1 remisyon ÜK, 3 İBS hastasında, *D. fragilis* ise 2 aktif ÜK, 2 remisyon ÜK, 4 İBS hastasında tespit edilmiştir. Bu parazitlerin İBS ve ÜK aktivasyonu etiyojisindeki yerinin saptanması için hayvan modelleri ve hücre kültürü çalışmalarına ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: *Dientamoeba fragilis*, genotip, nested-PCR, q-PCR



Amebiyazisde ELISA Sonuçlarının Mikroskopik Değerlendirme Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

Fatma ESENKAYA TAŞBENT

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, KONYA

E-posta: fesentas@hotmail.com

TAM METİN

ÖZET

Amaç: Amebiyazis, tanısında ülkemizde ve dünyada sorunlar yaşanan önemli bir paraziter hastalıktır. Bu çalışmada ELISA yöntemi ile *E. histolytica* varlığı araştırılan örneklerin, mikroskopik bakı sonuçlarıyla karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: İshal nedeniyle çeşitli kliniklerden Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Parazitoloji laboratuvarına gönderilen 201 dışkı örneği incelenmiştir. Gönderilen dışkı örnekleri ilk olarak mikroskopik konvansiyonel yöntemler ile değerlendirilmiş daha sonra tüm örneklerde ticari ELISA kiti (Techlab, *E. histolytica* II, ABD) ile *E. histolytica*'ya spesifik adezin antijeni araştırılmıştır.

Bulgular: İshal nedeniyle araştırılan 201 hastanın 104'ü (%51,7) erkek, 97'si (%48,3) bayan hastadır. Çalışmaya dahil edilen hastaların 96'sı (%47,7) 18 yaş altı çocuk hasta, 105'i (%53,3) de erişkin yaş grubu hastalardan oluşmaktadır. Gönderilen 201 örnekten 114'ünün (%56,7) mikroskopik bakısında amip kist ve/veya trofozoitleri görülmüş, ancak sadece 17 hastada (%8,4) ELISA testi ile pozitif sonuç alınmıştır.

Sonuç: *E. histolytica* tanısında mikroskopinin tek başına kullanımının yaygın olması önemli laboratuvar hatalarına yol açmaktadır. Amebiyazis tanısının mutlaka ikinci bir serolojik yöntemle doğrulanması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Amebiyazis, *E. histolytica*, ELISA

Comparison of ELISA Results with Microscopic Evaluation Results in Amebiasis

ABSTRACT

Aim: Amebiasis is an important parasitic disease in our country and in the world. The aim of this study was to evaluate the presence of *E. histolytica* by ELISA in comparison with microscopic examination results.

Method: In the study, 201 stool samples sent to Necmettin Erbakan University Meram Medical Faculty Parasitology Laboratory from various clinics due to diarrhea were examined. Stool samples were first evaluated by microscopic conventional methods and then all samples were examined by commercially available ELISA kit (Techlab, *E. histolytica* II, USA) for *E. histolytica*-specific adhesin antigen.

Results: Of the 201 patients investigated for diarrhea, 104 (51.7%) were male and 97 (48.3%) were female. Of the patients included in the study, 96 (47.7%) were children under the age of 18, and 105 (53.3%) were adults. Amoebic cysts and / or trophozoites were observed in microscopic examination of 114 (56.7%) of 201 samples, but only 17 patients (8.4%) were positive with ELISA test.

Conclusion: The widespread use of microscopy alone in the diagnosis of *E. histolytica* leads to important laboratory errors. The diagnosis of amebiasis must be confirmed by a second serological method.

Key Words: Amoebiasis, *E. histolytica*, ELISA



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

GİRİŞ

Entamoeba histolytica (*E. histolytica*)'nın etken olduğu amebiyazis dünyada ikinci sıklıkta görülen paraziter hastalık olup, Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre paraziter kaynaklı ölümler içinde, sıtma ve şistozomiyazisten sonra üçüncü sıradadır. Ülkemizde ilk kez 1900'lerin başlarında görülen parazit, insanda asemptomatik seyredildiği gibi, ağır dizanterik tablolar ya da organ apseleri gibi değişik klinik görünümle de karşımıza çıkabilir (1).

Dünyada her yıl 50 milyon insan *E. histolytica* ile enfekte olmakta ve 100 bin kadarı ölmektedir. Dünya nüfusunun yaklaşık %10'unun parazit ile enfekte olduğu düşünülürken, tropik ve subtropik bölgelerde oran artmaktadır (1-3). Enfeksiyonun prevalans oranı, kültürel alışkanlıklara, sanitasyon, kalabalığa ve sosyo-ekonomik koşullara bağlıdır. Kalabalık ve altyapısı yetersiz yerleşim yerlerinde özellikle tropikal alanlarda çok sık görülmekte olup, sanitasyon düzeyi ile ilgili yayılış göstermektedir (4, 5).

E. histolytica tarafından oluşturulan amebiyazis, sıklıkla tanısında sorunlar yaşanan önemli bir enfeksiyon hastalığı ve halk sağlığı sorunudur. Bilinen altı türü bulunmaktadır. Bu türler *E. histolytica*, *E. dispar*, *E. moshkovskii*, *E. polecki*, *E. coli* ve *E. hartmanni*'dir. Bu *Entamoeba* türlerinin her biri ve ayrıca gastrointestinal sisteme yerleşen çoğu apatojen diğer amip yapıları mikroskopik tanıda zorluğa sebep olmaktadır. İnsanlarda amebiyazis enfeksiyonunu oluşturan tek patolojik tür olarak *E. histolytica* gösterilirken, diğerleri non-patojen olarak kabul edilmektedir (1, 6).

İntestinal protozoon etkenleri arasında mikroskopik olarak tanıda hata payı en yüksek parazit *E. histolytica*'dır. Biyokimyasal, immunolojik ve moleküler genetik çalışmalar sonucunda morfolojik olarak aynı fakat genetik olarak farklı iki tür olduğu saptanmıştır. Patojen ve invaziv olan *E. histolytica* olarak adlandırılırken, noninvaziv ve apatojen olana *E. dispar* adı verilmiştir. Günümüzde, *E. histolytica* tarafından oluşturulan amebiyazis olarak bildirilen sayının %90'ının morfolojik olarak *E. histolytica*'dan ayırt edilemeyen apatojen *E. dispar* türü olduğu tahmin edilmektedir (6, 7).

Son yıllarda *E. histolytica* ve *dispar*'ın ayırıcı tanısında *E. histolytica*'ya özgü antijenlerin saptanması temeline dayanan ve devrim olarak nitelendirilen yöntemler geliştirilmiştir (8). Bu çalışmada *E. histolytica*'yı, *E. dispar*'dan ayırt eden bir ELISA kiti sonuçlarının, mikroskopik bakı sonuçlarıyla karşılaştırılarak; hem bölgeye ait gerçek prevalansın ortaya konması, hem de mikroskopik değerlendirme sonuçlarıyla karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi kliniklerinden 2019 yılı ilkbahar-yaz döneminde parazitoloji laboratuvarına gönderilen ve ELISA yöntemiyle *E. histolytica*'ya spesifik adezin antijeni araştırılan, çocuk ve erişkin toplam 201 hastaya ait sonuçlar retrospektif olarak irdelenmiştir. Gönderilen dışkı örnekleri ilk olarak mikroskopik konvansiyonel yöntemler ile değerlendirilmiştir. Nativ-lugol yöntemi için; temiz lamın bir tarafına bir damla fizyolojik su, bir tarafına da lugol solusyonu damlatılmış, plastik karıştırıcı yardımıyla dışkının değişik yerlerinden pirinç tanesi büyüklüğünde alınan dışkı lamın üzerine yayılarak homojen hale getirilmiştir. Hazırlanan preparat daha sonra mikroskopik bakıyla incelenerek *E. histolytica*'ya ait morfoloji gösteren kist ve trofozoit yapıları aranmıştır. Dışkı örnekleri daha sonra herhangi bir fiksatife konulmadan 24 saat içerisinde çalışılacaksa +4 °C'ye, daha uzun süre bekleyecekse çalışma zamanına kadar -20 °C'ye kaldırılmıştır. ELISA çalışmasında, ticari bir kit (Techlab, *E. histolytica* II, ABD) ile *E. histolytica*'ya spesifik adezin antijeni araştırılmıştır.

BULGULAR

İshal nedeniyle araştırılan 201 hastanın 104'ü (%51,7) erkek, 97'si (%48,3) bayan hastadır. Çalışmaya dahil edilen hastaların 96'sı (%47,7) 18 yaş altı çocuk hasta, 105'i (%53,3) de erişkin yaş grubu



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

hastalardan oluşmaktadır. Gönderilen 201 örnekten 114'ünün (%56,7) mikroskopik bakısında amip kist ve/veya trofozoitleri görülmüş, ancak sadece 17 hastada (%8,4) ELISA testi ile pozitif sonuç alınmıştır. ELISA testiyle *E. histolytica* açısından pozitif bulunan bu 17 hastanın 7'si, mikroskopik olarak amip kist ya da trofozoitleri görülemediği klinik şüphe ile adezin testi istenmiş hastalardan oluşmaktadır.

TARTIŞMA

Amebiyazis dünyada bölgenin sanitasyon durumuna göre %1-10 arasında değişen oranlarda rastlanmaktadır bazı bölgelerde bu oran %50'lere ulaşmaktadır. Esas olarak Orta-Güney Amerika, Afrika ve Hindistan'da yaygındır. Tropik ve ılıman tüm bölgelerde endemiktir. Gelişmekte olan ülkelerde yaşayan insanlar gelişmiş ülkelere göre daha sık ve daha erken yaşta *E. histolytica* ile enfekte olmaktadır. Türkiye'nin değişik bölgelerinde %0,4-18,4 arasında değişen oranlarda yayılımı gösterdiği bildirilmiştir. Prevelans oranlarının farklı olmasında sanitasyon şartlarının yanı sıra laboratuvarlarda kullanılan tanı yöntemlerinin farklılığı, inceleme/değerlendirme yapan kişinin deneyimi, hatta incelemede kullanılan ekipmanın (mikroskopun kalitesi) rolü vardır (4, 5).

Türkiye'de *E. histolytica* akut bağırsak amebiyazis etkeni olarak laboratuvarlardan bildirişi zorunlu bir parazittir. Standart vaka tanımına göre laboratuvarların tanı yöntemi olarak trikrom boyalı mikroskopik inceleme ve/veya *E. histolytica* özgül antijenini saptayan ELISA ve/veya PCR yöntemlerinden en az biri ile elde edilmiş sonucu rapor etmesi gerekmektedir. Öte yandan Sağlık Bakanlığına her yıl klinik laboratuvarlar tarafından yaklaşık 20 ila 30 bin arasında *E. histolytica* bildirişi yapılmaktadır. Türkiye genelindeki laboratuvarlardan 2008-2011 yıllarında bakanlığa bildirilmiş *E. histolytica* tanı sayısının yıllara göre dağılımı sırasıyla şöyledir: 32.766, 22.278, 22.404, 21.692 (3). Ülke genelinde 2012 yılında laboratuvar kapasitesinin analizi amacıyla gerçekleştirilen bir anket çalışmasında klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının (n=510) büyük kısmının (%88,7) *E. histolytica* tanısında tek başına direkt mikroskopik incelemeye dayalı sonuç verdikleri ortaya konmuştur. Çalışmada incelenen laboratuvarların 2011 yılında rapor ettikleri toplam *E. histolytica* pozitif sonuç sayısı da 36.691'dir. Sadece geçerli tekniklerle tanı koyan laboratuvarlara ait veriler esas alındığında sonuç 6.570 (%17,9) bulunmaktadır. Eğer bu sonuçlar vaka yönetimini belirliyorsa, ülke genelinde laboratuvarlara başvuran ve amebiyazis tanısı alan vakaların %80'ninin hatalı olarak amebiyazis tedavisi aldığı/almakta olduğu ileri sürülebilir (3).

Patojen olan ve olmayan türlerin ve tiplerin ayrımı tedavi ve hastalık kontrolü ile ilgili uygulamaları yakından ilgilendirdiği için bağırsak amebiyazisinin laboratuvar tanısı önem arz etmektedir. Bu çalışmada da mikroskopik bakıda %56,7 oranında amip kist ve/veya trofozoitleri görülürken, sadece bu örneklerden %8,4'ünde *E. histolytica*'ya spesifik adezin antijeni tespit edilmiştir. Ayrıca mikroskopik bakısı negatif bulunan 7 hastada adezin testi pozitif bulunmuştur. Bu durum az miktarda parazit varlığında mikroskopik bakının yanlış negatiflik verebileceğini göstermektedir.

SONUÇ

Özet olarak amebiyazis tanısında, mikroskopinin tek başına kullanımının yaygın olması önemli laboratuvar hatalarına yol açmaktadır. Çünkü tek başına mikroskopik tanı ile patojen olan *E. histolytica*'nın ayrımının yapılması mümkün değildir. Epidemiyolojik verilere göre *E. dispar*'dan daha az sıklıkta bulunan *E. histolytica* için overdiagnosis diye tanımladığımız yüksek oranlarda prevelans bildirmek gereksiz tedavi kullanımına yol açmaktadır. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu tarafından 2015 yılında yayınlanan Ulusal Mikrobiyoloji Standartları rehberine göre; *E. histolytica*/*E. dispar* ayrımının yapılamadığı durumda (ideal olarak da her iki durumda) tanı için dışkıda özgül *E. histolytica* antijenini saptayan ELISA testi kullanılması önerilmektedir (3).



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KAYNAKLAR

1. Miman Ö, Saygı G. Temel Tıbbi Parazitoloji. İstanbul Medikal Yayıncılık Bilimsel Eserler Dizisi 2018.s.42-60.
2. Yakut M, Özden A, 2008. Amip, amebiasis ve ilişkili hastalıklar. *Güncel Gastroenteroloji* 2008; 12(2): 81-97.
3. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları: Amoebiosis laboratuvar tanısı, 2015.
4. Yüksel P, Çelik DG, Güngördü Z, Ziver T, İzmirli S, Yakar H, Sarıbaş S, Aslan M, Kocazeybek B. Dışkı Örneklerinde Elisa Yöntemiyle *Entamoeba histolytica* Lektin Antijeninin Gösterilmesi: Üç Yıllık Veriler. *Klinik Derg* 2011; 24: 150-153.
5. Yazar S, Kuk S, Miman Ö, Saygı G. Saygı'nın Temel Tıbbi Parazitolojisi, Kayseri, Erciyes Üniversitesi Yayınları 2016. s. 37-50.
6. Korkmaz M, Ok ÜZ. Parazitolojide Laboratuvar. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, No:23, 2011. s. 285-291.
7. Özçelik S, Malatyalı E. Amebiyaz ve virulans faktörlerinin *Entamoeba histolytica* patogeneziindeki rolü. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2008; 65(3): 139-148.
8. Uyar Y, Taylan Özkan A. Amebiyazis, Giardiyazis ve Kriptosporidiazis Tanısında Antijen Tarama Yöntemlerinin Yeri. *Türkiye Parazit Derg* 2009; 3: 140-150.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01

SB09

29 Eylül 2019 – 16:00-17:30

Toprak Örneklerinde Saptanan Serbest Yaşayan Amiplerin Moleküler Yöntem İle Tanımlanması; Topraktaki Gizli Tehlike!

Mehmet AYKUR, Hande DAĞCI

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, Bornova, İZMİR

E-posta: mehmetaykur@gmail.com

Amaç: Serbest yaşayan amipler (SYA), toprak, su ve hava dahil olmak üzere dünyadaki çeşitli ortamlardan izole edilmiş ve doğal çevreye geniş çapta dağılmış olan protistlerdir. Bu çalışmanın amacı İzmir ilinin farklı bölgelerinden insanların ve çocukların temasının fazla olduğu yerlerden toplanan toprak örneklerinde SYA'ların kültür yöntemi ile varlığını değerlendirmek ve izolatları moleküler seviyede karakterize etmek ve insan sağlığı için potansiyel riskini değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: İzmir ilinin 11 farklı ilçesinden insan ve çocukların en fazla temasta bulunduğu yerlerden 28 toprak örneği toplanmıştır. Oyun parkı toprağı (n=14), bahçe toprağı (n=7), sahil kumu (n=4), saksı toprağı (n=2) ve tarla toprağı (n=1) örnekleri alınmıştır. Her bir örnek *E. coli* kaplanmış %2'lik Non-nutrient agar (NNA) plaklarında 30 °C'de inkübe edilmiştir. Kültürde pozitif örnekler Page'in morfolojik kriterlerine dayanarak *Acanthamoeba* pozitifliği değerlendirilmiştir. *Acanthamoeba* pozitif örneklerin patojenitelerini test etmek için osmo / termotolerans yöntemleri uygulanmıştır. NNA plaklarında SYA açısından pozitif olan bütün örnekler DNA izolasyonu yapılmıştır. Pozitif örneklerin moleküler yöntem ile tanımlama işlemi için üç farklı primer seti kullanılmıştır: SYA türlerini tanımlamak için 18S rRNA geninin ~500 bp ile 1500 bp (*Vermamoeba vermiformis*: 800 bp; *N. fowleri*: 900 bp; *Vannella sp.*, *Vahlkampfia ovis*: 950bp; *Acanthamoeba* species: from 1080 to 1500 bp) arasında ürünü hedefleyen spesifik P-FLA-F ve P-FLA-R, *Acanthamoeba*'nın spesifik 18S rRNA genin hedef alan yaklaşık ~450-500 bp ürünü hedefleyen JDP1 ve JDP2 primer seti ve *Naegleria* türlerine spesifik 5.8S rRNA genin ITS bölgesi hedef alan ~408-457 bp ürünü hedefleyen FW2 ve RV2 primer setleri kullanılmıştır.

Bulgular: Toplanan 28 toprak örneğinin 20'sinde SYA saptanmıştır. Sırasıyla oyun parkı toprağında (12/14), bahçe toprağında (3/7), sahil kumunda (3/4), saksı toprağında (1/2) ve tarla toprağında (1/1) pozitif sonuç tespit edilmiştir. Pozitif örneklerin 6'sında (21,42%) *Acanthamoeba* spp. saptanmıştır. *Acanthamoeba* spp. pozitif 6 örnek hem osmotolerans hem de termotoleransda pozitif bulunmuştur. Ayrıca *Acanthamoeba* spp. doğrulamak üzere 18S rRNA genine spesifik JDP1 ve JDP2 primer setleri ile 6 örneğin pozitifliği (5 tanesi oyun parkı toprağı, 1 tanesi saksı toprağı) doğrulanmıştır. Ayrıca 6 örnekte *Naegleria* spp. pozitif tespit edilmiştir. *Naegleria* spp. doğrulamak için 5.8S rRNA genin ITS bölgesine spesifik FW2 ve RV2 primer setleri ile 6 örnekte pozitifliği doğrulanmıştır. PCR yöntemi ile 8 örnekte *V. vermiformis* pozitif tespit edilmiştir. Oyun parkı toprağında (5/14) ve bahçe toprağında (3/7) *V. vermiformis* pozitif tespit edilmiştir.

Sonuç: Türkiye'nin üçüncü büyük şehri ve turistik tatil yeri olan İzmir'de toprak örneklerinde bildiğimiz kadarıyla yapılan kapsamlı ilk çalışma olması açısından önemlidir. İnsan aktivitelerin fazla olduğu bu yerler ve özellikle çocukların toprakla bilinçsizce teması ile birlikte saklanmış SYA'lar insan sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturabilmektedir. Bu nedenle sağlık bakanlığı ya da halk sağlığı yöneticileri tarafından SYA'lara daha fazla dikkat etmeleri gerektiğini göz önünde bulundurmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Serbest yaşayan amip, *Acanthamoeba* spp., *Naegleria* spp., *V. vermiformis*, toprak, İzmir



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01

SB10

29 Eylül 2019 – 16:00-17:30

BD MAX™ Enteric Parasite Panel Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi ve Rutin Parazitolojik İncelemeyle Karşılaştırılması

Büşra Betül ÖZMEN ÇAPIN, Sema TORTOP, Tuğçe ÜNALAN, Alpaslan ALP, Sibel ERGÜVEN

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, ANKARA

E-posta: busrabetulozmen@gmail.com

TAM METİN

ÖZET

Parazitoloji laboratuvarlarında son yıllarda rutinde kullanılan tanı yöntemlerine ek olarak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) temelli testler de kullanılmaya başlanmıştır. Hastanemizde kullanıma giren BD MAX™ Enteric Parasite Panel test sonuçları taranmış ve rutin parazitolojik inceleme sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır. Bu testin kliniklerden istemi yapılırken bir algoritma izlenmesinin daha uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Cryptosporidium*, enterik parazit paneli, *Giardia lamblia*

The Evaluation of The Results of BD MAX™ Enteric Parasite Panel Test and Comparison of Parasitological Examination

SUMMARY

In the routine parasitology laboratories, polymerase chain reaction (PCR)-based tests started to be used in addition to the routinely used diagnostic methods. BD MAX™ Enteric Parasite Panel test results were screened and compared with routine parasitological results. It was concluded that it would be more appropriate to follow an algorithm while requesting the test from clinics.

Key Words: *Cryptosporidium*, enteric parasite panel, *Giardia lamblia*

GİRİŞ

Parazitoloji laboratuvarlarında rutin olarak kullanılan tanı yöntemleri direkt bakı, çoklaştırma ve kalıcı boyama teknikleri olmakla beraber; son yıllarda moleküler yöntemler de kullanılmaya başlanmıştır. Bu çalışmanın amacı, hastanemizde 2018 yılının Ekim ayında kullanıma girmiş olan BD MAX™ Enteric Parasite Panel test sonuçlarını değerlendirmek ve bu sonuçları rutin parazitolojik inceleme (direkt bakı, çoklaştırma, trikrom ve modifiye Kinyoun boyama) sonuçlarıyla karşılaştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Laboratuvarımıza dışkı örnekleri %10 formol içeren tüp içinde gelmektedir. Gelen dışkı örneklerine direkt bakı, basit santrifügasyonla çoklaştırma ve trikrom boyama yapılmaktadır. Ayrıca *Cryptosporidium* spp. aranması istenen hasta örneklerine modifiye Kinyoun boyama yöntemi uygulanmaktadır. Moleküler laboratuvarına örnekler FecalSwab (COPAN) taşıma besiyeri içinde gelmektedir. Test, ekstraksiyon aşaması dahil olmak üzere tam otomatize sistemde çalışılmaktadır. Bu



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

test ile taze veya formalin ile fikse edilmiş dışkı örneklerinde multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemiyle kalitatif olarak üç farklı (*Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium hominis/parvum*) cinse ait enterik parazit saptanmaktadır. Bu çalışmada, Ekim 2018'de kullanıma giren moleküler enterik parazit panelinde çalışılan örneklerin test sonuçları Ağustos 2019'a kadar taranmış ve bu hastalara ait rutin parazitolojik inceleme sonuçları karşılaştırılmıştır.

BULGULAR

Ekim 2018- Ağustos 2019 tarihleri arasında hastanemizin çeşitli bölümlerinden gelen toplam 105 adet dışkı örneği enterik parazit paneli çalışılması için kabul edilmiştir. Örnekler en sık gastroenteroloji, çocuk gastroenteroloji ve pediatri bölümlerinden gelmiştir. Hem moleküler enterik parazit paneli, hem de rutin parazitolojik inceleme sonucu bulunan 62 hasta vardır. Her iki testle 55 hasta sonucu negatif saptanmıştır. Bir hastada her iki yöntemle de *G. lamblia* pozitif bulunmuştur; iki hastada ise moleküler enterik parazit paneli ile *G. lamblia* saptanmış ancak rutin incelemede tespit edilememiştir. Moleküler testle *Cryptosporidium* spp. saptanan iki hastanın rutin parazitolojik istemi olmadığı görülmüştür. Aynı tarihler arasında rutin parazitolojik inceleme için gelen hasta örneklerinde 25 hastada *G. lamblia*, bir hastada *Cryptosporidium* spp. saptanmıştır. *Entamoeba histolytica/dispar* ise hiçbir hastada bulunmamıştır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Parazitoloji laboratuvarlarında sıklıkla kullanılan tanı yöntemleri direkt bakı, çoklaştırma ve kalıcı boyama teknikleri olmakla beraber, son yıllarda bazı parazitler için immünokromatografik testler ve moleküler yöntemler de kullanılmaya başlanmıştır. Direkt mikroskopik bakının avantajları ekipman gerektirmemesi, kısa sürede sonuçlanması, kolaylıkla uygulanabilir olmasıdır. Ayrıca tüm paraziter etkenlerle birlikte lökosit, eritrosit gibi hücrelerin de değerlendirilmesini sağlar. Ancak duyarlılığı; örnek alımının uygunluğu, örnek sayısı ve incelemeyi yapan kişinin deneyiminden etkilenmektedir (1). Öte yandan moleküler enterik parazit panelinin avantajları, örnek işlenmesini gerektirmemesi, deneyimli personele ihtiyaç duyulmaması, mikroskopik bakıdan daha duyarlı ve özgül olması Kaynak ve tür ayrımı yapabilesidir. Dezavantajları ise maliyetinin yüksek olması, ekipman gerektirmesi ve tüm paraziter etkenlerin araştırılmamasıdır. Bu test oda sıcaklığında 48 saat içinde, buzdolabında ise beş gün içinde taze dışkı veya formalin ile fikse edilmiş gaita örneğiyle çalışılabilmektedir. Uygun ekipmanı olan laboratuvarlarda, özel hasta gruplarında (büyüme gelişme geriliği olan çocuklar, immünsüpresif hastalar, turist diyaresi görülen hastalar) maliyet analizi yapılarak rutin parazitolojik incelemeyi destekleyici olarak uygulanabilir.

Ulusan ve ark. tarafından yapılan on yıllık retrospektif çalışmada; *Cryptosporidium* spp. %37,4, *Giardia intestinalis* %3,9, ve *Entamoeba histolytica/dispar* %1,8 olarak saptanmıştır (2). Baştemir ve ark., beş yıllık hasta sonuçlarını taradıklarında %1,45 *G. lamblia*, %0,08 *Entamoeba histolytica/dispar* tespit etmiş, *Cryptosporidium* spp. saptanmamıştır (3).

Entamoeba histolytica ülkemizde sıklıkla yanlış tanı almaktadır. *E. histolytica* direkt bakı yöntemiyle *E. dispar* ve *E. moshkowskii* den ayırt edilememektedir. Ülkemizde farklı hasta gruplarını içeren çeşitli çalışmalarda direkt ve/veya kalıcı boyalı mikroskopik incelemeyle *E. histolytica/dispar* sıklığı %0,24- %12,45 olarak bildirilmiştir (4, 5). Çalışmamızda, belirtilen tarihler arasında her iki yöntemle de *E. histolytica* saptanmamıştır.

Giardiasis pediatrik hasta grubunda büyüme ve gelişme geriliğine yol açabilmektedir. Moleküler yöntemle üç hastada *G. lamblia* tespit edilmiş, ancak bir hasta rutin tanı yöntemleriyle de saptanabilmiştir. *G. lamblia* kistlerinin aralıklı atılımı bu durumu açıklayabilir. Hastaların tanıları, remisyonda pankreas adenokarsinomu, Bruton X agamaglobulinemisi ve malnütrisyonudur. Üç hastada da uzun süreli ishal şikayeti mevcuttur.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Cryptosporidium spp.'ye bağlı ishaller sıklıkla bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda görülmektedir. Moleküler yöntemle iki hastada *Cryptosporidium* spp. saptanmış ancak bu hastalara ait gaita örnekleri parazitoloji laboratuvarına gönderilmemiştir. Her iki hastanın diyare şikayeti mevcuttur.

Sonuç olarak, moleküler enterik parazit paneli aralıklı atılım nedeniyle rutin parazitolojik incelemede atlanan parazitlerin saptanmasında faydalı bulunmuştur. Ancak istem aşamasında bir algoritma oluşturulması gerektiği görülmüştür. Gastrointestinal sistem şikayeti olan hastalardan rutin parazitolojik inceleme için on gün içerisinde en az gün aşırı olacak şekilde üç dışkı örneği alınarak laboratuvara gönderilmesinin, sonuçların negatif gelmesi ve klinik şüphenin devamı halinde bu panelin istenmesinin daha uygun olduğu kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Doğan N, Öz Y, Koçman NÜ, Nursal AF. Bağırsak Parazitlerinin Tanısında Direkt Mikroskopik incelemedeki Bireysel Farklılıkların Karşılaştırılması. Türkiye Parazit Derg 2012; 36; 2114.
2. Uluhan Ö, Zorbozan O, Yetişmiş K, Töz S, Ünver A, Turgay N. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Direkt Tanı Laboratuvarında Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı; On Yıllık Değerlendirme. Türk Mikrobiyoloji Cem Derg 2019; 49(2); 86-91.
3. Baştemir S, Öncel K, Yereli K, Kilimcioğlu AA, Balcıoğlu C, Girginkardeşler N. Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarında 2011-2015 yılları arasında saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. Turk Mikrobiyol Cem Derg. 2016; 46(2); 76-81.
4. Usluca S, İnceboz T, Över L, Tuncay S, Yalçın G. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nde 2005-2008 yılları arasında saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. Türkiye Parazit Derg 2010; 34; 27-31.
5. Ekşi F, Doğan Y, Özdemir G, Zer Y, Bayram A, Karslıgil T. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde bir yıllık sürede gaita örneklerinde saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. Frat Tıp Dergisi 2013; 18(4);235-8.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01

SB11

29 Eylül 2019 – 16:00-17:30

İç Anadolu Yöresinde Sığırlarda *Giardia duodenalis*'in Moleküler Prevalansı ve Filogenetik Karakterizasyonu

Zuhal ÖNDER¹, Emrah ŞİMŞEK²

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, ¹Parazitoloji AD; ²Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, KAYSERİ

E-posta: zuhalbiskin@erciyes.edu.tr

Amaç: Bu çalışmada, İç Anadolu yöresindeki sığırlarda *G. duodenalis*'in moleküler olarak araştırılarak zoonotik risk potansiyellerinin belirlenmesi, saptanan izolatların genotiplendirilmesi ve filogenetik karakterizasyonlarının yapılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada 2017 ve 2019 yılları arasında Kayseri, Sivas ve Nevşehir illerinde halk elinde yetiştiriciliği yapılan farklı yaş, cinsiyet ve ırktaki sığırlardan dışkı örnekleri toplanmış ve genomik DNA (gDNA) izolasyonları yapılmıştır. *Giardia duodenalis*'in moleküler olarak belirlenmesi için duyarlılık açısından diğer gen bölgelerine göre daha hassas olan β -giardin (*bg*) gen bölgesi hedef gen olarak seçilmiş ve ilgili geni amplifiye eden spesifik primerler ile Nested PCR analizleri gerçekleştirilmiştir. *Bg* gen bölgesi PCR analizlerinde pozitif belirlenen örneklerle ait gDNA izolatlarının multilokus sekans tiplendirmesi amacıyla *gdh* ve *tpi* gen bölgeleri de spesifik primerler ile Nested PCR analizlerine tabi tutulmuştur. Tüm gen bölgeleri yönünden elde edilen toplam 50 ampikon agaroz jelden saflaştırıldıktan sonra PCR primerleri ile çift yönlü olarak sekanslanmıştır. Sekans kromotogramları De Novo Assemble üzerinden işlenerek izolatlara ait konsensüs sekanslar elde edilmiştir. İlgili sekanslar GenBank veri tabanında Blastn analizlerine tabii tutularak referans sekanslarla hizalanmış ve genotipleri belirlenmiştir. Diğer gen bölgeleri yönünden elde edilen pürifiye ampikonlar sekans analizleri için uygun koşullarda muhafaza edilmektedir.

Bulgular: Çalışmada, Kayseri, Sivas ve Nevşehir yörelerindeki sığırlardan toplanan 450 dışkı örneğinin *bg* gen bölgesinin Nested PCR analizleri sonucunda sırasıyla 39 (%26), 70 (%46,7), 27'si (%18) *G. duodenalis* yönünden pozitif belirlenmiştir. *G. duodenalis* moleküler prevalansı en yüksek %15,5 ile ≤ 1 yaş grubunda belirlenmiş bunu sırasıyla %8,9 ve %5,8 ile 1-3 yaş ve >3 yaş grupları izlemiştir. Sığırların cinsiyetine göre dişilerde %17,7, erkeklerde ise %12,4 oranında *G. duodenalis* pozitifliği saptanmıştır. Irka göre *G. duodenalis* pozitifliği en yüksek %15,5 ve %6,6 ile Holstein ve Montofon ırklarında belirlenmiş bunu %4,4 ile Simental ve %3,5 ile Melez ırkları izlemiştir. *G. duodenalis* pozitifliğinin yaş, cinsiyet ve ırka göre istatistiksel analizinde önemli bir farklılık ($p > 0,05$) belirlenmemiştir. Araştırma yörelerine göre seçilen 50 adet jel pürifiye ampikonların sekanslanması sonucu elde edilen kromotogramlardan PCR primerleri trimlenmiş ve DeNovo analizleri ile tüm izolatlar için 492 bp *bg* konsensüs sekansları elde edilmiştir. Konsensüs sekansların haplotip ve hizalama analizlerinde 4 adet *G. duodenalis* haplotipinin (GduoTR1-4) varlığı belirlenmiş olup bunlar arasında en yaygın haplotip GduoTR1 bulunmuştur. GduoTR1-3 haplotiplerine ait sekansların hizalama analizlerinde birbirlerine yakın oldukları ve %0,2-0,6 genetik farklılık gösterdikleri belirlenmiştir. Referans sekanslarla yapılan hizalama analizlerinde her üç haplotipin sığırlarda karakterize edilmiş olan ve *G. duodenalis* Assamblage E'de yer alan bazı haplotiplerle identik oldukları görülmüş ve genotiplendirmeleri



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

yapılmıştır. Araştırmada toplam 7 sığırdaki karakterize edilmiş olan GduoTR4 izolatının ise yeni bir haplotip olduğu ve referans sekanslarla yapılan hizalama analizleri sonucu zoonotik Assamblage A'da yer aldığı tespit edilmiştir. GduoTR4 ve GduoTR1-3 haplotipleri arasında %5,2-5,9 genetik farklılık belirlenmiştir.

Sonuç: Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSA-2017-7798 kod numarasıyla desteklenen bu çalışma ile İç Anadolu Yöresinde sığırlarda enfeksiyona neden olan *G. duodenalis* genotipleri üzerine özgün veriler sağlanmıştır. Araştırma sonuçları sığırlarda giardiosis enfeksiyonlarının yaygın olduğunu ve yöredeki parazit popülasyonlarının içermiş olduğu zoonotik genotiplerle birlikte hayvanların yanında insan sağlığı açısından da risk oluşturduğunu ortaya çıkarmıştır. Türkiye'de giardiosis'in moleküler epidemiyolojisinin aydınlatılması noktasında insan ve farklı hayvan konaklar üzerinde geniş kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: β -giardin, genotiplendirme, *Giardia duodenalis*, moleküler karakterizasyon



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02

30 Eylül 2019 – 11:30 – 12:30

Oturum Başkanları: A. Yüksel GÜRÜZ / Sami ŞİMŞEK

SB12. Aydın İlinde İzole Edilen *Trichomonas vaginalis* İzolatlarının Multilokus Sekans Tiplendirme (MLST) Yöntemi İle Genotiplendirilmesi

Erdoğan MALATYALI, Özgür GÜÇLÜ, İbrahim YILDIZ, Sema ERTUĞ, Hatice ERTABAKLAR

SB13. Cinnamaldehyde, Carvacrol ve Thymol'ün Anti-Trichomonial Etkinliği ve Metronidazol ile Sinerjisinin Checkerboard Yöntemi ile Araştırılması

Yener ÖZEL, İbrahim ÇAVUŞ, Gülhan VARDAR ÜNLÜ, Mehmet ÜNLÜ, Ahmet ÖZBİLGİN

SB14. *Trichomonas vaginalis*'e Karşı Yeni Aktif Biyomoleküller: Böcek Patojeni Bakteriler

Evren TİLEKLİOĞLU, Selçuk HAZIR, Şebnem Hazal GÜLŞEN, Harun ÇİMEN, Sema ERTUĞ, Derya ULUĞ, Canan HAZIR, Helge B. BODE, Duygu KAYA BİLECENOĞLU⁵, Hatice ERTABAKLAR1

SB15. Aydın Bölgesindeki Parklarda Mikroskopik ve Moleküler Yöntemlerle Zoonoz Helmintlerin Yaygınlığının Belirlenmesi

Tayfun ŞAHİN, Süleyman AYPAK, Hüseyin Bilgin BİLGİÇ

SB16. Sivas'ta Akarsu Çevresinden Toplanan Yumuşakçalarda Trematod Larval Dönemlerinin Araştırılması

Fatih AKYILDIZ, Serpil DEĞERLİ, Necati ÖZPINAR

SB17. Ruminantlardan Toplanan *Dicrocoelium dendriticum* İzolatlarının Ribozomal DNA'larının Genetik Karakterizasyonu ve Filogenetik İlişkilerinin Araştırılması

Cenk Soner BÖLÜKBAŞ, Gökmen Zafer PEKMEZCİ, Ali Tümay GÜRLER, Mustafa AÇICI, Şinasi UMUR

SB18. *Viscum album l. ssp. austriacum* (WİESP.) VOLLMAN Alt Türünün Gövde Ethanol ve Etil Asetat Ekstraktlarının *Caenorhabditis elegans* Bireyleri Üzerinde Antihelmintik Etkisinin Araştırılması

Necati ÖZPINAR, Reyhan ÖZDEMİR, Hülya ÖZPINAR

SB19. Kırıkkale İli Merkez Mezbahasında Kesimi Yapılan Hayvanların Karaciğerlerinde Bulunan Parazitler ve Ekonomik Önemi

Mehmet DOĞAN, **Aycan Nuriye GAZYAĞCI**



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02

SB12

30 Eylül 2019 – 11:30-12:30

Aydın İlinde İzole Edilen *Trichomonas vaginalis* İzolatlarının Multilokus Sekans Tiplendirme (MLST) Yöntemi İle Genotiplendirilmesi

Erdoğan MALATYALI¹, Özgür GÜÇLÜ², İbrahim YILDIZ¹, Sema ERTUĞ¹, Hatice ERTABAKLAR¹

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, ¹Tıbbi Parazitoloji AD; ²Sultanhisar MYO, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, AYDIN

E-posta: erdogan.malatyali@adu.edu.tr

TAM METİN

ÖZET

Amaç: *Trichomonas vaginalis* ürogenital yerleşimli, kamçılı, anaerobik bir protozoon parazit olup virüslerden sonra en yaygın görülen cinsel yolla bulaşan patojen olarak bildirilmektedir. Bu çalışmada Aydın ilinde izole edilen *T. vaginalis* izolatlarının multilokus sekans tiplendirme (MLST) yöntemi kullanılarak genotiplendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışma kapsamında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarında saklanan *T. vaginalis* DNA'ları kullanılmıştır. Daha önceki çalışmalarda belirlenen MLST lokusları polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılarak sekanslanmış ve sekans tipleri (ST) belirlenmiştir. Bu aşamadan sonra literatürdeki ve veri tabanındaki diğer *T. vaginalis* MLST sekansları birlikte değerlendirilerek *T. vaginalis* izolatları arasındaki genetik uzaklıklar belirlenmiştir.

Bulgular: Çalışma kapsamında 25 farklı *T. vaginalis* izolatının sekans tipleri belirlenmiştir. Veri tabanındaki sekanslar ile karşılaştırıldığında bir tane yeni allel tipi ve 16 tane yeni sekans tipi belirlenmiştir. Literatürde yer alan MLST genotipleri ve bu çalışmadakiler birlikte değerlendirildiğinde izolatların iki genotip grubuna ayrıldığı saptanmıştır.

Sonuç: Bu çalışma ile Türkiye'de *T. vaginalis* izolatlarının genetik çeşitliliği ilk kez MLST yöntemiyle belirlenmiştir. Aydın'daki izolatlar arasında da genetik çeşitliliğin yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca farklı ülkelerden MLST gen sekanslarının birlikte değerlendirilmesi *T. vaginalis* izolatları arasındaki genetik ilişkinin ortaya konulmasına imkan sağlamıştır.

Anahtar kelimeler: *T. vaginalis*, MLST, genotip

Genotyping of *Trichomonas vaginalis* Strains Isolated in Aydın Province Using Multilocus Microsatellite Typing Technique

ABSTRACT

Aim: *Trichomonas vaginalis* is an anaerobic urogenital protozoan parasite and is the most common sexually transmitted pathogen following viruses. In this study, it was aimed to determine genotypes of *T. vaginalis* isolates isolated from Aydın by using multilocus sequence typing (MLST).

Methods: In this study, we used *T. vaginalis* DNAs stored in Aydın Adnan Menderes University Faculty of Medicine Parasitology Laboratory. The MLST loci that were identified in previous studies were



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

amplified by polymerase chain reaction (PCR) and sequenced and sequence types (ST) were determined. In the following step, genetic distances between *T. vaginalis* isolates from our study and in the literature were determined by evaluating *T. vaginalis* MLST sequences.

Results: Sequence types of 25 different *T. vaginalis* isolates were determined. One new allele type and 16 new sequence types were identified after compared to the sequences in the database. When MLST genotypes and literature in this study were evaluated together, it was found that isolates were divided into two genotype groups.

Conclusion: The genetic diversity of *T. vaginalis* isolates were identified by this study for the first time in Turkey with MLST method. Among the isolates from Aydın, genetic diversity was found to be high. In addition, MLST gene sequences from different countries have been evaluated together, allowing the genetic association between *T. vaginalis* isolates.

Key Words: *Trichomonas vaginalis*, MLST, genotype

GİRİŞ

Trichomonas vaginalis (*T. vaginalis*) yalnızca trofozoit formu bulunan ürogenital yerleşimli patojenik bir protozoon parazittir. Son çalışmalar *T. vaginalis* enfeksiyonunda gelişen epitel hasarının konak-parazit etkileşimi, vajen florası ve eşlik eden diğer enfeksiyonlar ile ilişkili karmaşık bir fenomen olduğunu ortaya koymuştur (1). Hem kadınlarda hem de erkeklerde *T. vaginalis* enfeksiyonu büyük oranda asemptomatik seyretmektedir. Semptomatik kadın olgularda genellikle akıntılı bir vajinit ve servisit tablosu gelişmektedir. Bununla birlikte *T. vaginalis* enfeksiyonunun başta İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV) olmak üzere diğer cinsel yolla bulaşan enfeksiyonların bulaş riskini artırdığı ve doğumsal anomalilere neden olabildiği de bildirilmektedir (2,3). Küresel bir yayılım gösteren bu enfeksiyon virüslerin ardından en sık rastlanılan cinsel yolla bulaşan patojen olarak rapor edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü raporuna göre her yıl 153 milyon yeni trichomoniasis vakası tespit edilmektedir. Bunun yanı sıra *T. vaginalis* prevelansının asemptomatik enfeksiyonların göz ardı edilmesi ve duyarlılığı düşük yöntemlerin kullanılmasına bağlı olarak tahmin edilenden daha yüksek olduğu düşünülmektedir. Trichomoniasis tedavisinde tercih edilen ilaçların başında 5-nitroimidazol türevi olan mertronidazol gelmektedir (4). Ancak bu ilaca karşı dirençli izolatların varlığı hem in vivo hem de in vitro çalışmalar ile gösterilmiştir.

Ülkemizde *T. vaginalis* prevelansının araştırıldığı çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Ancak bu çalışmalarda kullanılan yöntemler ve çalışma grupları birbirinden oldukça farklılık göstermektedir. Bu çalışmalara direkt mikroskopik inceleme ve kültür yöntemleri en sık tercih sıklıkla tercih edilmiştir. Bunların yanı sıra tanıda moleküler yöntemlerinde kullanıldığı çalışmalar yer almaktadır (5). *Trichomonas vaginalis* izolatlarının moleküler epidemiyolojisi konusunda dünya genelinde ve ülkemizde yeterli veri bulunmamaktadır. Önceki çalışmalarda ribozomal, internal transcribed sekansların, tekrar bölgeleri izolatların genotiplendirilmesinde kullanılmıştır. Genotipler ile bazı fenotipik karakterler arasında ilişki kurulmuş olmakla birlikte bu konudaki çalışmalar tatmin edici olmaktan uzaktır.

Türkiye’de *T. vaginalis*’in MLST yöntemiyle genotiplendirilmesi günümüze kadar yapılmamıştır. Bu çalışma ile ülkemizden elde edilen *T. vaginalis* suşlarının MLST yöntemiyle genotiplendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Trichomonas vaginalis DNA örnekleri

Proje kapsamında yeni örnek toplanmayacak, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarında kadın olgulardan elde edilmiş toplam 42 adet *T. vaginalis* DNA’sı kullanılmıştır. Bu



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

DNA'lar Triptikaz Maya Özütü (TYM) besiyerinde çoğaltılan *T. vaginalis* izolatlarından ticari bir kit ile izole edilmiştir. Çalışma için Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulundan onay alınmıştır (Prot. No. 2018/1370).

MLST gen bölgelerinin çoğaltılması

Günümüze kadar gerçekleştirilen çalışmalarda *T. vaginalis* türüne ait toplam 7 house-keeping gen [Tryptophanase (P1), Glutaminase (p3), Family T2 aparaginase-like threonine peptidase (P6), Alanyl tRNA synthetase (P8), DNA mismatch repair protein (P13), Serine hydroxymethyl transferase (P14), Mannose 6-phosphate isomerase (P16)] MLST analizi için kullanılmaktadır (6).

Bu genlerin çoğaltılması için kullanılacak primer setleri, gen uzunlukları ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılan gen bölgesi uzunlukları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. *Trichomonas vaginalis* MLST'de kullanılan genler ve primer setleri

MLST Lokusu	Yön	Primerler (5' - 3')	Uzunluk
Tryptophanase (P1)	Forward	CGTCAACATCGGTGGCTTCA	489
	Reverse	GCGACAGCGACGACATTCAT	
Glutaminase (P3)	Forward	GTGCCATTACAACAGCATCG	451
	Reverse	CCAAGTATAGCTCCGCTGAC	
Family T2 aparaginase-like threonine peptidase (P6)	Forward	GAACAGGAGCACCAGCAGAA	412
	Reverse	TCTCTAGCAACGCAGCCAAC	
Alanyl tRNA synthetase (P8)	Forward	TCTGTCCAGGATGGTGTCTT	494
	Reverse	ACGCCTTCCTCCTTCATCTT	
DNA mismatch repair protein (P13)	Forward	TCATCGGCCAATGGAACCAA	491
	Reverse	TCCGTGCGGACAATTCCAAG	
Serine hydroxymethyltransferase (P14)	Forward	GCTGAGTGACGGTGGACATT	449
	Reverse	GAAGATGAGGTCCTCCTTGA	
Mannose 6-phosphate isomerase (P16)	Forward	AGCCAGTTGGCTTCTGAGTT	459
	Reverse	AACAATCCGCAAGCTGGAG	

Polimeraz Zincir Reaksiyonu için hazırlanan karışımlar toplam hacim 50 µl olacak şekilde: 100 ng template DNA, 2,5/5 mM dNTP, 1,5 mM MgCl₂, 0,50/0,75 µM primer, 0,5-1,0 unit Taq DNA polimeraz. Bu genlerin PCR ile çoğaltılması 94 °C 90 sn. başlangıç denatürasyonu, 40 döngü 93 °C 1 dk. denatürasyon, 55 °C 1 dk. Hibridizasyon, 72 °C 1,5 dk. uzama ve 72 °C 10 dk son uzama olarak yapılmıştır (6). Elde edilen ampliconlar ticari bir firma aracılığıyla dizileme analizi yapılmıştır.

Sekans tiplerinin belirlenmesi

Trichomonas vaginalis'e ait house-keeping genlerinin DNA dizi setlerinin hizalanması BioEdit 7.0.9 ile gerekli düzeltmeler ise gözle yapılmıştır. Elde edilen her bir izolata ait house-keeping gen <https://pubmlst.org/tvaginalis> adresinde taranarak bu gene ait DNA sekansının hali hazırda herhangi bir numarayla tiplendirilip tiplendirilmediği kontrol edilmiştir. Mevcut tiplere uymayanlara yeni allel veya tip numarası verilmiştir.

Genetik uzaklıkların belirlenmesi

Veri tabanındaki (<https://pubmlst.org/tvaginalis>) izolatların sekans tipleri/MLST profilleri ile bizim bu çalışmada elde ettiklerimiz karşılaştırılmıştır. Öncelikle literatürdeki ve pubmlst.org/tvaginalis



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

adresindeki allel sekansları indirilmiştir. Her bir izolat için bu 7 genin DNA dizileri arka arkaya eklenerek tek bir DNA sekansı haline getirilerek analizler yapılmıştır. Bu şekilde elde edilen sekanslar ve bu çalışmada elde edilenler arasında genetik uzaklık analizi Neighbour Joining methodu ile yapılmıştır.

BULGULAR

Çalışmada daha önce tanımlanmamış bir tane allel tipi ve 16 tane sekans tipi tanımlanmıştır. Elde edilen yeni sekans tipleri [Tablo 2](#)'de verilmiştir. Çalışmada elde edilen sekanslar ve literatürdeki sekansların karşılaştırılması [Şekil 1](#)'de verilmiştir.

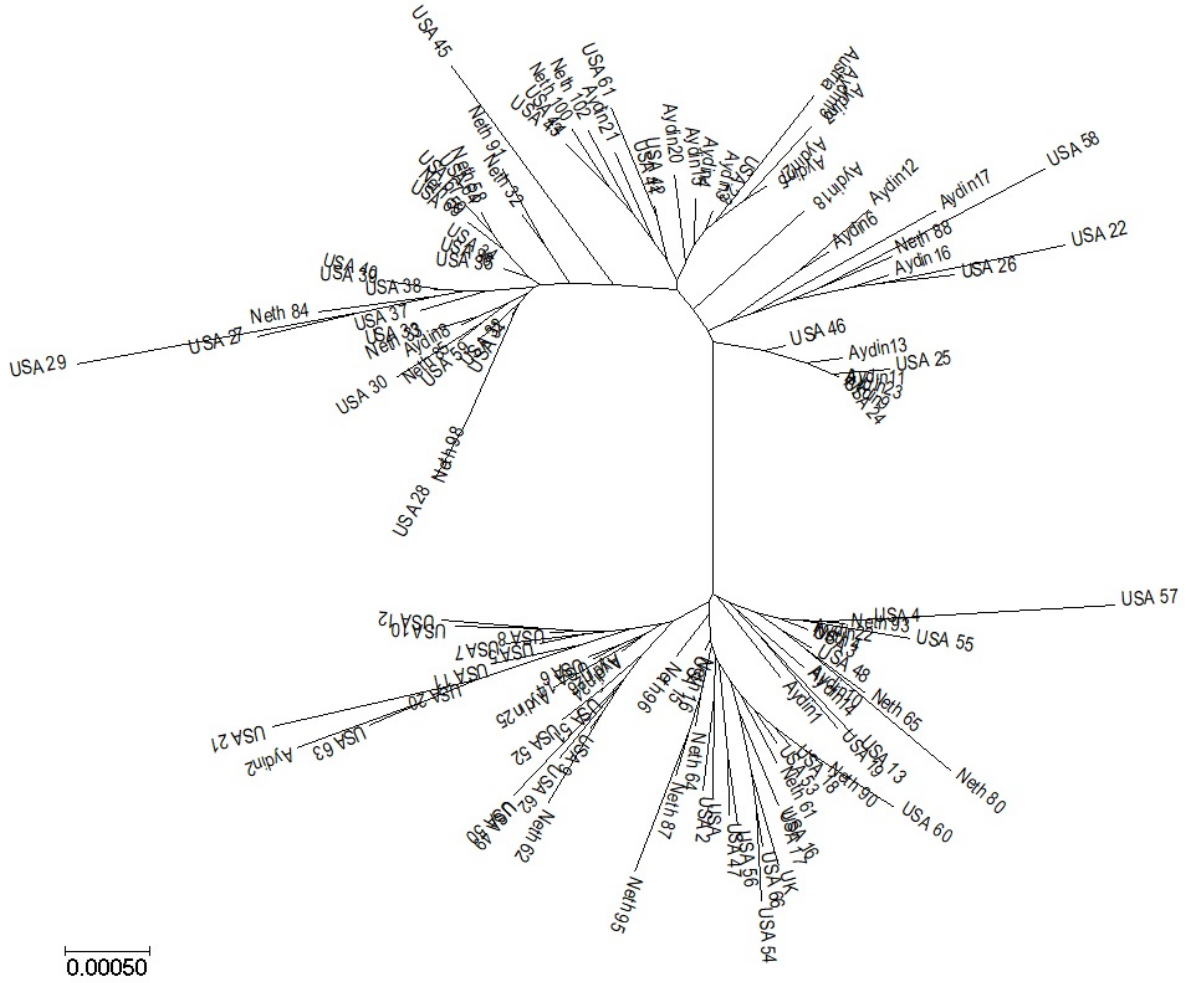
Tablo 2. Çalışmada belirlenen sekans tipleri

İzolat No	ALTS	DMRP	FT2A	GLUT	M6PI	SHMT	TRYP	ST
1	4	2	1	1	2	1	1	Y1
2	15	5	6	1	2	2	1	Y2
3	4	5	1	3	2	1	1	23
4	2	5	1	3	2	1	1	Y3
5	4	5	1	3	2	1	5	Y4
6	9	2	1	3	1	1	1	Y5
7	4	5	1	3	1	2	5	Y6
8	4	5	6	3	2	2	1	Y7
9	4	6	1	3	2	1	1	24
10	4	4	1	1	1	1	1	Y8
11	4	6	1	3	2	1	1	24
12	9	2	1	4	1	2	1	2
13	4	2	1	3	2	1	1	Y9
14	4	4	1	1	1	1	1	Y8
15	2	5	1	3	2	1	1	Y3
16	1	5	1	3	2	1	1	Y10
17	12	3	1	3	2	1	2	Y11
18	2	8	1	4	2	1	1	Y12
19	4	5	1	3	1	2	5	Y6
20	2	5	1	4	1	1	1	Y13
21	11	5	1	4	2	1	5	Y14
22	9	4	1	1	2	1	1	Y15
23	2	4	1	1	2	1	5	Y16
24	9	4	1	1	2	1	1	Y15
25	4	5	1	3	2	1	5	Y4

TARTIŞMA

Çalışmamızda 25 izolatın MLST tipleri araştırıldığında 16 tane yeni sekans tipi tanımlanmış olup bu sonuç genetik çeşitliliğin yüksek olduğunu göstermektedir. Ülkemizde *T. vaginalis* genotiplendirilmesi konusunda ulaşılabildiği kadarıyla iki araştırmaya rastlanmıştır. Bunlardan ilkinde *T. vaginalis* izolatları aktin gen polimorfizmlerine göre RFLP ile genotiplendirilmiş olup en yaygın Genotip E saptanmıştır (7). Diğer yayında ise 18S rRNA-DNA sekans analizi sonucu 5-TV1G ve 13-TV1G olmak üzere iki farklı genotip tanımlanmıştır (8). MLST yöntemi, *T. vaginalis*'in moleküler epidemiyolojisi ve populasyon yapısının daha

iyi anlaşılması amacıyla geliştirilmiş olup bu yöntemin epidemiyolojik olarak ilişkili izolatların belirlenmesinde ve eşler-çiftler arasındaki bulaşın açıklanmasında faydalı olacağı ortaya konmuştur. Araştırmacılar yedi tane tek kopyalı house-keeping gen izolatlarının bu yöntemle genotiplendirilmesi için kullanılmıştır. Toplam 68 *T. vaginalis* izolatını kapsayan bu çalışmada: 60 sekans tipi, 42 polimorfik nükleotit bölgesi, 51 farklı allel saptanmıştır. Popülasyon genetikleri ve filogenetik analizleri sonucu *T. vaginalis* popülasyon yapısının rekombinasyondan yoğun bir şekilde etkilendiği ve nonklonal karakterde iki popülasyondan meydana geldikleri ortaya konulmuştur.



Şekil 1. Tüm izolatların birlikte değerlendirilmesi. Evrimsel uzaklıklar MEGA7 programında Tajima-Nei metodu ile hesaplanmıştır.

İngiltere’de 23 *T. vaginalis* izolatını MLST ile genotiplendirmiş sonuç olarak: 23 polimorfik nükleotit bölgesi, 25 farklı allel ve 19 sekans tipi saptamışlardır (9). Hollanda’da yapılan çalışmada 69 farklı olguya ait 71 izolatın MLST genotiplerini ve farklı parametrelerle ilişkisini araştırdıkları çalışmalarında ilk MLST çalışmasında olduğu gibi örneklerin iki popülasyon yapısına ayrıldığını ortaya koymuşlardır. İzolatların %60’ı genotip I olarak tanımlanırken geri kalanı da genotip II olarak tanımlanmıştır. Ayrıca araştırmacılar genotipler ile cinsiyet, yaş, etnik köken, ürogenital akıntı ve ikincil bir cinsel yolla bulaşan enfeksiyon varlığı arasında bir ilişki bulunmadığını bildirmişlerdir (10).



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Çalışmamızda *T. vaginalis* izolatları arasında genetik çeşitliliğin yüksek olduğu saptanmıştır. Aydın ilinde turizm faaliyetlerinin ve dolayısıyla insan hareketliliğinin fazla olmasına bağlı olarak bu sonucun ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 118S843 nolu proje ile desteklenmektedir.

KAYNAKLAR

1. Edwards T, Burke P, Smalley H, Hobbs G. *Trichomonas vaginalis*: Clinical relevance, pathogenicity and diagnosis. *Crit Rev Microbiol* 2016; 42(3), 406-417.
2. Fichorova RN. Impact of *Trichomonas vaginalis* infection on innate immune responses and reproductive outcome. *J Rep Immunol* 2009; 83, 185-189.
3. Shafir SC, Sorvillo FJ, Smith L. Current issues and considerations regarding trichomoniasis and human immunodeficiency virus in African-Americans. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22, 37-45.
4. Kissinger P. *Trichomonas vaginalis*: a review of epidemiologic, clinical and treatment issues. *BMC Inf Dis* 2015; 15, 307.
5. Ertabaklar H, Caner A, Döşkaya M, Demirtaş LO, Töz SO, Ertuğ S, Gürüz Y. Comparison of polymerase chain reaction with wet mount and culture methods for the diagnosis of trichomoniasis. *T Parazitol Derg* 2011; 35(1), 1-5.
6. Cornelius DC, Robinson DA, Muzny CA, Mena LA, Aanensen DM, Lushbaugh WB, Meade JC. Genetic characterization of *Trichomonas vaginalis* isolates by use of multilocus sequence typing. *J Clin Microbiol* 2012; 50(10), 3293-3300.
7. Demirağ S, Malatyali E, Ertuğ S, Ertabaklar H. Determination of *Trichomonas vaginalis* genotypes using PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP). *T Parazitol Derg* 2016; 41(4), 188-191.
8. Koltaş İS, Inceboz T, Inceboz U, Evyapan G, Derici Y. Molecular identification and DNA sequencing of *Trichomonas vaginalis* strains from agean region of Turkey. *Trop Biomed* 2017; 34, 66-71.
9. Hawksworth J, Levy M, Smale C, Cheung D, Whittle A, Longhurst D, Muir P, Gibson W. Population structure and genetic diversity of the parasite *Trichomonas vaginalis* in Bristol, UK. *Inf Gene and Evol* 2015; 34, 36-43.
10. Van der Veer C, Himschoot M, Bruisten SM. Multilocus sequence typing of *Trichomonas vaginalis* clinical samples from Amsterdam, the Netherlands. *Brit Med J* 2016; 6, e013997.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02

SB13

30 Eylül 2019 – 11:30-12:30

Cinnamaldehyde, Carvacrol ve Thymol'ün Anti-Trichomonal Etkinliği ve Metronidazol ile Sinerjisinin Checkerboard Yöntemi ile Araştırılması

Yener ÖZEL¹, İbrahim ÇAVUŞ², Gülhan VARDAR ÜNLÜ¹, Mehmet ÜNLÜ¹, Ahmet ÖZBİLGİN²

¹Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, BALIKESİR;

²Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA

E-posta: yener_ozel@hotmail.com

TAM METİN

ÖZET

Amaç: *Trichomonas vaginalis* genellikle kadınlarda enfeksiyona neden olan ve cinsel yolla bulaşan bir protozoon parazittir. Parazitin neden olduğu hastalığın tedavisinde ilk tercih olarak metronidazol kullanılmaktadır ancak 1980 yılından sonra artan sayılarda direnç gelişiminin rapor edilmesi ile yeni ilaç arayışlarına ihtiyaç duyulmuştur. Bu çalışmada, *Cinnamomum zeylanicum* (tarçın) ve *Thymus vulgaris* (kekik) uçucu yağlarının majör bileşenleri olan cinnamaldehyde, carvacrol ve thymol'ün metronidazol dirençli ve duyarlı *T. vaginalis* kökenlerine karşı anti-trichomonal etkinliğinin belirlenmesi ve metronidazol ile etkileşiminin checkerboard (dama tahtası) yöntemi ile gösterilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada kullanılan cinnamaldehyde, carvacrol, thymol ve metronidazol'ün saf formları ticari olarak temin edilmiştir. Çalışmada, iki klinik izolat ve bir adet metronidazol dirençli *T. vaginalis* standart (ATCC 50143) suşu kullanılmıştır. Uçucu yağ bileşenlerinin ve metronidazolün MİK50 ve MLK (minimum letal konsantrasyonu) değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi, metronidazol ile kombinasyonu ise checkerboard (dama tahtası) yöntemi ile saptanmıştır. Tüm çalışmalar bağımsız günlerde 3 kez tekrarlanmıştır.

Bulgular: *In vitro* etkinlik testlerine göre, en etkili uçucu yağ bileşeninin cinnamaldehyde olduğu tespit edildi. Klinik izolatların metronidazole duyarlı olduğu saptandı. Checkerboard yöntemi ile yapılan kombinasyon çalışması değerlendirildiğinde, cinnamaldehyde ve carvacrol'ün metronidazol ile kombinasyonunda sinerji, thymol'ün metronidazol ile kombinasyonunda ise kısmi sinerji görüldü.

Sonuç: Yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bilinen cinnamaldehyde, carvacrol ve thymol'ün *T. vaginalis* izolatlarına karşı güçlü aktiviteye sahip olduğu tespit edildi. Ek olarak, uçucu yağ bileşenlerinin metronidazol ile kombinasyonunda sinerjik etkileşimler tespit edildi. Fitokimyasalların hem bireysel aktivitesinin hem de mevcut ilaçlarla kombinasyonlarının araştırılması, ilaç direnci ile mücadeleye yönelik çalışmalara katkıda bulunabilir.

Anahtar Kelimeler: *T. vaginalis*, cinnamaldehyde, carvacrol, thymol, metronidazol, checkerboard, sinerji



Investigation of Anti-Trichomonal Activity and Synergy with Metronidazole of Cinnamaldehyde, Carvacrol and Thymol with Checkerboard

SUMMARY

Aim: *Trichomonas vaginalis* is a sexually transmitted protozoan parasite that usually causes infections in women. Metronidazole is used as the first choice in the treatment of this parasitic disease, but there is a need for new drugs since 1980's with increasing numbers of reported resistance. In this study, it was aimed to determine the anti-trichomonal activity of the major components of *Cinnamomum zeylanicum* (cinnamon) and *Thymus vulgaris* (thyme) essential oils, cinnamaldehyde, carvacrol and thymol against metronidazole resistant and susceptible *T. vaginalis* strains, and to determine their interaction with metronidazole by checkerboard method.

Method: Cinnamaldehyde, carvacrol, thymol and metronidazole were obtained commercially. Two clinical isolates and one metronidazole resistant *T. vaginalis* standard strain (ATCC 50143) were used in the study. MIK50 and MLK (minimum lethal concentration) values of essential oil components and metronidazole were determined by broth microdilution method. The combinations of essential oil components with metronidazole were determined by the checkerboard method. All studies were repeated three times on separate days.

Results: According to *in vitro* activity tests, cinnamaldehyde was determined to be most effective essential oil component. Clinical isolates were susceptible to metronidazole. In combination study, metronidazole showed synergy with cinnamaldehyde and carvacrol, and partial synergy with thymol.

Conclusion: Cinnamaldehyde, carvacrol and thymol, with documented high antimicrobial activity were detected to have strong activity against *T. vaginalis* isolates. In addition, synergistic interactions were detected in the combination of essential oil components with metronidazole. Investigation of both individual activity and combinations of phytochemicals with existing drugs may contribute to the studies which aim to combat drug resistance.

Key Words: Checkerboard, cinnamaldehyde, carvacrol, metronidazole, synergy, thymol, *T. vaginalis*

GİRİŞ

Trichomonas vaginalis genellikle kadınlarda enfeksiyona neden olan ve cinsel yolla bulaşan bir protozoon parazittir. Parazitin sebep olduğu hastalık dünyada yaklaşık 250 milyon insanı etkilemektedir (1, 2). *T. vaginalis* kadınların %10-50'sinde asemptomatik seyrederken (3) semptomatik olgularda vaginal akıntı, vulvovaginal ağrı ve dizüri şeklinde klinik bulgular göstermektedir (1). Enfeksiyon erkeklerde sıklıkla asemptomatik olarak seyreder (4). Parazitin neden olduğu hastalığın tedavisinde ilk tercih olarak metronidazol kullanılmaktadır ancak 1980 yılında sonra artan sayılarda direnç gelişiminin rapor edilmesi ile yeni ilaç arayışlarına ihtiyaç duyulmuştur. Son yıllarda fitokimyasallar olarak adlandırılan ve bitkilerden elde edilen doğal aktif bileşenler, güçlü antimikrobiyal etkilerinin keşfedilmesi ile ilgi odağı haline gelmiştir (5, 6). Bu çalışmada, *Cinnamomum zeylanicum* (tarçın) ve *Thymus vulgaris* (kekik) uçucu yağlarının majör bileşenleri olan cinnamaldehyde, carvacrol ve thymol'ün metronidazol dirençli ve duyarlı *T. vaginalis* kökenlerine karşı anti-trichomonal etkinliklerinin ve metronidazol ile sinerjik etkileşimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

GEREÇ VE YÖNTEM

Uçucu yağ bileşenleri ve parazit suşları

Çalışmada kullanılan cinnamaldehyde, carvacrol, thymol ve metronidazol'un saf formları ticari olarak (Sigma) temin edilmiştir. Çalışmada, iki klinik izolat ve bir adet metronidazol dirençli *T. vaginalis* standart (ATCC 50143) suşu kullanılmıştır. Klinik izolatlar laboratuvarımıza gönderilen vajen sürüntülerinden TYM (tripticase yeast-extract maltoz) besiyerine ekilerek üretilmiş ve logaritmik faza girinceye kadar alt kültürleri yapılmıştır (7). Metronidazol dirençli *T. vaginalis* standart (ATCC 50143) suşu Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı bünyesinde bulunan parazit bankasından temin edilmiştir.

In vitro ilaç tarama testleri

Tüm izolatlar için, fitokimyasalların ve metronidazolün MİK50 ve MLK (minimum letal konsantrasyonu) değerleri *in vitro* olarak 96 kuyucuklu mikrolakalarda sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptanmıştır (8). Fitokimyasallar için dilüsyon aralığı, 1600-0,9 µg/ml, metronidazol için ise 12500-3 µM aralığında olacak şekilde hazırlanmıştır. Negatif kontrol hariç her kuyucuğa 5x10³ parazit/ml *T. vaginalis* trofozoitleri eklenmiştir. Mikrolakalar 37°C'de 72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda *T. vaginalis* trofozoitlerinin canlılığı ve hareketliliği sayma kamarası kullanılarak ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir.

Checkerboard (dama tahtası) kombinasyon testi

Her bir fitokimyasalın metronidazol ile kombinasyonu checkerboard (dama tahtası) yöntemi ile metronidazol dirençli *T. vaginalis* standart (ATCC 50143) suşuna karşı araştırılmıştır (9). Fitokimyasalların metronidazol ile kombinasyonunun belirlenmesi için 96 kuyucuklu iki mikrolaka kullanılmıştır. Birinci mikrolakada fitokimyasalların yukarıdan aşağıya, ikinci mikrolakada ise metronidazolün sağdan sola seri dilüsyonları yapılmıştır. İkinci mikrolakadaki seri dilüsyonlar kendine karşılık gelen birinci mikrolakadaki kuyucuklara aktararak her iki maddenin tüm kombinasyonlarının bulunduğu kuyucuklar elde edilmiştir. Negatif kontrol hariç her kuyucuğa 5x10³ parazit/ml *T. vaginalis* trofozoitleri eklenmiştir. Plaklar 37°C'de 72 saat inkübe edilmiş ve *T. vaginalis* trofozoitlerinin canlılığı ve hareketliliği ışık mikroskopunda değerlendirilerek FİKİ (fraksiyonel inhibitör konsantrasyon indeksi) değerleri hesaplanmıştır. Etkileşimler, saptanan FİKİ değeri < 0,5 ise sinerji, 0,5-0,75 arasında ise kısmi sinerji, 0,75-1 arasında ise additif, 1-4 arasında ise indifferent, > 4 ise antagonizma olarak yorumlanmıştır (10). Tüm çalışmalar bağımsız günlerde 3 kez tekrarlanmıştır.

BULGULAR

In vitro ilaç tarama testleri

In vitro ilaç tarama testlerine göre, cinnamaldehyde, carvacrol, thymol ve metronidazol'un MİK50 ve MLK değerlerini sırasıyla, birinci klinik izolat için; 3,9/31,25 µg/ml, 15,6/125 µg/ml, 62,5/500 µg/ml ve 6/24 µM, ikinci klinik izolat için; 1,8/7,81 µg/ml, 31,25/250 µg/ml, 15,6/125µg/ml ve 6/24 µM, Metronidazol dirençli izolat için ise; 3,9/15,6 µg/ml, 62,5/250 µg/ml, 125/500 µg/ml ve 48/390 µM olarak saptanmıştır (Tablo 1).

Checkerboard (dama tahtası) kombinasyon testi

Checkerboard yöntemi ile yapılan kombinasyon çalışması değerlendirildiğinde, cinnamaldehyde/metronidazol, carvacrol/metronidazol ve thymol/metronidazol kombinasyonlarında FİKİ değerleri sırasıyla 0.374, 0.187 ve 0.750 olarak bulunmuştur (Tablo 2). Bu değerlere göre cinnamaldehyde ve carvacrol'un metronidazol kombinasyonu sinerji, thymol'un metronidazol ile kombinasyonu kısmi sinerji olarak yorumlanmıştır.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Tablo 1. Uçucuyağ bileşenlerinin ve metronidazolün anti-trichomonal etkinlik değerleri

Parazit suşları	Etken madde (µg/ml)	MIK50	MLK
Duyarlı <i>T. vaginalis</i> BAUN-TV1 suşu	Cinnamaldehyde	3,9	31,25
	Carvacrol	15,62	125
	Thymol	62,5	500
	Metranidazol (µM)	6	24
Duyarlı <i>T. vaginalis</i> BAUN-TV2 suşu	Cinnamaldehyde	1,8	7,81
	Carvacrol	31,25	250
	Thymol	15,62	125
	Metranidazol (µM)	6	24
Dirençli <i>T. vaginalis</i> ATCC 50143 suşu	Cinnamaldehyde	3,9	15,62
	Carvacrol	62,5	250
	Thymol	125	500
	Metranidazol (µM)	48	390

MIK 50: Minimum inhibisyon konsantrasyonu, MLK: Minimum letal konsantrasyon

Tablo 2. Fitokimyasallar ile metronidazolün checkerboard kombinasyon sonuçları

Parazit suşu	Kombinasyon	ΣFİKİ	Etkileşim
Dirençli <i>T. vaginalis</i> ATCC 50143 suşu	Cinnamaldehyde/metronidazol	0,374	Sinerji
	Carvacrol/metronidazol	0,187	Sinerji
	Thymol/metronidazol	0,75	Kısmi sinerji

ΣFİKİ: Fraksiyonel inhibisyon konsantrasyon indeksi

TARTIŞMA

Trikomoniyaz basit bir parazit hastalığı olarak düşünülse de gebelerde erken doğum ve membran rüptürüne neden olabilen gebelik dışında ise ateş ve kötü kokulu akıntı ile seyreden post-partum sendromla ilintili ve birçok enfeksiyona zemin hazırlayabilen ciddi bir parazit enfeksiyonudur. Yapılan birçok çalışmada, *T. vaginalis* ile enfekte olanlarda servikal kanser, atipik pelvik inflamatuvar hastalık ve infertilite bulgularının daha sık görüldüğü bildirilmiştir. Ayrıca *T. vaginalis* ile enfekte kadınlarda, lenfosit ve makrofaj gibi HIV ile enfekte hücrelerin vajen ve servikte toplanması HIV virüsünün bulaşını da kolaylaştırmaktadır (12,13). Gram ve ark. (14) tarafından 43.016 Norveçli kadın üzerinde yapılan bir araştırmada, *T. vaginalis* enfeksiyonunun insan papilloma virüsünün (HPV) neden olduğu servikal neoplazi (CN) riskini arttırdığı gösterilmiştir. Finlandiya (15) ve Hindistan'da (16) yapılan çalışmalarda da trikomoniyaz ile HPV'nin neden olduğu rahim ağzı kanseri arasında benzer bir korelasyonun olduğu bildirilmiştir. Başka bir çalışma ise *T. vaginalis* enfeksiyonunun HPV enfeksiyonunu 6,5 kat artırdığı rapor edilmiştir (17). Erkeklerde *T. vaginalis* genellikle geçici bir enfeksiyona neden olur ve yapılan çalışmalar erkeklerin %75'inin asemptomatik olduğunu göstermektedir; ancak, nadiren uretrit ve prostatite neden olabilmektedir (18).



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Trikomoniyaz tedavisinde, 5-nitroimidazol grubu ilaçlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu ilaçlar arasında, Amerika Birleşik Devletleri'nde yalnızca metronidazol ve tinidazol trikomoniyaz tedavisi için Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından yetkilendirilmiştir. Metronidazol nispeten ucuz, etkili ve genellikle iyi tolere edilebilen bir ilaç olmakla birlikte gastrointestinal yan etkileri genellikle hafiftir. Ara sıra hematolojik ve nörotoksik yan etkiler de bildirilmiştir. Ancak son zamanlarda, dirençli ve tekrarlayan trikomoniyaz olgularında metronidazol kaynaklı yan etkiler gerçek bir problem haline gelmiştir. Bu tür enfeksiyonların tedavisi, yüksek dozlarda metronidazol ile uzun süreli tedavi protokolü gerektirmektedir. İlaç dozunun artırılması, yan etkilerin de artmasına neden olmakta ve profilaksinin kesilmesi ile tedavi başarısız olmaktadır (19). Yarım kalan tedavi süreçleri nedeniyle dirençli suşların ortaya çıkması ve mevcut ilaçların yüksek dozlarda ciddi yan etkiler göstermesi nedeniyle günümüzde yeni ilaç alternatiflerine gereksinim duyulmaktadır.

Geleneksel tıpta, çeşitli hastalıkların tedavisi için şifalı bitkilerin kullanımı, eski Babil, Mısır, Çin ve Hindistan kayıtlarına göre binlerce yıl öncesine dayanmaktadır. Modern ilaç endüstrisinde kimyasal olarak sentezlenen çok çeşitli moleküllere rağmen, doğal bileşenler ilaç geliştirilmesinde kilit bir rol oynamaktadır (20). Günümüzde onaylı ilaçların yaklaşık %35'i doğal bileşenlerden veya yarı-sentetik türevlerden elde edilirken, % 30'u da doğal ürünlerden ilham alan sentetik moleküllerdir. Dikkat çekici bir şekilde, Ocak 1981 ile Haziran 2006 arasında sağlık otoriteleri tarafından onaylanan 15 antiparaziter ilaçtan %65'i doğal bileşenler veya türevleridir (21). Bu nedenle, tıbbi bitkilere ilgi son yıllarda büyük ölçüde artmıştır. Trikomoniyaz tedavisinde yeni alternatiflerin gerekliliği göz önüne alındığında, doğal bileşenlerin *T. vaginalis*'e karşı etkinliğine odaklanan araştırmalar da artmıştır.

Çalışmamızda anti-trichomonial etkinliğini araştırdığımız cinnamaldehyde, *Cinnamomum zeylanicum*, carvacrol ve thymol ise *Thymus vulgaris* uçucu yağında majör olarak bulunan doğal bileşenlerdir. Bu bileşenlerin antimikrobiyal etkinlikleri çok sayıda araştırmacı tarafından gösterilmiştir. Ancak cinnamaldehyde, carvacrol ve thymol'ün *T. vaginalis*'e karşı etkinliğinin gösterildiği bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda, bu bileşenlerin güçlü anti-trichomonial etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir. Özellikle cinnamaldehyde'in 0,9 µg/ml gibi çok düşük konsantrasyonda etkili olması ve bu dozlarda hücresel bir sitotoksitesinin olmaması (22) bu uçucu yağ bileşenini önemli bir ilaç alternatifi haline getirmektedir. Literatürde cinnamaldehyde, carvacrol ve thymol'ün antimikrobiyal etki mekanizmaları ile ilgili net bir bilgi yoktur ancak genel görüş, bu bileşiklerin lipofilik karakterleri nedeni ile hücre membranlarına bağlanıp zar geçirgenliği artırdığı, membran içinde birikerek fiziksel hasar oluşturduğu, çeşitli enzimlerin üretilmesini inhibe ettiği ve enerji metabolizmasını olumsuz etkileyerek mikroorganizmayı öldürdüğü yönündedir (23, 24). Her üç uçucu yağ bileşeni için saptanan minimum letal konsantrasyonlarda *T. vaginalis* trofozitlerinin hücre bütünlüğünün korunduğu fakat hareketsiz ve cansız oldukları tespit edilmiştir. Bu durum söz konusu bileşenlerinin parazitin enerji metabolizması üzerine etkili olabileceğini düşündürmüştür. Ancak kesin bir yargıya varabilmek için moleküler düzeyde daha ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir.

İlaç dirençli suşların neden olduğu inatçı enfeksiyonlarda ilaç dozunun artırılması ciddi yan etkiler nedeniyle çoğunlukla tedavi başarısızlığına neden olmaktadır. Böyle durumlarda kombine ilaç kullanımı alternatif bir yöntem olarak sıklıkla tercih edilmektedir. Fitokimyasallar antimikrobiyal ilaçlar için umut verici adjuvanlar sunmakta, bu metabolitlerin antimikrobiyaller ile sinerjik etkileşimi araştırmacılarca değerlendirilmektedir (5). Antimikrobiyaller arasındaki sinerjik etkileşimi belirlemede kullanılan en yaygın yöntem *checkerboard* (dama tahtası) yöntemidir. Çalışmamızda, metronidazol dirençli *T. vaginalis* şusuna karşı cinnamaldehyde, carvacrol ve thymol'ün metronidazol ile kombinasyonlarında sinerjik bir etkileşim saptanmıştır. Uçucu yağ bileşenleri ve metronidazol arasında sinerjik etkileşimin görülmesi; metronidazolün daha düşük dozlarda kullanılması, ilaç yan etkilerinin



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

azaltılması, çok yönlü antimikrobiyal hedef oluşturulması ve direnç gelişim hızının yavaşlaması adına oldukça önem arz etmektedir.

SONUÇ

Antimikrobiyal etkinlikleri birçok mikroorganizma üzerinde gösterilen cinnamaldehyde, carvacrol ve thymol'ün *T. vaginalis* izolatlarına karşı da güçlü etkinliğe sahip olduğu saptanmıştır. Ayrıca uçucu yağ bileşenlerinin metronidazol ile kombinasyonlarında metronidazol dirençli *T. vaginalis* izolatına karşı sinerji tespit edilmiştir. Kombinasyonlarda sinerjik etkileşimin görülmesi, ilacın daha düşük dozda kullanılması, ilaç yan etkilerinin azaltılması ve direnç gelişiminin önlenmesi adına tedavide avantaj sağlamaktadır. Fitokimyasalların hem bireysel etkinliklerinin hem de mevcut ilaçlarla kombinasyonlarının araştırılması ilaç direnci ile mücadeleye yönelik çalışmalara katkıda bulunabilir.

KAYNAKLAR

1. Kissinger P. *Trichomonas vaginalis*: a review of epidemiologic, clinical and treatment issues. BMC Infect Dis 2015; 15: 307. <https://doi.org/10.1186/s12879-015-1055-0>.
2. Poole DN, McClelland RS. Global epidemiology of *Trichomonas vaginalis*. Sex Transm Infect 2013; 89(6): 418-22. <https://doi.org/10.1136/sextrans-2013-051075>.
3. Upcroft JA, Upcroft P. Drug susceptibility testing of anaerobic protozoa. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45(6): 1810-4. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.6.1810-1814.2001>.
4. Sena AC, Miller WC, Hobbs MM, et al. *Trichomonas vaginalis* infection in male sexual partners: implications for diagnosis, treatment, and prevention. Clin Infect Dis 2007; 44(1): 13-22. <https://doi.org/10.1086/511144>.
5. Hemaisvarya S, Kruthiventi AK, Doble M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. Phytomedicine 2008; 15: 639-652. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.06.008>.
6. Langeveld WT, Veldhuizen EJA, Burt SA. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. Crit Rev Microbiol 2014; 40: 76-94. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.763219>.
7. Mcmillan A. Laboratory Diagnostic Methods And Cryopreservation Of Trichomonads. In: Trichomonads Parasitic in Humans. Ed. BM Honigsberg. Springer, New York. 1989: 299-310.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement M100-S24, Vol. 34 No. 1, 950 West Valley Road, Suite 2500 Wayne, PA 19087 USA, 2014.
9. Eliopoulos G, Moellering R.C. Antimicrobial Combinations. In: Lorian V., Ed., *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 4th ed, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1996: 330-396.
10. Li YJ, Pan CZ, Zhao ZW, Zhao ZX, Chen HL, Lu WB. Effects of a combination of amlodipine and imipenem on 42 clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* obtained from a teaching hospital in Guangzhou, China. BMC Infect Dis 2013; 13:1-9. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-548>
11. Laga M, Manoka A, Kivuvu M. Non-ulcerative sexually transmitted diseases as risk factors for HIV-1 transmission in women: Results from a cohort study. AIDS 1993; 7: 95-102. <https://doi.org/10.1097/00002030-199301000-00015>.
12. Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, Garber G. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. Clin Microbiol Rev 1998; 11: 300-17.
13. Gram IT, Macaluso M, Churchill J, Stalsberg H. *Trichomonas vaginalis* (TV) and human papillomavirus (HPV) infection and the incidence of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) grade III. Cancer Causes Control 1992; 3: 231-236. <https://doi.org/10.1007/BF00124256>.
14. Viikki M. Gynaecological infections as risk determinants of subsequent cervical neoplasia. Acta Oncol 2000; 39: 71-75. <https://doi.org/10.1080/028418600431003>.
15. Ghosh I, Muwonge R, Mittal S, Banerjee D, Kundu P, Mandal R, Biswas J, Basu P. Association between high risk human papillomavirus infection and co-infection with *Candida* spp. and *Trichomonas vaginalis* in women with cervical premalignant and malignant lesions. J Clin Virol 2017; 87: 43- 48. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.12.007>.
16. Lazenby GB, Taylor PT, Badman BS, Mchaki E, Korte JE, Soper DE, Pierce JY. An association between *Trichomonas vaginalis* and high-risk human papilloma virus in rural Tanzanian women undergoing cervical cancer screening. Clin Ther 2014; 36: 38-45. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2013.11.009>.
17. Howe K, Kissinger PJ. Single-dose compared with multidose metronidazole for the treatment of trichomoniasis in women: a metaanalysis. Sex Transm Dis 2017; 44: 30-35. <https://doi.org/10.1097/OLO.0000000000000537>.
18. Hirt RP, Sherrard J. *Trichomonas vaginalis* origins, molecular pathobiology and clinical considerations. Curr Opin Infect Dis 2015; 28: 72-79. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000128>.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

19. Cudmore SL, Garber GE. Prevention or treatment: the benefits of *Trichomonas vaginalis* vaccine. J Infect Public Health 2010; 3: 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2010.01.003>.
20. Ngo LT, Okogun JI, Folk WR. 21st century natural product research and drug development and traditional medicines. Nat Prod Rep 2013;30(4): 584–592. <https://doi.org/doi:10.1039/c3np20120a>.
21. Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. J Nat Prod 2012; 75: 311–335. <https://doi.org/10.1021/np200906s>.
22. [García-Salinas S](#), [Elizondo-Castillo H](#), [Arruebo M](#), [Mendoza G](#), [Irusta S](#). Evaluation of the antimicrobial activity and cytotoxicity of different components of 2 natural origin present in essential oils [Molecules](#). 2018; 23(6): E1399. <https://doi.org/10.3390/molecules23061399>.
23. Lv F, Liang H, Yuan QP, Li CF. In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. Food Research International 2011; 44: 3057-64. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.07>.
24. Xu J, Zhou F, Ji BP, Pei RS, Xu N. The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against Escherichia coli. Lett Appl Microbiol 2008; 47: 174-9. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02407.x>.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02

SB14

30 Eylül 2019 – 11:30-12:30

**Trichomonas vaginalis'e Karşı Yeni Aktif Biyomoleküller:
Böcek Patojeni Bakteriler**

**Evren TİLEKLIÖĞLU¹, Selçuk HAZIR², Şebnem Hazal GÜLŞEN², Harun ÇİMEN², Sema ERTUĞ¹,
Derya ULUĞ², Canan HAZIR³, Helge B. BODE⁴, Duygu KAYA BİLECENOĞLU⁵,
Hatice ERTABAKLAR¹**

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, ¹Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD; ²Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü;
³Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu AYDIN; ⁴Goethe Üniversitesi Biyolojik Bilimler Fakültesi, Moleküler
Biyoteknoloji, Frankfurt, ALMANYA; ⁵Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi AYDIN

E-posta: etileklioglu@gmail.com

Amaç: Trichomoniasis etkeni olan *Trichomonas vaginalis* (*T. vaginalis*) cinsel yolla bulaşan ve ürogenital sistemde enfeksiyona neden olan bir parazittir. Kozmopolit yayılım gösteren bu parazitin ülkemizde görülme sıklığı %0,3 ile %9 arasındadır. Mevcut tedavide en sık tercih edilen ilaç metronidazole olmakla birlikte, yapılan birçok çalışma bu ilaca karşı dirençli izolatların ortaya çıktığı yönündedir. Bu nedenle yeni etken maddelerin keşfi için farklı bitki ve hayvan ekstraktları ile bakteri sekonder metabolitleri üzerinde araştırmalar yoğunlaşmıştır. Sekonder metabolitler mikroorganizmaların kendilerini ve besin kaynaklarını diğer mikroorganizma türlerinden korumak için ürettikleri maddelerdir. *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* cinslerine ait bakteriler toprakta yaşayan böcek patojeni nematodlarla (entomopatojen nematodlar) mutualistik ilişkilidirler ve birlikte birçok böceği enfekte edebilmektedirler. Bu bakteriler ürettikleri çok çeşitli ve etki gücü yüksek sekonder metabolitler sayesinde enfekte ettikleri böceğin içerisinde kendilerinden ve nematodlardan başka bir organizmanın üremesine izin vermezler. Bunu gerçekleştirmek için oldukça güçlü antibakteriyal, antifungal ve antiprotozoal maddeler üretirler. Bu nedenle *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* bakterileri insan parazit protozoonlarına karşı yeni ve etkili bir madde saptanma ihtimali oldukça yüksek organizmalardır. Bu çalışmada, parazit protozoonlardan *T. vaginalis*'e karşı 27 farklı *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* bakteri supernatantı *in vitro* yöntemle test edilerek, etkili olduğu saptanan türlerin ürettiği biyoaktif maddenin tanımlanması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada kullanılan *T. vaginalis* suşu %10 fetal dana serumlu TYM besiyerinde (Trypticase-Yeast Extract-Maltose) çoğaltılmıştır. İçerisinde sekonder metabolitler bulunan *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* supernatantlarını elde etmek için bakteriler Tyryptic Soy Broth (TSB) içerisinde 120 saat boyunca, 150 rpm ve 28 °C'de inkübe edilmiştir. Supernatantlar hücrelerinden arındırılmak üzere 10,000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiş ve 0.22 µm'lik filtreden geçirilmiştir. Etkinlik deneyleri hücre kültürü plaklarında (96'lık düz tabanlı) mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak yapılmış ve test ortamındaki supernatant konsantrasyonları %10, %5, %2,5 ve %1,25 olacak şekilde ayarlanmıştır. Deneylerde iki negatif (TSB ve TYM besi yerleri) ve bir pozitif (Metranidazole) kontrol grubu kullanılmıştır.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Hazırlanan deney düzenekleri 48 saat boyunca 37 °C'de inkübe edildikten sonra Trypan blue boyası kullanılarak boyanmış ve canlı-ölü oranları hesaplanmıştır. Ölü olduğu düşünülen parazitler yeni besiyerine aktarılarak canlılıkları kontrol edilmiştir.

Trichomonas vaginalis'e karşı etkili olduğu belirlenen bakteri türlerinin bu aktiviteyi supernatant içerisindeki hangi biyoaktif maddeyle gerçekleştirdiğini tespit etmek için HPLC, MALDI-MS² ve promotör bölgesi değiştirilmiş mutant bakteri suşları kullanılmıştır.

Bulgular: Test edilen bakteriler arasında bazılarının son derece etkili anti-*Trichomonas vaginalis* sahip madde(ler) ürettikleri saptanmıştır. Bu bakteriler *Xenorhabdus cabanillasii*, *X. doucetiae*, *X. hominickii*, *X. indica*, *X. khoisanae*, *X. kozodoii*, *X. maulenoi*, *X. miraniensis*, *X. nematophila* ve *X. szentirmaii* türleri olarak belirlenmiştir. *Photorhabdus* bakterilerinin ise hiçbirinde herhangi bir anti-*Trichomonas vaginalis* aktivite saptanmamıştır. Bazı *Xenorhabdus* bakteri supernatantları pozitif kontrol olan metranidazole ile aynı derecede etkinlik gösterirken, negatif kontrol gruplarında ortaya çıkan ölüm oranları %10'un altında kalmıştır. Gerçekleştirilen HPLC, MALDI-MS² analizleri ve promotör bölgesi değiştirilmiş mutant bakteriler ile yürütülen deneyler sonucunda *T. vaginalis* üzerinde etkili olan biyoaktif maddeler ve bu maddelerin kimyasal yapıları belirlenmiştir.

Sonuç: Elde edilen bulgular *T. vaginalis*'e karşı son derece etkili yeni biyomoleküllerin varlığını ortaya koymuştur. *Trichomonas vaginalis*'e karşı kullanılabilir potansiyeline sahip olan bu moleküllerin bir sonraki aşamada sitotoksitelerinin belirlenmesi çalışmaları yürütülecektir.

Anahtar kelimeler: Aktif biyomoleküller, *Photorhabdus*, sekonder metabolit, *Trichomonas vaginalis*, *Xenorhabdus*,



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02

SB15

30 Eylül 2019 – 11:30-12:30

Aydın Bölgesindeki Parklarda Mikroskopik ve Moleküler Yöntemlerle Zoonoz Helmintlerin Yaygınlığının Belirlenmesi

Tayfun ŞAHİN¹, Süleyman AYPAK², Hüseyin Bilgin BİLGİÇ²

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, ¹Bozdoğan Meslek Yüksekokulu, Bozdoğan; ²Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, Efeler, AYDIN

E-posta: tayfun@adu.edu.tr

Amaç: Çalışmada önemli zoonozlar arasında kabul edilen *Echinococcus* spp. ve *Toxocara* spp.'nin Aydın Bölgesinde bulunan çocuk parklarındaki yaygınlığını tespit etmek amaçlanmıştır. Çalışmanın birinci aşaması geleneksel yöntemlerle yumurta tespiti, ikinci aşaması aynı örneklerde moleküler değerlendirmedir. Bu araştırma ile söz konusu parazitlerin yaygınlığını tespit etmenin yanı sıra bu tip araştırmalarda kullanılacak yöntemleri karşılaştırmalı olarak sorgulamak da amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada kullanılacak materyal, Aydın'ın Efeler (Merkez), Nazilli, Söke, Çine, Bozdoğan, Germencik ve Kuşadası ilçelerinde, kum havuzu bulunan çocuk parklarından sağlanmıştır. Kum veya toprak örnekleri parkların kum havuzlarından ya da oyun alanlarında bulunan kumluk bölgelerden alınmıştır. Çalışmaya dahil edilen ilçelerden; Efeler'de 9, Nazilli'de 8, Söke'de 8, Çine'de 7, Bozdoğan, Germencik ve Kuşadası'nda 6'şar olmak üzere toplam 50 parktan örnek alınmıştır. Parkların varsa kum havuzu yoksa çocuk oyun alanında, her 5 metre kare alandan bir metrekare alan seçilerek, seçilen alanın 10 cm derinliğinden en az 250–300 gr örnek alınıp, örnekler naylon poşetlere konularak laboratuvara getirilmiştir. Her parktan 5 örnek olmak üzere 50 parkta toplam 250 örnek incelenmiştir. Parklardan alınan toprak ve kum örnekleri, Kazacos (1983)'un kullandığı Metot 5 Santrifüj Flotasyon Yöntemi'nin bazı özellikleri modifiye edilerek kullanılmıştır. Yöntemdeki en önemli modifikasyon kum örneklerinin yıkanmasında ultrasonik banyo kullanılmış olmasıdır. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda incelenmiş ve tespit edilen yumurtalar fotoğraflanmıştır. Mikroskopik incelemede pozitif ya da negatif olmasına bakılmaksızın tüm kum ya da toprak örnekleri PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile moleküler düzeyde incelenmiştir. Pozitif kontrol olarak Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda daha önceden hazır halde bulunan *E. granulosus* ve *E. multilocularis* genomik DNA'ları, *T. cati* için Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'ndan gönderilmiş *T. cati* olgun parazitlerinden elde edilen genomik DNA'lar ile *T. canis* için Nevşehir Jandarma At ve Köpek Eğitim Merkezi'nden (JAKEM) gönderilen *T. canis* olgun parazitlerinden elde edilen genomik DNA'lar kullanılmıştır. Kum örneklerinin toplanması esnasında oyun alanı içerisinde ya da yakınında bulunan dışkılar da naylon poşetlere konarak etiketlenip laboratuvara getirilmiştir. Toplamda 81 dışkı örneği incelenmek üzere çalışmaya dahil edilmiştir. Dışkı örnekleri Teleman Yöntemi ile incelenmiştir.

Bulgular: Aydın ili genelinde, 50 parktan toplanan kum ve dışkı örneklerinin incelemelerinde en az bir parazit türüne rastlanan park sayısı 34 (%68) olmuştur. Bu enfekte parklardan 33'ünde yumurtalar cins ya da tür düzeyinde teşhis edilerek zoonoz oldukları net olarak ortaya konmuştur. Yedi ilçede



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

değerlendirilen toplam 50 parkın 9'unda (%18) *E. granulosus*, 29 parkta (%58) *Toxocara* spp., 5 parkta (%10) Strongyl tip, aynı parkta bulunan 2 dışkıda *Taenia* tip yumurtalar tespit edilmiştir. İlçe düzeyinde; Efeler'de 9 parkın 8'inde (%88), Bozdoğan'da 6 parkın 6'sında (%100), Germencik'te 6 parkın 2'sinde (%33), Kuşadası'nda 6 parkın 6'sında (%100), Nazilli'de 8 parkın 8'inde (%100), Söke'de 8 parkın 4'ünde (%50) en az bir zoonoz helmint türüne rastlanmıştır. Sayılan ilçeler dışında kalan Çine'de herhangi bir pozitiflik tespit edilememiştir.

Sonuç: Bu çalışmada elde edilen sonuçlar çocuklarımız için güvenli olduğu düşünülen parkların ne kadar büyük riskler barındırabildiğini kuvvetli bir şekilde göstermiştir. İncelemeler sonunda; mikroskopik bakıda pozitif çıkan bir örneğin moleküler yöntemle negatif çıkması ya da tam tersi durumlar, uzun süre dış ortam koşullarına maruz kalmış kum/toprak örneklerinin incelenmesinde sadece mikroskopik bakı ya da PZR'ın tek başına yeterli olmayabileceğini, her iki yöntemin birbiri ile kombine edilerek kullanılması gerektiğini düşündürmektedir. Parklarda bu kadar yüksek oranlarda zoonoz varlığı, sahipli ya da sahihsiz hayvanlarla ilgili olarak mevcut durumun acil olarak değerlendirilmesi ve gereken tedbirlerin alınmasını zorunlu kılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Çocuk parkı, *Echinococcus*, Kum/toprak, *Toxocara*, PZR, Zoonoz

Bu çalışma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELER BİRİMİ tarafından VTF-15029 no'lu proje ile desteklenmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02

SB16

30 Eylül 2019 – 11:30-12:30

Sivas'ta Akarsu Çevresinden Toplanan Yumuşakçalarda Trematod Larval Dönemlerinin Araştırılması

Fatih AKYILDIZ¹, Serpil DEĞERLİ², Necati ÖZPINAR³

Cumhuriyet Üniversitesi, ¹Sağlık Bilimler Enstitüsü; ²Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD;

³Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi, SİVAS

E-posta: fatihakyildiz2012@hotmail.com

TAM METİN

ÖZET

Amaç: Trematodlar hem insan hem de hayvan sağlığı bakımından öneme sahip olan parazitlerin bulunduğu yassı solucanların bir sınıfıdır. Ülkemizde trematodlarla ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında trematodların ana konağı yumuşakçalar ve bu canlıların vücudunda gelişim gösteren trematod larval şekillerinin üzerine çok az sayıda araştırma olduğu görülmektedir. Çalışmamızda tıbbi öneme sahip yumuşakçaların bulunabileceği yerler saptanarak öncelikle türlerin belirlenmesi yoluna gidilmiş daha sonra da bu türlerde yerleşim gösteren trematod larval şekillerinin saptanması amaçlanmıştır. Bu şekilde trematod hastalıklarının en önemli zincir halkası olan yumuşakçaların yer ve yoğunluk tespitinin yapılarak bölgenin risk düzeyinin ortaya konması hedeflenmiştir.

Yöntem: Çalışma Nisan- Haziran 2019 tarihleri arasında Sivas ilinin yaklaşık olarak 5 km kuzeyinde, doğal kaynak suları ile beslenen, derinliği azami 50 cm olarak ölçülen, etrafı bol ağaçlı, bitki örtüsü bakımından zengin, bir akarsu etrafında yapılmıştır. Bu alandan yumuşakça örnekleri haftada iki kez çalışma alanına gidilerek toplanmış, toplanan örnekler temiz cam şişelere su içinde alınarak Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalına getirilerek burada mikroskopta önce türlerin belirlenmesi için anahtarlar kullanılmıştır. Kabuk yapısı ve anatomik özellikleri göz önüne alınarak tür belirlenmesi yapıldıktan sonra yumuşakçalar ezilerek içerisindeki larval formların araştırılması ışık mikroskopunda yapılmıştır. Akarsuyun mineral analizi yumuşakçaların temel ihtiyaçları olan veriler göz önünde bulundurularak Cumhuriyet Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde, çözünmüş oksijen tayini ise Sivas Devlet Su İşleri'ne ait laboratuvarlarda yapılmıştır.

Bulgular: Çalışma alanında *Lymnaea (Galba) truncatula* 165, *Planorbis intermixtus* 1650 ve *Oxyloma elegans* 657 olmak üzere üç farklı salyangoz türü saptandı. Disekte edilen türler içerisinde trematod larval formlarının varlığı araştırıldı ve 165 *Lymnaea (Galba) truncatula*'nın 16 (%10)'sında, 1650 *Planorbis intermixtus*'nın 332 (%20)'sinde larval trematodlar bulundu. Çalışma yapılan akarsuyun analiz bulgularına göre çözünmüş oksijen miktarının Dünya Sağlık Örgütü'nün saptadığı verilerden yüksek olduğu ve kalsiyum miktarının Avrupa birliği standartlarının üzerinde olduğu saptandı.

Sonuç: Tatlı su salyangozları, insan sağlığı açısından trematodlara ara konaklık yapması nedeniyle büyük önem arz etmektedir. Bu yumuşakçaların yaygınlığının tespit edilmesi ülkemizdeki trematod hastalıklarının risk haritasının belirlenmesi açısından önemlidir. Çalışmamız, Sivas'taki yumuşakça türlerinin ve taşıdıkları trematod larval formlarının belirlenmesine katkıda bulunacak yeni bilgiler içermektedir. Elde ettiğimiz bu bulguların hem dünya hem de ülke literatürüne katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Lymnaea*, *Oxyloma*, *Planorbis*, Tıbbi Malakoloji, Trematod



Investigation of Trematode Larval Stages in Molluscs Collected from the River Surrounding in Sivas

SUMMARY

Aim: Trematodes are a class of flatworms with parasites that are important for both human and animal health. When the studies on trematodes in our country are examined, it is seen that there are very few studies on the molluscs which intermediate host of trematodes and larval shapes. Our study aimed to determine the places where molluscs of medical importance can be found. Molluscs were collected and species identified. Then the trematode larval shapes which were found in these species were determined. In this way, it was aimed to determine the risk level of the region by determining the location and amount of molluscs.

Material and Method: The study was carried out between April and June 2019, approximately 5 km north of Sivas province, around a river which is fed with natural spring waters and whose depth is measured as maximum 50 cm, with abundant trees, rich in vegetation. Mollusca samples were collected twice a week by visiting the study area. Collected samples were taken into bottles with clean water and brought to Cumhuriyet University, Faculty of Medicine, Department of and examined under microscope and keys were used to identify mollusca species. Species were determined by considering the crust structure and anatomical features. Then, the molluscs were crushed and the examination of the larval stages inside them was performed under a light microscope. Mineral analysis of the river was analyzed by considering the basic needs of molluscs in Cumhuriyet University Advanced Technology Research and Application Center.

Results: *Lymnaea (Galba) truncatula* 165, *Planorbis intermixtus* 1650 and *Oxyloma elegans* 657 were determined in the study area. The presence of trematode larval stages in the dissected species was examined. Larval trematodes were found in 16 (10%) of 165 *Lymnaea (Galba) truncatula* and 332 (20%) of 1650 *Planorbis intermixtus*. According to the results of the analysis, the amount of dissolved oxygen is higher than the data of the World Health Organization and the amount of calcium is higher than the European Union standards.

Conclusion: Freshwater snails, as the intermediate hosts of trematodes, can cause health hazards in animals and humans. Determining the prevalence of these snails is important in terms of determining the risk map of trematode diseases in our country. Our study reveals new information about the types of molluscs, and they carry trematodes in Sivas. Our findings are expected to contribute to the world literature.

Key Words: *Lymnaea*, *Oxyloma*, *Planorbis*, Medical Malacology, Trematodes

GİRİŞ

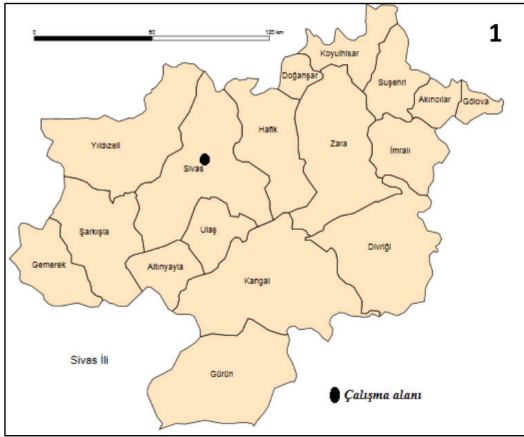
Helminthler insan sağlığı yönünden gruplandırıldığında trematodlar Platyhelminthes (Yassı solucanlar) içerisinde yer alırlar. Erişkin bir trematod sırt karın yönünde yassılaştırmış, yaprak şeklinde tek parçadan oluşmuştur. Ağız ve anüs işlevi gören tek bir açıklıkları vardır, kaslı bir farinks dallanmış ya da dallanmamış vaziyette iki kola ayrılmış kör bir yemek borusu takip etmektedir. Vücut yüzeyi tegümentle örtülü olup, buldukları yüzeye tutunmak için yapışma organı olarak bir veya daha fazla çekmene sahiptirler. Trematodlar gelişimi en az iki ana konakta gerçekleşir. Birincisi yumuşakça veya çok nadiren bir anneliddir. Birçok tür, yaşam döngülerinde ikinci ve hatta üçüncü bir ara konak içerir. Trematodlara ara konaklık edebilen yaklaşık 350 yumuşakça türünün muhtemel tıbbi veya veteriner öneme sahip olduğu bilinmektedir (1).

İnsanlarda yerleşip hastalık oluşturan trematodların ara konakçıları arasında Karaciğer trematodları *Fasciola* türleri için *Lymnaea* cinsi, *Dicrocoelium dentriticum* trematodunun ara konaklarını ise kara salyangozları olan *Helicella*, *Zebrina* cinslerine ait türler oluştururken, *Biomphalaria*,

Bulinus ve *Oncomelania* salyangoz cinsine ait türler insan schistosomlarının bulaşmasında önemlidir (2). Farklı türdeki salyangozların yaşam habitatlarını çevrenin değişik dinamikleri belirlemektedir. Mesela sudaki kalsiyum oranı, sıcaklık, oksijen konsantrasyonu ve pH özellikle sucul mollusk habitatları için çok önemlidir (2). Trematodun yaşam döngüsündeki aşamalarını erişkin, yumurta, miracidium, sporocyst, redia, serkarya ve metakercaria oluşturur. İlk ara konaklarında görülen yaşam döngüsünde sporocyst, redia ve serkarya gibi larva aşamaları salyangozlarda gelişir (3). Trematodlar insan vücudunda erişkin halde bulunurlar ve safra yolları, karaciğer, akciğer ve dolaşım sistemine yerleşirler (4). *Fasciola hepatica* ve *Dicrocoelium dentriticum* dünyada koyun yetiştiriciliği ve sığır yetiştiriciliği alanlarında yaygın olarak görülür ve ciddi morbidite ve mortaliteye neden olurken zaman zaman da insan safra yollarına yerleşerek, *Schistosoma* türleri ise genel olarak toplardamar dolaşım sisteminde yerleşerek hastalıklara neden olmaktadır. *Clonorchis sinensis* insanda safra yollarında bazen safra kesesinde ve pankreasta yerleşerek epitel tabakası ile beslenmesi ile insanda enfeksiyon oluşturur. Birçok trematod aynı zamanda uzak doğu ülkelerinde insanlarda sindirim sisteminde ince bağırsağa yerleşerek hastalık oluşturmaktadır (4). Çalışmamızda tıbbi öneme sahip trematodlara ara konaklık yapan yumuşakçaların ve trematodlara ait yaşam evrelerinin varlığını saptamak sureti ile ülkemizin içerisinde bulunduğu risk bölgelerini tespit etmek ve sonraki yapılacak çalışmalarda araştırmacılara örnek teşkil etmek amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma coğrafi olarak Sivas ilinin yaklaşık olarak 5 km kuzeyinde, doğal kaynak suları ile beslenen, derinliği azami 50 cm olarak ölçülen, etrafı bol ağaçlı, bitki örtüsü bakımından zengin, ulaşımı kolay bir alan etrafında yapıldı. Çalışma alanını doğal halini gösterebilmek için fotoğrafları çekildi (Şekil 1 ve 2).



Şekiller 1. Çalışma alanını gösteren harita; 2. Çalışma alanının görüntüsü (Orjinal)

Çalışma Nisan- Haziran 2019 tarihleri aralığında yapıldı. Alana haftada iki kez gidilmek sureti ile akarsuda bulunan taş, kaya, sucul bitkiler gibi çeşitli maddelere tutunarak yaşayan örnekler, çizme giyilerek pens, elek seti, numune kabı, küçük fırçalar gibi gereçler kullanılarak toplandı. Toplanan örnekler temiz cam şişelere su içinde alınarak Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalına getirildi. Akarsudan toplanıp canlı olarak laboratuvara getirilen her bir yumuşakça, fotoğrafları çekilip, kabuk yapıları not edildikten sonra %70'lik alkol bulunan plastik kutulara alındı. Tür teşhisi yapıldıktan sonra, disseksiyon malzemeleri kullanılarak öncelikle kabukları kırılmak suretiyle çıkartılarak, %0,6'lık fizyolojik su bulunan petri kapı içerisine alındı. *Planorbis intermixtus* beşerli gruplarda havuz oluşturularak ve diğer türler de bistüri yardımı ile her bir parazitin vücut

kısımları ezilerek mevcut olabilecek trematodlara ait yaşam evrelerinin tamamen dağılımları için bir süre beklenildi. Karışımı oluşturan sudan mikropipet yardımı ile bir damla lam üzerine alınarak ışık mikroskopunun çeşitli büyütmelerinde incelendi.

Yumuşakça türlerini tanımlamak için literatür de bulunan tür teşhis anahtarlarından ve anatomik inceleme için Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Deniz Anıl ODABAŞI'ndan yardım alındı (9). Serkaryaları tanımlamak için göz lekelerinin varlığı, kuyruk tipi, çekmenlerin pozisyonu gibi morfolojik özellikleri kullanıldı. Çalışmamızda tek çekmeni olan türler monostome serkarya, iki çekmen içeren türler distome serkarya, kuyruksuz serkaryalar ise cercarium serkarya olarak sınıflandırıldı. Çalışma alanında *Lymnaea (Galba) truncatula*, *Planorbis intermixtus* ve *Oxyloma elegans* olmak üzere üç adet yumuşakça türü saptandı.

Akarsuyun mineral analizi yumuşakçaların temel ihtiyaçları olan veriler göz önünde bulundurularak Cumhuriyet Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde, çözünmüş oksijen tayini ise Sivas Devlet Su İşleri'ne ait laboratuvarlarda yaptırıldı.

BULGULAR

Çalışma alanımızda *Lymnaea (Galba) truncatula*, *Planorbis intermixtus* ve *Oxyloma elegans* olmak üzere üç farklı salyangoz türü saptandı ve toplamda 2472 örnek incelendi. Disekte edilen türler içerisinde bulunan trematod larval şekillerinin varlığının araştırmak üzere yapılan çalışmada *Lymnaea (Galba) truncatula* ve *Planorbis intermixtus* türleri içerisinde larvalara rastlanırken *Oxyloma elegans* türleri içerisinde herhangi bir larval form saptanmadı. Saptanan yumuşakça türleri [tablo 1](#) ve [şekil 3](#)'de verildi.

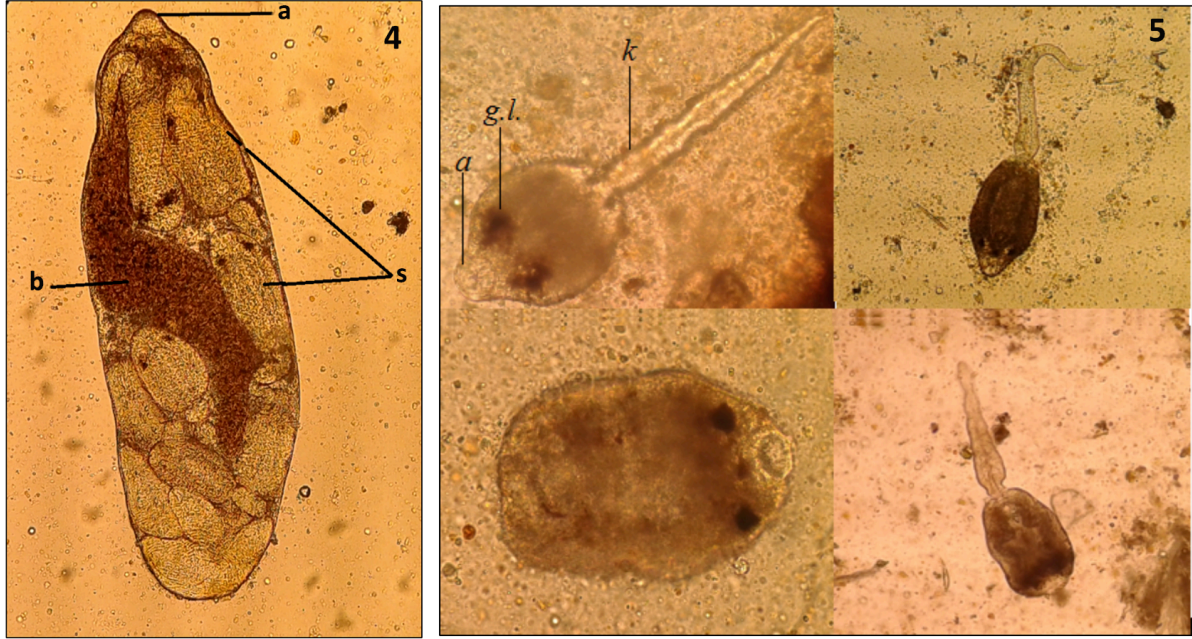
Tablo 1. Çalışma alanında saptanan yumuşakçalar ve trematod larvaları ile enfekte olma durumu

Saptanan türler	Toplanan yumuşakça sayısı	Serkarya rastlanan örnek sayısı	%Yaygınlık
<i>Planorbis intermixtus</i>	1650	332	20
<i>Oxyloma elegans</i>	657	0	0
<i>Lymnaea (Galba) truncatula</i>	165	16	10
Toplam	2472	348	14

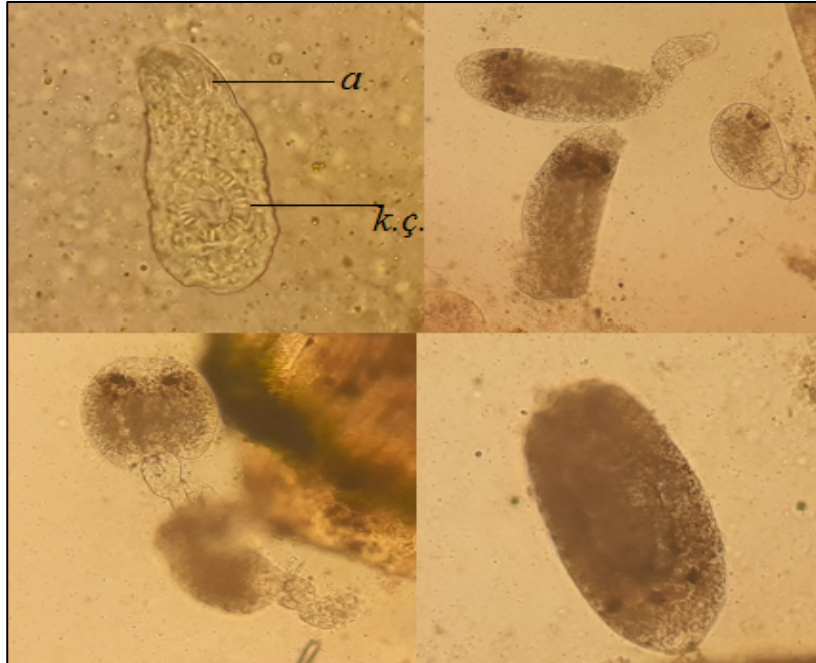


Şekil 3. Yumuşakça türleri (Orijinal) **p:** *Planorbis intermixtus*, **o:** *Oxyloma elegans*, **L:** *Lymnaea (Galba) truncatula*

Planorbis intermixtus türü yumuşakça içerisinde trematodlara ait larval yapılardan redi ve iki farklı türde serkarya görüldü (Şekil 4 ve 5). *Lymnaea (Galba) truncatula* türü yumuşakça içerisinde trematodlara ait larval yapılardan üç farklı tipte serkarya görüldü (Şekil 6).



Şekil 4. Redi (Orjinal x10), a: ağız çekmeni, b: bağırsak, s: serkarya; 5. *Planorbis intermixtus* türü içerisinde bulunan serkarya türleri (Orjinal x10-40); k: kuyruk, g.l. : göz lekeleri, a: ağız çekmeni



Şekil 6. *Lymnaea (Galba) truncatula* türü yumuşakça içerisinde trematodlara ait larval yapılar.
A: Ağız çekmeni, k.ç: karın çekmeni



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Tablo 2. Yumuşakçalar içerisinde bulunan serkarya tiplerinin dağılımı

Yumuşakça türü/Serkarya tipi	Monostome serkarya	Distome serkarya	Cercarium serkarya
<i>Lymnaea (Galba) truncatula</i>	8	2	6
<i>Planorbis intermixtus</i>	212	-	120
Toplam	220	2	126

Tablo 3. Yumuşakçaların saptandığı akarsuyun mineral analizi

Ort. Sıcaklık °C	pH	Çözünmüş oksijen mg/l	Ca (mg/l)	Na (mg/l)	Mg (mg/l)	K (mg/l)
20	6.0	7.41	110.2	10.74	16.17	6.6

Suda yaşayan canlılar için su kalitesi oldukça önemli bir parametre olup çalışma yapılan akarsuda çözünmüş oksijen miktarının yüksek olması kaliteli sular grubunda olduğunu gösteren bir değer iken, Kalsiyum miktarının Avrupa birliği standartlarının üzerinde olduğu diğer değerlerin normal aralıkta olduğu görüldü (5).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda bir akarsudaki bulunan yumuşakça türleri araştırılmış *L. truncatula*, *P. İntermixtus* ve *O. elegans* türleri saptanmıştır. Ayrıca bu yumuşakçaların ara konaklık yaptığı trematod larval şekilleri araştırılmış ve farklı serkarya tipleri saptanmıştır. Aynı yaşam alanını kullanmalarına rağmen *Oxyloma* türlerinin trematod larval şekillerini taşımadığı saptanmıştır Bu sonuç trematodların ara konaklık seçiciliğini bir kez daha göstermiştir. Nisan ve Mayıs ayında toplanan *L. truncatula* örneklerinde serkaryalara rastlanmazken Haziran ayında topladığımız örneklerde serkaryalar görülmeye başlanmıştır. Hava sıcaklığının artması ile larvaları ara konak vücudunda gelişmesi arasında bir ilişki olduğu gözlenmiştir.

Çalışmamız Sivas ilinde trematodlara ara konaklık yapabilecek yumuşakçaların saptanması ve bunlar içerisinde trematod larval formlarının araştırılması bakımından önemlidir. Ülkemizde tatlı su yumuşakçaların trematod parazitlerine ait çalışmaya rastlanılmamıştır. Dünya genelinde yapılan çalışmalara baktığımızda ise;

Tayland da Tatlısu Salyangozları üzerinde yapılan bir çalışmada 46 çalışma alanından 14 salyangoza türüne ait toplam 2.869 salyangoz örneği incelendi. Bulunan salyangoz türleri içerisinde serkarya, megalurous serkarya, echinostome serkarya, furcocercous serkarya, parapleurolophocercous serkarya, virgulate serkarya ve xiphidiocercariae olarak gruplandırılan 7 tip serkarya içerdiği görüldü (1).

Almanya'da Ruhr Nehri çalışma alanda üç yıl içinde toplam 3691 planorbid salyangoz (3270 *G. albus*; 421 *S. nitida*) toplandı. Her iki konakta da dört aileye ait 13 trematod türü tespit edildi (6).

Hindistan, Rajasthan' da tatlı su salyangoz konakları ve larva trematod parazitleri araştırması sırasında, on beş salyangoz türüne ait Amphistom, echinostome serkarya, furcocercous serkarya, gymnocephalous, monostome serkarya, transversotrematid ve xiphidiocercous olmak üzere toplam yedi tip serkarya türü tespit edilmiştir (7).

Nijerya'da 2013 yılında, Kaduna eyaletinde 6 çalışma bölgesinde *Melanoides tuberculata*, *Biomphalaria pfeifferi*, *Bulinus globosus*, *Lymnaea natalensis*, *Physa* sp, *Cleopatra bulimoides*, *Bellamya unicolor* and *Lanistes varicus* türlerine ait 23823 salyangoz toplanmış olup, Brevifurcate-apharyngeate distome, Amphistome, Gymnocephalus, Longifurcate-pharyngeate monostome, Longifurcate-pharyngeate distome, serkarya türleri tespit edilmiştir (8). Farklı bölgelerde yapılan çalışmalar farklı yumuşakta türlerinin ve larval trematodlarının varlığını göstermiştir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Tatlı su salyangozları, insan sağlığı açısından trematodlara ara konaklık yapması nedeniyle büyük önem arz etmektedir. Bu yumuşakçaların yaygınlığının tespit edilmesi ülkemizdeki trematod hastalıklarının risk haritasının belirlenmesi açısından önemlidir. Çalışmamız, Sivas'taki yumuşakça türlerinin ve taşıdıkları trematod larval formlarının belirlenmesine katkıda bulunacak yeni bilgiler içermektedir. Elde ettiğimiz bu bulguların hem dünya hem de ülke literatürüne katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Chontanarath T, Thanawan Tejangkura NW, Chimburut C. "Morphological characteristics and phylogenetic trends of trematode cercariae in freshwater snails from Nakhon Nayok Province, Thailand." *The Korean journal of parasitology* 2017; 55.1, 47.
2. Aldhoun JA, Podhorský M, Holická M, Horák P. "Bird schistosomes in planorbid snails in the Czech Republic." *Parasitology international* 2012; 61,2 250-259.
3. Poulin R, Tsukushi K, Clément L. "Evolution, phylogenetic distribution and functional ecology of division of labour in trematodes." *Parasites & vectors* 2019; 12, 1 5.
4. Özcel MA, Özbek Y, Ak M. Özcel'in tıbbi parazit hastalıkları. Türkiye Parazitoloji Derneği, 2007.
5. Dere T, Boztuğ D, Tayhan N, Yıldırım N, Danabaş D, Gülşad U. "Uzunçayır Baraj Gölü (Tunceli)'nin Fiziko-Kimyasal Özellikleri ve Su Kalitesinin Değerlendirilmesi." *Adıyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 2012; 2.2, 93-106.
6. Schwelm J, Soldánová M, Vyhřídálová T, Sures B, Selbach C. "Small but diverse: larval trematode communities in the small freshwater planorbids *Gyraulus albus* and *Segmentina nitida* (Gastropoda: Pulmonata) from the Ruhr River, Germany." *Parasitology research* 2017; 117.1 241-255.
7. Choubisa SL, Jaroli VJ, Sheikh Z. "First record of a rare transversotrematid cercaria larva (Trematoda: Digenea) from Rajasthan, India: focus on seasonal occurrence and host-specificity of diverse cercariae." *Journal of Parasitic Diseases* 2017; 41.2 496-502.
8. Abdulkadir FM, Maikaje DB, Umar YA. "Cercarial Diversity in Freshwater Snails from Selected Freshwater Bodies and Its Implication for Veterinary and Public Health in Kaduna State, Nigeria" *World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Animal and Veterinary Sciences* 2018, Vol:12, No:2.
9. Kılıçaslan I, Özbek M. "Contributions to the knowledge on the distribution of freshwater Mollusca species of Turkey." *Review of Hydrobiology* 2010 3.2, 127-144.



Ruminantlardan Toplanan *Dicrocoelium dendriticum* İzolatlarının Ribozomal DNA'larının Genetik Karakterizasyonu ve Filogenetik İlişkilerinin Araştırılması

**Cenk Soner BÖLÜKBAŞ¹, Gökmen Zafer PEKMEZCİ², Ali Tümay GÜRLER¹,
Mustafa AÇICI¹, Şinasi UMUR¹**

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, ¹Parazitoloji AD, ²Su Ürünleri Hastalıkları AD, SAMSUN

E-posta: cbolukbas@omu.edu.tr

Amaç: Dicrocoeliasis, *Dicrocoelium* türlerinin neden olduğu, çiftlik hayvanlarında ekonomik kayıplara ve insanlarda ise sağlık problemlerine yol açabilen, dünya genelinde bulunan zoonoz bir hastalıktır. Türkiye’de farklı ruminant türlerinden izole edilen *Dicrocoelium dendriticum* izolatlarının moleküler karakterizasyonu ve filogenik ilişkilerinin çözümlenmesi noktasında bugüne kadar herhangi bir araştırma yapılmamıştır. Bu çalışma ile farklı ruminant türlerinden elde edilen *D. dendriticum* izolatlarının Türkiye’de ilk kez moleküler analizlerinin yapılması ve filogenetik ilişkilerinin çözümlenmesi, elde edilen verilerin üniversitemiz adresli olarak Genbank veri tabanına kayıt edilip bilim dünyası ile paylaşılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada materyal olarak daha önceki yıllarda OMÜ Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı laboratuvarına getirilen ve anabilim dalı müzesinde saf etanol içerisinde saklanan sığır, koyun, keçi ve karaca kökenli, morfolojik olarak *D. dendriticum* olarak tanımlanan parazitler kullanılmıştır. Çalışmada her hayvan türü için iki parazit örneği kullanılmıştır. *D. dendriticum* izolatlarının moleküler karakterizasyonu için parsiyal 18S rDNA ile parsiyal 5.8S ve 28S gen bölgelerini de içerecek şekilde ITS-2 gen bölgesinin *in vitro* koşullarda amplifikasyonu için PCR metodu kullanılmıştır. Elde edilen PCR ürünlerinden her hayvan türü için 2 izolat DNA dizilemesi için ayrılmıştır. Her izolat için parsiyal 18S rDNA ile parsiyal 5.8S ve 28S gen bölgelerini de içerecek şekilde ITS-2 gen bölgelerinin DNA dizi analizi çift yönlü olarak MacroGen (Amsterdam, Hollanda) firmasına yaptırılmıştır. İzolatların kendi arasında ve dünyadaki diğer izolatlar ile homolojileri ve benzerlik yüzdeleri belirlenmiş ve filogenetik analizleri yapılmıştır.

Bulgular: Yapılan filogenetik analizler sonucunda farklı ruminant türlerinden elde edilen *D. dendriticum* izolatları arasında intraspesifik nükleotit farklılıkları saptanmamıştır. İzolatların 18S rDNA ile 5.8S ve 28S gen bölgelerini de içerecek şekilde ITS-2 gen bölgelerinin GenBank’a kayıtlı diğer izolatlar ile arasındaki nükleotit varyasyonları, genetik uzaklıkları ve filogenetik ilişkileri ortaya konmuştur. *D. dendriticum* parsiyal 18S rDNA gen bölgesi için yapılan BLAST taramasında aynı gen bölgesi için İspanya orijinli tek bir kayıt ile karşılaşılmıştır. Yapılan analizlerde ülkemiz ruminant izolatları ile tek bir nükleotit farklılığı gözlenmiştir. *Dicrocoelium dendriticum* parsiyal izolatları parsiyal 5.8S ve 28S gen bölgelerini de içerecek şekilde ITS-2 gen bölgesi için yapılan BLAST taramasında aynı gen bölgesi için dünyadan 27 kayıta rastlanmıştır. Tüm izolatların çoklu hizalamaları yapıldıktan sonra altı haplotip grubu belirlenmiştir. Ülkemiz izolatları İran izolatları ile aynı haplotip grubunda yer almıştır.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Sonuç: Çiftlik hayvanlarında parazitlenen *D. dendriticum*'un moleküler karakterizasyonu ve filogenetik ilişkilerinin çözümlenmesi noktasında dünyada çeşitli çalışmalar yapılmışsa da ülkemizde bugüne kadar herhangi bir araştırma yapılmamıştır. Bu proje ile Türkiye'de ilk kez farklı ruminant türlerinden toplanan *D. dendriticum* izolatlarının rDNA'larına ait gen bölgelerinin (18S rDNA, 5.8S rDNA, ITS2, 28S rDNA) moleküler karakterizasyonları yapılmış ve filogenetik ilişkileri ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: *Bos taurus*, *Capra hircus*, *Capreolus capreolus*, *Dicrocoelium dendriticum*, filogenetik ilişki, genetik karakterizasyon, *Ovis aries*, ribozomal DNA

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.VET.1901.17.006 proje numarası ile desteklenmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02

SB18

30 Eylül 2019 – 11:30-12:30

***Viscum album l. ssp. austriacum* (WIESP.) VOLLMAN Alt Türünün Gövde Ethanol ve Etil Asetat Ekstraktlarının *Caenorhabditis elegans* Bireyleri Üzerinde Antihelmintik Etkisinin Araştırılması**

Necati ÖZPINAR¹, Reyhan ÖZDEMİR¹, Hülya ÖZPINAR²

Cumhuriyet Üniversitesi, ¹Veteriner Fakültesi, Hayvan Hastanesi;

²Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, SİVAS

E-posta: necatiozpinar@gmail.com

Amaç: Ülkemiz coğrafi konumu ve birçok bölgesinde görülen iklim farklılıkları nedeniyle florasında binlerce çeşit tıbbi ve aromatik bitkiyi barındırmaktadır. Hatta ülkemiz dünyada tıbbi ve aromatik bitkiler ticaretinde önemli sıralarda yer almaktadır. Bu çalışmada ökse otu olarak ta bilinen *Viscum album ssp. Austriacum* (WIESP.) VOLLMAN alt türünün gövde ethanol ve etil asetat ekstraktlarının apatojen bir nematod olan *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) bireyleri üzerinde antihelmintik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Hazırlanan *Viscum album ssp. austriacum* gövde etil asetat ekstraktları *C. elegans* standart besiyerine 0,8 gr/100ml, 0,4gr/100ml, 0,2 gr/100ml, 0,1 gr/100ml konsantrasyonlarında uygulandı. Kontrol grubuna ise pirantel pamoat 0,5 gr/100ml konsantrasyonda hazırlandı (Kontil, 250mg/5ml). Her konsantrasyona 100'er adet senkronize edilip L4 formuna kadar kültürde beslenen *C. elegans* aktarılarak ½ saat, 1 saat, 6 saat, 12 saat, 18 saat, 24 saat, 36 saat ve 48 saat süreleri sonunda stereomikroskop altında canlı birey, ölü birey ve paralize olmuş birey sayısı kaydedildi. Ayrıca elde edilen bitki ekstraktlarına gaz kromatografisi kütle spektrofotometri (GC-MS) analizi yapılarak olası etken maddeler tespit edildi.

Bulgular: Gövde ethanol ve etilasetat ekstraktlarının farklı dozlarını kullandığımız çalışmamızda bu ekstraktların 0.8 gr/100 ml ve 0.4 gr/100ml'lik dozlarında antihelmintik aktivite gözlemlendi. Bu etkinin 36 ve 48'inci saatlerde kontrol grubundan istatistiksel olarak farksız olduğu görüldü. Gövde ethanol ekstresi verileri incelendiğinde 48 saat sonunda paralize birey oranı %51 ölü birey oranı %49 iken gövde etil asetat ekstresinde paralize birey %1 ve ölü birey %99 oranında tespit edildi. Bu oran kontrol grubunda 48 saat sonunda gövde etil asetat ekstresiyle aynıydı. GC-MS analizi sonuçlarına göre gövde ethanol ve etilasetat ekstresinde antihelmintik etkiye sahip bir madde olan piperazin tespit edildi. Bunun yanı sıra daha önceki çalışmalardan antihelmintik etkisi olduğu bilinen benzoik asit gövde etil asetat ekstresinde tespit edilirken, antiprotozoer etkisi tespit edilen 2-metil furan da yine gövde etil asetat ve ethanol ekstraktlarında tespit edildi.

Sonuç: *Viscum album ssp. austriacum* (WIESP.) VOLLMAN alt türünün gövde ethanol ve etilasetat ekstresinde 36 ve 48 saat sonucunda tespit edilen antihelmintik etki, bu ekstrenin antihelmintik tedavide, hayvan deneyleriyle desteklenerek ileriki çalışmalar için bir basamak oluşturabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Antihelmintik aktivite, *Caenorhabditis elegans*, *Viscum album ssp. austriacum*



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02

SB19

30 Eylül 2019 – 11:30-12:30

Kırıkkale İli Merkez Mezbahasında Kesimi Yapılan Hayvanların Karaciğerlerinde Bulunan Parazitler ve Ekonomik Önemi

Mehmet DOĞAN¹, Aycan Nuriye GAZYAĞCI²

¹Kırıkkale İl, Gıda Tarım ve hayvancılık Müdürlüğü, KIRIKKALE;

²Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, KIRIKKALE

E-posta: naycani1980@yahoo.com

Amaç: Türkiye’de nüfusun yaklaşık %25’i tarım ve hayvancılıkla uğraşarak geçimini kırsal alandan sağlamaktadır. Ancak hayvancılıktan elde edilen üretim miktarları ve verimlilik rakamları henüz gelişmiş ülkelerle rekabet edebilecek seviyelerde değildir. Türkiye’de gerek et gerekse süt veriminin düşük olmasına neden olan çok sayıda faktörün arasında, paraziter hastalıkların neden olduğu potansiyel üretim kayıpları da önemli yer tutmaktadır. Çalışma ile Kırıkkale İli merkez mezbahalarda kesilen kasaplık hayvanların karaciğerlerinde görülen parazitleri belirlemek ve parazit kaynaklı oluşan ekonomik kayıpların bir yıl boyunca toplanan örnekler ile ne boyuta ulaştığını tespit etmek amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışma 01 Eylül 2015 - 31 Ağustos 2016 tarihleri arasında Kırıkkale İli Merkezde faaliyet gösteren iki mezbahada kesimi yapılan hayvanların (koyun ve sığır) karaciğeri üzerinde yürütülmüştür. Bu tarihler arasında mezbahada 4914 sığır ve 9802 (koyun: bir yaşından büyük 261, kuzu: bir yaşından küçük 9541) koyunun resmi olarak kesimi yapılmıştır. Çalışma süresince hafta da bir gün mezbahaya gidilerek kesimi yapılan sığır ve koyunların karaciğer, safra kanalları ile safra keseleri incelenmiştir. Karaciğer ve safra kanallarına enine kesitler yapılarak ve safra keseleri açılarak karaciğerde yaşayan parazit etkenlerin (*Fasciola* spp., *D. dendriticum*, kist hidatid ve *Cysticercus tenuicollis*) tespiti ve sistemik et muayenesi makroskobik yönden yapılmış ve gerekli kayıtlar tutulmuştur. Diğer günlerde ise mezbahada görevli resmi veteriner hekimlerin nezaretinde imha edilen organların sayısı öğrenilmiş ve güncel satış fiyatları üzerinden ekonomik kayıp hesaplanmıştır.

Bulgular: Çalışmada muayenesi yapılan 4914 adet sığır karaciğeri, 261 adet koyun karaciğeri ve 9541 adet kuzu karaciğeri helmint yönünden incelenerek; sığırların 167’sinde (%3,39), koyunların 13’ünde (%4,98) *Fasciola* spp. rastlanmış olup kuzularda ise görülmemiştir. *Fasciola* spp. sığırlarda %3,39, koyunlarda %4,98 oranında tespit edilmiş, kuzularda ise bu parazite rastlanmamıştır. *Dicrocoelium dendriticum* ise sığır, koyun ve kuzularda görülmemiştir. Kist hidatidin sığırlarda %0,61, koyunlarda %4,21 oranında görülmüş, kuzularda ise kist hidatide rastlanmadığı saptanmıştır. *Cysticercus tenuicollis* sığırlarda %0,40, kuzularda %0,36 oranında görülmüş olup koyunlarda rastlanmamıştır. *Fasciola* spp. kaynaklı 167 adet, kist hidatid kaynaklı 30 adet ve 20 adedi *Cysticercus tenuicollis* ile enfekte toplam 217 sığır karaciğeri zarar görmüş ve imha edilmiştir. Aynı şekilde *Fasciola* spp. kaynaklı 13, kist hidatid kaynaklı 11 adet ve 35 adedi *Cysticercus tenuicollis* ile enfekte toplam 59 koyun karaciğerin tamamı veya karaciğerdeki lezyonların yoğunluğuna bağlı olarak kısmi imhası gerçekleştirilmiştir. *Fasciola* spp. kaynaklı 24.270 TL, kistik echinococcosis kaynaklı 5.280 TL ve *Cysticercus tenuicollis* kaynaklı 990 TL dir. Çalışma süresi boyunca karaciğerin muayenesi sırasında kurallara uygun imha edilen karaciğer



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

kaynaklı ekonomik kayıp 30.540 TL, 10.317 \$ ve 9.254 € sonuç olarak ortaya çıkmıştır. Çalışma ekonomik boyutunu ortaya koymak için 01 Eylül 2016 Türkiye Cumhuriyet Merkez Bankası kurlarına göre (1 \$=2.96 TL, 1 € =3.30 TL) hesaplamalar yapılmıştır.

Sonuç: Bu çalışma ile Kırıkkale’de kesilen hayvanlarda fasciolosis görülme sıklığı, ilde daha önceki yıllarda yapılan çalışmaların sonuçlarına göre artış gösterdiği, dicrocoeliosis ve kistik echinococcosis’te ise görülme sıklığının azaldığı tespit edilmiştir. Cysticercosis ile ilgili bu ilde daha önceki yıllarda çalışma olmadığı için bir kıyaslama yapılamamıştır. Sonuç olarak çalışma ile Kırıkkale ili merkez mezbahalarda bir yıl içerisinde kesilen sığır ve koyunlarda fasciolosis, dicrocoeliosis, kistik echinococcosis ve cysticercosis görülme sıklığı Türkiye’de yapılan diğer çalışmalara oranla düşük olduğu halde ekonomik kaybın 30.540 TL, (10.317 \$ veya 9.254€) olduğu saptanmıştır. Sinsi seyreden ve klinik belirti göstermeyen paraziter hastalıkların ekonomik kayıpları azımsanmayacak kadar çok olduğu tekrar gözler önüne serilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Fasciola* spp., *Dicrocoelium dendriticum*, kist hidatid, *Cysticercus tenuicollis*, sığır, koyun, karaciğer, ekonomik kayıp, Kırıkkale.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03

30 Eylül 2019 - 13:30–15:00

Oturum Başkanları: Münir AKTAŞ / Bayram ŞENLİK

SB20. *Encephalitozoon intestinalis*'in U937 Hücrelerindeki BAG1 ve BAG3 Gen Ekspresyonuna Etkisi
Ülfet ÇETİNKAYA, Armağan CANER, Arzu CHARYYEVA, Meryem ŞENTÜRK, Meryem EREN

SB21. Sağlıklı Tavşanlarda *Encephalitozoon cuniculi* Seropozitifliği ile Böbrek Biyokimyasal Belirteçleri Arasındaki İlişki
Özcan ÖZKAN, **Banuççek YÜCESAN**, Selçuk PEKKAYA, Mehmet ALÇIĞIR, İsmayil GÜRCAN

SB22. Molecular Survey of Hepatozoonosis in Natural Infected Dogs: First Detection and Molecular Characterisation of *Hepatozoon canis* in Kyrgyzstan
Kürşat ALTAY, **Mehmet Fatih AYDIN**, Ayperi AYTMİRZAKİZİ, Zarima JUMAKANOVA, Ayday CUNUSOVA, Nazir DUMANLI

SB23. Türkiye'de İki Boz Ayıda *Hepatozoon ursi*'nin ilk Moleküler Tanısı
Muzaffer AKYÜZ, Rıdvan KİRMAN, Esin GÜVEN

SB24. Tavuklarda Microsporidian Parazitlerin Moleküler Prevalansı ve Filogenetik Karakterizasyonu
Nuri ERCAN, Önder DÜZLÜ

SB25. Bir Hindi Sürüsünde Görülen Histomonosis Salgını ve Etkenin Moleküler Olarak Teşhisi
Özlem ORUNÇ KILINÇ, Adnan AYAN

SB26. First molecular evidence for *Mycoplasma haemocanis* and *Candidatus mycoplasma haematoparvum* in asymptomatic shelter dogs in Kyrgyzstan
Kürşat ALTAY, **Mehmet Fatih AYDIN**, Ayperi AYTMİRZAKİZİ, Zarima JUMAKANOVA, Ayday CUNUSOVA, Nazir DUMANLI

SB27. Oğuzlar Yöresindeki Sığırlarda *Neospora caninum* ve *Besnoitia besnoiti*'nin Seroprevalansı
Dilek KULA, **Sami GÖKPINAR**

SB28. Kars Yöresinde Koyunlarda *Babesia* ve *Theileria* Türlerinin Moleküler Epidemiyolojisi
Nilgün AYDIN, Zati VATANSEVER, Mükremin Özkan ARSLAN

SB29. Sığırlarda Yaygınlık Gösteren *Eimeria* Türlerinin Spesifik Tanısı İçin Sybergreen Tabanlı Real Time PCR Metodunun Geliştirilmesi
Alparşan YILDIRIM, **Gözde ŞAHİNGÖZ DEMİRPOLAT**, Önder DÜZLÜ, Gamze YETİŞMİŞ, Zuhul ÖNDER, Arif ÇİLOĞLU, Emrah ŞİMŞEK, Mükremin Özkan ASLAN, Abdullah İNCİ



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03

SB20

30 Eylül 2019 – 13:30-15:00

Encephalitozoon intestinalis'in U937 Hücrelerindeki BAG1 ve BAG3 Gen Ekspresyonuna Etkisi

Ülfet ÇETİNKAYA, Armağan CANER², Arzu CHARYYEVA³, Meryem ŞENTÜRK⁴, Meryem EREN⁴

¹Erciyes Üniversitesi Halil Bayraktar SHMYO, KAYSERİ; ²Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik AD, KAYSERİ; ³Ostrava University Life Science Research Centre, Faculty of Science, Ostrava, CZECH REPUBLIC; ⁴Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya AD, KAYSERİ

E-posta: ucetinkaya@erciyes.edu.tr

Amaç: Mikrosporidian parazitler omurgalı ve omurgasız birçok canlıda enfeksiyonlara neden olabilen zorunlu hücre içi parazitleridir. Bu grup içerisinde yer alan *Encephalitozoon intestinalis* (*E. intestinalis*), konak hücresi içinde ve konak hücresi tarafından oluşturulan bir parazitoforoz vakuol içerisinde gelişmekte ve çoğalmaktadır. Parazit, konak hücresine yerleşebilmek ve canlılığını devam ettirmek için en azından vakuol membran parçalanana kadar, konakçı hücrenin normal hücre metabolizmasını ve hücresel süreçlerini devre dışı bırakmaktadır. Bu çalışmada parazitin konak hücre apoptozunda görev alan genler üzerindeki etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada, U937 insan makrofaj hücre hattı ve *E. intestinalis* 50506 (ATCC) suşu kullanılmıştır. U937 hücreleri Phorbol 12-Myristate 13-Acetate (PMA) ile stimüle edildikten sonra parazit ile enfekte edilmiştir. Enfeksiyon sonrası hem kontrol gruplarında hem de parazit ile enfekte gruplarda apoptoz indüklenmiştir. Daha sonra RNA izolasyonu ve cDNA eldesi gerçekleştirilmiştir. Apoptotik yollarda rolü olan genlerin ekspresyonlarındaki değişimler Real-Time PCR yöntemiyle kantitatif olarak (qPCR) değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler 2- $\Delta\Delta C_t$ yöntemi ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Analizler sonucunda *E. intestinalis*'in hücrenin apoptoza gitmesini engelleyen BAG1 ve BAG3 genlerinin ekspresyonunu arttırdığı görülmüştür. BAG1 geninin ekspresyonu kontrol grubuna göre 4,05 (P<0,05) kat artarken BAG3 geninin ekspresyonu 2,1 (P<0,05) kat artmaktadır.

Sonuç: Enfekte hücrelerin apoptozisi, patojenleri ortadan kaldırmak için konakçı tarafından kullanılan evrensel bir mekanizmadır. Bununla birlikte, konakçı hücre döngüsünün ve apoptozun düzenlenmesinde rol oynayan sinyal yolları aynı zamanda doğal immün yanıtları altüst etmek için hücre içi parazitlerin birincil hedefleridir. Bu çalışmada da zorunlu hücre içi paraziti olan *E. intestinalis*'in, yerleştiği hücrenin canlılığını sürdürmesi için anti-apoptotik genlerden BAG1 ve BAG3'ün ekspresyonunu artırdığı tespit edilmiştir. Bu çalışma ile ilk kez *E. intestinalis* ile enfekte olan konak hücrelerinde, hücre apoptozunda görev alan genlerin ekspresyonu qPCR yöntemi ile değerlendirilerek parazitin konak hücre apoptozu üzerindeki etki mekanizması açıklanmaya çalışılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda elde edilen verilerin yeni ilaçların geliştirilmesi, gen susturma ve gen terapi çalışmalarına ışık tutacağı kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler Apoptozis, BAG1, BAG3, *Encephalitozoon intestinalis*, Gen, qPCR

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından (Proje No: TCD-2016-7042) desteklenmiştir.



Sağlıklı Tavşanlarda *Encephalitozoon cuniculi* Seropozitifliği ile Böbrek Biyokimyasal Belirteçleri Arasındaki İlişki

Özcan ÖZKAN¹, Banuçiçek YÜCESAN¹, Selçuk PEKKAYA², Mehmet ALÇIĞIR³, İsmayil GÜRCAN⁴

¹Çankırı Karatekin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, ÇANKIRI; ²Etlik Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü, Biyokimya Laboratuvarı, ANKARA; ³Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji AD, KIRIKKALE;

⁴Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyoistatistik AD, ANKARA

E-posta: yucesanbanu@yahoo.com

Amaç: *Encephalitozoon cuniculi* (*E. cuniculi*), özellikle tavşanlarda ve çeşitli ülkelerde birçok yabani ve evcil hayvanda latent hastalığa neden olabilmektedir. Bu enfeksiyon potansiyel olarak zoonotik ve fırsatçı bir patojenden kaynaklandığından veteriner ve halk sağlığı için önemlidir. Bu çalışmanın amacı, klinik olarak sağlıklı tavşanlarda *E. cuniculi* seropozitifliği ve böbrek fonksiyon belirteçleri arasındaki ilişkinin, hastalığın tanısında yararlı olup olmayacağını araştırmaktır.

Yöntem: Bu çalışma laboratuvar koşullarında kontrollü olarak yetiştirilen Yeni Zelanda beyaz tavşanlarında yapılmıştır. Bir kısıtlama kutusunda hareketsizleştirilen her bir hayvanın kulak damarlarından aseptik koşullar altında serolojik ve biyokimyasal analiz için kan örnekleri alınmıştır. Daha sonra serolojik ve biyokimyasal analizler yapılan kadar serumları ayrılmış ve -20 °C'de saklanmıştır. Tavşanlarda *E. cuniculi*'ye spesifik antikor tepkilerini belirlemek için, pozitif ve negatif kontroller (tavşan serumu) içeren bir ELISA kiti (Express Biotech International-USA) üreticinin talimatlarına göre kullanılmıştır. Ayrıca serum örneklerindeki, aktivite aspartat amino transferaz (AST); alanin aminotransferaz (ALT); gama-glutamil transferaz (GGT); laktat dehidrojenaz (LDH); alkalın fosfataz (ALP); glukoz, trigliseritler, toplam kolesterol, albümin, toplam protein, kreatinin ve kan üre azotu (BUN) konsantrasyonları; ürik asit; kreatin kinazı (CK); toplam bilirubin (TB); kalsiyum (Ca); Fosfor (P) ve magnezyum (Mg) seviyeleri, tam otomatik BT 3000 plus biyokimya analizörü (Biotecnica Instruments S.p.A., İtalya) ile üreticinin talimatlarına göre kullanılarak belirlenmiştir. Ek olarak enfeksiyonu onaylamak ve enfeksiyonun dokulara verdiği zararı göstermek için de otopsi yapılmıştır. İstatistiksel analizler SPSS V.22 istatistik paket programı kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular: Serolojik olarak; 97 tavşanın 48 tanesinde *E. cuniculi* seropozitifliği tespit edilmiştir. Seropozitiflerde, cinsiyet ve yaş gruplarının etkileri istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$). Seropozitif tavşanlardaki protein, ALP, BUN, kreatinin, kolesterol, P ve glukoz seviyeleri seronegatif hayvanlara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. *E. cuniculi* seronegatif ve seropozitif serum örnekleri arasında diğer biyokimyasal belirteçler açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Seropozitif dişilerde albumin ($p < 0.001$) ve üre ($p < 0.01$) seropozitif erkeklerden daha yüksek görülmüştür. Ayrıca, seropozitif erkeklerin kreatinin ($p < 0.001$) ve üre ($p < 0.001$) düzeyleri seronegatif erkeklerinkinden daha yüksek bulunmuştur. Seropozitif dişi tavşanlarda, kreatinin ($p < 0.001$) ve protein ($p < 0.001$), seronegatif dişilerden daha yüksekken, kolesterol ($p < 0.05$) ve ALP ($p < 0.001$) düzeylerinin seronegatif dişilerde yüksek olduğu bulunmuştur. Sonuçta serum, BUN ve



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

kreatinin düzeylerinin seropozitif hayvanlarda anlamlı olarak yükseldiği görülmüştür. Bununla birlikte, bu hayvanlarda serum üre seviyeleri, seronegatif tavşanlarla karşılaştırıldığında anlamlı olmayan değişiklikler göstermiştir. Enfeksiyonun doğrulanması için iki seropozitif tavşana nekropsi yapılmış ve böbreklerden, beyin, akciğer ve karaciğerden alınan numuneler H&E ile boyanarak, ışık mikroskopunda histopatolojik olarak analizi gerçekleştirilmiştir. Otopside, böbrek dokularının makroskopik olarak normal ve hasar görülmediği tespit edilmiştir. Mikroskopik olarak dejeneratif değişiklikler, akut hücre şişmesi ve vakuolar dejenerasyon tespit edilmiştir. *E. cuniculi* sporları dejeneratif tübül epitelinde tanımlanmıştır. Renal medullada, hafif enflamatuar yanıt görülmüştür. Beyinde cerebellum ve cerebrumda hiperemik alanlar bulunmuştur. Akciğer ve karaciğerde de hiperemik alanlar bulunmuştur. Ancak, akciğerdeki hiperemik kılcal damarlarda böbrek ve karaciğerde bulunanlar gibi mononükleer hücre infiltrasyonu ve/veya hücre dejenerasyonu görülmemiştir.

Sonuç: Sonuçta; tavşanlar biyomedikal ve cerrahi çalışmalar, ateroskleroz araştırmaları, antikor üretimi de dahil olmak üzere birçok *in vivo* çalışmada yaygın bir model olarak kullanılmaktadır. *E. cuniculi* ilk olarak Wright ve Craighead tarafından laboratuvar tavşanlarında tanımlanmıştır. Bu çalışmada, klinik olarak sağlıklı tavşanlarda enfeksiyonu öngörmede faydalı olabilecek renal fonksiyon biyokimyasal belirteçlerinin rolü araştırılmıştır. Serolojik ve histopatolojik yöntemler, tavşanlarda enfeksiyonu teşhis etmek için rutin olarak kullanılamamaktadır. Tavşanlarda *E. cuniculi* enfeksiyonunda, böbrek yetmezliği, iştah azalması, kilo kaybı, aşırı su tüketimi ve artan idrar çıkışı gibi çeşitli klinik kanıtlar vardır. Patojenin öncelikle böbreklerde lokalize olması nedeniyle organ etkilendiğinden, kan üre ve kreatinin seviyelerinin test edilmesi, genel sağlık durumu ve tavşanların böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde ve klinik yorumlama için de faydalı olacaktır. Özellikle serolojik testlerdeki pozitifliklerin, artmış BUN ve kreatinin düzeylerinin, laboratuvar hayvanlarında enfekte olmuş *E. cuniculi*'de böbrek hasarı tanısı için yararlı göstergeler olabileceğine inanıyoruz. Latent *E. cuniculi* enfeksiyonlarının çoğu klinik semptomlara neden olmamakla beraber, enfeksiyonların *in vivo* çalışmaların sonuçları üzerinde önemli bir etkisi olabileceği kanaatindeyiz. Bu nedenle bilimsel çalışmalarda tavşanlarda *E. cuniculi* enfeksiyonu ile ilgili ciddi önlem almak gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyokimyasal belirteçler, böbrek fonksiyonu, *Encephalitozoon cuniculi*, tavşan



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03

SB22

30 Eylül 2019 – 13:30-15:00

Molecular Survey of Hepatozoonosis in Natural Infected Dogs: First Detection and Molecular Characterisation of *Hepatozoon canis* in Kyrgyzstan

Kürşat ALTAY¹, Mehmet Fatih AYDIN², Ayperi AYTMİRZAKİZİ³, Zarima JUMAKANOVA³,
Ayday CUNUSOVA³, Nazir DUMANLI^{3,4}

¹Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Sivas Cumhuriyet, SIVAS, TURKEY;

²Department of Public Health, Faculty of Health Sciences, University of Karamanoğlu Mehmetbey, KARAMAN, TURKEY; ³Faculty of Veterinary Medicine, Kyrgyz-Turkish Manas University, BISHKEK, KYRGYZSTAN;

⁴Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Firat, ELAZIG, TURKEY

E-mail: veterinermfa@gmail.com

Aim: Canine hepatozoonosis is a tick-borne protozoan disease and widespread in Europe, Africa, Asia and America. There is not any available data about the presence of *Hepatozoon* infections in dogs in Kyrgyzstan. In the study we aimed that investigate the presence of *Hepatozoon canis* and the prevalence of *Hepatozoon* infections in dogs from Kyrgyzstan using polymerase chain reaction (PCR) and sequence analysis.

Method: To determine the prevalence of hepatozoonosis in dogs, a total of 170 blood samples were applied to PCR to amplify a fragment of 666 bp found in 18S SSU rRNA gene of *Hepatozoon* spp.

Results: The PCR results shown that *Hepatozoon* infection rate was 28.8% (49/170) in dogs. Eleven representative positive samples were sequenced to classification of the species. The nucleotide sequences were compared to the *H. canis* sequences which registered in GenBank using the basic local alignment search tool. Results of sequence analyse of 11 amplicons indicated that 8 were 100% identical and the other 3 sequences shared 99% similarity with *H. canis*. The sequences were deposited in Genbank with accession numbers from MG917709 to MG917719.

Conclusion: It was the first record of *H. canis* in dogs in Kyrgyzstan.

Key Words: Dog, hepatozoonosis, *Hepatozoon canis*, Kyrgyzstan, PCR, sequencing,



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03

SB23

30 Eylül 2019 – 13:30-15:00

Türkiye’de İki Boz Ayda *Hepatozoon ursi*’nin ilk Moleküler Tanısı

Muzaffer AKYÜZ, Rıdvan KIRMAN, Esin GÜVEN,

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ERZURUM

E-posta: muzaffer.akyuz@atauni.edu.tr

Amaç: Bu çalışmanın amacı, Erzurum iline ait Pasinler ve Uzundere ilçelerinde ölü olarak bulunan iki boz ayıdan (*Urcus arctos*) elde edilen kan ve iç organ örneklerinin mikroskopik ve moleküler yöntemler ile paraziter yönden incelenmesidir.

Yöntemler: Uzundere ve Pasinler ilçelerinde, 2017-2018 yıllarında ölü olarak bulunan iki boz ayının ölüm sebeplerinin paraziter yönden araştırılması amacıyla birincisine ait kan örneği, ikinci ayıdan ise kan ve iç organ örnekleri laboratuvarımıza gönderildi. Kan örneklerinden ince yayma froti hazırlanarak Giemsa boyamanın ardından ışık mikroskobu ile incelendi. Kan ve iç organ örneklerinden DNA ekstraksiyonu ve ardından 18S rRNA gen bölgesini kısmen çoğaltan soy spesifik primerler ile PCR analizi yapıldı. Elde edilen pozitif örnekler ticari firmaya gönderilerek çift yönlü sekans analizi yaptırıldı.

Bulgular: Kan örneklerinin mikroskopik incelenmesi sonucunda her iki ayıda da *Hepatozoon* spp. gamontları tespit edildi. PCR analizi ile örneklerde *Hepatozoon* spp. DNA’sı elde edildi. Sekans verilerinin GenBank veri tabanındaki referans suşlar ile karşılaştırılması sonucunda Erzurum izolatlarının %98,78 - 99,37 oranında *Hepatozoon ursi* ile benzer olduğu belirlendi. Erzurum *Hepatozoon ursi* izolatları GenkBank veri tabanına kaydedildi (MN150504-MN150506).

Sonuç: Bu çalışmada, Türkiye’de boz aylarda (*Urcus arctos*) mikroskopik analiz ile *Hepatozoon* spp, moleküler analiz ile de *Hepatozoon ursi* varlığı ilk defa ortaya konulmuştur. *Hepatozoon* enfeksiyonu evcil hayvanlarda çoğunlukla sublinik seyir gösteren ancak miks enfeksiyonlar ile birlikte ölümcül de olabilen protozoer bir hastalıktır. *Hepatozoon* etkenleri özellikle kedi ve köpeklerde dikkat çekmekte olup bu çalışma ile yabani hayvanlardaki varlığı ve yaygınlığının araştırılması gerekliliği ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Boz ayı, Erzurum, *Hepatozoon ursi*, PCR



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03

SB24

30 Eylül 2019 – 13:30-15:00

Tavuklarda Microsporidian Parazitlerin Moleküler Prevalansı ve Filogenetik Karakterizasyonu

Nuri ERCAN, Önder DÜZLÜ

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-posta: nuri.ercan@ahievran.edu.tr

Amaç: Bu çalışmada, Kayseri, Kırşehir ve Nevşehir yöresinde halk elinde ve yumurtacı tavuk işletmelerinde yetiştiriciliği yapılan tavuklarda zoonotik microsporidiosis etkenleri *Enterocytozoon bieneusi* ve *Encephalitozoon* türlerinin moleküler prevalansının belirlenmesi ve izolatların filogenetik karakterizasyonu amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada Kayseri, Kırşehir ve Nevşehir yöresinde halk elinde yetiştiriciliği yapılan sağlıklı ve hasta tavuklardan dışkı örnekleri tavukların kümes veya gezinti alanlarında dışkılamayı takiben gözetim altında taze olarak dışkının yere temas etmeyen üst kısmından, yumurtacı tavuk işletmelerinde ise kafes altlıklarından alınmıştır. Toplanan dışkı örneklerinin makroskopik özellikleri ve protokol kayıtları yapıldıktan sonra soğuk zincir altında laboratuvara intikalleri sağlanmıştır. Dışkı örneklerinden ticari kit yardımı ile gDNA izolasyonu yapılmıştır. gDNA izolatlarında *Encephalitozoon* spp. ve *E. bieneusi* rRNA ITS gen bölgesinin amplifikasyonu amacıyla iki ayrı Nested PCR primer setleriyle pozitif ve negatif kontrol varlığında amplifikasyon gerçekleştirilmiştir. Agaroz jel üzerinde belirlenen hedef büyüklükte ampliconlar saflaştırıldıktan sonra PCR primerleri ile çift yönlü olarak sekanslanmıştır. Elde edilen sekans kromotogramları *De novo* assemble üzerinden işlenmiştir. İlgili sekans dizileri Genbank veritabanında Blast analizine tabi tutularak moleküler identifikasyonları sağlanmış ve genotip çeşitliliği, inter ve intra spesifik nükleotid farklılıkları DNAsp ve Mega 7.0 üzerinden Kimura Two Parameter modeli ile analiz edilmiştir. Filogenetik ağaç oluşturulmasında maximum likelihood analizleri 1000 tekrarlı bootstrap kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Çalışmada örnekleme yapılan 45 adet halk elinde (%75) ve 15 adet (%25) yumurtacı tavuk işletmesinde bulunan tavuklardan alınan toplam 60 adet dışkı örneği makroskopik olarak şekilli (%23,3), yumuşak (%36,6), gevşek ya da sulu (%40) olarak tasnif edilmiştir. PCR analizlerinde 60 örneğin 3'ünün (%5,0) pozitif olduğu ve bu pozitifliklerin halk elinde bulunan tavuklarda ve yumuşak karakterli dışkı örneklerinde bulunduğu tespit edilmiştir. Nested PCR analizleri ve konsensüs sekansların blast confirmasyonları ile pozitif belirlenen örneklerden ikisi *E. bieneusi*, biri ise *Microsporidia* sp. olarak tanımlanmıştır. *E. bieneusi* izolatlarının filogenetik analizlerinde birinin daha önceden Kayseri (MK158495, MK158504) ve Sivas (MH204103) yöresi sığır ve koyun örneklerinden karakterize edilmiş olan ERUSS1 genotipinde olduğu diğer izolatın ise GenBank'ta mevcut karakterize edilmiş genotiplerden en düşük %0,6 farklılıkla yeni bir genotip olduğu tespit edilmiştir. *Encephalitozoon* genel Nested PCR analizleri ile pozitif bulunan *Microsporidia* sp. izolatı %12-15 genetik farklılıkla en yakın identikliği *Nosema* türlerine göstermiştir.

Sonuç: Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TDK-2018-8065 kod numarasıyla desteklenen doktora tez çalışmasıyla geniş konak aralığına sahip zoonotik karakterli



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

microsporidian parazit türü *E. bienersi*'nin tavuklardaki varlığı Türkiye'de ilk kez tespit edilmiş olup, biri yeni olmak üzere iki genotipin bulunduğu görülmüştür. Çalışma ile tavuklarda da belirlediğimiz ERUSS1 genotipinin İç Anadolu Bölgesinde sığır ve koyun gibi farklı konaklarda da rapor edilmiş olması, bu genotipin ilgili coğrafyada yaygın olduğunu ve farklı konakları enfekte edebildiğine dair destekleyici veriler sağlamıştır. İlgili genotipin zoonotik potansiyeli üzerine insanlarda araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Ayrıca çalışma ile tavuklarda farklı microsporidia türlerinin de mevcudiyeti dikkat çekmiştir. Bu noktada ülkemizde tavuk yetiştiriciliği sektöründe zoonotik *Microsporidia* türlerinin yaygınlığı ve moleküler epidemiyolojisi üzerine farklı coğrafyalardan kapsamlı araştırmaların yapılması ve risk potansiyellerinin ortaya çıkarılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Enterocytozoon bienersi*, filogenetik karakterizasyon, genotiplendirme, *Microsporidia* sp., tavuk, Türkiye



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03

SB25

30 Eylül 2019 – 13:30-15:00

Bir Hindi Sürüsünde Görülen Histomonosis Salgını ve Etkenin Moleküler Olarak Teşhisi

Özlem ORUNÇ KILINÇ¹, Adnan AYAN²

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, ¹Özalp Meslek Yüksek Okulu, ²Veteriner Fakültesi Genetik AD, VAN

E-posta: ozlemkilinc@yyu.edu.tr

Amaç: Histomonosis (Histomoniasis) *Histomonas meleagridis* adlı monocercomonadidae ailesine mensup trichomonad protozoonun sebep olduğu enterohepatitis ile karakterize bir hastalıktır. İlk olarak 1983 yılında Rhode adasında görülmüş ve hızla dünyaya yayılmıştır. 19. Yüzyılda Amerika'da milyonlarca hindinin ölümüne sebep olmuştur. *H. meleagridis* 3- 21 µm boyutlarında axosytle, pelta, costa, parabasal cisimcik ve hidrogenosom gibi genel olarak tüm trichomonadlarda görülen organellere sahip bir protozondur. Hem ameboik hem de flagellar aktiviteye sahip olan etken polimorf yapılı olup İnvazif, vejetatif, rezistant ve flagellumlu safhaları bulunmaktadır. Histomonosis de karışık tüyler, düşmüş kanatlar, bitkinlik ve sülfür kokulu sarı renkli ishal genel klinik belirtilerdir. Nekropside ise sekumda şişkinlik, sekum duvarında kalınlaşma, karaciğerde çöküntü tarzı nekroz odakları en tipik bulgulardır. Etkenler hastalık ilerledikçe diğer organlarda yayılabilir ve özellikle yüz ve ibikte siyanozdan dolayı morarma görülür bundan dolayı halk arasında karabaş hastalığı olarak da adlandırılır. Histomonosis başta hindiler olmak üzere piliç, keklik, bıldırcın, tavus kuşu, sülün ve afrika tavuğunda görülmüştür. Özellikle genç hindi palazlarında mortalitesi çok yüksektir ve salgınlara sebep olmaktadır. *H. meleagridis* dış şartlara ve mide asidine dayanıksızdır ve konakçı dışında birkaç saat içinde ölür. Trofozoitlerin ağız yoluyla alınması hastalığın yayılışında önemli bir yer tutmaz. Histomonosisde enfeksiyonun yayılmasında kanatlılarda görülen *Heterakis gallinarum*'un yumurtaları önemli rol oynar. *H. gallinarum* ile enfekte kanatlılarda *Histomonas*'lar nematodun ovaryumlarına girerek çoğalır, ovaryumdan yumurtalara ve larvalara geçer. İçerisinde *H. gallinarum* larvalarını taşıyan yumurtaların yer solucanları tarafından alınması ile birlikte *Histomonas*'lar *Heterakis* larvaları ile beraber yer solucanlarına geçer ve bu solucanların bünyesinde uzun süre kalabilirler. Kanatlılar ya enfekte *H. gallinarum* yumurtalarını ya da enfekte yer solucanlarını yemek sureti ile hastalığa yakalanırlar. Ancak bulaşmada direkt temas ile kloakal bulaşmanın çok önemli olduğu son araştırmalar ile ortaya koyulmuştur. Bu çalışmanın amacı; Van'ın Muradiye ilçesinde bir hindi sürüsünde patlak veren ölümlere sebep olan hastalığın etkeninin moleküler olarak araştırılması ve etken olarak teşhis edilen *H. meleagridis*'in moleküler karakterizasyonunun belirlenmesidir.

Yöntem: Bu çalışmada Van'ın Muradiye ilçesinde ölümlerin görüldüğü 1500 hindi barındıran sürüden alınan dışkı ve kadavra örnekleri incelendi. Dışkı örnekleri öncelikle mikroskopik olarak analiz edildi. Ölen 5 hindinin nekropsisi yapılarak organ ve dokular makroskopik açıdan incelendi. Karaciğerde görülen granulomatöz odaklardan ve inflamasyonlu sekumdan kazıntılar alınarak froti çekildi ve giemsa boyama yöntemi ile boyanarak mikroskopik olarak incelendi. Sonrasında 50 dışkı örneğinden DNA ekstraksiyonu için QIAampFast DNA Stool Mini kit (Qiagen, Germany, cat. no. 51604) ve doku



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

örneklerinden DNA ekstraksiyonu için Invitrogen PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (USA, K182002) doku kiti kullanıldı Daha sonra *H. meleagridis*'in small subunit ribosomal RNA(SSU rRNA) gen bölgesinin 209 bp'lik bölgesini amplifiye etmek için Huber ve ark. (2005) tarafından kullanılan HIS5F (50-CCTTTAGATGCTCTGGGCTG-30) ve HIS5R (50-CAGGGACGTATTCAACGTG-30) primerleri kullanılarak PCR yapıldı. Ardından PCR ürünleri Safe-T-Stain ile boyanarak agaroz jelde koşturulup jel görüntüleme cihazında (Syngene bio imaging system) görüntüleri elde edildi.

Bulgular: Ölen hayvanların nekropsisinde makroskopik olarak sekumda şişkinlik ve kalınlaşma ve karaciğerde sarı renkli nekroz odakları tespit edildi. Karaciğerdeki nekroz odaklarının giemsa ile boyandıktan sonra mikroskopik incelenmesi sonucu trofozoitler tespit edildi. Hasta hayvanlardan alınan dışkı örneklerinin hem natif hemde giemsa boyamalı frotilerinin mikroskopik incelenmesinde etken görülmedi. Dışkı örneklerinden ve karaciğerdeki nekroz odaklarından yapılan PCR sonucu dışkı örneklerinin 31'inde 5 nekropsi örneğinin tümünde 209 bp büyüklüğünde *H. meleagridis* için spesifik bantlar elde edildi.

Tartışma ve Sonuç: Histomonosisde tedavi ve kontrol için 1900 lü yıllarda kimyasal ilaçlar sıklıkla kullanılmış ve iyi sonuçlar elde edilmiştir. Ancak bu ilaçların kullanımı insan sağlığına etkilerinden dolayı sınırlandırılmıştır ve bu sebeple yeniden bu hastalık hortlamış ve görülme sıklığı artmıştır. Histomonosisde neden bazı durumlarda mortalitenin daha yüksek olduğu, dönemsel patlakların olması ve diğer kanatlılarda da çok sık olmamakla beraber salgınların görülmesi tartışılan bir konudur. Hauck *H. meleagridis* gibi bazı parazitler etkenlerin bağırsak florasından etkilendiğini ve patojenitesinin değişebileceğini savunmuştur. *H. meleagridis*'in suşları arasında farklılık olabileceği bazı suşların daha patojen ve diğer kanatlıları etkileyebileceğini bildiren çalışmalar da mevcuttur. Bu suşlar moleküler tabanlı testler ile belirlenebilmektedir. Ülkemizde Histomonosis ile ilgili çalışmaların sayısı çok yetersizdir. Var olan çalışmalar vaka takdimi olarak sunulmuştur. Histomonosis de bulaşmada önemli olan *H. gallinarum* ve yer soluncanlarıdır. Ancak Chossat de *H. gallinarum* ve yer soluncanlarının olmadığı durumlarda da bulaşmanın olabileceğini ve çeşitli geçiş yollarının tartışılması gerekliliğini savunmuştur. Son yıllarda Histomonosisde kloakal bulaşma üzerinde durulan konulardandır. Armstrong ve McDougald enfeksiyonun bulaşmasında, çöp veya dışkı maddesiyle temas etmekten ziyade doğrudan temas sonucu kloakal bulaşmanın daha önemli olduğunu bildirmişlerdir. Badparva ve Kheirandish *H. meleagridis*'in waterborne bir parazit olduğunu kloaka yoluyla bulaşmanın daha patojen olabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da hasta olan hindilerden alınan 50 dışkı örneği *H. gallinarum* yumurtası yönünden incelenmiş fakat yumurtaya rastlanılmamıştır, ayrıca nekropside de erişkin *H. gallinarum* görülmemiştir. Bu sonuçlar kloakal bulaşmayı destekler niteliktedir. Histomonosis için yeni bilgilerden biride Sulejmanovic ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile bildirilmiştir. Bu araştırmacılar yaptıkları deneysel çalışmada dişi ve erkek hindileri sadece bir çit ile ayırıp aynı koşullarda besleyerek enfeksiyon oluşturmuşlar ve dişilerde hastalık oluşmasına rağmen klinik görüntünün çoğu hayvanda normal olduğunu, erkek hindilerde ise ölüm oranlarının yüzde yüz olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmada Sulejmanovic ve ark. yaptıkları çalışmayı desteklercesine nekropsisi yapılan hayvanların tümü erkek olarak belirlenmiştir. Günümüzde Histomonosis teşhisinde klasik rutin yöntemler moleküler yöntemler ile desteklenmektedir. Özellikle dışkıdan etken tayininin yapılması klasik yöntemler ile oldukça zordur etkenler dış şartlarda hemen ölmektedir. Ayrıca *H. meleagridis* diğer flagellalı ajanlar ile karışabilmektedir. Ribozomal RNA'nın nükleotid sekansına dayalı yöntemler farklı flegellalı ajanların kesin ve doğru teşhisine olanak sağlar. Grabensteiner ve Hess, Hauck ve ark. *H. meleagridis* 'in diagnostik teşhisinde moleküler yöntemlerin zorunlu olduğunu savunmaktadırlar. Bu çalışmada 5 kadavranın nekropsisi sırasında alınan karaciğer örneklerinden ve hastalık belirtisi olan 50 hayvandan alınan dışkı örneklerinden PCR analizi yapılmıştır. Dışkı örneklerinin 31'inde nekropsi örneklerinin tamamında 209 bp büyüklüğünde *H. meleagridis* DNA'sı elde



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları *H. meleagridis*'in hindi sürülerinde halen ölümcül salgınlara sebep olarak ekonomik kayıplara sebep olduğunu ve bu konuda yetiştiricilerin ve hekimlerin bilinçlendirilip etkin kontrol ve tedavi yöntemlerinin kullanılmasının önemli olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca Histomonosis'in kloakal temas ile bulaşmasından dolayı hasta hayvanların ayrılmasının ve etkenin teşhisinde dışkı kullanılacaksa moleküler testlerin daha faydalı olacağı da çalışmanın sonuçları ile ortaya koyulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Hindi, *Histomonas meleagridis*, PCR

Bu proje Van YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmektedir. (Proje Kodu: TAP-2019-8489).



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03

SB26

30 Eylül 2019 – 13:30-15:00

First Molecular Evidence for *Mycoplasma haemocanis* and *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* in Asymptomatic Shelter Dogs in Kyrgyzstan

**Kürşat ALTAY¹, Mehmet Fatih AYDIN², Ayperi AYTMİRZAKİZİ³, Zarima JUMAKANOVA³,
Ayday CUNUSOVA³, Nazir DUMANLI^{3,4}**

¹Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Sivas Cumhuriyet, SIVAS, TURKEY;

²Department of Public Health, Faculty of Health Sciences, University of Karamanoğlu Mehmetbey, KARAMAN, TURKEY; ³Faculty of Veterinary Medicine, Kyrgyz-Turkish Manas University, BISHKEK, KYRGYZSTAN;

⁴Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Firat, ELAZIG, TURKEY

E-mail: veterinermfa@gmail.com

Aim: Canine haemoplasmosis is caused by two main species, *Mycoplasma haemocanis* (Mhc) / *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* (CMhp). No data were available for evidence of presence the hemoplasmas in dogs in Kyrgyzstan. This study aimed to investigate frequency of infection with Mhc and CMhp in dogs from Kyrgyzstan.

Method: Venous blood samples were taken from 170 dogs during 2016 and 2017. After isolation genomic DNA's by a commercial kit each Haemoplasma species was screened using species specific PCR, targeting 16S rRNA gene, then sequenced. Maximum likelihood estimation (MLE) of the infection rates with 95% confidence intervals (CI) was calculated.

Results: The molecular prevalence of hemoplasma infection was 5.29% (CI 2.57-9.34). It was found that, five (2.94%, CI 1.06-6.22) samples were found to be infected with Mhc, one (0.59%, CI 0.03-2.57) sample with CMhp and three (1.76%, CI 0.44-4.52) samples with both species. Sequences comparisons exhibited that while Mhc sequence is identical with previously reported sequences of Mhc and *Mycoplasma haemofelis* with rate of 99-100%, CMhp sequence shared 99-100% identity with CMhp and 97-98% with *Candidatus Mycoplasma haemominutum*.

Conclusion: These results demonstrated that dogs are exposed to each canine Haemoplasma species and also provide the first molecular evidence for these species in Kyrgyzstan.

Key Words: Canine, Haemoplasmas, Kyrgyzstan, PCR



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03

SB27

30 Eylül 2019 – 13:30-15:00

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

Dilek KULA¹, Sami GÖKPINAR²

Kırıkkale Üniversitesi, ¹Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji AD;

²Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KIRIKKALE

E-posta: samigokpinar@hotmail.com

Amaç: Bu çalışmanın amacı Çorum iline bağlı Oğuzlar ilçesindeki sığırlarda, *Neospora caninum* ve *Besnoitia besnoiti* seroprevalansının araştırılması ve bu etkenlerin bölgedeki varlığının tespit edilmesidir.

Yöntemler: Oğuzlar yöresindeki 100 sığırın *vena jugularis*inden antikoagülanatsız tüplere venöz kan örneği alınmıştır. Kan örnekleri soğuk zincirde Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji laboratuvarına ulaştırılmıştır. Bu kanlardan elde edilen serum örnekleri kullanılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Kan serumları *N. caninum* ve *B. besnoiti* yönünden ticari c-ELISA kitleri ile muayene edilmiştir.

Bulgular: Çalışma kapsamında incelenen serum örneklerinden 2'si *N. caninum* (%2), 5 tanesi ise *B. besnoiti* (%5) yönünden seropozitif olarak tespit edilmiştir. Örneklenen sığırların hiç birinde mikis enfeksiyon tespit edilmemiştir. *Neospora caninum* seropozitif olarak tespit edilen örneklerden biri 1 yaş altında iken, diğeri ise 1-5 yaş arasındadır. *Besnoitia besnoiti* yönünden seropozitif tespit edilen sığırlardan 4 tanesi 1-5 yaş arası, 1 tanesi ise 6 yaşından büyük hayvanlardır. *Neospora caninum* ve *B. besnoiti* seropozitif olarak tespit edilen hayvanların tümü dişi hayvanlardır. Ancak her iki parazite ait seropozitiflik bakımından yaş grupları ve cinsiyet açısından istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

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

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

Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2018/017 numaralı proje ile desteklenmiş ve Dilek KULA'nın Yüksek Lisans tezinden özetlenmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03

SB28

30 Eylül 2019 – 13:30-15:00

Kars Yöresinde Koyunlarda *Babesia* ve *Theileria* Türlerinin Moleküler Epidemiyolojisi

Nilgün AYDIN¹, Zati VATANSEVER¹, Mükremin Özkan ARSLAN²

Kafkas Üniversitesi, ¹Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD; ²Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, KARS

E-posta: nlgnet.hek@hotmail.com

Amaç: *Babesia* ve *Theileria* etkenleri hayvanlarda yaygın olarak görülen ve hastalıklara neden olan Apicomplexa anacında yer alan kan protozoon parazitleridir. Bu çalışma Türkiye'nin Kuzey Doğu Anadolu Bölgesinde yer alan Kars yöresindeki (40°36'04.82''N, 43°05'50.83''E) koyunlarda *Babesia* ve *Theileria* türlerinin moleküler yöntemlerle belirlenmesi, vektör kenelerin tespit edilmesi, kenelerde *Babesia* ve *Theileria* türlerinin saptanması ve moleküler epidemiyolojisinin araştırılması amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Bu amaçla Ocak-Aralık 2017 tarihleri arasında her ay ziyaret edilen sekiz odaktaki 96 (8x12) işletmede bulunan koyunlardan 960 (12x80) adet kan sürme frotisi hazırlanmış ve moleküler tanı için kan örneği alınmıştır. Ayrıca kene enfestasyonu yönünden muayene edilen koyunlar üzerinden 944 adet kene toplanmıştır. Kan frotileri Giemsa ile boyandıktan sonra mikroskopik olarak piroplasm formları yönünden incelenmiştir. Kan örneklerinden ekstrakte edilen *Babesia* ve *Theileria* piroplasm DNA'ları RLB-F2 ve RLB-R2 primerleri kullanılarak 18S ssu rRNA geninin değişken V4 bölgesindeki, uzunluğu 360-430 bp olan bir bölge amplifiye edilmiş ve Reverse Line Blotting (RLB) yöntemi ile incelenmiştir. Toplanan kenelerin tür identifikasyonları yapılmış ve kene yumurta kümeleri *Babesia* ve *Theileria* türleri yönünden RLB tekniği ile değerlendirilmiştir.

Bulgular: Bu çalışmada Kars yöresindeki koyunlarda mikroskopik olarak %3,96 (38/960) oranında *Theileria* spp. piroplasm formları tespit edilmiş olup, *Babesia* spp. piroplasm formları saptanmamıştır. *Theileria* spp. piroplasm formları bütün odaklarda tespit edilmiş olup, Mayıs ayında %17,5 (14/80) ve İlkbahar mevsiminde %10,83 (26/240) bulunmuştur (P<0,05). RLB ile *Babesia* ve *Theileria* türlerinin yaygınlığı %35,52 (341/960) oranında bulunmuş olup, bu türlerin prevalansı sırasıyla %0,31 (3/960) ve %35,21 (338/960) oranında bulunmuştur. *Babesia* ve *Theileria* türleriyle tek türle olan enfeksiyonlar %33,23 (319/960) ve miks enfeksiyonlar %1,15 (11/960) olarak saptanmıştır. Koyunlarda *Theileria ovis* %24,79 (238/960), *Theileria* sp., %6,15 (59/960), *Theileria* sp. OT3 %4,27 (41/960) ve *Babesia ovis* %0,31 (3/960) türleri/genotipleri belirlenmiştir. Kars yöresindeki koyunlarda yılın her ayında tespit edilen *Theileria ovis* ilkbahar mevsiminde daha yaygın (%43,75; 105/240) olarak bulunmuştur (P<0,05). Çalışmada tespit edilen *Theileria* sp. türü yapılan sekans sonucuna göre; %99,05 *Theileria orientalis* (*T. orientalis* / *T. buffeli* / *T. sergenti*) ve %98,92 düzeyinde *Theileria sinensis* türüne benzer bulunmuş olup, bu nedenle *Theileria* sp. olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmada kene enfestasyonlarının prevalansı %17,5 (168/960) olarak saptanmıştır. Enfeste koyunlarda *Dermacentor marginatus* %66,31, *Haemaphysalis parva* %32,73, *Haemaphysalis punctata* %0,21, *Rhipicephalus bursa* %0,53 ve *Hyalomma marginatum* %0,11 türleri identifiye edilmiştir. RLB ile İncelenen 234 erişkin kene havuzunun 4'ünde *Babesia* spp. (%1,70) sinyali alınmıştır.

Sonuç: Araştırma sonucunda bölgede koyunlarda theileriosis etkeni olarak *Theileria ovis*'in sorumlu ajan olduğu, enfeste koyunlarda *Dermacentor marginatus* ve *Haemaphysalis parva* türü kenelerin yaygın olarak görüldükleri belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kars, Koyun, *Babesia*, *Theileria*, Kene, Reverse Line Blotting (RLB), moleküler epidemiyoloji



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03

SB29

30 Eylül 2019 – 13:30-15:00

Sığırlarda Yaygınlık Gösteren *Eimeria* Türlerinin Spesifik Tanısı İçin Sybergreen Tabanlı Real Time PCR Metodunun Geliştirilmesi

Alparslan YILDIRIM¹, Gözde ŞAHİNGÖZ DEMİRPOLAT², Önder DÜZLÜ¹, Gamze YETİŞMİŞ¹, Zuhal ÖNDER¹, Arif ÇİLOĞLU¹, Emrah ŞİMŞEK³, Mükremin Özkan ASLAN⁴, Abdullah İNCİ¹

¹Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ; ²Bozok Üniversitesi Boğazlıyan Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, YOZGAT; ³Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, KAYSERİ; ⁴Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, KARS

E-posta: gozde.demirpolat@bozok.edu.tr

Amaç: Bu çalışmada İç Anadolu Yöresinde halk elinde yetiştiriciliği yapılan çeşitli sığırcılık işletmelerinde coccidiosis yönünden pozitif belirlenen sığırlarda enfeksiyona yol açan *Eimeria* türlerinin moleküler identifikasyonu için sybergreen tabanlı real time PCR metodunun geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Ookistler yönünden pozitif belirlenen sığırlara ait dışkı örnekleri sporlandırma prosedürüne tabii tutulup ookist morfolojisine göre *Eimeria* türlerinin teşhisleri yapılmıştır. Sonraki basamakta invert mikroskop altında tek ookist izolasyonları gerçekleştirilmiş ve her türe ait ookistlerin görüntüleri kaydedilmiştir. İzole edilen tek ookistler mikrotüpler içerisinde lysis solüsyonuna alınmış ve optimize edilen ön homojenizasyon işlemlerini takiben dışkı genomik DNA izolasyon kitleri ile gDNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında mikroskopik identifikasyonu sağlanan *E. auburnensis*, *E. bovis*, *E. zuernii*, *E. canadensis*, *E. ellipsoidalis*, *E. cylindrica*, *E. alabamensis*, *E. bukidnonensis*, *E. subspherica* ve *E. wyomingensis* türlerine ait 5'er ookist kullanılmıştır. Her bir tek ookistlerden elde edilen gDNA izolatları *Eimeria* türlerinin ribozomal ITS-1 gen bölgesini komple olarak çoğaltan primerlerle PCR analizlerine tabii tutulmuştur. Hedef büyüklükte belirlenen ampikonlar agaroz jelden pürifiye edildikten sonra uygun plazmit vektörler içerisine klonlanmış ve rekombinant plazmit pürifikasyonları yapılmıştır. Rekombinant plazmitler vektöre spesifik primerler ile çift yönlü olarak sekanslanmış ve elde edilen sekans kromotogramları DeNovo analizlerine tabii tutulup insert ITS1 gen bölgesi konsensüs sekansları elde edilmiştir. Tüm sekanslar GenBank veri tabanında mevcut *Eimeria* türlerinin ITS-1 sekansları ile blastn aracı kullanılarak hizalama analizlerine tabii tutulmuştur. Morfolojik ve moleküler konfirmasyonu sağlanan izolatların ITS-1 gen bölgeleri tür bazlı olarak hizalanarak tür içi korunmuş, türler arası değişken bölgelerden sybergreen real time PCR için optimum primer dizaynı yapılmış ve analizler standardize edilmiş koşullarda Stratagene CFX Connect™ Real-Time PCR Detection System (BioRad, ABD) cihazında gerçekleştirilmiştir. Her türe ait izolatların erime eğrileri CFX Manager (BioRad, ABD) yazılımında analiz edilmiş ve Tm (melt temperature) değerleri elde edilen eğrilerin pik noktasına göre belirlenmiştir. Real time PCR tekniğinin optimizasyonu, standart eğrinin oluşturulması ve etkinlik değerlendirmeleri için patojenik *Eimeria* türlerine ait birer plazmid DNA linearize hale getirilmiştir. Linearize plazmidler agaroz jelden pürifiye edildikten sonra Qubit® Fluorometric Quantitation (Life Technologies, ABD) cihazında µg/ml düzeyinde



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

konsantrasyonu ve saflığı ölçülerek kaydedilmiştir. Daha sonra molar konsantrasyon düzeyinde linearize edilmiş plazmitlerin mikrolitresindeki DNA kopya sayısı belirlenmiş ve 1 µl template için 10^7 - 10^1 hedef kopya olacak şekilde 10 tabanında dilüsyonları hazırlanmıştır. Dilüsyonlar ilgili protokole göre iki tekrarlı çalışılmış ve Ct değerlerine göre standart eğriler oluşturulmuştur. Testin etkinliği (E) standart eğri slopuna göre ($E = (10^{-1}/\text{slope})$) CFX Connect™ Real-Time PCR Detection System (BioRad, ABD) cihazında ilgili yazılım ile hesaplanmış ve yüzde olarak ifade edilmiştir. İlgili tekniğin spesifite analizlerinde çalışmaya dahil edilen türlere ait linearize plazmitler çapraz olarak kullanılmıştır.

Bulgular: Çalışmada incelenen *Eimeria* türlerine ait her bir ookistten elde edilen izolatların PCR analizleri sonucu ITS-1 amplikonları elde edilmiş ve klonlama sonrası izole edilen rekombinant plazmitlerden ilgili gen bölgesi sekansları yüksek kalite skoru ile ortaya çıkarılmıştır. Elde edilen sekansların filogenetik analizlerle ilgili türlere ait oldukları konfirme edilmiştir. Her bir tür için dizayn edilen sybergreen real time PCR primerlerinin analizlerde etkin olarak amplifikasyon sağladığı ve çapraz denemelerde diğer türlere ait plazmit DNA izolatları ile reaksiyon vermedikleri ve yüksek spesifite gösterdikleri tespit edilmiştir. Linearize plazmitler kullanılarak yapılan analizlerde *E. auburnensis*, *E. bovis*, *E. zuernii*, *E. canadensis*, *E. ellipsoidalis*, *E. cylindrica*, *E. alabamensis*, *E. bukidnonensis*, *E. subspherica*, ve *E. wyomingensis* türleri için spesifik erime sıcaklıkları sırasıyla 78,0°C, 80,5°C, 79,5°C, 75,0°C, 77,0°C, 76,0°C, 77,5°C, 78,0°C, 79,5°C ve 76,5°C belirlenmiştir. Standart eğri analiz sonuçlarına göre sybergreen tabanlı Real Time PCR etkinlik oranları %104,5-%132,6 olmak üzere yüksek belirlenmiştir. Elde edilen verilerle her bir replikasyonda 10 hedef kopyanın saptanabileceği belirlenmiştir. DNA kopya sayısındaki bu miktar sekiz haploid genom içeren tek bir ookiste karşılık gelmektedir.

Sonuç: Bu çalışma ile sığırlarda enfeksiyona yol açan *Eimeria* türlerinin moleküler tanısı için sybergreen tabanlı real time PCR metodolojisi geliştirilmiş ve ilgili tekniğin yüksek spesifite ve sensitiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Geliştirilen moleküler tanı yönteminin, sığır coccidiosis üzerine yürütülecek moleküler epidemiyolojik araştırmalara katkı sağlayacağı ve model oluşturacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Coccidiosis, *Eimeria*, moleküler tanı, sığır, sybergreen real time PCR

Bu çalışma, TÜBİTAK 113O597 nolu proje ile desteklenmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 04

01 Ekim 2019 - 09:00–10:00

Oturum Başkanları: Hasan EREN / Süleyman AYPAK

SB30. *Nosema ceranae* ile Doğal Enfekte Bal Arısı Kolonilerinde Noseba'nın Etkinliğinin Araştırılması
Levent AYDIN, Mehmet ÖZÜİÇLİ, Ahmet Onur GİRİŞGİN, Yiğit ALTAV, Betül SAYGIN, Nurgül ÇİMENLİKAYA, Suna ZENGİN

SB31. Van Gölü Havzasında Bal Arısı (*Apis mellifera* L.) Kolonilerinde Varroosise Karşı Tıbbi Bitki Ekstrelerinin Etkinliğinin Araştırılması
Bayram ALPARSLAN, Hüseyin TAŞLI, Cengiz ERKAN

SB32. Siraz Balıklarında (*Capoeta tinca* Heckel, 1843) *Myxobolus* Enfeksiyonlarının Morfolojik, Histopatolojik ve Moleküler Yöntemler ile Araştırılması
Gökmen Zafer PEKMEZCİ, Banu YARDIMCI¹, Cenk Soner BÖLÜKBAŞ, Savaş YILMAZ, Nazmi POLAT

SB33. Türkiye'nin Akdeniz Kıyılarındaki *Mullus barbatus*'u (Linnaeus, 1758) Enfekte Eden *Hysterothylacium fabri* (Nematoda: Raphidascarididae) Larvasının Küçük Alt Ünite Ribozomal RNA Gen Bölgesinin Moleküler Karakterizasyonu
Gökmen Zafer PEKMEZCİ

SB34. *Ichthyophthirius multifiliis* Türkiye Suşlarının Aşı Adayı Immobilizan Antijenlerini Kodlayan Genlerin Klonlanması, Gen Ekspresyonu ve Karakterizasyonu
Alparslan YILDIRIM, Gökmen Zafer PEKMEZCİ, Emrah ŞİMŞEK, Fikri BALTA, Önder DÜZLÜ, Zuhâl ÖNDER, Arif ÇİLOĞLU, Banu YARDIMCI, Ertan Emek ONUK, Gamze YETİŞMİŞ, Osman İBİŞ, Erdal YILMAZ, Abdullah İNCİ

SB35. Türkiye'de Gökkuşluğu Alabalıklarında Yayılış Gösteren *Ichthyophthirius multifiliis* Suşlarının Filogenetik Karakterizasyonu
Emrah ŞİMŞEK, Gökmen Zafer PEKMEZCİ, Alparslan YILDIRIM, Fikri BALTA, Önder DÜZLÜ, Zuhâl ÖNDER, Arif ÇİLOĞLU, Banu YARDIMCI, Ertan Emek ONUK, Gamze YETİŞMİŞ, Osman İBİŞ, Erdal YILMAZ, Abdullah İNCİ

SB36. Bursa'da Saksakağan Kuşlarının Sindirim Sisteminde Tespit Edilen Parazitler
Ahmet Onur GİRİŞGİN, Sezen BİRLİK, Oya GİRİŞGİN



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 04

SB30

01 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Nosema ceranae ile Doğal Enfekte Bal Arısı Kolonilerinde Noseba'nın Etkinliğinin Araştırılması

Levent AYDIN¹, Mehmet ÖZÜÇLİ¹, Ahmet Onur GİRİŞGİN¹, Yiğit ALTAV², Betül SAYGIN¹, Nurgül ÇİMENLİKAYA¹, Suna ZENGİN³

¹Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, BURSA;

²Arion İlaç Ar&Ge Merkezi, Tuzla, İstanbul; ³Bavet İlaç San. ve Tic. A.Ş., Tuzla, İSTANBUL

E-posta: laydin09@gmail.com

TAM METİN

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, Arion İlaç Ar-Ge Merkezi ve Bavet İlaç San. ve Tic. A.Ş. tarafından geliştirilen esansiyel yağ karışımı ile vitamin bileşiklerinin (Noseba), *Nosema ceranae* ile doğal enfekte bal arısı kolonilerinde etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışma süresince kullanılan kolonilerde sadece *N. ceranae* bulunduğu, PCR ile daha önceki bir çalışmada saptanmıştır. Bursa yöresi İkizce köyünde Mayıs 2019'da 10'ar çerçeveli kolonilerden digestion yönteminde pozitiflik/negatiflik kontrolü için kovan başı en dış çerçeveden 25'er arı muayene edilip, pozitif çıkan kolonilerden Neubauer lamına alınarak ışık mikroskopunda 40x10 büyütmede sayılıp Shimanuki-Knox formülü ile arı başına düşen spor sayısı tespit edilmiştir. Pozitif kovanlar spor sayıları dikkate alınarak 7'şerli 4 gruba ayrılmış, toplam 28 kovan çalışmada kullanılmıştır. 1. grup kontrol; 2. grup 20 cc Noseba+1 litre şeker şurubu; 3. grup 40 cc Noseba+1 litre şeker şurubu ve 4. grup 80cc Noseba+1 litre şeker şurubu.

Bulgular ve Sonuç: Nosema sayımını takiben 2 gün üst üste 0,5 lt Noseba karışımları tedavi gruplarındaki kolonilere oral yolla verilmiştir. Tedavi sonrası +1, +5, +10 ve +15. günlerde tekrar spor sayımı yapılmış, kontrol grubu ile istatistiki olarak karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sırası ile 1. tedavi grubu %34,2; 2. tedavi grubu %67,2 ve 3. tedavi grubu %99,9 etkili bulunmuş, kontrol grubu çalışma sonunda 3. tedavi grubu (80 cc) ile tedavi edilmiş ve %99,9'luk etkinlik saptanmıştır. Çalışma süresince Noseba'dan kaynaklı hiçbir yan etki ve koloni kaybı görülmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Bal arısı, *Nosema ceranae*, Noseba, Etkinlik

Investigation of the Effectiveness of Noseba against *Nosema ceranae* in Naturally Infected Honey Bee Colonies

SUMMARY

Aim: In this study, we aimed to determine the effectiveness of Noseba which is developed by Arion Drug Research Center and Bavet Drug Corporation which containing essential oil mixture with vitamin, in honeybee colonies naturally infected with *Nosema ceranae*.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Methods: In the colonies used during the study, only *N. ceranae* was detected by PCR in a previous study. In May 2019, 25 individual bees were examined from the outer frame of the hive, for the control of positivity and negativity from the colonies with 10 frames in the İközce village of Bursa region. The number of spores per bee was determined with Shimanuki-Knox formula by taking the Neubauer slide from the positive colonies and counted at 40x10 magnifications under the light microscope. Positive hives were divided into four groups considering the number of spores, each group consisted of 7 hives and a total of 28 hives were used in the study. Groups are as follows; 1. group positive control; 2. Group; 20 cc Noseba+ 1 litre sugar syrup; 3. group 40 cc Noseba+ 1 litre sugar syrup; 4. Group 80 cc Noseba + 1 litre sugar syrup.

Results & Conclusion: 0.5 lt of Noseba mixtures were given orally to the colonies in the treatment groups for two consecutive days following the nosema count. +1, +5, +10 and +15 after treatment days were re-counted and compared with the control group statistically. As a result, when compared with the control group, the first treatment group was 34.2%, the second treatment group was 67.2% and the third treatment group was 99.9% found effective, respectively. The control group was treated with the mixture as were used in the third treatment group (80 cc) at the end of the study and 99.9% efficacy was determined. No side effects and colony loss were observed from Noseba during the study.

Key Words: Honeybee, *Nosema ceranae*, Noseba, Efficiency

GİRİŞ

Arılarda hastalığa neden olan etkenler; mantarlar (*Nosem apis*, *N. ceranae*, *Ascospaerosis* ve *Aspergillosis*), amip (*Malpighamoeba mellificae*), gregarinler, flagellatlar (*Leptomonas apis*, *Crithidia mellificae*), helmint nematodlar (*Mermis albicans*, *Parachordo destolosanus*, *Agamomermis sp*, *Neoapectana carpocapsae*), bakteriler, virüsler ve artropodlardan (insekta ve akar sınıflarında) yaklaşık 119 etken bulunmaktadır (1-3).

Son yıllarda ortaya çıkan CCD-Koloni Çökme Bozukluğu'nun ana sebepleri bal arılarında gözlemlenen Varroosis, Nosemosis, Trachea akarı vb. gibi arı zararlılarıdır (1). *Nosema apis* ve *N. ceranae* ergin bal arılarında (*Apis mellifera*) Nosemosis'e neden olur ve bu etkenler ergin arıların sindirim sistemine yerleşir. Nosemosis en yaygın arı hastalıklarından birisidir ve dünya çapında önemli arı kayıplarına neden olur (4, 5). Bu hastalık direkt olarak; sindirim sistemi bozukluklarına, arıların ortalama ömrünün azalmasına, koloni sayısının azalmasına neden olur ve indirekt olarak; bal üretiminin ve polen toplamanın azalmasına ve kolonide önemli kış kayıplarına neden olur (6, 7). Nosemosis; bakteriyel, viral ve protozoal hastalıklarla birlikte görülebilir. Bu durum arı kolonisi sağlığını, arı ürünlerini ve üretimini olumsuz yönde etkiler. Her canlıda olduğu gibi bal arılarında da birtakım hastalık etkenleri gözlemlenmekte, koloni sağlığı ve devamlılığını olumsuz yönde etkilemektedir (6, 8). CCD'ye (Colony Collapse Disorder) birçok faktör neden olabilir (9). Bu faktörlerden en önemlilerinden biri de Nosema cinsinde yer alan *Nosema apis* ve *Nosema ceranae* etkenleridir (10, 11).

Yapılan çalışmalarda Nosemosis Bursa yöresinde %26 (12, 13), Kars yöresinde %15,74 (14), Elazığ yöresinde %8,7 (15), Muğla bölgesinde %100 (16), Bingöl yöresinde %26,16 (17), Trakya bölgesinde %6,5 (18), Hatay yöresinde %10 (19) oranında bildirilmiştir.

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda fumagillin içeren preparatlar kullanılmasına karşın *N. ceranae* enfeksiyonlarına karşı etkinlikleri %70'leri aşmamıştır. Aynı zamanda Varroosis enfestasyonları ile birlikte miks seyreden Nosemosis olgularında Varroa ilaçlarının yeterince görev yapmadığı da bildirilmekte, bu nedenle öncelikle Nosemosis'in kontrol altına alınması gerekmektedir (20). Bu çalışmada doğal bir ürün olan ve rezidü problemi olmayan, Arion İlaç Ar-Ge Merkezi ve Bavet İlaç San.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

ve Tic. A.Ş. tarafından geliştirilen bitkisel esansiyel yağ karışımı ile vitamin bileşiklerinin *Nosema ceranae* ile doğal enfekte balarısı kolonilerinde etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada ergin arı örnekleri Bursa (İkizce köyü) yöresinden toplanmıştır. Arı örnekleri Nosemosis varlığının tespiti için en dış çerçeveden kovan başı 25'er adet alınmıştır. Laboratuvara getirilen canlı arı örnekleri hareketsiz kalmaları için derin dondurucuda bir gün bekletilmiştir. Bir gün sonra, hareketsiz kalan arılar digestion yöntemiyle *Nosema* varlığı yönünden incelenmiştir.

Digestion yönteminde pozitiflik/negatiflik kontrolü için kovan başı 10'ar arı muayene edilerek 10 arının abdomeni bisturi yardımı ile kesilmiştir. Abdomenleri bir havana alınarak her abdomen için 1 ml olmak üzere 10 ml distile su ilave edilmiştir. Uygun bir bağıt yardımı ile iyice ezilip, solüsyon homojen hale getirilerek lam-lamel arasına pipetle bir damla alınarak 40x10 büyütmede ışık mikroskopunda (Nikon Eclipse E100) *Nosema* sporları yönünden muayene edilmiştir. Pozitif bulunan örneklerden her koloni için 20'şer arı numunesi yukarıda anlatılan digestion yöntemiyle hazırlanıp solüsyonlarından birer damla Neubauer lamına alınıp, ışık mikroskopunda 40x10 büyütmede beş büyük ve her biri 16 adet küçük kare içeren sayım alanındaki *Nosema* sporları sayılmıştır. Arı başına toplam spor sayısı (N) şu formülle bulunur (21, 22); $N = S \times 4 \times 10^6 / 80$. Etkenin tüm Bursa yöresinde *N. ceranae* olduğu PCR ile daha önce saptanmıştır (23). Yapılan ilk *Nosema* spor sayımları sıfırinci gün sayımları olarak kaydedilmiştir. Pozitif koloniler spor sayıları dikkate alınarak yedişerli dört grup oluşturulmuştur. Toplam 28 kovan çalışmada kullanılmıştır. Birinci grup tedavisiz kontrol, 2. grup 20 cc Noseba+1 litre şeker şurubu, 3. grup 40 cc Noseba+1 litre şeker şurubu ve 4. grup 80 cc Noseba+1 litre şeker şurubu ile hazırlanarak, sayımı takiben iki gün üst üste 0,5 lt tedavi gruplarındaki kovanlara oral yolla verilmiştir. Tedavi sonrası +1, +5, +10 ve +15. günlerde tekrar sayım yapılmış ve kontrol grubu ile yüzde azalma istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

BULGULAR

Çalışmada kullanılan 28 pozitif kovanda tedavi öncesi ortalama arı başına *Nosema* spor sayısı 17,8 milyon gibi yüksek bir oranda bulunmuştur. Kontrol grubu ve tedavi uygulanan 3 grubun elde edilen sonuçları tabloda verilmiştir.

Tedaviyi takiben 2. grup kovanlarda spor sayılarında dalgalanma olmuş, 15. günde %34,2 etkinlik sağlanmıştır. 15 gün sonunda iki kovan tamamen menfi olmuş, 3. grupta ise kolonilerde 5. günden itibaren spor sayısında büyük düşüş göstermesine rağmen 15. günde etkinliğin %67,2'lerde olduğu saptanmıştır. Bu grupta bir kovan menfi olmasına karşın üç kovanda spor sayıları tedavi öncesine göre %5'lere inmiştir. Dördüncü grupta tedavi sonrası 1. günde etkinlik %93,1'e ulaşmış, 5. günden itibaren sadece bir kolonide toplam 7 spor görülmüş, 15. günde sadece bir kovanda iki adet spor tespit edilmiştir. Dördüncü tedavi grubu %99,9 etkili bulunmuştur. Tedavi sonrası 30 günde tüm koloniler tekrar kontrol edilmiş, tedavi gruplarında spor sayıları korunmasına karşın kontrol grubu kolonileri aşırı zayıflayarak 4-5 çerçeveli duruma geçmiştir. Bu nedenle 250 cc x 2 defa (Noseba 80 cc+ 1litre şurup) hesabı ile şuruplanarak 15 gün içinde eski durumlarına gelmiş ve 4. gruptaki etkinlik aynı şekilde tespit edilmiştir. Tedaviden kaynaklanan herhangi bir yan etki ve koloni kaybına rastlanmamıştır.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Nosemosis son yıllarda tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de yaygın bir şekilde görülmektedir. Özellikle *Nosema ceranae*, *N. apis*'e göre daha patojen, hızla kolonilerin sönmeye yol açan bir türdür ve arıların için ciddi tehdit oluşturmaktadır (9, 10, 11, 23). Fumagillin etken maddesinin *N. ceranae*



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

enfeksiyonlarında etkinliğinin sınırlı kalması ve/veya Avrupa Birliği ülkelerinde sınırlandırılması-yasaklanması ile esansiyel yağ, vitamin ve mineral karışımlarının arı hastalık etkenlerine karşı kullanımı artmıştır (3). Yapılan çalışmalarda *N. ceranae*'nin fumagilline karşı direnç geliştirmeye başladığı, bir antibiyotik türevi olması, bazı durumlarda fumagillinin spor üremesini baskılayamadığı ve değişken etki gösterdiğinden dolayı fuamgillinin üretimi durdurulmuştur (24, 25). Günümüzde Nosemosis tedavisinde bitkisel kökenli ilaçlar veya yem katkı maddeleri kullanılmaktadır. Bitkisel etken maddelerden daha çok timol, sarımsak özü, nane özü, şalgam özünün ticari veya elde hazırlanan preparatları kullanılabilir. Özellikle timol, bağırsaklarda patojen mikroorganizmaların gelişimini engelleyici etkisi, balda kalıntı bırakmaması ve arıya zarar vermemesinden dolayı daha fazla tercih edilmektedir (26, 27) Bu maddelere ilave olarak organik asitlerden okzalik asit (28) ve kabuklu deniz hayvanlarında bulunan kitosan da (29) spor miktarını belirgin olarak düşürmektedir.

Tablo 1. *N. ceranae* ile doğal enfekte bal arısı kolonilerine Noseba'nın etkisi

*Protokol no	**Tedavi Öncesi ve Sonrası Arı Başına Spor Sayısı				
	0. gün	+1. gün	+5. gün	+10. gün	+15. gün
1.Grup (kontrol)	143	140,7	147	146	154,6
2. Grup (20cc)	141,2	86	92	84	99,9
3. Grup (40cc)	142	62	68	48	46,6
4. Grup (80cc)	145	13,4	1	1	1

*Her grup 7 pozitif (10 çerçevesi) koloniden oluşmaktadır. ** Toplam x 10⁶ her koloni için spor sayısı

Bu karışımların balda kalıntı bırakmaması da tedavide tercih sebebi olmalarına neden olmuştur. Ancak ülkemizde bugüne kadar hazırlanan bu tür içerikler ticarileşmesine karşın ciddi bilimsel verilere dayanmamaktadır. Genelde etkinlik testleri ile ilgili bilimsel veriler eksiktir (30).

Bu çalışmada ilk kez kontrollü olarak yeni bir ürün olan Noseba, *N. ceranae* ile doğal enfekte arı kolonilerine şeker şurubu ile uygulanmış, %99,9 etkinlik tespit edilmiştir. Tedaviden kaynaklanan herhangi bir yan etki veya koloni kaybı görülmemiş, aksine koloniler hızla güçlenmiş ve ballık ilave edilmiştir. Ancak Nosema ile kontamine kolonilerde sporların bal ve petekte bir yıla yakın canlı kaldığı dikkate alınmalı (20), bu ballı peteklerin değiştirilmesi gerekliliğinden yola çıkarak Noseba karışımının uygun dozajlarda kullanılması ile arı bakım ve beslenmesinin doğru yapılmasıyla Nosema enfeksiyonunun ciddi bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Giray T, Çakmak İ, Aydın L, Kandemir İ, İnci A, Oskay D, Döke MA, Kence M, Kence A (2007) Preliminary Survey Results On 2006-2007 "Colony Losses in Turkey. Uludağ Bee Journal 7, 102-108.
2. Aydın L (2010) The status of honeybee parasites and predators in Turkey and againts control methods. International 2. Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress, Muğla-Turkey.
3. Doğanay A, Aydın L (2017) Bal Arısı Yetiriciliği, Ürünleri, Hastalıkları 1. Baskı, Dora Basım-Yayın Dağıtım Ltd. Şti, Bursa, pp:474.
4. Forsgren E, Fries I (2010) Comparative virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in individual European honey bees. Veterinary Parasitology 170(3-4): 212-217.
5. Fries I (2010) *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). Journal of Invertebrate Pathology 103: 73-79.
6. Higes M, Martin-Hernandez R, Botias C, Bailon EG, Gonzales-Porto AV, Barrios L, Del Nozal MJ, Bernal JL, Jimenez JJ, Palencia PG, Meana A (2008) How natural infection by *Nosema ceranae* causes honey bee colony collapse. Environmental Microbiology 10 (10): 2659-69.
7. Neumann P, Carreck NL (2010) Honey bee colony losses. Journal of Apicultural Research 49 (1) 1-6.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

8. Chen YP, Evans JD, Murphy C, Gutell R, Zuker M, Gundensen-Rındal D, Pettis JS (2009) Morphological, molecular, and phylogenetic characterization of *Nosema ceranae*, microsporidian parasite isolated from the European honey bee, *Apis mellifera*. Journal of Eukaryotic Microbiology 56(2):142–147.
9. Cox-Foster DL, Conlan S, Holmes EC, Palacios G, Evans JD, Moran NA, Quan PL, Briese T, Horung M, Geiser DM, Martinson V, Vanengelsorp D, Kalkstein AL, Drysdale A, Hui J, Zhai JH, Cui LW, Hutchison SK, Simons JF, Egholm M, Pettis JS, Lipkin WI (2007) A metagenic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. Science 318 (5848): 283-287.
10. Paxton R (2010) Does infection by *Nosema ceranae* cause Colony Collapse Disorder in Honey bees *Apis mellifera*? Journal of Apicultural Research 49: 80–84.
11. Chaimanee V, Wrrit N, Chantaankul P (2010) Infections of *Nosema ceranae* in four different honey bee species. Journal of Invertebrate Pathology 105(2): 201–210.
12. Aydın L, Güleğen E, Çetinbaş H (2001) Bursa yöresi bal arılarında *Nosema apis*'in (Zander, 1909) yaygınlığı. Türkiye 3. Arıcılık Kongresi Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi. Bee disease-associated microbes. Scientific Reports, 8: 14634.
13. Aydın L, Çakmak İ, Güleğen E, Wells H (2005) Honey bee Nosemadisease in the Republic of Turkey. Journal of Apiculture Research 44 (4): 196-197.
14. Topçu B, Arslan MÖ (2004) The Prevalence of Nosemosis in Honey Bee in The Province of Kars. Uludağ Arıcılık Dergisi 4,164-170.
15. Şimşek H (2005) Elazığ yöresi bal arılarında bazı parazit ve mantar hastalıklarının araştırılması. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 52, 123-126.
16. Şimşek D (2007) Muğla ili bal arılarının (*Apis mellifera L.*) mikrobiyal ve paraziter hastalıklar yönünden incelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
17. Gül A, Kutlu MA (2009) Bingöl ili ve ilçelerinde görülen bal arısı hastalık ve zararlıların belirlenmesi üzerine bir çalışma. 3. Bingöl Sempozyumu Kitapçığı, Bingöl.
18. Doğaroğlu M, Sıralı R (2005) Survey Results on Honey bee Pests and Disease in Thracian Region of Turkey. Uludağ Bee Journal 5: 71-78.
19. Muz MN, Girişgin AO, Muz D, Aydın L (2010) Molecular detection of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in colony collapsed apiaries of Turkey. Journal of Apicultural Research 49 (4) pp 342-344.
20. Girişgin AO. Nosemosis. Sf. 381-389. Doğanay A, Aydın L (Ed). Bal Arısı Yetiştiriciliği, Ürünleri, Hastalıkları. 1. Baskı, Dora Yayıncılık, Bursa, 2017.
21. Shimunaki H, Knox DA (1990) Laboratory diagnosis of honey bee diseases. US. Department of Agriculture Technical Bulletin.
22. Gurgulova K, Valchovski R, Petrov P, Ivanova E (2010) Distribution of *Nosema apis* and *Nosema ceranae* in Bulgaria. Diagnostic in honey bees. From sampling to data analyses. Beedoc-Cost Action. Ghent University, Belgium.
23. Ütük AE., Pişkin FÇ., Girişgin AO., Selçuk Ö., Aydın L (2016) Microscopic and Molecular Detection of Nosemosis in Turkey. Apidologie, 47, (2), 267-271.
24. Williams GR, Shutler D, Little CM, Burgher-MacLellan KL, Rogers REL (2011) The microsporidian *Nosema ceranae*, the antibiotic Fumagilin-B, and western honey bee (*Apis mellifera*) colony strength. Apidologie 42(1) s:15-22.
25. Huang WF, Solter LF, Yau PM, Imai BS (2013) *Nosema ceranae* escapes fumagillin control in honey bees. PLoS Pathog 9(3): e1003185.
26. Costa C, Lodesani M, Maistrello L (2009) Effect of thymol and resveratrol administered with candy or syrup on the development of *Nosema ceranae* and on the longevity of honey bees (*Apis mellifera L.*) in laboratory conditions . Apidologie 41 (2010) 141–150.
27. Wiese N, Fischer J, Heidler J, Lewkowski O, Degenhardt J, Erler S (2018) The terpenes of leaves, pollen, and nectar of thyme (*Thymus vulgaris*) inhibit growth of bee disease-associated microbes. Scientific Reports, 8: 14634.
28. Nanetti A, Rodriguez-Garcia C, Meana A, Martin-Hernandez R, Higes M (2015) Effect of oxalic acid on *Nosema ceranae* infection. Research in Veterinary Science, 102, 167-172.
29. Saltykova E, Gaifullina LR, Kaskinova MD, Gataullin A.R, Matniyazov RT, Poskryakov AV, Nikolenko AG (2018) Effect of chitosan on development of *Nosema apis* Microsporidia in honey bees. Microbiology, 87(5), 738-743.
30. Girişgin AO, Özüüçlü M, Aydın L (2016) Situation of Nosema disease of honey bees and its treatment studies in Turkey. 5th International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress, November 1-5, 2016, Muğla – Turkey. Abstractbook p. 310



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 04

SB31

01 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Van Gölü Havzasında Bal Arısı (*Apis mellifera* L.) Kolonilerinde Varroosise Karşı Tıbbi Bitki Ekstrelerinin Etkinliğinin Araştırılması

Bayram ALPARSLAN¹, Hüseyin TAŞLI², Cengiz ERKAN³

¹İzmir Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü, Patoloji Laboratuvarı, İZMİR; ²Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji AD, İZMİR; ³Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Hayvan Yetiştirme ve Islahı AD, VAN

E-posta: bayramalparslan04@hotmail.com

Amaç: Varroosis hastalığı arı akarının sebep olduğu, dünyada ve ülkemizde büyük ekonomik kayıplara neden olan arıların önemli dış parazit hastalıklarından biridir. Bu çalışma, arı kolonilerini söndüren Varroosis hastalığının etkeni olan *Varroa destructor*'a karşı aktif bileşenleri bilinen, dozajlaması yapılmış ve halihazırda arıcular tarafından ampirik olarak kullanılan *Juniperus excelsa* (Ardıç), *Juglans regia* (Ceviz), *Origanum onites* (Kekik) ve *Mentha spicata* (Nane) bitkilerinin sabit ve gezgin arıcılığın yoğun olarak yapıldığı Van Gölü Havzası koşullarında kullanımının ve etkinliğinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Çalışmada Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Arıcılık Araştırma ve Uygulama Merkezinde bulunan arı kolonilerinden *Varroa destructor* ile doğal enfeste, koloni gücü birbirine yakın plastik bütün polen çekmeceli kovanlardaki 40 adet arı kolonisi kullanılmıştır. *Juniperus excelsa* (Ardıç), *Juglans regia* (Ceviz), *Origanum onites* (Kekik), *Mentha spicata* (Nane) ekstreleri için 8'er kovan ve kontrol grubu için 8 kovan olmak üzere grup varroa yükleri birbirine yakın toplam 40 adet arılı kovan kullanılmıştır. Saha çalışması uygun ekstre dozunun tespit edildiği ön ilaçlama çalışması ve tespit edilen uygun ekstre dozunun etkinliğinin araştırıldığı sonbahar çalışması ve ilkbahar çalışması olarak yürütülmüştür. Ön ilaçlamada tespit edilen verilerin negatif binomial regresyon analizi en çok olabilirlik parametre tahminlerine göre yapılan istatistiki analizlerinin sonucundan minimum ortak uygulanabilir doz her dört ilaç grubu için de %25'lik ilaç uygulama dozu olarak belirlenmiştir. %25'lik yoğunlukta hazırlanan 10 gramlık ekstrelerin etkinliğini belirlemek amacıyla, sonbahar ve ilkbahar olmak üzere iki sezon boyunca sekizer kovandan oluşan gruplara, %25'lik ekstre dozları birer hafta arayla 3 defa uygulanmıştır. İlaçlamanın başında ve sonunda her kovandan 300 adet arı toplanarak üzerlerindeki varroa yükü pudra şekeri yöntemiyle hesaplanmıştır. Ekstrelerin %25'lik dozlarının etkinlik düzeyi sonbahar ve ilkbahar ilaçlamalarında pudra şekeri sayımı sonuçlarına uygulanan Herderson-Tilton formülüne göre belirlenmiştir.

Bulgular: Sonbahar ilaçlamasında pudra şekeri sayımı sonuçlarına göre ekstrelerin %25'lik dozlarının etkinlik düzeyi sırasıyla ceviz yaprağı ekstresi için %87, ardıç yaprağı ekstresi için %86, kekik ekstresi için %83, nane ekstresi için %68 olarak hesaplanmıştır. İlkbahar ilaçlamasında pudra şekeri sayımı sonuçlarına uygulanan Herderson-Tilton formülüne göre ekstrelerin %25'lik dozlarının etkinlik düzeyi sırasıyla kekik için %66, ceviz yaprağı için %63, ardıç yaprağı için %61 ve nane için %55 olarak hesaplanmıştır. Sonbahar ilaçlamasında ilaçlamayı takiben 3. 5. 7. 14. 21. 28. sayım günlerinde ve ilkbahar ilaçlamasının 1. 3. 5. 7. 14. 21. 28. 35. sayım günlerinde polen çekmecesinde tespit edilen akar sayılarının ilaçlamayı takip eden günlerde değişebileceği sonucu elde edilmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Sonuç: Elde edilen tüm sonuçlar beraber değerlendirildiğinde varroanın mücadele edilmesi gereken kaçınılmaz bir gerçek olduğu, mücadele amacıyla bal ve diğer arıcılık ürünlerinde kalıntı bırakan ilaçlara alternatif olarak özellikle sonbahar döneminde bulunması ve uygulanması kolay olan bitkisel ekstrelerin uygun dozlarının varroasit olarak kullanılabilmesi tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ardıç yaprağı, ceviz yaprağı, ekstre, etkinlik, kekik, nane, ekstre, etkinlik, Varroa destructor

Bu çalışma Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2017ECZ013)



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 04

SB32

01 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Siraz Balıklarında (*Capoeta tinca* Heckel, 1843) *Myxobolus* Enfeksiyonlarının Morfolojik, Histopatolojik ve Moleküler Yöntemler ile Araştırılması

**Gökmen Zafer PEKMEZCİ¹, Banu YARDIMCI¹, Cenk Soner BÖLÜKBAŞ²,
Savaş YILMAZ³, Nazmi POLAT³**

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, ¹Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları AD;

²Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD; ³Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, SAMSUN

E-posta: zpekmezci@omu.edu.tr

Amaç: Türkiye'ye endemik olan siraz balığı *Capoeta tinca* (Heckel, 1843) Kuzey ve Kuzeybatı Karadeniz, İç Anadolu ve Güney Marmara Bölgesindeki tatlı su kaynaklarında (dere, akarsu, göl, gölet) bulunan bir türdür. Daha önce proje ekibimiz tarafından bu balık türünde dünyada ilk kez morfolojik, histopatolojik ve moleküler teknikler kullanılarak *Myxobolus anatolicus* Pekmezci et al., 2014 türü tanımlanmıştır. *Capoeta tinca* (Heckel, 1843)'larda bu tür haricinde tanımlanan başka bir Myxozoa türü bilinmemektedir. Bu çalışmada Samsun ili tatlı su kaynaklarında yaşayan *C. tinca* (Heckel, 1843)'larda *Myxobolus* enfeksiyonlarının morfolojik, histopatolojik ve moleküler yöntemler ile kapsamlı olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Samsun il sınırları içerisinde 26 farklı lokaliteden toplamda 296 adet *C. tinca* (Heckel, 1843) elektroşok cihazı, fanyalı ve fanyasız ağlar, serpmeye ve balık kepçeleri ile yakalanmıştır. Saha şartlarında farklı doku ve organlarda değişik büyüklükte lokalize olan kist benzeri beyaz-gri-sarımsı renkli olan plasmodiaların varlığı steromikroskop altında araştırılmıştır. Plasmodialar ile enfekte doku ve organların bir kısmı patolojik incelemeler için %10'luk tamponlu formol ile %70'lik etanol içerisine konulurken, geri kalan doku ve organlar morfolojik ve moleküler incelemeler için %70'lik etanol içerisine konulmuştur. Enfekte doku örnekleri tespit edildikten sonra parafinde bloklanmış ve alınan kesitler Hematoksilin-Eosin (HE) ile boyanmıştır. Hazırlanan referans histopatolojik preparatlar araştırma mikroskopunda incelenmiş ve preparatların fotoğrafları çekilmiştir. Myxosporların morfolojik ölçüm ve fotoğraflarının çekilebilmesi için akışkanlığı düşük gliserin jel içinde referans preparatları hazırlanmıştır. Myxosporların gDNA'larının small subunit (SSU) 18S ribozomal RNA (rRNA) gen bölgesi myxozoa spesifik primer çiftleri kullanılarak iki basamaklı Nested-PZR metodu ile çoğaltılmıştır. Çoğaltılan PZR ürünlerinin farklı primer çiftleri ile iki yönlü DNA dizi analizleri yapılmıştır. Sekans analizleri yapılan dizilerin kendi içinde birleştirmeleri yapılmış ve her bir parazit türü için ortak bir nükleotid dizisi (sekans) elde edilmiştir. Elde edilen her bir dizinin GenBank veri tabanında blastn analizleri yapılmış ve GenBank veri tabanına kayıtlı diğer *Myxobolus* spp. türleri ile aralarındaki benzerlik oranları tespit edilmiştir. Bulunan *Myxobolus* türleri ile GenBank veri tabanına kayıtlı diğer *Myxobolus* türleri arasındaki evrimsel ilişkinin ortaya konulması için filogenetik soy ağacının oluşturulmasında Maximum Likelihood (ML) metodu uygulanmıştır. Elde edilen *Myxobolus* türlerine ait 18S rRNA sekans dizilerinin GenBank kayıtları gerçekleştirilmiş ve erişim numaraları alınmıştır.

Bulgular: Parazitolojik incelemelerde 296 siraz balığının 67'sinde (%22,6) *Myxobolus* plasmodiaları saptanmıştır. Araştırmada morfolojik, histopatolojik ve 18S rRNA gen bölgesinin moleküler analizleri



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

sonucunda *C. tinca* (Heckel, 1843)'larda biri bilinen ve dördü yeni tür olmak üzere beş farklı *Myxobolus* türü bulunmuştur. Bu türler *Myxobolus anatolicus* Pekmezci, Yardimci, Yilmaz & Polat, 2014, *Myxobolus* sp. n. Samsun1, *Myxobolus* sp. n. Samsun2, *Myxobolus* sp. n. Samsun3 ve *Myxobolus* sp. n. Samsun4 türleridir. Yeni türlerden *Myxobolus* sp. n. Samsun1 türü yüzgeçlerdeki deri altı dokularda bulunurken, *Myxobolus* sp. n. Samsun2, *Myxobolus* sp. n. Samsun3 ve *Myxobolus* sp. n. Samsun4 türleri solungaçlarda saptanmıştır. Histopatolojik olarak *Myxobolus* sp. n. Samsun2 ve *Myxobolus* sp. n. Samsun3 türlerinin plasmodiaları intrafilamental-vasküler tip yerleşim gösterirken, *Myxobolus* sp. n. Samsun4 türü intrafilamental-kondriyal ve solungaç yayı-kıkırdak tipinde yerleşim göstermiştir. *Myxobolus anatolicus* Pekmezci et. al., 2014 ile yeni *Myxobolus* türlerinin 18S rRNA dizileri arasında %9,2-20,4 arasında farklılık saptanmıştır.

Sonuç: Bu araştırma ile dünyada ilk kez *C. tinca* (Heckel, 1843)'larda dört yeni *Myxobolus* türü morfolojik, histopatolojik ve moleküler yöntemler ile tanımlanmış ve Avrasya Bölgesinde ilk kez kayıt edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Siraz balığı, *Capoeta tinca* (Heckel, 1843), yeni *Myxobolus* türleri, morfoloji, histopatoloji, 18S rRNA, Türkiye

Bu araştırma TÜBİTAK tarafından 215O373 proje numarası ile desteklenmiştir.



Türkiye'nin Akdeniz Kıyılarındaki *Mullus barbatus*'u (Linnaeus, 1758) Enfekte Eden *Hysterothylacium fabri* (Nematoda: Raphidascarididae) Larvasının Küçük Alt Ünite Ribozomal RNA Gen Bölgesinin Moleküler Karakterizasyonu

Gökmen Zafer PEKMEZCİ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları AD, SAMSUN

E-posta: zpekmezci@omu.edu.tr

Amaç: Türkiye karasularındaki deniz ve tatlı su balıklarını enfekte eden *Hysterothylacium* cinsi nematodların moleküler karakterizasyonları hakkında az sayıda çalışma vardır. Ülkemiz kara sularındaki balıkları enfekte eden *H. aduncum*, *H. fabri* ve *H. reliquens* türlerinin ribosomal DNA (rDNA) ITS (ITS-1, 5.8S subunit, ITS-2) ve mitokondriyal DNA sitokrom oksidaz alt ünite 2 (mtDNA cox 2) gen bölgelerinin moleküler karakterizasyonları daha önce tarafımızca yapılmıştır. Bununla birlikte Dünyada Genbank veri kayıtların göre sadece Çin Denizi'nden izole edilen *H. fabri* türünün mitokondriyal DNA küçük alt ünite ribozomal RNA (mtDNA rrnS) gen bölgesinin moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. Ayrıca ülkemiz kara sularında saptanan *H. fabri* türünün mtDNA rrnS gen bölgesinin moleküler karakterizasyonu bugüne kadar yapılmamıştır. Bu araştırma ile ilk kez Akdeniz'den izole edilen *H. fabri* larvalarının mtDNA rrnS gen bölgesinin moleküler karakterizasyonu amaçlanmıştır.

Yöntem: Türkiye'nin Akdeniz kıyılarında avlanan *Mullus barbatus* balığından *H. fabri* dördüncü dönem larvaları (L4) morfolojik olarak tanımlanmıştır. Morfolojik olarak teşhis edilen *H. fabri* L4'lerin genomik DNA izolasyonları yapıldı. Larvaların rDNA ITS, mtDNA cox 2 ve rrnS gen bölgeleri spesifik primer çiftleri kullanılarak çoğaltıldı ve her bir gen bölgesinin aynı primerler kullanılarak DNA dizi analizleri yapıldı. Elde edilen her bir dizinin BLAST analizleri yapılmış ve Genbank veri tabanına kayıtlı diğer *Hysterothylacium* türleri ile aralarındaki benzerlik oranları tespit edilmiştir. *H. fabri*'nin Akdeniz izolatu ile Çin Deniz'i izolatu arasındaki genetik uzaklık ve nükleotid farklılıkları belirlenmiştir.

Bulgular: Araştırmada *H. fabri* L4 olarak teşhis edilen larvaların ITS ve cox-2 sekanslarının BLAST analizleri sonucunda daha önce Türkiye'nin Akdeniz kıyılarından tarafımızca rapor edilen *H. fabri* türünün referans dizileri ile (KC852206-ITS; KC862609-cox-2) %100 identik olduğunu saptandı. Bu şekilde morfolojik olarak *H. fabri* L4 olarak tanımlanmış türün ITS ve cox 2 gen bölgesi yönünden moleküler olarak da *H. fabri* olduğu tespit edildi. *H. fabri* türünün Akdeniz'den elde edilen GZP-2019 izolatının rrnS gen bölgesinin 490 baz uzunluğunda nükleotid dizisi elde edilmiş ve Genbank veri tabanına MK886659 erişim numarası ile kayıt edilmiştir. *H. fabri* türünün mtDNA rrnS gen bölgesi yönünden Akdeniz'den elde edilen izolat (MK886659) ile Çin sularındaki izolat (MF140349) arasında %96,42 oranında benzerlik saptanmıştır.

Sonuç: Bu çalışma ile ilk kez Akdeniz'den izole edilen *H. fabri* larvalarının mtDNA rrnS gen bölgesi moleküler olarak karakterize edilmiş ve MK886659 erişim numarası ile Genbank kaydı sağlanmıştır. Ayrıca bu araştırmada elde edilen *H. fabri* türünün geçerli genetik verileri Akdeniz'deki *Hysterothylacium* cinsi nematodların filogenetik ilişkilerinin çözülmesi için kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: *Hysterothylacium fabri*, *Mullus barbatus*, mtDNA rrnS geni, moleküler karakterizasyon, Akdeniz, Türkiye



***Ichthyophthirius multifiliis* Türkiye Suşlarının Aşı Adayı Immobilizan Antijenlerini Kodlayan Genlerin Klonlanması, Gen Ekspresyonu ve Karakterizasyonu**

Alparslan YILDIRIM¹, Gökmen Zafer PEKMEZCİ², Emrah ŞİMŞEK³, Fikri BALTA⁴, Önder DÜZLÜ¹, Zuhul ÖNDER¹, Arif ÇİLOĞLU¹, Banu YARDIMCI², Ertan Emek ONUK², Gamze YETİŞMİŞ¹, Osman İBİŞ⁵, Erdal YILMAZ³, Abdullah İNCİ¹

¹Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, KAYSERİ; ²Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Su Ürünleri Hastalıkları AD, SAMSUN; ³Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Su Ürünleri Hastalıkları AD, KAYSERİ; ⁴Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Hastalıklar AD, RİZE;

⁵Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Hayvansal Biyoteknoloji AD, KAYSERİ

E-posta: yildirima@erciyes.edu.tr

Amaç: Bu çalışmada, Gökkuşuğu alabalıklarında enfeksiyon oluşturan *Ichthyophthirius multifiliis*'in farklı bölgelerden izole edilmiş saha suşlarının genotipik yapıları temelinde immundominant özellik gösteren rekombinant immobilizan antijenlerini (i-antijen) kodlayan genlerin bakteriyel ekspresyon sistemine klonlanarak eksprese ve karakterize edilmeleri, antijenik profillerinin ortaya çıkarılması ve aşı adayı olabilecek rekombinant antijenlerin elde edilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada 2018 ve 2019 yıllarının Temmuz ve Ağustos ayları arasında Gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliğinin yoğun yapıldığı Samsun, Rize, Kayseri, Elazığ, Burdur, Antalya ve Muğla illerinde bulunan işletmeler ziyaret edilerek balık popülasyonları üzerinde saha araştırmaları yürütülmüş ve *I. multifiliis* ile enfekte bulunan balıklardan ilgili protokollere göre izolasyon gerçekleştirilmiştir. Laboratuvara uygun solüsyonlar ve soğuk zincir altında intikal ettirilen örneklerden cDNA ve gDNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. *I. multifiliis* i-antijen gen lokusunun amplifikasyonu amacıyla optimum primer dizaynı için ön çalışmalar yürütülmüş ve hedef gen bölgeleri uygun amplifikasyon koşullarında PCR'da çoğaltılmıştır. Elde edilen ampikonlar agaroz jel üzerinden saflaştırılmıştır. Multiple gen lokusu sekanslarının belirlenebilmesi amacıyla ilgili pürifiye ampikonlar pJET 1.2 plazmit vektörüne CloneJET PCR cloning kit (Thermo Fisher Scientific) kullanılarak klonlanmış ve katı besi yerinde belirlenen kolonilerden rekombinant plazmid DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Rekombinant plazmidler spesifik primerlerle çift yönlü olarak sekanslanmış ve kromotogramlar De Novo Assemble üzerinden işlenerek hedef insert sekanslar vektör plazmid DNA'sı içerisinde çıkarılmış ve konsensüs sekanslar elde edilmiştir. İlgili primerlerin i-antijen gen lokusu içerisinde çoğalttığı fragmentlerin belirlenebilmesi amacıyla PCR ürünleri ayrıca yeni nesil dizileme teknolojisi (NGS) kullanılarak işlenmiş ve elde edilen dizilimlerin gen veri tabanlarındaki mevcut tüm i-antijen gen lokusları ile filogenetik ilişkileri araştırılmıştır. Tüm bu araştırmalar sonucu karakterize edilen i-antijen genlerinin eksprese ettiği proteinlerin rekombinant olarak eldesi için çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Aşı adayı potansiyeli olabilecek bazı lokusların bakteriyel ekspresyon sistemine aktarımı için kodon optimizasyonları yapılarak pET-32a(+) ekspresyon plazmid DNA'sına (Novagen) klonlanması gerçekleştirilmiştir. Elde edilen rekombinant plazmidler *E. coli* kompetent BL21 (DE3) hücrelerine transforme edilerek optimum koşullarda ekspresyon çalışmaları yürütülmüş ve ekspresyon etkinliği SDS-PAGE ve Western Blot



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

analizleri ile belirlenmiştir. Eksprese edilen rekombinant i-antijen proteinleri afinite kromatografi kullanılarak saflaştırılmış ve immün reaktiflikleri Western Blot analizleri ile tespit edilmiştir.

Bulgular: Çalışmada, Elazığ, Rize ve Muğla illerinde ziyaret edilen işletmelerdeki Gökkuşluğu alabalıklarında deri ve solungaçlarından hazırlanan preparatların mikroskopik incelemeleri ile *I. multifiliis* enfeksiyonunun yaygın olduğu görülmüştür. İlgili bölgelerden elde edilen *I. multifiliis* suşlarına ait cDNA ve gDNA izolatlarının i-antijen gen lokusunun dizayn edilen primerlerle PCR’da amplifiye edilmesi sonucu 1200-1300 bp büyüklüğünde ampliconlar saptanmıştır. Pürifiye ampliconların klonlanması sonucu ilgili izolatlara ait açık okuma çerçevesi (ORF) sekanslarının analizinde birbirleriyle %38,3-58,8 arasında farklılık gösteren 4 farklı i-antijen izoformu tespit edilmiştir. Bu izoformlar arasında bir antijenik lokusun (ImulTR1-iant) her üç ildeki alabalık popülasyonlarından izole edilen *I. multifiliis* suşlarında da var olduğu NGS analizlerinde görülmüştür. ImulTR1-iant ORF sekansı ayrıca Amerika Birleşik Devletleri’nde alabalıklardan izole edilmiş bir i-antijen izoformuyla %83,3 identiklik gösterirken, diğer tespit edilen izoformlara ait sekansların GenBank veri tabanında mevcut i-antijen sekanslarından oldukça farklı olduğu belirlenmiştir. Araştırmada rekombinant i-antijen eldesi için yaygın belirlenen ImulTR1-iant izolatu üzerinden analizler yürütülmüştür. Bu izoformu kodlayan gen bölgesinin 1263bp büyüklüğünde olduğu ve ORF’nin 420 amino asitten teşekkül ettiği belirlenmiştir. ORF amino asit sekanslarının in-silico analizlerde 42,552 kDa büyüklüğünde bir proteini eksprese ettiği, bu proteinin sitoplazmik olduğu ve transmembran bölge içermediği tespit edilmiştir. Ayrıca ilgili ORF sekansı içerisinde uzunluğu 7-22aa arasında değişen 21 antijenik bölge olduğu belirlenmiştir. Kodon optimizasyonu yapılmış olan ImulTR1-iant izoformuna ait pET-32a(+) rekombinant plazmitinin *E. coli* kompetent BL21(DE3) hücrelerine transformasyonu ve ekspresyonu sonrasında yapılan SDS-PAGE analizlerinde in-silico analiz sonuçlarına paralel olarak yaklaşık 43kDa’luk protein jel üzerinde görüntülenmiştir. İlgili rekombinant protein afinite kromatografide HisTrap FF crude (GE Healthcare) kolonları kullanılarak saflaştırılmış ve pürifiye rekombinant antijenin immün-reaktifliği Western-Blot analizleriyle gösterilmiştir.

Sonuç: Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TOA-2017-7742 kod numarasıyla desteklenen bu çalışma ile Türkiye’de gökkuşluğu alabalıklarında sorun oluşturan ve ekonomik kayıplara yol açan *I. multifiliis* suşlarına karşı biyoteknolojik aşı geliştirilmesi noktasında aşı adayı olabilecek immobilizan antijenler üzerine özgün veriler sağlanmıştır. Elde edilen aşı adayı rekombinant antijenlerin etkinliğini ortaya koyma noktasında laboratuvar ve saha şartlarında immunizasyon ve çelme enfeksiyon denemeleri için yeni proje çalışmaları planlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Ekspresyon, *Ichthyophthirius multifiliis*, immobilizan antijen, moleküler karakterizasyon, Türkiye



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 04

SB35

01 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Türkiye’de Gökkuşacağı Alabalıklarında Yayılış Gösteren *Ichthyophthirius multifiliis* Suşlarının Filogenetik Karakterizasyonu

Emrah ŞİMŞEK¹, Gökmen Zafer PEKMEZCİ², Alparslan YILDIRIM³, Fikri BALTA⁴, Önder DÜZLÜ³, Zuhai ÖNDER³, Arif ÇİLOĞLU³, Banu YARDIMCI², Ertan Emek ONUK², Gamze YETİŞMİŞ³, Osman İBİŞ⁵, Erdal YILMAZ¹, Abdullah İNCİ³

¹Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Su Ürünleri Hastalıkları AD, KAYSERİ; ²Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Su Ürünleri Hastalıkları AD, SAMSUN; ³Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ; ⁴Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Hastalıklar AD, RİZE;

⁵Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Hayvansal Biyoteknoloji AD, KAYSERİ

E-posta: emrhsmk@hotmail.com

Amaç: Bu çalışmada, Türkiye’de kuluçkahane, kafes ve havuz sistemlerinde yetiştirilen Gökkuşacağı alabalıklarında sıklıkla salgın ve ölümlere yol açarak ekonomik kayıplara neden olan *Ichthyophthirius multifiliis*’in farklı bölgelerden izole edilmiş saha suşlarının mitokondrial ve ribozomal gen lokusları temelinde moleküler yapılarının belirlenmesi ve filogenetik karakterizasyonlarının yapılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada 2018 ve 2019 yıllarının Temmuz ve Ağustos ayları arasında Gökkuşacağı alabalığı yetiştiriciliğinin yoğun yapıldığı Samsun, Rize, Kayseri, Elazığ, Burdur, Antalya ve Muğla illerinde bulunan işletmeler ziyaret edilerek balık popülasyonları üzerinde saha araştırmaları yürütülmüş ve sahada eş zamanlı olarak mikroskopik analizlerde *I. multifiliis* ile enfekte bulunan balıklardan ilgili protokollere göre izolasyon gerçekleştirilmiştir. Laboratuvara %70 etil alkol içerisinde ve soğuk zincir altında intikal ettirilen örneklerden gDNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. *Ichthyophthirius multifiliis* suşlarının genetik karakterizasyonu amacıyla gDNA izolatlarında mitokondrial cytochrome c oxidase subunit 1 (COI), NADH dehydrogenase subunit 1 (NADH1) ve nükleer ribozomal internal transcribed spacer 1 (ITS1) gen bölgeleri optimize edilmiş primerlerle PCR’da amplifiye edilmiştir. Jelden pürifiye edilen ampikonlar pJET 1.2 plazmit vektörüne CloneJET PCR cloning kit (Thermo Fisher Scientific) kullanılarak klonlanmış ve katı besi yerinde belirlenen kolonilerden rekombinant plazmid DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Rekombinant plazmidler spesifik primerlerle çift yönlü olarak sekanslanmış ve kromotogramlar De Novo Assemble üzerinden işlenerek hedef insert sekanslar vektör plazmid DNA’sı içerisinde çıkarılmış ve konsensüs sekanslar elde edilmiştir. İlgili sekanslar GenBank veri tabanında referans *I. multifiliis* sekanslarıyla hizalama analizlerine tabii tutularak filogenetik analizler için data setleri oluşturulmuştur. *I. multifiliis* haplotiplerinin ve intraspesifik nükleotid farklılıklarının belirlenmesi amacıyla COI ve NADH1 sekansları artarda sıralanarak her bir haplotip için 2002 bp uzunluğunda sekanslar oluşturulmuş ve GenBanktaki referans sekanslarla birlikte toplam 20 sekansı içeren data set analizlere dahil edilmiştir. Data set içerisinde haplotip çeşitliliği ve intra spesifik nükleotid farklılıkları DNAsp ve Mega X üzerinden Kimura Two Parameter modeli ile analiz edilmiştir. Filogenetik ağaç oluşturulmasında maximum likelihood (ML) analizleri 1000 tekrarlı bootstrap kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen *I. multifiliis* suşlarına ait izolatların nükleer ribozomal ITS1 sekansları,



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

GenBank'ta mevcut olan diğer ciliata türlerine ait izolatların sekansları ile kıyaslanarak inter-spesifik nükleotid farklılıkları belirlenmiş ve filogenetik yapıları tespit edilmiştir.

Bulgular: Çalışmada ziyaret edilen, Samsun (3), Rize (4), Trabzon (7), Kayseri (6), Elazığ (15), Burdur (7), Antalya (8), Muğla (8) ve Aydın (3) illerindeki işletmelerden sırasıyla 2, 4, 6, 1, 3, 1, 2, 6 ve 1'inde Gökkuşluğu alabalıklarının deri ve solungaçlarından hazırlanan preparatların mikroskopik incelemelerinde *I. multifiliis* enfeksiyonunun varlığı tespit edilmiştir. İlgili bölgelerden elde edilen *I. multifiliis* suşlarına ait gDNA izolatlarının COI, NADH1 ve ITS1 gen bölgelerinin optimize edilmiş spesifik primerlerle PCR'da amplifiye edilmesi sonucu her gen bölgesi için hedef büyüklüklerde ampliconlar saptanmıştır. Pürifiye ampliconların klonlanması sonucu ilgili izolatlara ait COI ve NADH1 gen bölgesi sıralı sekanslarının GenBank veri tabanındaki referans sekanslarla birlikte analizlerinde toplam 6 haplotip belirlenmiş (ImulTR1-6) ve haplotip diversitesi $0,0159 \pm 0,040$ olarak saptanmıştır. Araştırmada en yaygın olarak karakterize edilen ImulTR1 haplotipi tüm bölgelerde belirlenirken, ImulTR2 Akdeniz ve Ege, ImulTR3 Karadeniz, ImulTR4 ve ImulTR5 Ege, ImulTR6 da Doğu Anadolu Bölgelerinde tespit edilmiştir. Çalışmada belirlenen bu haplotiplerden 5'i Dünyada ilk kez karakterize edilirken, ImulTR2 haplotipi Amerika Birleşik Devletlerinden bildirilen NY3 ve ARK9 suşlarına ait COI ve NADH1 sıralı sekanslarıyla %100 identik bulunmuştur. *I. multifiliis* için ortalama intra-spesifik nükleotid farklılığı $1,1 \pm 0,2$ saptanmıştır. COI ve NADH1 sıralı sekanslarının filogenetik analizinde ImulTR2,3,4 haplotiplerinin ARK9 ve NY3 suşlarıyla birlikte Grup 1'de yer aldığı, ImulTR1 ve 5 haplotiplerinin G5, G15, ARK5, ARK7, ARK10, NY4 ve NY7 suşlarıyla birlikte yaygın olan Grup 2'de kümelendiği tespit edilmiştir. Elazığ yöresinden izole edilen ImulTR6 haplotipinin ise filogenetik ağaç üzerinde Grup 1'e yakın ayrı bir cluster oluşturduğu belirlenmiştir. Çalışmada belirlenen izolatlara ait ITS1 sekanslarının birbirleri ile %100 identik olduğu belirlenirken GenBank veri tabanında mevcut Brezilya, Çin ve Avustralya'dan rapor edilmiş 4 adet *I. multifiliis* ITS1 sekansları ile %98,9-100 identik oldukları saptanmıştır. ITS1 filogenisine göre *I. multifiliis*'in yaklaşık %15 genetik farklılıkla ciliatalardan *Tetrahymena* türlerine yakın olduğu görülmüştür.

Sonuç: Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TOA-2017-7742 kod numarasıyla desteklenen bu çalışma ile Türkiye'de gökkuşluğu alabalıklarında sorun oluşturan ve ekonomik kayıplara yol açan *I. multifiliis* suşlarının ilk kez genetik karakterizasyonu yapılmıştır. Elde edilen verilerle Türkiye suşlarının günümüze kadar karakterize edilmiş suşların yer aldığı genogruplarda bulunduğu, bununla birlikte bazı suşların ise genetik olarak daha farklı olduğu ve genogrup 1'e yakın ayrı bir clusterda yer aldığı ortaya çıkarılmıştır. Çalışmada elde edilen çıktılar *I. multifiliis*'in moleküler epidemiyolojisi üzerine özgün veriler sağlamıştır. Ayrıca çalışmada elde edilen moleküler bulgular Gökkuşluğu alabalıklarında *I. multifiliis*'e karşı universal biyoteknolojik aşı geliştirilmesi noktasında da genetik çeşitlilik açısından yüksek katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: COI, gökkuşluğu alabalığı, *Ichthyophthirius multifiliis*, ITS1, moleküler karakterizasyon, NADH1, Türkiye



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 04

SB36

01 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Bursa'da Saksığan Kuşlarının Sindirim Sisteminde Tespit Edilen Parazitler

Ahmet Onur GİRİŞGİN¹, Sezen BİRLİK², Oya GİRİŞGİN³

Bursa Uludağ Üniversitesi, ¹Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD; ²Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Nilüfer;
³Karacabey M.Y.O., Karacabey, BURSA

E-posta: onurgirisgin@gmail.com

TAM METİN

ÖZET

Saksığan (Corvidae: *Pica pica*), Türkiye'nin kırsal ve şehirleşmiş alanlarında yaygın olarak bulunan bir kuş türüdür. Bu kuşlarda bulunabilecek sindirim sistemi parazitlerini belirlemek için, bir yıl süresince tıbbi bakıma muhtaç bir halde hayvan hastanesine getirilen ve ölen sekiz adet saksığan, iç parazitler yönünden muayene edilmiştir. Bu amaçla standart nekropsi protokolleri uygulanmış, dışkı örnekleri ışık mikroskobu altında, elekten geçirilen bağırsak süzüntüleri ise stereo mikroskop altında incelenmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda, iki helmint ve bir protozoondan oluşan üç tür parazit (sırasıyla *Passerilepis sp.*, *Brachylaema sp.* ve *Isoospora rochalimai*) teşhis edilmiştir. Tespit edilen tüm parazitler, Türkiye'nin yabani kuşlarının helmint ve protozoon faunası için ilk defa bildirilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Saksığan, helmint, protozoon, Türkiye

Intestinal Parasites Detected on A Group of Magpie (*Pica pica*) in Bursa

SUMMARY

Common magpies (Corvidae: *Pica pica*) distribute through rural and urban areas of Turkey. Because of their distribution in urbanised regions, magpies may have some intestinal parasites which may relate to domestic animals and humans. To check out this, eight common magpies brought to the animal hospital in need of medical intervention were examined for endo-parasites in a one-year period. As results of the necropsies, three parasite species including two helminths and one protozoan (*Passerilepis sp.*, *Brachylaema sp.*, *Isoospora rochalimai*, respectively) were identified. All of the parasites are the first records for Turkey's helminth/protozoan fauna in wild birds.

Key Words: Helminth, protozoa, magpie, *Pica pica*, Turkey

GİRİŞ

Saksığan (*Pica pica*), Avrupa, Asya, Kuzey Amerika'nın kuzeybatısı ve Afrika'nın kuzeybatısında yerleşik olarak yaşayan bir kuştur. Ülkemizde de kırsal ve şehirleşmiş alanlarında yaygın olarak bulunmaktadır. Saksığanlar omnivor kuşlardır, diyetlerinde bitkisel ve hayvansal kökenli birçok besin bulunabilir. Bu çok çeşitli beslenme davranışları, onları larval veya ergin birçok parazite maruz bırakmaktadır. Bu nedenle saksığan gibi evcil olmayan kuşlar çeşitli parazit türleriyle enfekte olabilmektedir. Özellikle sindirim sisteminde helmint ve protozoon türleri daha fazla görülmektedir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Koksidiyoz hem yabani ve hem evcil kuşların en önemli parazit hastalığıdır. Konak kuşların sindirim epiteline yerleşen birçok *Isoospora* türü bulunmaktadır ve bunların çoğu konak türe özgüdür (1). Kuş ailelerinden şimdiye kadar 140 bağırsak *Isoospora* türü bildirilmiştir (2).

Yabani kuşlardaki helmint enfeksiyonları, konağına fazla bir zarar vermeden oluşmasına rağmen, yoğun enfeksiyonlar performans düşüklüğü ve ölüm oranında yükselmeye sonuçlanabilir (3). Bu nedenle helmint enfeksiyonları, genelde, herhangi bir sebeple ölen yabani kuşlara nekropsi yapıldığında tespit edilmektedir.

Bu çalışma, bir yıl süresince tıbbi bakıma muhtaç bir halde hayvan hastanesine getirilen ve ölen, sekiz adet saksığandaki sindirim sistemi parazitlerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Hastanesinde, Mayıs 2015-2016 yılları arasında yapılmıştır. Yabani kuşlarda yapılması gereken her türlü bilimsel çalışmada alınması gereken Orman ve Su İşleri Bakanlığı çalışma izni ve Etik Kurul izni alınmıştır.

Çalışma materyalini, halk tarafından tıbbi bakıma muhtaç halde hastaneye getirilen saksığan kuşları oluşturmuştur. Yapılan tıbbi tedaviye rağmen ölen toplam sekiz adet saksığan (*Pica pica*), nekropsi yapılarak sindirim sistemi parazitleri yönünden incelenmiştir.

Önce ağız boşluğu, özofagus, larinks ve trake uzunlamasına ensizyon ile açılarak gözle incelenmiştir. Daha sonra her kuşun karın boşluğu ortaya çıkarılarak trake, özofagus, ön mide, ince bağırsak ve kalın bağırsak ayrı şekilde kesilip çıkarılarak iç parazit muayeneleri yapılmıştır. Bu amaçla çıkarılan her organın sudan geçirilen içerikleri 100 µm'lik delik çapı olan laboratuvar eleğinden elenmiş, elekte kalan kalıntılar petri kabına alınarak stereo mikroskop altında incelenmiştir. İlaveten, gastrointestinal organların mukozaları, helmintlerin varlığı bakımından stereo mikroskopta incelenmiştir. Toplanan tüm helmintler sayılmış, sestodlar ve trematodlar %70'lik etil alkolde fikse edilmiş, hematoksilin ile boyanarak muayene için balzam ile slayt hazırlanmıştır. Helmintler ışık mikroskobu altında *Bray ve ark.* (4), *Gibson ve ark.* (5), *Schmidt* (6), *Tolgay* (7) ve *Yamaguti'nin* (8) tarif ettiği şekil ve anahtarlar ile teşhis edilmiştir.

Dışkıda bulunabilecek yumurta veya ookistleri bulmak amacıyla direkt olarak bağırsaktan alınan dışkı örneklerine flotasyon uygulanmıştır. Ookist bulunan dışkı örneğine, sporlanması için dışkı suyu süzülerek %2'lik potasyum-di-kromat ($K_2Cr_2O_7$) eklenmiş, her gün havalandırılarak oda sıcaklığında bir hafta bırakılmıştır. Sporlanmış ookistin tür teşhisi, spesifik morfolojik karakterler (boyut, şekil, renk, mikropilar şapkanın varlığı), sporokistlerin şekli ve sporokist içindeki sporozoitlerin yerleşimine bakılarak yapılmıştır (3, 9).

BULGULAR

İncelenen bir kuşta (%12,5) bir Sestod türü *Passerilepis* sp. (6 ergin), başka bir kuşta (%12,5) bir Trematod türü *Brachylaima* sp. (5 ergin) olmak üzere iki tür helmint tespit edilmiştir (Tablo 1). Helmintler bağırsak lümeninde serbest halde bulunmuştur. Bu her iki helmint türü de Türkiye'nin helmint faunası için ilk bulgulardır.

Sporlanmaya bırakılan sporlanmış ookistler ölçülerek ortalama 20,35 µm × 22,22 µm (18,76 – 21,59 µm × 21,69 – 25,24 µm arasında değişen) uzunluk bulunmuş ve ortalama 1,08 (1,03 – 1,16) şekil indeksi (uzunluk/genişlik) elde edilmiştir. Koksidiyal enfeksiyon sadece bir kuşta (%12,5) tespit edilmiş ve elde edilen değerler ışığında *Isoospora rochalimai* olarak teşhis edilmiştir. Bu protozoon türü de Türkiye'de ilk defa kaydedilmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Koksidiyal enfeksiyon tespit edilen kuşun aynı zamanda *Brachylaima* sp. ile de enfekte olduğu görülmüş ve bağırsaklarında verminöz enterit tablosu gözlenmiştir.

Tablo 1. Örneklenen saksığanlarda bakteriyolojik, parazitolojik ve histopatolojik bulgular

Saksığan No	Parazit
1	-
2	<i>Passerilepis</i> sp.
3	<i>Brachylaima</i> sp., <i>Isospora rochalimai</i>
4	-
5	-
6	-
7	-
8	-

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmadaki saksığanlardan iki helmint ve bir protozoon türü elde edilmiştir ve bunlar Türkiye için ilk bulgulardır. *Passerilepis* cinsi Hymenolepididae ailesine mensuptur. Bu ailedeki Sestodlar kataral enteritise ve mukoza nekrozuna neden olabilmektedir (10). Bu kuşun bağırsaklarına yaptırılan histopatolojik incelemede, yabancı cisim tipli dev hücreleri ile karakterize granülamatoz reaksiyonu bulunmuştur.

Bu çalışmada tespit edilen parazit türleri, daha önce farklı ülkelerdeki Passerin kuşlar veya saksığanlarda yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (9, 11–14). Saksığanların helmint/protozoon parazitleri olarak, daha önce Türkiye’de tek bir çalışma yapılmıştır (15). Fakat bu çalışmada araştırmacılar bu çalışmadan farklı helmint/protozoon türleri tespit etmişlerdir.

Isospora cinsinden meydana gelen Koksidiyoz enfeksiyonları, farklı yabancı kuş türlerinden daha önce bildirilmiştir (1, 16). Saksığanlarda oluşan bu enfeksiyonlarda ise farklı türler izole edilmiştir (9). Çalışmamızdaki nekropsi, histopatolojik ve parazitolojik bulgular Koksidiyoz ile uyumludur. Üç numaralı saksığanda tanımlanan bulgular ışığında, travmatik olmayan sebeple hastaneye getirilen bu kuşun ölüm nedeninin Koksidiyoz olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak, saksığanlarda yapılan parazitik incelemeler, Türkiye’nin yabancı yaşam parazit faunası için yeni kayıtlarla sonuçlanmıştır. Bulunan etkenlerin zoonotik bir karakter taşıyıp taşımadığı, ileriki çalışmalarda belirlenebilecektir.

KAYNAKLAR

- Greiner EC. *Isospora*, *Atoxoplasma*, and *Sarcocystis*. In: Atkinson CT, Thomas NJ, Hunter DB, editors. *Parasitic Diseases of Wild Birds*. John Wiley and Sons Inc, USA, 2008. p. 108-119.
- Duszynski DW, Upton SJ, Couch L. *The Coccidia of the World*. Department of Biology, University of New Mexico, 2000. (Cited August 14, 2014). Available from URL: <http://biology.unm.edu/biology/coccidia/home.html>.
- Krone O, Cooper JE. Parasitic disease. In: Cooper JE, editor. *Birds of Prey Health and Diseases*. 3rd ed. Oxford, UK: Blackwell Science, 2002. p. 105–120.
- Bray R, Gibson D, Jones A. *Keys to the Trematoda*. Vol. 3. London, CAB International, 2008.
- Gibson D, Jones A, Bray R. *Keys to the Trematoda*. Vol. 1. London, CAB International, 2002.
- Schmidt GD. *Handbook of tapeworm identification*. Boca Raton, Florida, CRC Press, 1986.
- Tolgay N. Evcil ve yabancı kanatlıların önemli parazitleri. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları 294/195, Ankara Üniversitesi Basımevi, 1973.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

8. Yamaguti S. Systema Helminthum. Vol. I. The Digenetic Trematodes of Vertebrates. Interscience Publishers, New York, 1958.
9. Upton SJ, Langen TA, Wright TF. A new species of *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the white – throated magpie jay *Calocitta formosa* (Passeriformes: Corvidae) from Costa Rica. Syst Parasitol 1995; 31: 195-9.
10. Taylor MA, Coop RL, Wall RL. Veterinary Parasitology, Blackwell Publishing, Third Edition, 2007.
11. Gigon P, Beuret J. Contribution a la connaissance des helminthes d'oiseaux dans le nord – ouest de la Suisse. Rev Suisse Zool 1991; 98(2): 279 – 302.
12. Halajian A, Eslami A, Mobedi I, et al. Gastrointestinal helminths of Magpies (*Pica pica*), Rooks (*Corvus frugilegus*) and Carrion Crows (*Corvus corone*) in Mazandaran Province, North of Iran. Iranian J Parasitol 2011; 6(2): 38 – 44.
13. Rahemo ZIF, Zangana FM, Al-Kattan FM. The Cestodarian and Acanthocephalan worms from the bird, *Sturnus vulgaris*. Acta Parasitol Turcica 2001; 25(3): 317 – 8.
14. Schmidt GD, Greenberg Z, Wertheim G. Tapeworms from Turkey and Syria in the collection of the late George G. Witenberg. Proc Helminthol Soc Wash 1985; 52(2): 312 – 3.
15. Çetindağ M, Biyikoğlu G. Occurrence of *Dispharynx nasuta* (Rudolphi, 1819) and *Trichomonas* sp. in magpies (*Pica pica*) in Turkey. Etlik Vet Mikrob Derg 1997; 9(1): 149 – 156.
16. Berto BP, Flausino W, McIntosh D, et al. Coccidia of New World passerine birds (Aves: Passeriformes): a review of *Eimeria* Schneider, 1875 and *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae). Syst Parasitol 2011; 80: 159 – 204.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05

01 Ekim 2019 - 11:00–12:30

Oturum Başkanları: M. Ziya ALKAN / Serkan BAKIRCI

SB37. CRISPR/Cas9 Genome Editing System in *Leishmania tropica* and ablation of Multiple Genes Encoding Gp63

Arzu CHARYEVA, Petr VOLF, Jan VOTÝPKA, Vyacheslav YURCHENKO

SB38. Kutanöz Leishmaniasis tanısı için Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 2016-2018 Yılları Arasında Başvuran Hastaların ve Gaziantep'te Hastalığın Durumunun Değerlendirilmesi

Ahmet ÖZKEKLİKÇİ

SB39. İstanbul Barınak Köpeklerindeki Visseral Leishmaniasis Sorunu: Moleküler Çalışma

Reyhan ÇALIŞKAN, Şafak BAYIRLIOĞLU, Özer AKGÜL, Yaşar Ali ÖNER

SB40. Kanin Leishmaniasisli Köpeklerin Doku Örneklerinde Farklı Tanı Yöntemlerinin Değerlendirilmesi

Metin PEKAĞIRBAŞ, Nuran AYSUL, Kerem URA, Serkan BAKIRCI, Serdar PAŞA, Songül ERDOĞAN, Hasan ERDOĞAN

SB41. Erzurum Yöresi Tarla Farelerinde *Babesia*, *Hepatozoon* ve *Leishmania* Enfeksiyonları

Rıdvan KİRMAN, Muzaffer AKYÜZ, Sezin GÖŞKER, Esin GÜVEN, Hamza AVCIOĞLU

SB42. *Leishmania tropica* Amastigotların ve Promastigotların Kriyoprezervasyonu ve Virülansının Karşılaştırılması

İbrahim ÇAVUŞ, Cumhur GÜNDÜZ, Ahmet ÖZBİLGİN

SB43. *Leishmania* kökenlerinin ITS1 genine dayalı filogenetik analizi: In-siliko yöntem ile küresel düzeyde metaanalitik çalışma

Dilek GÜLDEMİR, Banu Çiçek YÜCESAN

SB44. Şırnak Bölgesinden Toplanan *Prangos ferulacea* ve *Ferula orientalis* Ekstrelerinin Türkiye'den İzole Edilmiş *Leishmania tropica*'ya Karşı Anti-leishmanial Etkilerinin Araştırılması

Sefer Özer BABAT, İbrahim ÇAVUŞ, Ahmet ÖZBİLGİN, Hüsnüye KAYALAR, Cumhur GÜNDÜZ, Şirin Sahra CEYLAN, Nogay GİRGİNKARDEŞLER

SB45. Muğla ve İlçelerinde Bulunan Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) Türleri, Popülasyon Dinamiği ve *Leishmania* sp.'nin PCR ile Araştırılması

Metin PEKAĞIRBAŞ, Mehmet KARAKUŞ, Muhammed NALÇACI, Samiye DEMİR, Seray TÖZ, Hasan EREN, Yusuf ÖZBEL

SB46. Türkiye'de Bazı Leishmaniasis Endemik alanlardaki Kum Sineği (Diptera: Psychodidae), Popülasyonlarının Thiamethoxam'a Karşı Hassasiyetlerinin Belirlenmesi

Suha K. ARSERİM, Hüseyin ÇETİN, Kardelen YETİŞMİŞ, Zeph OMONDI, Yusuf ÖZBEL

SB47. Coğrafi Bilgi Sistemleri (CBS) Tabanlı Şark Çıbanı Bildirim Sistemi

M. Kirami ÖLGEN, Seher TOPLUOĞLU, Yusuf ÖZBEL



CRISPR/Cas9 Genome Editing System in *Leishmania tropica* and Ablation of Multiple Genes Encoding Gp63

Arzuv CHARYYEVA¹, Petr VOLF², Jan VOTÝPKA², Vyacheslav YURCHENKO³

¹University of Ostrava, Faculty of Science, Department of Biology and Ecology, OSTRAVA, CZECH REPUBLIC;

²Charles University, Faculty of Science, Department of Parasitology, PRAGUE, CZECH REPUBLIC;

³Sechenov University, Martinovsky Institute of Medical Parasitology, Tropical and Vector Borne Diseases, MOSCOW, RUSSIA

E-mail: arzuvc@gmail.com

Aim: *Leishmania* species cause diseases ranging from self-healing lesions to severe visceral infections. The parasite is transmitted to the mammalian hosts by sand flies during the blood meal. These parasitic flagellates have two main developmental stages: promastigotes colonizing gut of sand flies and intracellular amastigotes residing in mammalian macrophages. *Leishmania* spp. have numerous mechanisms to escape detection by the host immune system and can survive in two different environments. One of the known virulence factors is the Glycoprotein-63 (Gp63). It mediates the promastigote attachment and development in sandflies' gut, as well as the invasion of the mammalian cells. *Leishmania* spp. encode multiple Gp63 proteins. Two gp63 genes are located on chromosome 28 (gp63-28) and 31 (gp63-31). Moreover, tandemly repeated short gp63 genes can be found on chromosome 10 (gp63-10) in most species. To analyze the importance of Gp63 in *L. tropica* development, we aimed to generate Gp63 knock-out mutants.

Method: A new genome editing technology, the CRISPR/Cas9, allows generation of genetically modified *Leishmania* cell lines easily and precisely. In this study we used this genome editing tool to generate three different *L. tropica* mutants (Δ gp63-28, Δ gp63-31 and Δ gp63-28/ Δ gp63-31). We analyzed the growth kinetics, cell differentiation and development of *L. tropica* in the absence of Gp63 *in vitro*.

Results and Conclusions: *In silico* analyses have demonstrated that only two long gp63 genes (gp63-28 and gp63-31) are encoded in *L. tropica* genome and no tandem repeats were detectable. Ablation of these two long Gp63 genes is not lethal for *L. tropica* in culture. The development of these mutants in sand flies and mammalian host is to be analyzed further.

Key Words: *Leishmania tropica*, Gp63, CRISPR/Cas9.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05

SB38

01 Ekim 2019 – 11:00-12:30

Kutanöz Leishmaniasis tanısı için Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 2016-2018 Yılları Arasında Başvuran Hastaların ve Gaziantep'te Hastalığın Durumunun Değerlendirilmesi

Ahmet ÖZKEKLİKÇİ

Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, GAZİANTEP

E-posta: ozkeklikci@hotmail.com

Amaç: Kutanöz leishmaniasis *Leishmania sp.* türlerinin neden olduğu kronikleşebilen bir deri enfeksiyonudur. Dişi tatarcıklar antroponotik olarak veya rezervuar hayvanlardan etkeni almakta kan emerken de insana bulaştırmaktadır. Enfeksiyonlu insan ve hayvan her zaman risk faktörüdür. Suriye'den kaynaklı nüfus hareketleri sonrasında hastanemize başvuran deri leishmaniasisi vakalarında artış görülmüştür. Çalışmamızda hastanemize deri leishmaniasisi vakalarının ve hastalığın durumunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Gaziantep Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Ocak 2016- Aralık 2018 yılları arasında kutanöz leishmaniasis laboratuvar tanısı için gönderilmiş olan hastaların sonuçları geriye yönelik olarak incelenmiştir. Hastalardan usulüne uygun şekilde örnek alınıp tesbit edilerek giemsa ile boyanmış ve x100'lük objektifte incelenmiştir. Hastaların yaşadığı bölge, yaşadığı bölge dışına çıkıp çıkmadığı, yabancı hastaların ne zamandan beri Türkiye'de olduğu, çevre öyküsü; lezyonun ne zamandan beri bulunduğu, sayısı ve yeri kayıt altına alınmıştır.

Bulgular: Toplam 276 hasta incelenmiş olup, 138 hastada (%50) etken saptanmıştır. Bu hastaların 58'i (%42) 10 yaş altı; 76'sı (%51) erkek, 62'si (%49) kadın; 77'si (%55) Suriye, 61'i (%45) T.C. vatandaşı; en fazla lezyon yerleşimi ise 104 hasta ile (%54) yüz bölgesindedir. Lezyon sayısı 96 hastada (%70) 1 iken, 42 hastada (%30) 1'den fazladır. 81 kişi (%59) Gaziantep Merkez mahallelerinde, 57 kişi (%41) merkez veya ilçelere bağlı köylerde ikamet etmekte veya gidip gelmektedir. Suriyeli hastaların 63'ünde (%82) lezyon başlangıcı Türkiye'ye geldikten 8 ayın üzerinde, 14'ünde (%18) 8 ayın altındadır. 22 (%16) hasta çevresinde benzer yaraları olanların bulunduğunu söylerken, 116 hasta (%84) böyle bir durumun olmadığından bahsetmiştir.

Sonuç: Önceki yıllarda importe vakalar hastaların çoğunluğunu oluştururken, son yıllarda olası bulaşın Türkiye olduğu vakalar çoğunluktadır. Suriye vatandaşlarına oranla, ülkemiz vatandaşlarında kutanöz leishmaniasis sayısı artmıştır. Olası bulaşın çoğunlukla Türkiye'de olması, merkez mahallelerde de sayının yüksek olması potansiyel epidemik riskler barındırmaktadır. Hastaların ekseriyetle çevre öyküsü olmaması rezervuar olabilecek hayvanları düşündürmektedir. Bu nedenle hastalığın takibi ve yayılmasını önlemeye yönelik çalışmaların yapılmasında yarar vardır.

Anahtar Kelimeler: Leishmaniasis, Gaziantep, kutanöz leishmaniasis



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05

SB39

01 Ekim 2019 – 11:00-12:30

İstanbul Barınak Köpeklerindeki Visseral Leishmaniasis Sorunu: Moleküler Çalışma

Reyhan ÇALIŞKAN¹, Şafak BAYIRLIOĞLU², Özer AKGÜL¹, Yaşar Ali ÖNER¹

¹İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İSTANBUL;

²Acıbadem Labmed Laboratuvarı, İSTANBUL

E-posta: reyhancaliskan@aydin.edu.tr

Amaç: Zoonoz olan visseral leishmaniasis (VL) *Leishmania infantum* (*L. infantum*) tarafından oluşturulan, dünyada yaygın olarak görülen, ülkemizin Ege ve Akdeniz Bölgeleri'nde endemik, diğer bölgelerinde ise sporadik görülen bir enfeksiyon hastalığıdır. Çalışmanın amacı insanlarda görülen visseral leishmaniasis için rezervuar olduğu bilinen kanin visseral leishmaniasis (KanVL)'in ülkemizdeki epidemiyolojik durumu belirlemek ve KanVL'yi deteksiyon limiti daha yüksek olan moleküler yöntemler ile değerlendirmek olarak belirlenmiştir.

Yöntem: Bu çalışmada İstanbul ilindeki iki sahipsiz hayvan barınağındaki 93 köpekten tam kan alınmıştır. Alınan kan örnekleri rutinde kullanılan seroloji temelli yöntemler yerine real-time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) kullanılarak *L. infantum* varlığı açısından değerlendirilmiş ve KanVL tanısı moleküler yöntem ile konulmuştur.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen toplamda 93 sokak köpeğinin 5'inde (%5,4) real-time PCR yöntemi ile *L. infantum* saptanmış ve bu köpekler KanVL açısından pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç: İnsanlardaki VL prevalansının azalmasını, KanVL'in etkin yöntemler ile saptanması ve sonrasında gerekli önlemlerin alınması ile direkt ilişkili olduğu düşünülmektedir. İnsan ve köpeklerdeki gerçek leishmaniasis insidansının belirlenmesi için özellikle ülkemiz gibi endemik bölgelerde daha ileri araştırmalar yapılmalıdır. Güncel olarak *L. infantum* ile infekte köpeklerin itlaf edilmesi önerilse de etik ve sosyal sorunlar yaratacak bu uygulama yerine, prevalansın yüksek olduğu bölgelerde KanVL aşısı gibi kontrol önlemlerinin kullanılması düşünülmelidir.

Anahtar Kelimeler: *Leishmania infantum*, Kanin Visseral Leishmaniasis, Real-time PCR



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05

SB40

01 Ekim 2019 – 11:00-12:30

Kanin Leishmaniasisli Köpeklerin Doku Örneklerinde Farklı Tanı Yöntemlerinin Değerlendirilmesi

Metin PEKAĞIRBAŞ¹, Nuran AYSUL¹, Kerem URAL², Serkan BAKIRCI¹, Serdar PAŞA², Songül ERDOĞAN², Hasan ERDOĞAN²

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, ¹Parazitoloji AD; ²İç Hastalıkları AD, AYDIN

E-posta: metinpekagirbas@gmail.com

Amaç: Kanin leishmaniasis (KanL), köpeklerin önemli rezervuar görevi gördüğü ve çoğunlukla *Leishmania infantum*'un sebep olduğu dünya çapında yaygın olarak bulunan zoonotik bir enfeksiyondur. KanL'in tanısı konağın semptomatik ya da asemptomatik olmasına bağlı olarak klinik bulgular, parazitolojik, serolojik ve moleküler tabanlı testlere dayanmaktadır. ELİSA tabanlı hızlı tanı kitleri (SnapLeish®) ile ön tanıları konulan *L. infantum* ile doğal enfekte köpeklerin tanısında farklı doku örnekleri (Deri kazıntısı, konjunktival swap, nasal swap, kan) alınarak yapılan PCR ve İndirekt Floresans Antikor test (İFAT) sonuçlarının değerlendirilmesi çalışmanın ana hedefini oluşturmaktadır.

Yöntem: Çalışma materyalini Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim dalına getirilen ve klinik olarak leishmaniasis'den şüphe edilen, ELİSA kitleri ile *Leishmania* spp. negatif/pozitif oldukları görülen 24 köpeğten alınan farklı doku örnekleri oluşturmaktadır. Köpeklerden alınan doku örnekleri Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim dalı laboratuvarlarına getirilerek klinik bulgular ve diğer bilgiler kayıt altına alınmıştır. Doku örneklerinin "PureLink® Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen®)" kit protokolüne uygun olarak DNA ekstraksiyonları gerçekleştirilmiş ve DNA örneklerinde *Leishmania* sp. varlığını tespit etmek amacıyla, RV1-RV2 primer setleri kullanılarak 145 baz çiftlik kDNA minicircle bölgesini çoğaltan PCR protokolü uygulanmıştır.

Bulgular: PCR sonuçlarına göre; deri kazıntısı alınan 14 köpeğin üçü (%15,78), konjunktival swap örneği alınan 15 köpeğin üçü (%20), 15 nasal swap örneğinin üçü (%20) ve 22 kan örneğinin yine üçü (%13,63) *Leishmania* sp. pozitif olarak saptanmışlardır. SnapLeish® ve İFAT gibi serolojik metotların sonuçlarına göre çalışmaya dahil edilen 24 köpeğin dördü (%16,6) SnapLeish® hızlı tanı kiti ve 12 köpeğin yedisi (%58,33) İFA yöntemiyle *Leishmania* sp. yönünden pozitif olarak saptanmışlardır.

Sonuç: Daha önce yapılan çalışmalarda bildirildiği üzere bu çalışmada da kan materyalinin diğer doku örneklerine göre daha düşük sensitiviteye sahip olması, dokulardaki PCR pozitifliklerinin farklı olması, hızlı tanı kiti ve İFAT gibi serolojik sonuçların yanlış pozitif/negatif sonuçlara açık olması gibi çeşitli etmenler leishmaniasis'in teşhisinde birçok metot ve doku örneğinin bir arada kullanılmasının faydalı olduğunu göstermiştir. Kullanılan diagnostik metotlar ve klinik bulgular değerlendirme sürecinin geliştirilmesi için ön çalışma niteliğinde olan bu araştırma, gelecek zaman dilimi içinde daha kapsamlı hale getirilerek devam ettirilecektir.

Anahtar Kelimeler: İFAT, KanL, PCR, SnapLeish®



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

GİRİŞ

Leishmania cinsine ait intraselüler protozoonların neden olduğu leishmaniasis, dişi Phlebotomine (Diptera: Psychodidae) kum sineklerinin ısırması ile nakledilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) raporlarına (2018) göre; 102 ülkede her yıl 1,5 milyon yeni vakanın bildirildiği leishmaniasis ihmal edilen tropik hastalıklar içinde yer alır. Kanin leishmaniasis (KanL) köpeklerin önemli rezervuar görevi gördüğü ve çoğunlukla *L. infantum*' un sebep olduğu dünya çapında yaygın olarak görülen zoonotik bir enfeksiyondur. Enfeksiyon köpeklerde genellikle vissero-kutanöz yerleşim gösterirken, köpek populasyonlarının çoğu etkeni alarak herhangi bir klinik belirti göstermeksizin taşıyıcı olabilirler (1). Tarih boyunca köpekler ile insanların yakın ilişkileri sebebiyle KanL'in prevalansının belirlenmesi özellikle endemik bölgelerde hastalığın epidemiyolojisinin anlaşılması açısından önem taşımaktadır (2). Çoğu zaman enfeksiyonun klinik bulguları teşhiste yetersiz kalmakta ve doğru tanı için ileri tanı metotlarına ihtiyaç duyulmaktadır (3). Günümüze kadar, KanL'in tanısında birçok serolojik ve moleküler tanı yöntemi tanımlanmış olup, İFAT halen KanL tanısında altın standart olarak görülmektedir (4). Son yıllarda polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) gibi moleküler tekniklerin; tekrarlayan kinetoplast (kDNA) minicircle veya nükleer DNA bölgelerini hedef alan doku veya kan örneklerinde cins ya da tür düzeyinde farklı *Leishmania* türlerinin saptanmasında hassas ve spesifik yöntemler olarak ter almaktadır (5, 6).

Leishmania DNA'sının moleküler olarak tespiti için farklı hassasiyetlerde sonuçlar veren lenf düğümü, kemik iliği ve deri gibi dokular kullanılmaktadır. Son dönemde yapılan çalışmalarda non-invaziv olan konjunktival swap, nazal swap gibi farklı materyaller *Leishmania* spp' nin köpeklerde erken tanısında kullanılmakta ve bu metotların efektif olduğu bildirilmektedir (7, 8). Söz konusu örneklerin invaziv yöntemler ile elde edilmesine rağmen swap örneklerinin non-invaziv olarak elde edilmesi uygulamada pratiklik sağlaması ve bazı çalışmalarda kandan elde edilen DNA'ya göre PZR'da daha sensitiv sonuçlar vermesi nedeni ile swap örneklerine olan ilgi artmıştır (9, 10). Ayrıca klinik teşhiste kullanılan diğer metotlara göre daha az zaman alan ve daha hızlı terapötik önlemlerin uygulanmasına katkıda bulunan fakat tek başına teşhiste yetersiz kalan hızlı tanı kitleri; özellikle klinik ve klinikopatolojik bulgular, kan biyokimyası gibi diğer sonuçlarla birlikte KanL tanısında ön tanı metodu olarak sıklıkla kullanılmaktadır (11). Serolojik ve moleküler metotların kombine olarak kullanılması, bireysel teşhis ve epidemiyolojik çalışmalar için daha güvenilir veriler sağlayabilir (12). ELISA tabanlı hızlı tanı kitleri (SnapLeish®) ile ön tanıları konulan *Leishmania* spp. ile doğal enfekte köpeklerin tanısında farklı doku örnekleri (Deri kazıntısı, konjunktival swap, nasal swap, kan) alınarak yapılan PZR ve İndirekt Floresans Antikor test (IFAT) sonuçlarının değerlendirilmesi bu çalışmanın ana hedefini oluşturmaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma materyalini Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim dalına getirilen ve klinik olarak leishmaniasis'den şüphe edilen, ELİSA kitleri ile *Leishmania* spp. negatif/pozitif oldukları görülen 24 köpekten alınan farklı kan, serum ve doku örneği oluşturmaktadır. Kliniğe getirilen köpeklerin rutin kontrolleri ve kan analizleri yapılmış ve köpeklerden *vena cephalica antebraçii*'den EDTA ve serum tüplerine alınan kan ve doku örnekleri (nasal swap, konjunktival swap, deri kazıntısı) Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim dalı laboratuvarlarına getirilerek klinik bulgular ve diğer bilgileri kayıt altına alınmıştır. Kan ve serum örnekleri kullanılabildiği kadar -20 °C'de saklanmıştır. Doku ve kan örneklerinin "PureLink® Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen®) kit protokolüne uygun olarak DNA ekstraksiyonları gerçekleştirilmiş ve DNA örneklerinde *Leishmania* spp. varlığını tespit etmek amacıyla RV1-RV2 primer setleri kullanılarak 145 baz çiftlik kDNA minicircle bölgesini çoğaltan PCR protokolü daha önce bildirildiği şekilde yapılmıştır (13). PZR sonucu oluşan ürün, 10µl/ml Safeview® konularak hazırlanan Tris-Acetate EDTA



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

içeren tanklarda ve %1,5 olacak şekilde hazırlanan agoroz jelde 1 saat süre ile 100V altında elektroforeze tabi tutulmuş ve UV ışık altında görüntülenmiştir. PZR ve hızlı tanı kit sonuçlarının bir arada değerlendirilmesi amacıyla yapılan İFA testi, -20°C'de bekletilen *L. infantum* antijenleri ile hazırlanmış slide'lar kullanılarak daha önce bildirildiği şekilde yapılmıştır (13).

Bulgular

PCR sonuçlarına göre; deri kazıntısı alınan 14 köpeğin üçü (%15,78), konjunktival swap örneği alınan 15 köpeğin üçü (%20), 15 nazal swap örneğinin üçü (%20) ve 22 kan örneğinin yine üçü (%13,63) *Leishmania* spp. pozitif olarak saptanmışlardır. SnapLeish® ve İFAT gibi serolojik metotların sonuçlarına göre çalışmaya dahil edilen 24 köpeğin dördü (%16,6) SnapLeish® hızlı tanı kiti ve 12 köpeğin yedisi (%58,33) İFAT ile *Leishmania* spp. için pozitif olarak saptanmışlardır.

TARTIŞMA

Leishmaniasis dünya genelinde köpeklerin rezervuar olarak betimlendiği önemli zoonotik hastalıklar arasında bulunmaktadır. Köpeklerin söz konusu hastalık açısından rezervuar özelliği taşıması nedeni ile hastalık veteriner sahada da ciddi öneme sahiptir (14). Hastalık ile ilişkili olarak endemik alanların belirlenmesine yönelik birçok araştırma mevcut iken veteriner pratikte son yıllarda araştırmaların temelini diagnostik testlerde olabilecek farklılıkların belirlenmesine yönelik şekillendiği görülmektedir (9, 15, 16, 17). Söz konusu araştırmaların gerek veteriner hekimlik gerekse de beşeri hekimlik alanında artan derecede diagnostik testlerde yapılan karşılaştırmalar olarak şekillendiği dikkati çekmektedir (17, 18, 19, 20, 21). Çalışmamız kapsamında ön bulgular niteliğinde değerlendirilen örneklerde de benzer şekilde ülkemizde yaygın şekilde kullanılan metotların KanL tanısında etkinliklerindeki farklılıkların ve yanlış pozitiflik ve/veya negatiflik oluşturabilecek durumların farkındalığının oluşturulması amaçlanmıştır.

Leishmania ların konak dokularında farklı düzeylerde tropizma göstererek birikimlere neden olabileceği belirtilmektedir (22). Bahsedilen literatür ışığında klinik açıdan hastalığın özellikle erken evrelerinde dokularda meydana gelebilecek parazit yükü farklılıkların hastalığın belirlenmesinde önem taşıdığı kemik iliği, lenf düğümleri, nazal, konjunktival swap ve deriden örnek alınmasının en güvenilir örnekleme yöntemleri arasında olduğu belirtilmektedir (23). Bu çalışmada deri kazıntısı, konjunktival swap, nazal swap, kan PCR, İFAT ve SnapLeish® testlerinin karşılaştırılması gerçekleştirilmiştir.

Sonuç olarak önceki çalışmalardan bildirildiği üzere bu çalışmada da kan materyalinin diğer doku örneklerine göre daha düşük sensitiviteye sahip olması, dokulardaki PZR pozitifliklerinin farklı olması, hızlı tanı kiti ve İFAT gibi serolojik sonuçların yanlış pozitif/negatif sonuçlara açık olması gibi çeşitli etmenler leishmaniasis'in teşhisinde birçok metot ve doku örneğinin bir arada kullanılmasının faydalı olduğunu göstermiştir. Kullanılan diagnostik metotlar ve klinik bulgular değerlendirme sürecinin geliştirilmesi için ön çalışma niteliğinde olan bu araştırma, gelecek zaman dilimi içinde daha kapsamlı hale getirilerek devam ettirilecektir.

KAYNAKLAR

1. Karakuş M, Arserim SK, Kasap Ö, Pekağırbaş M, Aküzüm D, Alten B, Töz S, Özbel Y. Vector and reservoir surveillance study in a canine and human leishmaniasis T endemic area in most western part of Turkey, Karaburun. Acta Trop 2019; 190: 177-182
2. Morales-Yuste M, Morillas-Marquez F, Diaz-Saez V, Baron-Lopez S, Asedo-Sanchez C, Martin-Sanchez J. Epidemiological implications of the use of various methods for the diagnosis of canine leishmaniasis in dogs with different characteristics and in differing prevalence scenarios. Parasitol Res 2012; 1: 155-164
3. Sundar S, Rai M. Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis. Clin Diagn Lab Immunol 2002; 9: 951-958.
4. Reis AB, Teixeira-Carvalho A, Vale AM, Marques MJ, Giunchetti RC, et al. Isotype patterns of immunoglobulins: hallmarks for clinical status and tissue parasite density in Brazilian dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Vet Immunol Immunopathol 2006, 112: 102-116.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

5. Töz S, Nasereddin A, Özbel Y, Ertabaklar H, Çulha G, Sevil G, Alkan Z et al. Leishmaniasis in Turkey: molecular characterization of leishmania from human and canine clinical samples. *Trop Med Int Health* 2009; 14: 1401-1406
6. Hernandez L, Montoya A, Checa R, Dado D, Galvez R, Otranto D, et al. Course of experimental infection of canine leishmaniasis: Follow-up and utility of noninvasive diagnostic techniques. *Vet Parasitol* 2015; 207: 149-155
7. Di Muccio Veronesi F, Antognoni MT, Onaofri A, Piergili Fierotti D, Gramiccia M. Diagnostic value of conjunctival swab sampling associated with nested PCR for different categories of dogs naturally exposed to *Leishmania infantum* infection. *J. Clin. Microbiol* 2012; 50: 2651-2659.
8. Karakuş M, Töz S, Ertabaklar H, Paşa S, Atasoy A, Arserim SK, Ölgen K et al. Evaluation of conjunctival swab sampling in the diagnosis of canine leishmaniasis: a two-year follow-up study in Çukurova Plain, Turkey. *Vet. Parasitol* 2015; 214:295-302.
9. Maia C, Campino L. Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. *Vet. Parasitol* 2008; 158: 274-287.
10. Strauss-Ayali D, Jaffe CL, Burshtain O, Gonen L, Baneth G. Polymerase chain reaction using noninvasively obtained samples, for the detection of *Leishmania infantum* DNA in dogs. *J. Infect Dis* 2004; 189: 1729-1733.
11. Otranto D, Paradies P, Sasanelli M. Rapid immunochromatographic test for serodiagnosis of canine leishmaniasis. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2769-2770.
12. Baneth G, Aroch I. Canine leishmaniasis: A diagnostic and clinical challenge. *Vet J* 2008; 175:14-15. doi: 10.1016/j.tvjl.2006.11.011
13. Bakırcı S, Bilgiç HBB, Köse O, Aksulu A, Hacılarlıoğlu S, Erdoğan H, Karagenc T. Molecular and seroprevalence of canine visceral leishmaniasis in West Anatolia Turkey. *Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences* 2016; 40: 637-644.
14. Gramiccia M, Gradoni L. The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control. *Int J Parasitol* 2005; 35:1169-1180.
15. Doğan N, Ozbel Y, Ozensoy Toz S, Dinleyici C, Bor O. Sero-epidemiological survey on canine visceral leishmaniasis and the distribution of sandfly vectors in Northwestern Turkey: Prevention strategies for childhood visceral leishmaniasis. *J Trop Pediatr* 2005; 52:(3), 212-217.
16. Atasoy A, Pasa S, Ozensoy Toz S, Ertabaklar H. Seroprevalence of canine visceral leishmaniasis around the Aegean coast of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2010; 16(1): 1-6.
17. Martinez V, Quilez J, Sanchez A, Roura X, Francino O, Altet L. Canine leishmaniasis: the key points for qPCR result interpretation. *Parasit Vectors* 2011; 4:57.
18. Reis LES, Coura-Vital W, Roatt BM, Bouillet LÉM, Ker HG, de Brito RCF, Carneiro CM. Molecular diagnosis of canine visceral leishmaniasis: a comparative study of three methods using skin and spleen from dogs with natural *Leishmania infantum* infection. *Vet. Parasitol* 2013; 197(3-4) : 498-503.
19. Gao Chun-hua Ding D, Wang Yun-yun, Steverding D, Wang X, Yang Yue-tao, Shi F. Development of a LAMP assay for detection of *Leishmania infantum* infection in dogs using conjunctival swab samples. *Parasit Vectors* 2015; 8: 370.
20. Courtenay O, Carson C, Calvo-Bado L, Garcez LM, Quinnell RJ. Heterogeneities in *Leishmania infantum* infection: using skin parasite burdens to identify highly infectious dogs. *PLoS Negl Trop Dis* 2014; 8(1) : e2583.
21. Gehlen M, Rossetti MLR. Canine visceral leishmaniasis diagnosis: a comparative performance of serological and molecular tests in symptomatic and asymptomatic dogs. *Epidemiol Infect* 2018; 146(5): 571-576.
22. Solano-Gallego L, Morell P, Arboix M, Alberola J, Ferrer L. Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 560-563.
23. Moreira MAB, Luvizotto MCR, Garcia JF, Corbett CEP, Laurenti MD. Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for the diagnosis of leishmaniasis in dogs with different clinical signs. *Vet Parasitol* 2007; 145: 245-252.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05

SB41

01 Ekim 2019 – 11:00-12:30

Erzurum Yöresi Tarla Farelerinde *Babesia*, *Hepatozoon* ve *Leishmania* Enfeksiyonları

Rıdvan KİRMAN, Muzaffer AKYÜZ, Sezin GÖŞKER, Esin GÜVEN, Hamza AVCIOĞLU

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ERZURUM

E-posta: ridvan.kirman@atauni.edu.tr

Amaç: Bu çalışmanın amacı, Erzurum ili tarla farelerinde *Babesia*, *Hepatozoon* ve *Leishmania* etkenlerinin moleküler yöntemlerle araştırılmasıdır.

Yöntem: Proje materyalini, Anabilim Dalı'mız bünyesinde yürütülmüş olan TÜBİTAK (Proje No:115S420) projesi kapsamında Erzurum ilçelerinden toplanmış olan 495 tarla faresi oluşturdu. Sharman tuzakları ile yakalanan her bir farenin cinsiyet, soy ve yakalanma lokasyon bilgileri kayıt altına alındı. Laboratuvara getirilen farelerin bireysel olarak kan, karaciğer ve dalak örnekleri alınarak homojenize edildi ve DNA ekstraksiyonu yapıldı. Bu ekstraksiyon ürünlerinde *Babesia* spp. için BJ1-BN2 (Casati ve ark., 2006); *Hepatozoon* spp. için Hep F-Hep R (Inokuma ve ark. 2002) ve *Leishmania* spp. için R221-R332 ve R223-R333 (Van Eys ve ark., 1992) primer çiftleri kullanılarak PCR analizi yapıldı. Sekans analizi amacıyla, jel elektroforezde kuvvetli bant vermiş pozitif DNA örneklerinden 11 tanesi *Hepatozoon* spp. için, 3 tanesi de *Babesia* spp. için ticari firmaya gönderildi ve çift yönlü sekans analizi yaptırıldı. Sekans verileri BLAST veritabanı kullanılarak GenBank'a kaydedilmiş referans izolatlarla karşılaştırıldı ve Erzurum izolatları GenBank'a kaydedildi.

Bulgular: PCR analizleri sonucunda örneklerin 3 (%0,6)'ünde *Babesia* spp., 29 (%5,85)'ünde *Hepatozoon* spp. tespit edilirken, *Leishmania* spp. tespit edilemedi. Sekans analizi sonucuna göre Erzurum *Hepatozoon* spp izolatları arasında %97,1-%100 arasında benzerlik görülürken, referans türlerle Erzurum izolatları arasında %96,9-%100 arasında benzerlik belirlendi. Sekans analizi ile *Babesia* spp. pozitif örneklerin *Babesia microti* olduğu saptandı. Erzurum *Babesia microti* izolatları kendi arasında %100, Türkiye'den bildirilen diğer *B. microti* izolatları ile %99,7-%100 ve dünyadaki referans izolatlarla %99,7-%100 arasında benzerlik gösterdiği belirlendi.

Sonuç: Bu çalışma ile Erzurum bölgesi tarla farelerinde *B. microti* ve *Hepatozoon* spp. varlığı ortaya konulmuş, zoonotik önem arz eden *B. microti*'nin bu bölgedeki varlığı ilk kez bildirilmiştir. Bölgemizde görülen paraziter hastalık etkenlerinin hem evcil hem de yabani hayvanlardaki varlığının ve yaygınlığının ortaya konması, bu etkenlere yönelik yapılacak koruma ve kontrol çalışmalarının planlanması açısından önemlidir. Tarla farelerinin hastalık nakillerindeki önemi bilinmekte olup özellikle farelerin insanlarla olan yakın ilişkisi göz önünde bulundurulduğunda, bu canlılarda diğer zoonoz hastalık etkenlerinin varlığının da araştırılmasının gerekliliği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Fare, Erzurum, *Babesia microti*, *Hepatozoon* spp., *Leishmania* spp., PCR



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05

SB42

01 Ekim 2019 – 11:00-12:30

Leishmania tropica Amastigotların ve Promastigotların Kriyoprezervasyonu ve Virülanslarının Karşılaştırılması

İbrahim ÇAVUŞ¹, Cumhuri GÜNDÜZ², Ahmet ÖZBİLGİN¹

¹Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA;

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İZMİR

E-posta: icvs26@yahoo.com

TAM METİN

ÖZET

Amaç: Kutanöz leishmaniasis konusunda parazitin biyokimyasal özellikleri, virülansı, fizyopatolojisi, immunolojik ve serolojik özellikleri, yeni ilaç veya tedavi denemeleri, eğitim preparatlarının hazırlanması, tanı kiti oluşturulması ve kullanım alanlarının incelenmesi, hastalıktan korunma konularında yapılacak *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda canlı parazitlere ihtiyaç vardır. Bu nedenle planladığımız çalışmada virülans açısından kriyoprezervasyonu yapılmış amastigotlar ve promastigotlar ile oluşturulacak hayvan modellerinin karşılaştırılması planlanmıştır.

Yöntem: Kutanöz leishmaniasis tanısı almış bir hastadan alınan klinik materyalden üretilen *L. tropica* promastigotları ile Balb/c cinsi fare enfekte edilmiş ve elde edilen *L. tropica* amastigotlarını içeren süspansiyonun bir kısmı kriyoprezervasyon yapılarak sıvı azot tankında saklanmıştır. Diğer kısımda NNN besiyerine ekimi yapılarak promastigot formu elde edilmiş ve kriyoprezervasyonu yapılmıştır. Kriyoprezervasyonu yapılan promastigotlar 6 ay sonra sıvı azot tankından çıkarılarak çözdürülmüş ve NNN besiyerine ekim yapılmıştır. NNN besiyerinde üreyen promastigotlar logaritmik faza girmeleri için %10 FBS içeren RPMI 1640 besiyerine ekilmiştir. Logaritmik faza giren promastigotlar thoma lamı ile sayılarak 106 promastigot/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Süspansiyondan 100 µl alınarak deney hayvanının ayak tabanına inokülasyonu yapılmıştır. Sıvı azot tankına aktarılan amastigotlar sıvı azot tankından çıkarılarak 37 °C'lik su banyosunda çözdürülmüştür. Çözdürülen amastigot süspansiyonu thoma lamı yardımıyla sayılarak 106 amastigot/ml yoğunluğunda hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyondan 100 µl alınarak deney hayvanının ayak tabanına inokülasyonu yapılmıştır.

Bulgular: *Leishmania tropica*'nın yapılan amastigot ve promastigot kriyoprezervasyonları 6 ay sonunda uygun koşullarda sıvı azottan çıkarılarak NNN besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. NNN besiyerinde ürediği görülmüştür. *Leishmania tropica* amastigotları ile oluşturulan fare ayak tabanı ölçümlerinin ortalaması 8. haftada 4.88 mm iken promastigotlar ile oluşturulan fare ayak tabanı ölçümlerinin ortalaması 3.02 mm olarak ölçülmüştür.

Sonuç: Çalışma sonunda yapılan kriyoprezervasyon işlemleri başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Ayrıca *Leishmania tropica* amastigotları ile oluşturulan deney hayvanı modelinin promastigotlar ile oluşturulan modellere göre daha hızlı oluşması parazitin kriyoprezervasyon sonucu bile virülansını kaybetmediğini göstermiştir. Promastigotların ise daha az virülansa sahip olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kriyoprezervasyon, *Leishmania tropica*, hayvan modeli, amastigot, promastigot



Comparison of Cryopreservation and Virulence of *Leishmania tropica* Amastigotes and Promastigotes

SUMMARY

Aim: In cutaneous leishmaniasis, there is a need for viable parasites in in vitro and in vivo studies on the biochemical properties, virulence, physiopathology, immunological and serological properties of the parasite, development of a new drug or treatment trials, providing the educational preparations, disease prevention and protection and also development of diagnostic kit and analysis of the application areas. Therefore, in this study, we aimed to compare virulence of cryopreserved amastigotes and promastigotes in animal models.

Methods: Balb/c mouse was infected with *L. tropica* promastigotes acquired from clinical material which obtained from a patient diagnosed with cutaneous leishmaniasis. Some of the suspension containing *L. tropica* amastigotes were stored in liquid nitrogen tank by cryopreservation. The other part was inoculated in NNN medium and promastigote form was obtained and cryopreservation achieved.

After 6 months, the cryopreserved promastigotes were removed from the liquid nitrogen tank and thawed and then cultivated in NNN medium. Promastigotes cultured in the NNN medium were transferred to RPMI 1640 medium containing 10% FBS to enter the logarithmic phase. The promastigotes in the logarithmic phase were counted using thoma slide and adjusted to 10⁶ promastigotes/ml. 100 µl of the suspension was inoculated into the footpad of the experimental animals. Amastigotes transferred to liquid nitrogen tank were removed from liquid nitrogen tank and thawed in 37°C water bath and then the amastigote suspension was counted by thoma slide and a density of 10⁶ amastigote/ml was obtained. 100 µl of the prepared suspension was inoculated into the footpad of the test animal.

Results: Growth was seen after cryopreservations of *L. tropica* amastigotes and promastigotes removed from liquid nitrogen after 6 months and cultured in NNN media.

The mean of the measurements of the footpad the mouse formed by *L. tropica* at 8th week for amastigotes and promastigotes were 4.88 mm and 3.02 mm respectively.

Conclusion: At the end of the study, cryopreservation was accomplished successfully. Moreover, the experimental animal model produced by *L. tropica* amastigotes was found to be faster than the models produced by promastigotes, the parasite did not lose its virulence even under cryopreservation conditions and also promastigotes were found to have less virulence.

Key Words: Cryopreservation, *Leishmania tropica*, animal model, amastigote, promastigote

GİRİŞ

Leishmaniasis, protozoon bir parazit olan *Leishmania* türlerinden neden olduğu vektör kaynaklı bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından ihmal edilen hastalıklar kapsamında değerlendirilen leishmaniasis tropikal, subtropikal bölgeler ile Doğu Akdeniz Bölgesinde endemiktir. Vektörü olan kum sineklerinin 30'dan fazla türü, leishmaniasise neden olan 20'den fazla *Leishmania* türünü insanlara bulaştırır. İnsanlar da dahil olmak üzere 70 hayvan türü doğal rezervuar olarak bulunmuştur. Kutanöz leishmaniasis (KL), visseral leishmaniasis (VL) ve mukokutanöz leishmaniasis (MKL) olmak üzere farklı klinik formları bulunmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü tarafından leishmaniasis vaka bildirim yapılan 200 ülke bulunduğunu, bu ülkelerden 87 ülkenin KL, 75 ülkenin VL açısından endemik olduğu bildirilmektedir. Endemik bölgelerde yaşayan yaklaşık 1 milyar insan bulunmaktadır. Son 5 yılda 1 milyon KL vakası bildirilirken, yılda 300 bin VL vakası bildirildiği ve bu



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

vakalara bağlı ölüm sayısının yaklaşık yılda 20 bin olduğu bildirilmiştir (1-5). Türkiye ve komşu ülkeleri İran, Irak ve Suriye leishmaniasis açısından endemik bölgede yer almaktadır. Türkiye özellikle KL açısından endemiktir. Türkiye'ye komşu olan İran, Irak ve Suriye'de yaşanan siyasi karışıklıklar, savaş ve ekonomik kaygılara bağlı olarak göç yolu güzergâhında bulunan Türkiye'ye, Birleşmiş Milletler Mülteci Örgütü verilerine göre Nisan 2018 itibari ile 3,5 milyondan fazla mülteci sığındığı bildirilmektedir. Ülkemizde 2016 yılında 1474 yerli KL, 1089 import KL vakası bildirilmiştir (6, 7).

Kutanöz leishmaniasis konusunda, parazitin biyokimyasal özellikleri, virülansı, fizyopatolojisi, immunolojik ve serolojik özellikleri, yeni ilaç veya tedavi denemeleri, eğitim preparatlarının hazırlanması, tanı kiti oluşturulması ve kullanım alanlarının incelenmesi, hastalıktan korunma konularında yapılacak *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda canlı parazitlere ihtiyaç vardır. *Leishmania* parazitleri besiyerine aktarıldıktan kısa bir süre sonra promastigotlar virülansını ve patojenitesini kaybetmekte ve bu konularda yapılacak çalışmalarda kullanılacak hayvan modellerinin oluşturulmasında sorunlar yaşanmaktadır. Ayrıca hayvan modellerinin oluşturulması planlanan çalışma için zaman ve başarılı bir şekilde hayvan modelinin oluşturulması büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle planladığımız çalışmada amastigotların kriyoprezervasyonu ve virülans açısından amastigotlar ile oluşturulacak hayvan modellerinin promastigotlar ile oluşturulacak modelleri ile karşılaştırılması planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

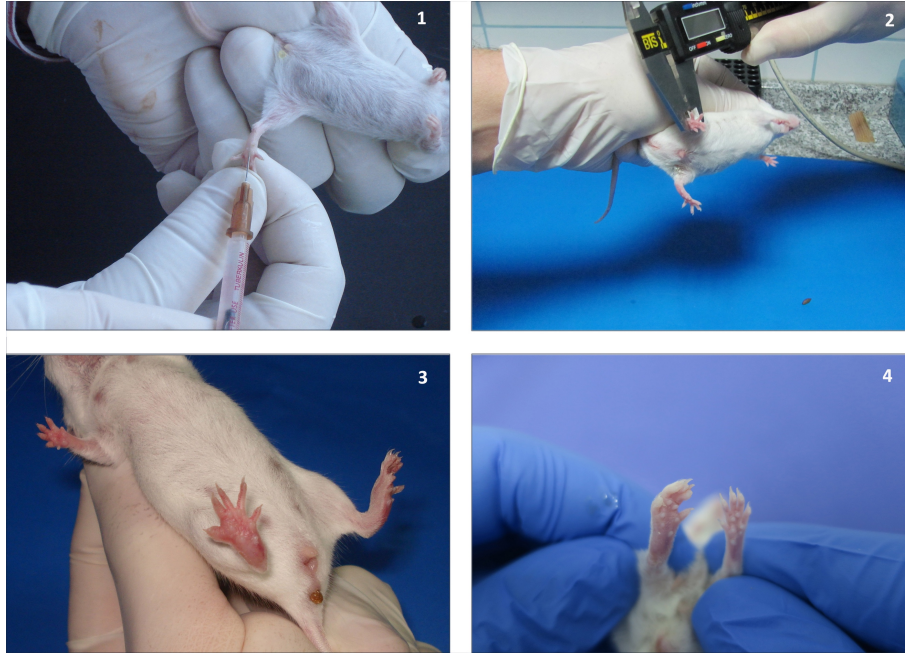
Çalışmamızda kutanöz leishmaniasis tanısı almış bir hastadan alınan klinik materyalden üretilen *Leishmania tropica* promastigotları kullanılmıştır. Bu promastigotlar Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilimdalı Parazit Bankası'ndan temin edilmiştir. Öncelikle *L. tropica* promastigotları ile Balb/c cinsi fare modelleri oluşturulmuştur. Daha sonra bu hayvan modellerinden elde edilen *L. tropica* amastigotlarını içeren süspansiyonun bir kısmı sıvı azot tankında saklanmak üzere ayrılmış diğer kısımda Now-Mc Neal-Nicolle (NNN) besiyerine ekimi yapılarak promastigot formu elde edilmiştir.

Elde edilen promastigotlar %10 Fetal Bovine Serum (FBS) içeren RPMI 1640 besiyerine aktarılmış ve logaritmik faza gelene kadar 26 °C'lik etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Besiyeri ardışık günlerde kontrol edilerek üreme durumu kontrol edilmiştir. 7 gün sonunda logaritmik faza giren promastigotlar ile sıvı azot tankında saklanmak için hayvan modelinden elde edilen amastigot süspansiyonu kriyoprezervasyon için kullanılmıştır. Promastigot içeren besiyerinden ve amastigot süspansiyonundan ayrı ayrı 2550 µl alınarak steril falcon tüplerine aktarılmış ve üzerlerine 450 µl dimetil sülfoksit (DMSO) eklenerek homojen bir karışım elde edilene kadar pipet yardımıyla karıştırılmıştır. Elde edilen süspansiyonlar cryo tüplerine 1 ml olacak şekilde dağıtılmıştır. Cryo tüpleri Cool Cell® kutularına konarak -86 °C'lik derin dondurucuya kaldırılmıştır. Cool Cell® kutuları burada bir gece bekledikten sonra ertesi gün cryo tüpleri sıvı azot tankına aktararak promastigotların ve amastigotların kriyoprezervasyon işlemleri tamamlanmıştır.

Sıvı azot tankında saklanmakta bulunan promastigotlar ve amastigotlar 6 ay sonra sıvı azot tankından çıkarılarak 37 °C'lik su banyosunda çözündürülmüştür. Çözündürülen cryo tüp içerisindeki 1 ml promastigot süspansiyonu 5 ml %10 FBS içeren RPMI 1640 besiyeri bulunan steril tüplere aktarılmış ve karıştırılmıştır. Daha sonra bu tüpler 4400 rpm 10 dk +4 °C'lik santrifüjde santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda üst kısım atılarak pelletten NNN besiyerine ekim yapılmıştır. NNN besiyerinde üreyen promastigotlar %10 FBS içeren RPMI 1640 besiyerine aktarılmış ve logaritmik faza gelene kadar 26°C'lik etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Besiyeri ardışık günlerde kontrol edilerek üreme durumu kontrol edilmiştir. 7 gün sonunda logaritmik faza giren promastigotlar ile sıvı azot tankından çıkarılarak

çözdürülen amastigotlar steril 15 ml'lik falcon tüpüne alınarak 4400 rpm 10 dk +4 °C'de santrifüj edilmiş ve santrifüj sonunda üst kısım atılarak pellet elde edilmiştir. Pellet 3 kez phosphate buffered saline (PBS) ile yıkanarak ortamdaki besiyeri uzaklaştırılmıştır. Son yıkama işleminden sonra pellet üzerine PBS eklenerek promastigot süspansiyonu ve amastigot süspansiyonu elde edilmiş ve bu süspansiyonlar içerisindeki promastigotlar ve amastigotlar thoma lamı ile sayılarak 10^6 promastigot/ml ve 10^6 amastigot/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Süspansiyonlardan 100 µl alınarak deney hayvanlarının ayak tabanlarına inokülasyonu yapılmıştır (Şekil 1).

Deney hayvanlarının ayak tabanları iki haftada bir kumpas yardımıyla ölçülerek (Şekil 2) oluşan lezyonun oluşum süresi ve büyüklüğü takip edilmiştir. Deney hayvanlarının ayak tabanına promastigot ve amastigotların inokülasyonundan 6 ay sonra deney hayvanlarına anestezi verilerek uyutulmuş ve ayak tabanlarındaki dokudan örnek alınarak NNN besiyerine ekim yapılmış ayrıca ayak tabanlarından touch preparat yapılarak preparatlar Giemsa boyası ile boyanarak parazit varlığı açısından kontrol edilmiştir (Şekil 3-4).

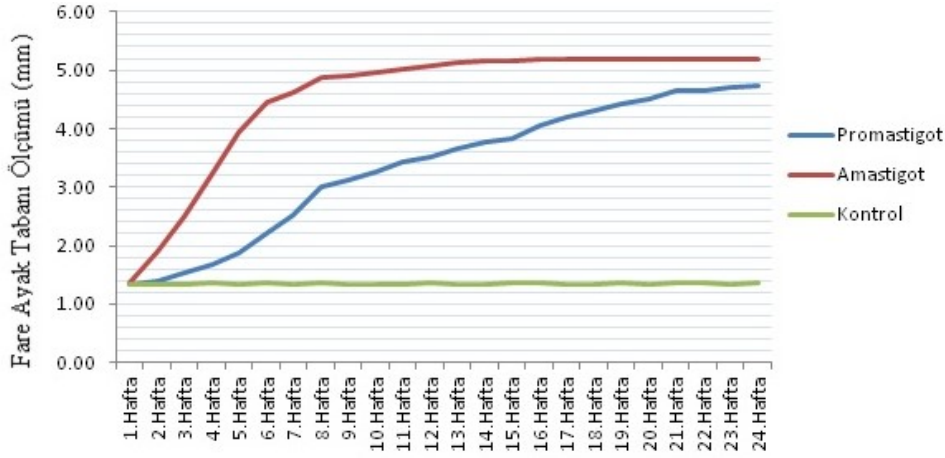


Şekil 1. Fare ayak tabanına parazitin inokülasyonu; 2. Ayak tabanlarının kumpas ile ölçümü; 3. *L. tropica* fare ayak tabanı modeli; 4. *L. tropica* fare ayak tabanı modeli

BULGULAR

Leishmania tropica'nın amastigotlarının ve promastigotlarının kriyoprezervasyonu yapılmış ve 6 ay sonunda uygun koşullarda sıvı azottan çıkarılarak NNN besiyerlerine ekimleri yapılan her iki formun da NNN besiyerinde ürediği görülmüştür.

Leishmania tropica amastigotları ile oluşturulan fare ayak tabanı ölçümlerinin ortalaması 8. haftada 4.88 mm iken promastigotlar ile oluşturulan fare ayak tabanı ölçümlerinin ortalaması 3.02 mm olarak ölçülmüştür. Çalışmanın 24. haftasında amastigotlar ile oluşturulan fare ayak tabanı ölçümlerinin ortalaması 5.18 mm, promastigotlar ile oluşturulan fare ayak tabanı ölçümlerinin ortalaması 4.73 mm olduğu görülmüştür (Şekil 5).



Şekil 5. *L. tropica* amastigotları ve promastigotları ile oluşturulan deney hayvanlarının fare ayak tabanı ölçümleri

TARTIŞMA

Leishmania parazitinin amastigot ve promastigot formlarının kriyoprezervasyonu ile *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar için gerekli olan parazitin temini açısından büyük kolaylık sağlamaktadır. Kriyoprezervasyonu yapılan parazitin biyolojik ve kimyasal özelliklerini kaybetmeden uzun süre saklanması ve istenildiği zaman sıvı azottan çıkarılarak çalışmaya hazır hale getirilebilecek olması yapılması planlanan çalışmalar için önemlidir. Parazitlerin *in vitro* veya *in vivo* olarak laboratuvar ortamında canlılıklarını devam ettirmek kontaminasyon riskini arttırabileceği gibi parazitin biyolojik ve kimyasal özelliklerini değişmesine neden olacaktır. Bu yöntemler aynı zamanda laboratuvar maliyetini arttırmaktadır.

Hayvan modelleri, insan leishmaniasisi için hastalığın immünolojik parametrelerini araştırmak için mükemmel modellerdir. Hayvan modelleri ile yeni ilaç araştırmaları ve takibi, hastalığın fizyopatolojik karakterizasyonu, uygulanacak ilaç dozajlarının belirlenmesi, toksisitenin belirlenmesi, geliştirilecek aşuların ve ilaç hedeflerinin doğrulanması, immün yanıt mekanizmasının incelenmesi gibi birçok çalışmada kullanılmaktadır (8).

Parazitin biyokimyasal özellikleri, virülansı, fizyopatolojisi, immünolojik ve serolojik özellikleri, yeni ilaç veya tedavi denemeleri, eğitim preparatlarının hazırlanması, tanı kiti oluşturulması ve kullanım alanlarının incelenmesi, hastalıktan korunma konularında yapılacak çalışmalarda hayvan modellerine ihtiyaç vardır. Özellikle yeni ilaç çalışmalarında *in vitro* çalışmalarından sonra insan klinik denemelerine başlamadan önce *in vivo* ilaç sonuçlarının hayvan modellerinde sonuçlarının alınması gerekir (9).

Planlanan *in vivo* çalışmalarda hayvan modellerinin oluşturulması planlanan çalışmanın sorunsuz işleyişi açısından önemlidir. Çalışmanın hayvan modellerinin oluşturulamamasına bağlı olarak zaman, iş gücü ve mali açıdan kayba neden olması çalışmanın ilerleyişi açısından büyük sorunlara neden olabilmektedir. Bu nedenle kutanöz leishmaniasis hayvan modellerinin oluşturulmasında amastigotların kullanılması çalışmamızda da görüldüğü üzere hayvan modellerinin daha kısa süre çalışmaya hazır hale getirmiştir. Bu da zaman, iş gücü ve mali açıdan oluşabilecek sorunları ortadan kaldıracak gibi parazitin biyokimyasal özelliklerini, virülansını ve patojenitesini kaybetmemesi çalışma sonuçlarının güvenilirliği açısından da büyük öneme sahip olduğunu düşündürmektedir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SONUÇ

Leishmania tropica'nın amastigotlarının ve promastigotlarının kriyoprezervasyonu yapılmış ve 6 ay sonunda uygun koşullarda sıvı azottan çıkarılarak NNN besiyerlerine ekimleri yapılan her iki formun başarı bir şekilde kriyoprezervasyonunun yapıldığı NNN besiyerinde üremenin olması ile görülmüştür.

Aynı şekilde kriyoprezervasyonu yapılan ve 6 ay sonunda sıvı azottan çıkarılarak canlandırılan *L. tropica* amastigotları ve promastigotları ile oluşturulan deney hayvanı modellerinden alınan doku örneklerinin NNN besiyerine ekimi sonucu promastigotların ürediği ve yapılan tocuş preparatların giemsa boyaması sonucu mikroskop incelemelerinde amastigotlar görülmesi kriyoprezervasyonun başarılı bir şekilde yapıldığını ve kriyoprezervasyon yapılarak saklanan örnekler kullanılarak yapılan hayvan modellerinde parazitin virülansının ve patojenitesinin azalmadan hayvan modellerinin oluşturulabileceği gösterilmiştir. Ayrıca *Leishmania tropica* amastigotları ile oluşturulan deney hayvanı modelinin daha kısa süre oluştuğu görülmüştür.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, TÜBİTAK 217S550 nolu proje tarafından desteklenmiştir. Çalışmamızın gerçekleşmesini sağlayan Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankasına teşekkür ederiz.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma için etik kurul onayı Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 22/08/2017 tarih ve E.66507 sayılı kararı, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu'ndan 15/08/2017 tarih ve E.63357 sayılı kararı ile alınmıştır.

KAYNAKLAR

1. Herwaldt BL, Leishmaniasis, Lancet 1999; 354(9185): 1191-9
2. Oryan A, Akbari M. Worldwide risk factors in leishmaniasis. Asian Pac J Trop, Med. 2016, 9(10): 925-932
3. WHO/Department of Control of Neglected Tropical Diseases. Global leishmaniasis update, 2006–2015: a turning point in leishmaniasis surveillance, 2016. 92 (38): 557-565
4. WHO, https://www.who.int/gho/neglected_diseases/leishmaniasis/en/, erişim tarihi : 15.08.2019
5. WHO, <https://www.who.int/leishmaniasis/en/>, erişim tarihi : 15.08.2019
6. WHO, Weekly epidemiological record, 2018. 93: 521-540
7. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/zoontikvektorel-sarkicibani/istatistik>, erişim tarihi: 15.08.2019
8. Rostamian M, Niknam HM. Leishmania tropica: What we know from its experimental models, Advances in Parasitology 2018, 1-38, <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2018.11.001>
9. Mears ER, Modabber F, Don R, Johnson GE. A Review: The Current In Vivo Models for the Discovery and Utility of New Anti-leishmanial Drugs Targeting Cutaneous Leishmaniasis, PLOS Neglected Tropical Diseases 2015, 9(9): e0003889. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003889>



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05

SB43

01 Ekim 2019 – 11:00-12:30

Leishmania Kökenlerinin ITS1 Genine Dayalı Filogenetik Analizi: In-siliko Yöntem ile Küresel Düzeyde Metaanalitik Çalışma

Dilek GÜLDEMİR¹, Banuçiçek YÜCESAN²

¹S.B. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı, Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvarları, ANKARA; ²Çankırı Karatekin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, ÇANKIRI

E-posta: dilekg06@yahoo.com.tr

Amaç: *Leishmania* subgenus *Leishmania*, 20'den fazla türü bulunan protozoon parazittir. İnsanlarda ve bazı hayvanlarda vektör kum sinekleri (yakarca, tatarcık) ile bulaşan ve visceral (VL), Kutanöz (KL) ve mukokutanöz (MKL) formları bulunan leishmaniosis hastalığına neden olur. Enfekte insanlar, köpekler ve kemirgenler hastalığın rezervuarıdır. Leishmaniosis Türkiye'de ve birçok gelişmekte olan ülkede önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bu çalışmanın amacı in-siliko yöntem ile *Leishmania* kökenlerinin ITS1 genine dayalı filogenetik analizi yapılarak küresel düzeyde vertikal ve horizontal yayılımının metaanalizinin yapılmasıdır.

Yöntem: Çalışmamızda 15.05.2019 tarihine kadar National Center for Biotechnology Information, USA, (NCBI) GenBank'a (www.ncbi.nlm.nih.gov)'a submit edilen *Leishmania* ITS1 bölgesi sekansları in-siliko yöntem ile analiz edilmiştir. NCBI veritabanı üzerinden yapılan *Leishmania* ITS1 bölgesine yönelik nükleotit taramasında 914 adet sekans verisi elde edilmiştir. Bu veriler FASTA formatında kaydedilerek Geneious 11.0.5. (www.geneious.com) platformuna yüklenmiştir. Bu dizileri align etmek için *Leishmania* GQ333260.1 suşu kullanılarak genom haritalama (mapping) işlemi yapılmıştır. Konsensüs diziye göre haritalanan tüm suşlar incelenerek indel problemi olmayan ve ITS1 bölgesini kapsayan yaklaşık 350 bp uzunluğundaki sekanslar ekstrakte edilmiştir. Bu şekilde elde edilen 151 adet sekans her iki ucundan trimming yapılarak DNA sekanslarının uzunlukları eşitlenmiştir. Daha sonra bu sekanslar ile filogenetik ağaç çizilmiştir. Ağaç incelendiğinde alt dallanmalar çıkarılarak 65 suş ile filogenetik ağaç çizilmesine karar verilmiştir.

Bulgular: Çalışmamızda elde edilen filogenetik ağaç incelendiğinde *Leishmania* kökenlerinin altı clade içerisinde kümelendiği gözlemlenmiştir. Şöyle ki; (i) Clade I'de bulunan suşlar 2004-2018 yılları arasında İran, Afganistan ve Avusturya'dan izole edilen *L. major* kökenleri olup; insanda deri lezyonundan, vektör *Phlebotomus papatasi*'den ve rezervuar *Rhombomys opimus*'dan (kemirgen), (ii) Clade II'de bulunanlar 1999-2016 yılları arasında İran, Özbekistan, Ermenistan, Sudan, Etiyopya ve Arjantin'den izole edilen *L. infantum*, *L. donovani* kökenleri olup; *Canis familiaris* (Köpek)-*P. tobbi* (Kum Sineği)-*Homo sapiens* (İnsan)'den, (iii) Clade III'de bulunan suşlar 2009-2015 yılları arasında *L. tropica* ve *L. aethiopica* suşları olup, *Eremias vermiculata*, *Eremias velox rborowskii*, *Phrynocephalus axillaris* (Çöl kertenkeleleri)-*Canis* spp.(Köpek)-*Homo sapiens* (İnsan)'den, (iv) Clade IV'de bulunan suşlar 2015-2017 yılları arasında *Leishmania* sp. (bilinen türler ile uyumlu değil / *L. tarantolae* ve *L. adleri* ile yüksek benzerlik gösteren kökenler) kökenleri olup; *Eremias vermiculata*, *Eremias velox rborowskii*, *Eremias multicephala*, *Phrynocephalus axillaris*, *Tenuidactylus elongatus* (Çöl Kertenkeleleri)-*Sergentomyia minuta* (Kum sineği)'den, (v) Clade V kökenleri 1984-2006 yılları arasında Brezilya ve Peru'dan *L. (V.)*



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

braziliensis, *L. (V.) shawi*, *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) peruviana* suşları olup; *Cebus apella* (maymun)-*Homo sapiens* (İnsan)'dan, (vi) Clade VI'da bulunan ise 2006 yılında Afrika-Gana'dan izole edilen *Leishmania* sp. (bilinen türler ile uyumlu değil) kökeni olup, *Homo sapiens* (İnsan)'den izole edilmiştir.

Sonuç: Bu çalışmada in-siliko yöntem kullanılarak incelenen suşlar 1984-2018 yılları arasında dünyanın farklı coğrafyalarından izole edilmiş olup; aralarındaki filogenetik ilişkiler bir yandan kökenlerin yıllar içerisindeki vertikal yayılımını gösterirken, diğer yandan coğrafi olarak horizontal yayılımını göstermektedir. Ayrıca bu kökenler farklı konak ve doku tiplerinden elde edilmiş olmaları ile de *Leishmania* suşlarının konak-vektör-reservuar enfeksiyon zincirindeki ilişkiler yumağına ışık tutmaktadır. Günümüzde Leishmaniosis, Dünya'da gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere pek çok bölgede önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. *Leishmania* kökenlerinin bu türden meta analitik çalışmalarla vertikal ve horizontal yayılımının izlenmesi, korunma ve kontrol önlemlerinin etkinliğinin değerlendirilmesi açısından bilhassa önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Filogenetik çalışma, ITS1 geni, In siliko meta-analiz, *Leishmania* spp.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05

SB44

01 Ekim 2019 – 11:00-12:30

Şırnak Bölgesinden Toplanan *Prangos ferulacea* ve *Ferula orientalis* Ekstrelerinin Türkiye'den İzole Edilmiş *Leishmania tropica*'ya Karşı Anti-leishmanial Etkilerinin Araştırılması

**Sefer Özer BABAT¹, İbrahim ÇAVUŞ², Ahmet ÖZBİLGİN², Hüsniye KAYALAR³,
Cumhur GÜNDÜZ⁴, Şirin Sahra CEYLAN², Nogay GİRGİNKARDEŞLER²**

¹Şırnak Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı, ŞIRNAK; ²Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, MANİSA; ³Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakognazi Anabilim Dalı, İZMİR; ⁴Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İZMİR

E-posta: sozerbabat@gmail.com

Amaç: Tropikal hastalıklar içerisinde leishmaniasis, morbidite açısından dördüncü sırada yer alırken, mortalite açısından ise ikinci sırada yer almaktadır. Pentamidin, amfoterisin B (AmpB) ve lipozomal formülasyonu, paramomisin ve miltefosin gibi ikinci basamak ilaçlar kullanılmasına rağmen *Leishmania*'nın tedavisi beş değerlikli antimon bileşiklerinin kullanımına dayanır. Bununla birlikte toksisite, yüksek maliyet ve/veya parazit direncinin artması bu bileşiklerin etkinliğini engellemiştir. AmpB, *Leishmania* tedavisinde uygunluğu iyi değerlendirilmiş bir ilaçtır; fakat böbrek, karaciğer ve kalp toksisitesi gibi yan etkileri uygulamasını sınırlandırmıştır. AmpB içeren lipit bazlı formülasyonlar serbest ürünün kullanımına kıyasla daha yüksek etkinlik ve daha düşük toksisite göstermiştir. Bununla birlikte, bu formülasyonların yüksek maliyeti, gelişmekte olan ülkelerde sınırlayıcı bir faktördür. Doğal ürünler ilaç endüstrisi tarafından biyolojik aktivite gösteren değerli yeni bir molekül kaynağı olarak kabul edilmiştir. Bitki kaynaklı bileşiklere ilgi son yıllarda artmış ve *in vitro* çalışmalarda yeni anti-leishmanial ajanlar olarak belirlenmiştir. Bu bağlamda, leishmaniasise karşı uygulanacak yeni terapötiklerin belirlenmesini amaçlayan çalışmalar zorunlu bir hale gelmektedir.

Yöntem: Bu çalışmada, Şırnak kırsalından toplanan *P. ferulacea* ve *F. orientalis* bitkilerinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarının su, sulu etanol ve klorofom ekstrelerinin *L. tropica* parazitine karşı anti-leishmanial etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. *P. ferulaceae* ve *F. orientalis* bitkilerinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarından ekstreler elde edilerek ve elde edilen ekstrelerin sitotoksik aktivite testleri yapılmıştır. Daha sonra Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankasında sıvı azotta muhafaza edilen Türkiye'den elde edilmiş *L. tropica* izolatu uygun koşullarda sıvı azottan çıkarılarak, NNN ve RPMI 1640 besiyerlerinde üretilmiştir. Logaritmik faza giren *L. tropica*, elde edilen her bir ekstreye karşı anti-leishmanial etkinliği XTT kiti ve hemositometre yöntemi ile değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada *P. ferulaceae* ve *F. orientalis* bitkilerinin kök, gövde/yaprak ve meyve kısımlarının her birinin ayrı ayrı su, etanol ve kloroform ekstreleri çıkarılarak toplamda her iki bitkiden 18 farklı ekstre *in vitro* olarak çalışılmıştır. Yapılan çalışmada ilaç adayları olabilecek ajanların saptanması için hem %50 inhibitör konsantrasyon (IC₅₀) değerleri belirlenerek hem de sitotoksik aktivite açısından WI-38 Fetal Akciğer Fibroblast hücre hattı üzerine 24, 48 ve 72. saatlerdeki etkinliği her ekstre için ayrı ayrı XTT yöntemi ile değerlendirilmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Bulgular: Çalışmada IC₅₀ analiz yöntem uygulanarak sitotoksikite etkinliğinin olup olmadığı ve sitotoksik aktivite gösteren ekstraların IC₅₀ düzeyi belirlenmeye çalışılmıştır. Yapılan bu çalışmada ilaç adayı olabileceğini düşündüğümüz ajanların sonuçları Tablo 1’de verildiği şekildedir.

Tablo 1. *P. ferulacea* ve *F. orientalis* bitki ekstralarının Anti-leishmanial ve sitotoksik aktivite sonuçları.

Bitki ekstresi	Anti-leishmanial aktivite (IC ₅₀ Değeri/ %50 inhibitör konsantrasyon değeri)	Sitotoksikite sonucu
<i>P. ferulacea</i> Kök Kloroform ekstresi (PfkC)	0,78 mg/mL	YOK
<i>P. ferulacea</i> Meyve Kloroform ekstresi (PfMC)	0,40 mg/mL	YOK
<i>F. orientalis</i> Kök Etanol Ekstresi (FoKE)	0,05 mg/mL	72. saatte 65,19 µg/ml düzeyinde aktivite göstermiştir.
<i>F. orientalis</i> Gövde/Yaprak Kloroform Ekstresi FoHC	0,48 mg/mL	YOK
<i>F. orientalis</i> Meyve Etanol Ekstresi (FoME)	0,96 mg/mL	YOK
<i>F. orientalis</i> Meyve Kloroform Ekstresi FoMC	0,062 mg/mL	YOK

Sonuç: Anti-leishmanial aktivitelerini incelediğimizde, öncelikle en etkili ilaç adayının FoMC olduğu, daha sonra ise sırasıyla PfMC, FoHC, PfkC ve FoME ekstralarının olabileceği kanısına varılmıştır. Ayrıca çalışmamızda sadece FoKE ekstresinin sitotoksik aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Prangos ferulacea*, *Ferula orientalis*, *Leishmania tropica*, Anti-leishmanial



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05

SB45

01 Ekim 2019 – 11:00-12:30

**Muğla ve İlçelerinde Bulunan Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) Türleri,
Popülasyon Dinamiği ve *Leishmania* sp.'nin PCR ile Araştırılması**

**Metin PEKAĞIRBAS¹, Mehmet KARAKUŞ², Muhammed NALÇACI³, Samiye DEMİR⁴,
Seray TÖZ⁵, Hasan EREN¹, Yusuf ÖZBEL⁵**

¹Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, AYDIN; ²Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İSTANBUL; ³Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İZMİR;

⁴Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Zooloji AD, İZMİR; ⁵Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, İZMİR

E-posta: metinpekagirbas@gmail.com

Amaç: Bu çalışma, leishmaniasis enfeksiyonu yönünden endemik olduğu bilinen Muğla ilindeki kum sineği faunasını belirlemek, iklimsel ve ekolojik özellikleri gözlemleyerek popülasyonların mevsimsel ve yüksekliğe bağlı aktivitelerini ortaya koymak ve bu türlerin bireylerinde *Leishmania* spp.'nin varlığını moleküler yöntemler ile belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Bu amaçla bir yıl boyunca 30 günlük aralarla yapılan saha çalışmaları sırasında CDC ışık tuzakları ve yağlı kağıtlar yardımıyla 2093 adet kum sineği örneği yakalanmıştır. Çalışma alanının sıcaklık, nem gibi iklimsel özelliklerinin yanında diğer ekolojik özellikleri de kayıt edilmiştir. Yakalanan kum sineği örneklerinin türleri belirlendikten sonra, tür ve lokalitelere göre 1-20 bireylik havuzlar yapılarak DNA izolasyonu gerçekleştirilmiş ve *Leishmania* varlığının saptanması için gerçek zamanlı ITS1 PCR testi uygulanmıştır.

Bulgular: Yakalanan örnekler arasında, *Phlebotomus neglectus/syriacus* %49,21 ve *P. tobbi* %17,72 oranında bulunmuş ve dominant türler olarak belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca, *P. alexandri* %3,82, *S. minuta* %3,06, *P. similis* %2,01, *P. mascitti* %2,01, *P. simici* %1,62, *P. papatasi* %1,53, *P. perfiliewi* %0,66, *S. antennata* %0,33, *P. brevis* %0,19, *S. dentata* %0,19, *P. jacusieli* %0,14, *P. killicki* %0,1, *P. anatolicus* %0,1, *P. sergenti* %0,05 oranında bulunmuştur. Ayrıca çalışmada tespit edilen *P. sergenti*, *P. killicki*, *P. anatolicus*, *S. antennata* türleri Muğla ili için ilk kez bildirilmişlerdir.

Elde edilen tür sonuçlarına göre oluşturulan 71 adet kum sineği havuzunun 24 tanesi *Leishmania* spp. yönünden pozitif bulunmuştur. Buna göre *L. tropica*, *L. infantum* ve *L. major* kum sineği DNA havuzlarında moleküler biyolojik yöntemlerle Muğla ilinde tespit edilmiştir.

Sonuç: Leishmaniasisin endemik olduğu bilinen Muğla ilinde fauna ortaya konarak Mart-Kasım ayları arasında bölgede kum sineklerinin aktif oldukları ve özellikle *P. neglectus/syriacus* ile *P. tobbi* ve *P. similis*'in bölgedeki leishmaniasis vakalarından sorumlu olabilecek olası vektör türler oldukları belirlenmiştir. Ortaya konan sonuçlar, bölgede bulunan kum sineklerinin hangi ekolojik ve coğrafik koşullarda daha çok bulunduğu ve hangi zaman aralığında bulaşma olacağı konusunda verdiği fikirler yönünden önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Leishmania*, Mevsimsel aktivite, Muğla, PCR, *Phlebotomus*

Bu çalışma, TÜBİTAK 114S999 nolu proje tarafından desteklenmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05

SB46

01 Ekim 2019 – 11:00-12:30

Türkiye’de Bazı Leishmaniasis Endemik alanlardaki Kum Sineği (Diptera: Psychodidae), Popülasyonlarının Thiamethoxam’a Karşı Hassasiyetlerinin Belirlenmesi

Suha K. ARSERİM¹, Hüseyin ÇETİN^{2*}, Kardelen YETİŞMİŞ³, Zeph Nelson OMONDI⁴, Yusuf ÖZBEL³

¹Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Yüksek Okulu, MANİSA; ²Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, ANTALYA; ³Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İZMİR; ⁴Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, İZMİR

E-posta: suhaarserim@hotmail.com

Amaç: Phebotomine kum sinekleri (Diptera: Psychodidae), dünyanın birçok yerinde kanin ve insan leishmaniasisi, tatarcık humması ve çeşitli virüslerin ayrıca Güney Amerika’da bulunan *Bartonella bacilliformis*’in vektörleri olarak bilinmektedirler. Dünya Sağlık Örgütü kum sinekleri ile erginlerine karşı mücadele edilmesi gerektiğini bildirmektedir. Bu çalışmada, Türkiye’nin çeşitli bölgelerinden doğal ortamlarından toplanan kum sineklerinin Neonicotinoid grubunda yer alan bir insektisit olan thiamethoxam’a karşı hassasiyetlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Ergin kum sinekleri üç ilimize ait Yeşilöz ve Büyükpınar (Antalya), Develi (Kayseri) ve Üçpınar ve Bayındırlık (Manisa) olmak üzere beş farklı alandan CDC Işık tuzakları (John W Hock, Co.) yardımıyla Temmuz- Ağustos 2018 tarihlerinde toplanmıştır. Thiamethoxam aktif maddesi laboratuvar şartlarında, Sağlık Bakanlığı tarafından onaylanan uygulama dozlarında (0.125 ve 0.25 gr ai / m²) iki farklı test dozu olarak uygulanmıştır. KDT₅₀ değerleri ve 24 saatlik ölüm oranları kaydedilmiştir. Testler her bir doz için üç kere tekrarlanmıştır. Knock down %50 (KDT₅₀) ve güven limitleri, Stut Plus v5 yazılımının Probit analiz programı ile hesaplanmıştır. Testlerde kullanılan örnekler %96’lık alkolde muhafaza edilerek standart anahtarlara göre morfolojik olarak tür teşhisleri yapılmıştır.

Bulgular: Antalya ilinde 192, Kayseri’de 65, Manisa’da da 147 örnek olmak üzere toplamda 404 kum sineği örneği testlerde kullanılmıştır. Bu örneklerden *Phlebotomus* cinsine 11, *Sergentomyia* cinsine ait 1 tür teşhis edilmiştir. Bir saatlik maruziyet süresinden sonra, tüm kum sineklerinin, thiamethoxam 'a karşı oldukça duyarlı olduğu bulunmuştur. 24 saat sonra ise her iki test dozunun da kum sineği örneklerinde %100 ölüme sebep olduğu görülmüştür. KDT₅₀ zamanı göz önüne alındığında, Yeşilöz-Antalya bölgesinden toplanan sinekler en hassas, Üçpınar-Manisa bölgesinden toplanan sinekler ise thiamethoxam 'a en dirençli örnekler olarak bulunmuştur.

Sonuç: Elde edilen veriler kum sineklerinin thiamethoxam'a oldukça duyarlı olduğunu ve kum sineklerinin kontrolünde kullanılabileceğini göstermektedir. Çalışma ülkemizde thiamethoxam aktif maddesinin leishmaniasis vektörleri üzerindeki etkisi üzerine yapılmış ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: Kum sineği, *Phlebotomus*, İnsektisit, Thiamethoxam

Bu çalışma, TÜBİTAK 114S999 nolu proje tarafından desteklenmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05

SB47

01 Ekim 2019 – 11:00-12:30

Coğrafi Bilgi Sistemleri (CBS) Tabanlı Şark Çıbanı Bildirim Sistemi

M. Kirami ÖLGEN¹, Seher TOPLUOĞLU², Yusuf ÖZBEL³

¹Ege Üniversitesi Coğrafya Bölümü, Bonova, İZMİR; ²S.B. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Zoonotik ve Vektörel Hastalıklar Daire Başkanı, ANKARA; ³Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, Bornova, İZMİR

E-posta: kirami.olgen@ege.edu.tr

TAM METİN

ÖZET

Bulaşıcı hastalıklarla etkin bir mücadele programı oluşturulmasının en önemli bileşenlerinden biri etkin bir sürveyans sisteminin oluşturulmasıdır. Etkili bir sürveyans sisteminin omurgasını ise veri toplama oluşturmaktadır. Böylesi bir sistemde farklı kaynaklardan elde edilmiş veriler olabilir. Ancak önemli olan tüm verilerin birbirleriyle karşılaştırılabilir olmalarıdır. Bunu sağlamanın en temel yolu ise verinin elde edilmesi ve transferinde ihtiyaç duyulan standartların konulması ve kullanılmasıdır. Ülkemizde bildirim zorunlu bulaşıcı hastalıklar arasında yer alan şark çıbanı için de bir bildirim sistemi olmasına rağmen, diğer tüm hastalıklarda olduğu gibi bu hastalıkta da mekân bileşeni eksik kalmıştır. Oysaki mekân bilgisi (adres, konum) hastalık kontrol çalışmalarında hastalığın coğrafi dağılımı ve kümelenmesi hakkında değerli bilgiler sağlamaktadır. Bu çalışmada çevrim içi veya dışı veri girişi yapılabilen ve verilerin bir CBS veri tabanında tutulduğu, gerektiğinde haritalanıp raporlanabildiği şark çıbanı için mekân bilgisini de içeren coğrafi tabanlı bir bildirim sistemi tasarlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Şark çıbanı bildirim sistemi, Coğrafi bilgi sistemleri

Geographical Information Systems Based Cutaneous Leishmaniasis Surveillance System

SUMMARY

One of the most important components of an effective combat program for communicable diseases is the establishment of an effective surveillance system. The backbone of an effective surveillance system is data collection. Such a system may contain data from different sources. However, it is important that all data are comparable. The most basic way to achieve this is to set and use the required standards for obtaining and transferring data. Although there is a notification system for cutaneous leishmaniasis, which are among the obligatory communicable diseases in our country, as in all other diseases, the space component is also missing in this disease. However, spatial information (address, location) provides valuable information about disease geographical distribution and clustering in disease control studies. In this study, a geographical based notification system has been designed, including spatial information for cutaneous leishmaniasis, where online or off-line data can be entered and the data is stored in a GIS database and can be mapped and reported when necessary

Key Words: Cutaneous leishmaniasis surveillance system, Geographical Information Systems



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

GİRİŞ

Hastalıkların küresel dağılımında ülkelerin veya bölgelerin gelişmişlik düzeyi önemli bir etkiye sahiptir. Nitekim bulaşıcı hastalıklar daha çok az gelişmiş ülke veya bölgelerde görülmekte ve gelişmişlik düzeyi arttıkça da bu hastalıkların morbidite ve mortalite oranlarında azalma gözlenmektedir (1). Bir bulaşıcı hastalığın görülmesi veya yaygınlığı üzerinde gelişmişlik dışında başkaca faktörler de rol oynar. Nitekim hastalık artışına tarım, barajlar, iklim değişimi gibi ekolojik değişimler, nüfus artışı, savaş, kentleşme, göç, ulusal ve uluslararası seyahat, gıda ürünlerinin ithali gibi beşeri coğrafyadaki değişimler ile antibiyotik kullanımı ve buna bağlı mikropların adaptasyonu, halk sağlığı programlarının aksatılması sebep olabilmektedir (2).

Bu nedenle bulaşıcı hastalıklarla etkin bir mücadele programı oluşturulması gerekmektedir. Etkin mücadelenin en önemli bileşenlerinden biri de etkin bir sürveyans sisteminin oluşturulmasıdır. Etkili bir sürveyans sisteminin omurgasını ise veri toplama oluşturmaktadır. Böylesi bir sistemde farklı kaynaklardan elde edilmiş veriler olabilir. Ancak önemli olan tüm verilerin birbirleriyle karşılaştırılabilir olmalarıdır. Bunu sağlamanın en temel yolu ise verinin elde edilmesi ve transferinde ihtiyaç duyulan standartların konulması ve kullanılmasıdır (3). Ülkemizde 2005 yılında yürürlüğe giren yeni Bildirim Sistemi ve 2011 tarihinde güncellenen versiyonu ile birlikte aralarında şark çibanın da bulunduğu bildirim zorunlu hastalık sayısı 73'e çıkarılmıştır (1).

Mevcut bildirim sisteminin belki de önemli eksikliklerinden biri toplanan verilerin mekânsal ayağının eksik olmasıdır. Her ne kadar hastaya ait adres düzeyinde mekânsal bilgi bildirim yapıyorsa da bu verileri sistemden çekilmesi çok da kolay değildir. Bu nedenle verilerin mekânsal bileşeniyle birlikte yayınlanması durumunda karar vericiler açısından çok daha sağlıklı analizler yapmak mümkün olabilir (1). Bu çalışmada çevrim içi veya dışı veri girişi yapılabilen ve verilerin bir CBS veri tabanında tutulduğu, gerektiğinde haritalanıp raporlanabildiği şark çibanı için mekân bilgisini de içeren coğrafi tabanlı bir bildirim sistemi tasarlanmıştır.

Hazırlanan bildirim sistemi ile endemik bir alanda olası olgu artışlarının zamanında saptanabilmesi, yeni endemik alanların ortaya çıktığının belirlenebilmesi ve on-line olarak olgu dağılımlarının günlük / haftalık / aylık olarak izlenebilmesinin sağlanması, bu verileri coğrafi bilgi sistemi (CBS) yazılımları yardımıyla harita ile görsel hale getirebilmek ve mevcut sistemde yetersiz olan epidemiyolojik veriler ile lezyonlar, tanı ve tedavi yöntemi hakkındaki verileri toplayabilmek ve anında dökümanete edebilmek için web tabanlı olan ancak çevrim dışı da çalışabilen, bilgisayar, tablet ve akıllı telefonlarda kullanılabilecek yeni bir sistemin oluşturulması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmanın omurgasını şark çibanı bildirimlerinin tutulduğu veri tabanı oluşturmaktadır. Bu veri tabanı aynı zamanda bir coğrafi bilgi sistemi (CBS) veri tabanı ile de entegre çalışmaktadır. Söz konusu veri tabanları da bu iş için ayrılmış özel bir sunucu üzerinde tutulmaktadır. Bu amaçla üzerinde Windows server 2012 işletim sistemi, Microsoft SQL Server 2014 veri tabanı yazılımı, ArcGIS Pro ve ArcGIS Online CBS yazılımlarının bulunduğu her biri 6 çekirdekli çift Xeon işlemciye sahip, 128 GB RAM, 2 x 2TB SAS Raid Disk'e sahip bir sunucu kullanılmaktadır.

Kullanılan bildirim sistemi TÜBİTAK 1003 Ar-Ge projesi kapsamında geliştirilmiştir. Biri mobil (Android) diğeri ise web tabanlı olarak geliştirilen bildirim sistemi deneme kullanımına açılmıştır. Bildirim Sistemine (<http://gis.ege.edu.tr/klepi/Home/Index2/>) adresinden ulaşılabilir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

BULGULAR

Yazılım, masaüstü, dizüstü bilgisayarlar, tabletler ve akıllı telefonlarda çalışabilecek şekilde düzenlenmiştir. Sistem, internet bağlantısı sürekli olan yerlerde doğrudan web tabanlı da çalışılabilmekte ve kaydedilen veriler “Gönder” işlemi sonrası tanımlanan merkeze gönderilebilmektedir. İnternet bağlantısı olmayan yerlerde yapılan kayıtlar ise cihaz internete bağlandığında gönderilebilmektedir.

Yazılımda veri girişi için 5 farklı ekran, verilerin dökümanente edilmesi için de 2 farklı ekran bulunmaktadır.

İlk açılan ekranda, Sağlık.Net-Online bildirim sayfasında bulunan hastaya ait bilgilerin (protokol no, örneğin alınma tarihi, formu doldurana ait bilgiler, ad, soyad, ayrıntılı adres, cinsiyet, doğum tarihi, mesleği, eğitim durumu, telefon) alınacağı alanlar açılmaktadır. Protokol numarası T.C. kimlik numarası olarak belirlenmiş ve sistemden otomatik olarak gelmektedir. Ayrıca yabancı uyrukluların kimlik numaralarını yazabilmek için de alan yaratılmıştır.

İkinci ekranda ise anket formu bulunmaktadır. Burada evin yapısı, yerleşim yeri, evdeki birey sayısı, ahır / kümes varlığı, uyuma alışkanlıkları, seyahat öyküsü gibi veriler alınmaktadır.

Üçüncü ekranda, klinik bulguların işleneceği bölüm yer almaktadır. Buraya ilk sayfadaki hastayı tanımlayıcı veriler otomatik olarak gelmektedir. Lezyonla ilgili veriler de burada yer alan şematik insan görüntüsü üzerine işlenebilmektedir. Lezyonun yerini işaretlemek için insan şematik resmi üzerinde bulunan karelere tıkladığında yeni bir pencere açılarak, lezyonla ilgili verilerin girilmesi ve şematik resim üzerinde işaretlenmesi sağlanmaktadır.

Dördüncü ekranda alınan örnek ile ilgili bilgiler yer almaktadır. Buraya da ilk sayfadaki hastayı tanımlayıcı veriler otomatik olarak gelmektedir. Alınan örneğin tipi ve yapılan laboratuvar testleri ile test sonuçları bu sayfaya işlenmektedir.

Beşinci ve son ekranda ise tedavi şekli ve sürecini içeren bilgilerin girileceği alanlar bulunmaktadır. Burada intralezyoner veya sistemik tedavi seçildiğinde her enjeksiyon için tarihin girilebileceği ayrı bir alan açılmaktadır. Tedavi sonlandığında da sonlandığını ve başarı durumunu ifade eden bir not girilebilmektedir.

Bütün formlar doldurulduğunda “Onayla” butonu ile hasta kaydı tamamlanmaktadır. Bu aşamada olmazsa olmaz olmaz bir veri eksik kaldıysa sistem uyarı vermektedir.

Yazılımın “Hasta Arama” sekmesinde açılan ekranda “Ad-Soyad” veya “Protokol no” ile arama yapılabilmektedir. Bu şekilde bir sonraki enjeksiyon için tekrar gelen hasta bulunabilmektedir. Yazılım ayrıca aynı hastanın ikinci kez kaydedilmeye çalışılması durumunda da uyarı vermektedir.

Yazılımın “Raporlar” sekmesinde ise il, ilçe, mahalle / köy veya tarih aralığı girilerek hasta listeleri oldukça detaylı olarak elde edilebilmekte ve bu listeler excel dosyası olarak kaydedilebilmektedir.

Yazılımla ilgili olarak oldukça detaylı bir “Kullanım Kılavuzu” da hazırlanmıştır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bildirimi zorunlu bir hastalık olan şark çibanının aktif ve pasif sürveyansında, olgu ve hastalık özelliklerine ek olarak, parazit ve vektör ile çevresel özellikleri de tanımlayan veri tabanının ve oluşturulacak haritaların, düzenli, ayrıntılı ve aynı zamanda gerçek zamanlı veri akışı ile ileri analizlerin de yapılmasını sağlayabilecek bir sistemin geliştirilmesi ile hastalığın kontrolünde daha güncel ve standart yaklaşımlar söz konusu olabilecektir.

Akıllı telefon / web uygulaması ile bu sistemin güncelliği ve sürekliliği sağlanabileceği düşünülmüştür. Proje kapsamında oluşturulan bir uygulama ile olgu bildirimlerinin hasta ve lezyona ait veriler ile çevresel verilerin yanı sıra, tanı ve tedavi ile ilgili bilgilerin toplanması ve gerçek zamanlı olarak sisteme tanımlanan kişiler tarafından izlenebilmesi sağlanmıştır. Yıllık insidans verilerinin toplumdaki gerçek



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

epidemiolojik trendin iyi bir indikatörü olması nedeniyle, olgu saptandığında toplanacak verilerin çeşitlendirilmesi de bildirimlerdeki zenginlik ve kaliteyi arttıracaktır. Tüm olgularla ilgili veri tabanına çevresel verilerin de eklenmesi ile daha geniş çerçevede epidemiyolojik veri tabanı elde edilebilecektir. Uygulama web tabanlı çevrim içi kullanılabilirdiği gibi tablet veya akıllı telefonlara indirilerek çevrim dışı da kullanılabilmekte, bu durumda veriler daha sonra toplu olarak sisteme yüklenebilmektedir. Halen kullanılan bildirim sistemine göre çok daha detaylı verilerin alınması ile herhangi bir alanda epidemik olması durumunda, daha önce bilinmeyen yeni endemik alanların oluşması durumunda ve kullanılan tanı-tedavi yöntemlerinin etkinliği konularında anında bilgi alınabilecek ve kontrol önlemlerinin uygulanması hızlı bir şekilde sağlanabilecektir. Elde edilecek bu verilerle yeni olgu kontrol, kohort ve/veya kesitsel çalışmaların planlanması mümkün olacağı gibi bu alanda sağlık hizmetinin planlanmasında gerekli görülebilecek değişikliklerin yapılması sağlanabilecektir. Türkiye’de de şark çıbanı önemli bir halk sağlığı sorunudur ve ihmal edilen hastalıklar arasında yer almaktadır. Geçmiş dönemden 2004 yılına kadar olan bildirimlere bakıldığında şark çıbanının sadece 43 ilimizden rapor edildiği halde 2017 tarihine geldiğimizde 75 ilimizden rapor edildiği görülmektedir. Bu durum, ülke içinde seyahat ve toplu göçlerin olması ve illerde tanı konulma oranının artmasına, aynı zamanda iç savaş nedeniyle ülkemize sığınmak zorunda kalan Suriye vatandaşları arasında da hastalığın yaygın olmasına bağlanabilir. Bütün bu nedenlere iklim değişikliklerinin etkisi ve birçok ilimizde vektör kum sineği türlerinin bulunması eklendiğinde ülkemiz içinde yeni endemik alanların oluşmasına yol açtığı düşünülmektedir. Bu durum oluşturulan sistemin kullanılmasının önemini de arttırmaktadır.

Bu çalışma 114S999 nolu proje ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Ölgen, MK. Türkiye’de Bildirimi Zorunlu Bulaşıcı Hastalıkların Mekansal Kümelenmesi. Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi 2011EDB005 nolu proje 2015.
2. Aksan AD, Durusoy R. Yeni Sürveyans Sisteminde Bölgelerin Gelişmişlik Düzeyine Göre Bulaşıcı Hastalıklar. Türkiye Klinikleri J. Med. Sci. 2010; 30(5); 1655-64.
3. Sağlık Bakanlığı. Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirimi Sistemi Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi. 2004.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06

02 Ekim 2019 - 09:00–10:00

Oturum Başkanları: Gülnaz ÇULHA / İ. Cüneyt BALCIOĞLU

SB48. Sıtma Olgusunda Doğru Laboratuvar Tanısının Önemi
Ahmet YILDIRIM, Ahmet ÖZBİLGİN

SB49. Yurtdışı Kaynaklı İki *Plasmodium falciparum* Olgusunda Profilaksi ve Kişisel Koruyucu Kullanımının Önemi
Müzeyyen CÖMERT AKSU

SB50. *Leishmania tropica*'nın Neden Olduğu Alışılmadık Görünümlü Kutanöz Leishmaniasis ve Tedavisi
Yener ÖZEL

SB51. Mersin İlinde 2005-2014 Yılları Arasında Mülteci Kaynaklı Leishmaniasis ve Sıtma Olgularının Retrospektif Değerlendirilmesi
Müzeyyen CÖMERT AKSU

SB52. Yatağa Bağımlı Bir Hastada Visseral Leishmaniasis: Türkiye'nin Endemik Olmayan Bir İlinden Olgu Sunumu
Muhammed JAİTEH, Nursel ÇALIK BAŞARAN, Lale ÖZİŞİK, Orkun AKMAN, Nasib HASANLI, Sema TORTOP,
Büşra ÖZMEN ÇAPIN, Sabina HÜSEYİNOVA, Ahmet İNKAYA

SB53. Aydın'da Beş Yıldır Tanı Alamayan Bir Fascioliasis Olgusu
Evren TİLEKLİOĞLU, Şerife Barçın ÖZTÜRK, Sema ERTUĞ, İbrahim YILDIZ, Hatice ERTABAKLAR

SB54. Dev Hücreli Arterit (Temporal Arterit)'li Bir Hastada *Strongyloides stercoralis*
Tuğba KAYA, Mehmet ÇABALAK, İlke Evrim SEÇİNTİ, Ümit Bilge DOĞAN, Gezmiş KİMYON, Gülnaz ÇULHA

SB55. Yeni Doğanda Uyuz Olgusu
Tülay AKSOY, Ahmet ÖZBİLGİN



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06

SB48

02 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Sıtma Olgusunda Doğru Laboratuvar Tanısının Önemi

Ahmet YILDIRIM, Ahmet ÖZBİLGİN

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA

E-posta: ahmet.yildirim@cbu.edu.tr

TAM METİN

ÖZET

Giriş: Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2018 yılında yayınlanan Dünya Sıtma Raporu verilerine göre; 2010 yılında dünyada 239 milyon sıtma olgusu görülürken 2017 yılında bu sayı %18 azalma ile 219 milyona düşmüş ancak 435.000 kişi hayatını kaybetmiştir. Sıtmaya bağlı ölümlerin büyük çoğunluğunu sebep olduğu ağır semptomlara bağlı olarak *Plasmodium falciparum* oluşturmaktadır. Ülkemizde tespit edilen yurtdışı kaynaklı sıtma vakalarının yaklaşık %75'i *P. falciparum* sıtmasıdır. Her yıl ortalama 1-4 kişi yurtdışı kaynaklı *P. falciparum* sıtmasına bağlı olarak hayatını kaybetmektedir. Yurtdışı kaynaklı vakaların çoğu, paraziti sıtmanın endemik olduğu Sudan, Nijerya, Ekvator Ginesi, Uganda, Gabon gibi Afrika ülkelerinden almaktadır. Gana kaynaklı bir *P. falciparum* sıtma olgusunda doğru laboratuvar tanısının önemini vurgulanması amaçlanmıştır.

Olgu: Yurtdışından (Gana) gelme öyküsü bulunan 48 yaşındaki erkek hasta Gana dönüşünden 3 gün sonra başlayan ve 12 gün devam eden aralıklı bilinç bulanıklığı ve öksürüğün eşlik ettiği başta kanlı sonrasında normal görünümlü ishal şikayeti ile hastanemiz acil servisine başvurmuştur. Anamnez derinleştirildiğinde dış merkezde sıtma tanısı için hızlı tanı testi uygulandığı ve sonucun negatif olarak değerlendirildiği, sıtmanın dışlandığı ve şikayetleri geçmeyen hastanın hastanemize başvurduğu anlaşılmıştır. Laboratuvarımızda hastanın parazitolojik tanısında periferik kandan hazırlanan Giemsa boyalı ince yayma ve kalın damla preparatların mikroskopik incelemesinde bir eritrosit içerisinde birden fazla sayıda olan *P. falciparum* genç trofozoitleri görülmüştür. Paraziteminin yaklaşık olarak %30 olduğu görülmüştür. Artemeter-Lumefantrin tedavisi uygulanan hasta, kötüleşmesi üzerine entübe edilmiş, CPR uygulanmış ve yanıt alınamayan hasta çoklu organ yetmezliğine bağlı olarak eksitus kabul edilmiştir.

Sonuç: Hastanın sağlık kuruluşuna geç başvurması, dış merkezde ilk değerlendirmede sıtma tanısının negatif olmasından dolayı tanı testlerinin tekrar edilmemesi, seyahat öyküsü sorgulanmaması ve sıtmanın düşünülmemesi, sıtmaya özgü klasik ateş döngüsüne bağlı bulguların olması gerektiğinin düşünülmesi prognozun kötüleşmesine neden olmuştur. Sıtmanın nonspesifik klinik bulgularının gözden kaçırılmasına karşın parazitolojik tanısının konulması ile birlikte yeterli ve uygun tedaviye hemen başlanmasına rağmen yanıt alınamayan hasta eksitus kabul edilmiştir. Bu olgu sıtma tanısındaki doğru laboratuvar tanısının önemini vurgulamak amacıyla paylaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Sıtma, *Plasmodium falciparum*, Tanı, Türkiye



The Importance of The Correct Diagnosis of A Malaria Case

SUMMARY

According to the World Malaria Report published by the World Health Organization (WHO) in 2018; In 2010, 239 million malaria cases were seen in the world and in 2017 this number decreased by 18% to 219 million but 435.000 people lost their lives. *Plasmodium falciparum* is the most common cause of malaria-related deaths due to severe symptoms. Approximately 75% of imported malaria cases detected in our country are *P. falciparum* malaria. An average of 1-4 people die each year due to imported *P. falciparum* malaria. Most of the cases, originating from abroad, come from African countries such as Sudan, Nigeria, Equatorial Guinea, Uganda, Gabon where malaria is endemic. The aim of this study was to emphasize the importance of accurate laboratory diagnosis in a case of *P. falciparum* malaria coming from Ghana. A 48-year-old male patient with a history of coming from abroad (Ghana) presented to our hospital emergency service with a complaint of normal-looking diarrhea accompanied by intermittent blurred consciousness and coughing that started 3 days after his return from Ghana and continued for 12 days. When the anamnesis was deepened, it was understood that a rapid diagnostic test was applied for the diagnosis of malaria in the external center in Turkey and the result was evaluated as negative, malaria was excluded and the patient did not resolve the complaints and applied to our hospital. Microscopic examination of Giemsa stained thin smears and thick drops prepared from peripheral blood in the parasitological diagnosis of the patient revealed multiple trophozoites of *P. falciparum*. Parasitemia was found to be approximately 30%. The patient who was treated with Artemeter-Lumefantrin was intubated due to deterioration, CPR was applied and the patient who had no response was admitted to death due to multiple organ failure. Late admission of the patient to the health facility, failure to repeat the diagnostic tests, not questioning travel history and not considering malaria due to the negative diagnosis of malaria at the first evaluation in the external center, and the suggestion that there should be findings related to the classical fever cycle specific to malaria caused the prognosis to worsen. Although the nonspecific clinical findings of malaria were overlooked, the patient was considered to have died despite the adequate and appropriate treatment was initiated immediately after the diagnosis of parasitology. This case was presented to emphasize the importance of accurate laboratory diagnosis in the diagnosis of malaria.

Key Words: Malaria, *Plasmodium falciparum*, diagnosis, Turkey.

GİRİŞ

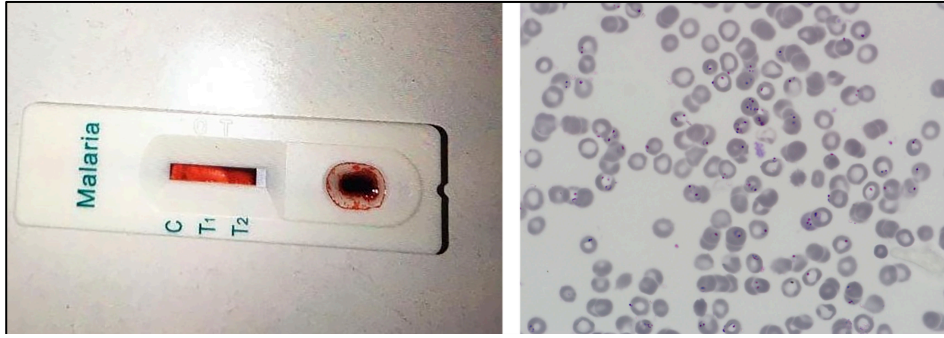
Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2018 yılında yayınlanan Dünya Sıtma Raporu verilerine göre; 2010 yılında dünyada 239 milyon sıtma olgusu görülürken 2017 yılında bu sayı %18 azalma ile 219 milyona düşmüş ancak 435.000 kişi hayatını kaybetmiştir. Dünya genelindeki sıtma olgularının %92'si DSÖ Afrika bölgesinde, %5'si DSÖ Güneydoğu Asya bölgesinde ve %2'si ise DSÖ Doğu Akdeniz bölgesinde görülmektedir. Sıtma olgularının %80'i Sahraaltı Afrika ve Hindistan'ı içeren 15 ülkede yoğunlaşmıştır. Dünya genelindeki sıtma olgularının yarısı Nijerya (25%), Demokratik Kongo Cumhuriyeti (11%), Mozambik (5%), Hindistan (4%) ve Uganda (4%) dahil 5 ülkede görülmektedir. Sıtmaya bağlı ölümlerin %61'ini 5 yaş altı çocuklar oluşturmaktadır olup, ölümlerin büyük çoğunluğunu sebep olduğu ağır semptomlara bağlı olarak *P. falciparum* oluşturmaktadır (1).

Sıtma ülkemizde yurtdışından en sık import edilen enfeksiyon hastalıklarından birisi olup her yıl ortalama 200-250 yurtdışı kaynaklı sıtma vaka bildirimi olmaktadır. Ülkemizde tespit edilen yurtdışı kaynaklı sıtma vakalarının yaklaşık %75'i *P. falciparum* sıtmasıdır. Her yıl ortalama 1-4 kişi yurtdışı kaynaklı *P. falciparum* sıtmasına bağlı olarak hayatını kaybetmektedir. Yurtdışı kaynaklı vakaların çoğu, paraziti sıtmanın endemik olduğu Sudan, Nijerya, Ekvator Ginesi, Uganda, Gabon gibi Afrika

ülkelerinden almaktadır (2–4). Çalışmada, yurtdışı (Gana) kaynaklı bir *P. falciparum* sıtma olgusunda doğru laboratuvar tanısının önemini vurgulanması amaçlanmıştır.

OLGU SUNUMU

Yurtdışından (Gana) gelme öyküsü bulunan 48 yaşındaki erkek hasta Gana dönüşünden 3 gün sonra başlayan ve 12 gün devam eden aralıklı bilinç bulanıklığı ve öksürüğün eşlik ettiği başta kanlı sonrasında normal görünümlü ishal şikayeti ile hastanemiz acil servisine başvurmuştur. Anamnez derinleştirildiğinde dış merkezde sıtma tanısı için hızlı tanı testi uygulandığı ve sonucun negatif olarak değerlendirildiği (Şekil 1), sıtmanın dışlandığı ve şikayetleri geçmeyen hastanın hastanemize başvurduğu anlaşılmıştır. Laboratuvarımızda hastanın parazitolojik tanısında periferik kandan hazırlanan Giemsa boyalı ince yayma ve kalın damla preparatların mikroskopik incelemesinde bir eritrosit içerisinde birden fazla sayıda olan *P. falciparum* genç trofozoitleri görülmüştür (Şekil 2). Paraziteminin yaklaşık olarak %30 olduğu görülmüştür. Artemeter-Lumefantrin tedavisi uygulanan hasta, kötüleşmesi üzerine entübe edilmiş, CPR uygulanmış ve yanıt alınamayan hasta çoklu organ yetmezliğine bağlı olarak eksitus kabul edilmiştir.



Şekiller 1. Dış sağlık merkezinde çalışılan hızlı tanı kiti görüntüsü; 2. M.C.B.Ü. Parazitoloji Laboratuvarında hazırlanan hastanın Giemsa boyalı ince yayma kan preparatı görüntüsü

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yurtdışına endemik bölgelere çalışmaya giden kişilerin sıtmaya karşı kemoprofilaktik ilaç kullanımı ve semptomlar hakkında bilgilendirilmesi büyük önem taşımaktadır. Çünkü semptomlar yurtdışından döndükten sonra artmakta ve kişi bu semptomlar hakkında yurtdışına çıkmadan önce bilgilendirilmişse kısa sürede tedavi merkezine başvurmaktadır. Tedavi merkezlerinde de özellikle endemik bölgelere seyahat eden kişilerde mutlaka sıtma akla getirilmelidir. Ön tanı olarak *P. falciparum* düşünüldüğü takdirde tedaviye yanıtın hızlı ve olumlu olduğu aksi takdirde morbidite ve mortalitesinin yüksek olduğu unutulmamalıdır.

Hastanın sağlık kuruluşuna geç başvurması, dış merkezde ilk değerlendirmede sıtma tanısının negatif olmasından dolayı tanı testlerinin tekrar edilmemesi, seyahat öyküsü sorgulanmaması ve sıtmanın düşünülmemesi, sıtmaya özgü klasik ateş döngüsüne bağlı bulguların olması gerektiğinin düşünülmesi prognozun kötüleşmesine neden olmuştur. Sıtmanın nonspesifik klinik bulgularının gözden kaçırılmasına karşın parazitolojik tanısının konulması ile birlikte yeterli ve uygun tedaviye hemen başlanmasına rağmen yanıt alınamayan hasta eksitus kabul edilmiştir. Bu olgu sıtma tanısındaki doğru laboratuvar tanısının önemini vurgulamak amacıyla paylaşılmıştır.

Teşekkür: MCBÜ Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı'na katkılarından dolayı teşekkür ederim.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KAYNAKLAR

1. World Malaria Report 2018 [Internet]. 2018. 1–146 s. Available at: <https://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2018/en/>
2. World Health Organization. Eliminating Malaria 5: The long road to malaria elimination in Turkey. 2013;100.
3. Sitma vaka yönetim rehberi [Internet]. Ankara; 2019. 1–60 s. Available at: hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/zoonotik-vektorel-hastaliklar-db/zoonotik-hastaliklar/4-Sitma/6-Rehber/Sitma_Vaka_Yonetim_Rehberi.pdf
4. Özbilgin A, Topluoğlu S, Es S, Islek E, Mollahaliloglu S, Erkoç Y. Malaria in Turkey: Successful control and strategies for achieving elimination. Acta Trop. 2011;120(1–2):15–23.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06

SB49

02 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Yurtdışı Kaynaklı İki *Plasmodium falciparum* Olgusunda Profilaksi ve Kişisel Koruyucu Kullanımının Önemi

Müzeyyen CÖMERT AKSU

Mersin İl Sağlık Müdürlüğü, Halk Sağlığı Laboratuvarı, MERSİN

E-posta: muzeyyen.aksu@yandex.com

Ülkemiz kaynaklı sıtma olguları *Plasmodium vivax* türüne ait olup bu tür dışında tespit edilen sıtma türleri impote vaka olarak değerlendirilmektedir. Ülkemizde, *Plasmodium vivax*'ın eliminasyonundan sonra en sık rastlanılan sıtma etkeni *Plasmodium falciparum*' dur. Bu olgu sunumu, sıtmanın endemik olduğu tropikal veya subtropikal bölgelere iş veya seyahat amacı ile giden kişilerde *Plasmodium falciparum* enfeksiyon riskinin azaltılmasında bölgeye uygun profilaksi alımı ve kişisel koruyucu kullanımının enfeksiyon riskinin azaltılmasındaki önemine dikkat çekmek amacıyla yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Sıtma, *Plasmodium falciparum*, seyahat öyküsü, profilaksi, kişisel koruyucular



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06

SB50

02 Ekim 2019 – 09:00-10:00

**Leishmania tropica'nın Neden Olduğu Alışılmadık Görünümlü Kutanöz
Leishmaniasis ve Tedavisi**

Yener ÖZEL

Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, BALIKESİR

E-posta: yener_ozel@hotmail.com

Amaç: Leishmaniasis, protozoon parazit olan *Leishmania* türlerinin neden olduğu bir hastalıktır. Özellikle son yıllarda yaşanan siyasi iç karışıklıklara ve savaşlara bağlı olarak endemik bölgelerden ülkemize göç eden mülteciler ya da bu bölgelere belirli süreler için giden vatandaşlarımızın *Leishmania* ile enfekte olması sonucu ülkemizin endemik olmayan bölgelerinde de KL olguları görülmeye başlanmıştır. Bu çalışmada askeri görev için Suriye'nin Elbab kentinde sekiz ay bulunmuş olan hastada Balıkesir'e döndükten sonra gelişen ve alışılmadık bir lezyona sahip KL olgusuna ve tedavisine odaklanılmıştır.

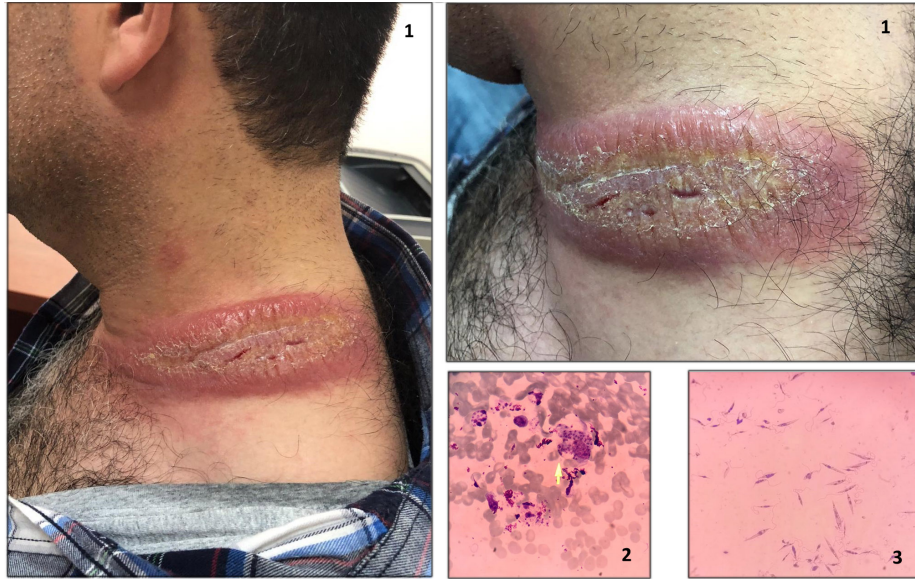
Yöntem: Daha önce bilinen bir deri hastalığı olmayan 37 yaşında erkek hasta, 9 ay önce boyun sol yanında sivilce şeklinde başlayıp genişlediği öğrenilen ağrısız, deriden kabarık kızarıklık şikâyetiyle Balıkesir Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Dermatoloji polikliniğine başvurdu. Şikâyetinin başlangıcından bir yıl öncesinde Suriye'ye seyahat öyküsü olup bu yerde sekiz ay yaşadığı öğrenilen hastanın öz ve soy geçmişinde özellik yoktu. Olgunun dermatolojik muayenesinde boyun sol yanında 3x10 cm ebadında morumsu eritemli plak saptandı. Fizik muayenesi normal olan olgunun periferik lenf nodu muayenesinde palpabl lenf nodu saptanmadı. Lezyondan yapılan biyopsinin histopatolojik incelemesinde "epidermiste fokal parakeratoz, düzensiz akantoz, spongiöz ile dermiste tüm alanlarda farklı boyutlarda epitelioid histiositle az sayıda langhans tipi dev hücrelerden oluşan granülom yapıları ve bu granülomların çevresinde çok sayıda lenfoplasmositer hücre" saptandı. Kutanöz Leishmaniasis (KL) şüphesiyle laboratuvara gönderilen hastanın boynundaki lezyonun çevresinde bulunan doku %70 alkol ile temizlendi ve kurumaya bırakıldı. Lezyon, baş ve işaret parmağı arasında sıkılarak, sağlam doku sınırından 1 ml'lik insülin enjektörü ile 0,2-0,5 ml serum fizyolojik lezyon içine verilip geri çekilerek aspirasyon sıvısı alındı. Alınan aspirasyon sıvısı NNN besiyerinin sıvı fazı içinde süspanse edildi. Ayrıca hastanın lezyonundan 3 adet yayma preparat hazırlandı. Lezyondan alınan aspirasyon sıvısı temiz lamlara yayılarak metil alkol ile tespit edildi. Tespit edilen lamlar, Giemsa ile boyandı ve 100x büyütmede ışık mikroskopunda *Leishmania* spp. amastigotlarının varlığı açısından incelendi. NNN besiyerinde üretilen *Leishmania* promastigotlarından DNA izolasyonu, High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche®, Germany) kullanılarak üreticinin talimatlarına uygun olarak yapıldı. Elde edilen DNA örneğine, *Leishmania* spp. parazitlerinin SSU rRNA ve 5.8 S rRNA'sını kodlayan genleri ayıran ribozomal internal transcribed spacer-1 (ITS-1) bölgesine özgü primer ve pöblar kullanılarak Polimer Zincir Reaksiyonu (PZR) testi uygulandı (4-5). Rotor Gene Q (Qiagen, Germany)

cihazında uygulanan PZR protokolüne göre çalışıldı ve türe spesifik erime eğrileri kullanılarak tür ayrımı yapıldı.

Bulgular: Giemsa ile boyanan yayma preparatlarda *Leishmania* amastigot formları görüldü. NNN besiyerinde *Leishmania* promastigot formları üretilerek hastaya kutanöz leishmaniasis tanısı konuldu. Besiyerinde üretilen promastigot formların PZR testindeki erime eğrileri kontrol suşu olan *L. tropica* erime eğrisi ile eşleşti ve olgudan izole edilen suş *L. tropica* olarak tiplendirildi.

Sonuç: Kutanöz leishmaniasis tanısı konulan olguya beş değerli antimon bileşiği (meglumine antimonate/sodium stibogluconate) tedavisi planlandı. Fakat ülkemizde bir süredir devam eden tedarik sorunu nedeniyle beş değerli antimon bileşikler temin edilemedi. Bunun üzerine hastaya tedavi açısından itraconazol 400 mg/gün ve kriyoterapi kombinasyonu başlandı. Hasta halen dermatoloji kliniğinde takip altındadır. Olgumuzda olduğu gibi askeri görev için Suriye'nin Elbab kentinde bulunan hastamızda, Balıkesir'e döndükten sonra KL gelişmiştir. Bu kişiler hastalığın endemik olmadığı bu bölgelerde infeksiyon odaklarının oluşmasına ve hastalığın yayılmasına zemin hazırlayabilirler. Şüpheli olgularda hastanın endemik bölgelere seyahat öyküsü olup olmadığı mutlaka sorgulanmalıdır. Özellikle endemik bölgeden gelen göçmenlerin veya bu bölgelerde görev yapan askeri personelin ya da çalışmak için bu bölgelere giden vatandaşlarımızda görülen şüpheli olgularda KL mutlaka akılda tutulmalıdır. Bununla birlikte hızlı tanıya yönelik uygun laboratuvar yöntemleri uygulanmalı, bu süreçte laboratuvar ve klinik arasında aktif diyalog kurulmalı ve etkin tedavi uygulanarak infeksiyon zinciri kırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Anahtar Kelimeler: Balıkesir, Kutanöz leishmaniasis, *Leishmania tropica*, Türkiye



Şekiller 1. KL olgusundaki lezyonun görünümü; 2. Lezyondan yapılan yayma preparatta Giemsa boyama sonrası görülen amastigotlar; 3. NNN Besiyerinde üreyen ve Giemsa ile boyanan promastigotlar

Teşekkür: Bu olgunun teşhis, tedavi ve laboratuvar tanısında görev alan Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı'ndan Dr. Sinan ÖZÇELİK, Dr. Rana BAŞARA ve Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı'ndan Bio. İbrahim ÇAVUŞ'a katkılarından dolayı teşekkür ederim.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06

SB51

02 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Mersin İlinde 2005-2014 Yılları Arasında Mülteci Kaynaklı Leishmaniasis ve Sıtma Olgularının Retrospektif Değerlendirilmesi

Müzeyyen CÖMERT AKSU

Mersin İl Sağlık Müdürlüğü, Halk Sağlığı Laboratuvarı, MERSİN

E-posta: muzeyyen.aksu@yandex.com

TAM METİN

ÖZET

Amaç: Ülkemiz, tarih boyunca coğrafi konumu nedeniyle yoğun göç hareketlerine tanıklık etmiştir. Son dönemlerde ülkemiz, komşu ülkelerdeki ekonomik, sosyal ve siyasi karışıklıklar nedeniyle artan yoksulluk, işsizlik ve savaş gibi nedenlerden dolayı çok sayıda mülteciye ev sahipliği yapmaktadır. Bu çalışmada, ilimizde yaşayan mülteci kaynaklı Leishmaniasis ve sıtma olgularının retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Leishmaniasis olgularına ait veriler, 2005-2014 yılları arasında Devlet Hastaneleri, Üniversite Hastanesi ve Toplum Sağlığı Merkezlerinden Halk Sağlığı Bulaşıcı Hastalıklar Şubesine yapılan bildirimlerden sağlanmıştır. Olgular; yıllar, cinsiyet, yerleşim bölgeleri ve tanı aldığı sağlık merkezine göre incelenmiştir. Sıtma kan örnekleri, Halk Sağlığı Bulaşıcı Hastalıkları Sıtma teknisyenleri tarafından aktif sürveyans ile alınmıştır. Mersin Halk Sağlığı Laboratuvarı Sıtma biriminde periferik yaymalar Giemza ile boyanarak mikroskopta incelenmiştir. Veriler Halk Sağlığı Laboratuvarı Sıtma Kayıt Defterinden geriye dönük taranarak temin edilmiştir.

Bulgular: 2005-2014 yılları arasında mülteci kaynaklı olgu bildirimleri incelendiğinde bu süreçte toplam 575 Leishmaniasis olgu bildirimi tespit edilmiştir. Olgulardan 7'si (%1,2) 2013 yılında, 568'i (%98,8) 2014 yılları arasında saptanmıştır. Olguların 219'u (%38,1) erkek, 356'sı (%61,9) kadındır. Olguların 528'i (%98,8) il merkezinde yaşarken 47'si (%8,2) ilçelerde yaşamaktadır. Olguların tamamına Kutanöz Leishmaniasis tanısı konulmuştur. Tanı konulan sağlık merkezlerine göre değerlendirildiğinde en yüksek tanı 560 (%97,4) olgu ile Toplum Sağlığı Merkezlerinde konulmuş olup bunu 14 (%2,4) olgu ile Devlet Hastaneleri ve 1 (%0,2) olgu ile Üniversite Hastanesi takip etmektedir. 2005-2014 yılları arasında 13400 mülteci kan örneğinde sıtma paraziti Halk Sağlığı Laboratuvarı Sıtma Biriminde incelenmiştir. Bu tarihler arasında mültecilere ait sıtma paraziti tespit edilmemiştir.

Sonuç: İlimizde, yüksek Leishmaniasis bildirimi mevcut olup, tanılar özellikle mültecilerin yoğun yaşadığı il merkezlerinde Toplum Sağlığı Merkezleri tarafından gerçekleştirildiği saptanmıştır. İlimizde daha sık sağlık taramaları yapılarak olguların erken teşhis ve tedavilerin yapılmasının, yeni olguların ve endemik bölgelerin oluşumuna engel olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Leishmaniasis, Sıtma, epidemiyoloji, Mersin.



Retrospective Evaluation of Refugee-Induced *Leishmaniasis* and Malaria Cases in Mersin Between 2005-2014

SUMMARY

Aim: Our country has witnessed intense migratory movements due to its geographical location throughout history. Recently, our country has been home to a large number of refugees due to increasing poverty, unemployment and war due to economic, social and political upheaval in neighbouring countries. In this study, we aimed to retrospectively evaluate the cases of *Leishmaniasis* and malaria caused by refugees living in our province.

Method: Data on *Leishmaniasis* cases were provided from notifications from Public Hospitals, University Hospital and Community Health Centres to the Public Health Infectious Diseases Branch between 2005 and 2014. The cases were examined according to years, sex, residential areas and the health center where the diagnosis was made. Malaria blood samples were taken with active surveillance by malaria technicians of Public Health Infectious Diseases. Peripheral spreads were painted with Giemza and examined under a microscope at the Mersin Public Health Laboratory malaria unit. The data was obtained by retrospective screening from the Public Health Laboratory malaria Registry.

Results: A total of 575 case reports of *Leishmaniasis* were identified during this period when refugee-induced case reports were examined between 2005 and 2014. Of the cases, 7 (1.2%) were identified in 2013 and 568 (98.8%) in 2014. Of the cases, 219 (38.1%) were male and 356 (61.9%) were female. Of the cases, 528 (98.8%) lived in the provincial center, while 47 (8.2%) lived in the districts. All of the cases were diagnosed with cutaneous *Leishmaniasis*. The highest diagnosis was made in community health centers with 560 (97.4%) cases, followed by state hospitals with 14 (2.4%) cases and University Hospitals with 1 (0.2%) case. The malaria parasite was studied in the Public Health Laboratory malaria unit in 13400 refugee blood samples between 2005 and 2014. No malaria parasite belonging to the refugees has been identified between these dates.

Conclusion: In our province, high *Leishmaniasis* reporting was present and diagnoses were carried out by Community Health Centres, especially in provincial centres where refugees are heavily inhabited. We believe that early diagnosis and treatment of cases by making more frequent health screenings in our province will prevent the formation of new cases and endemic regions.

Key Words: *Leishmaniasis*, malaria, epidemiology, Mersin

GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün raporuna göre, dünyada vektörle bulaşan hastalıkların görülme oranlarında son yıllarda artış bildirilmiştir (1, 2). *Leishmaniasis* ve sıtma tüm dünyada özellikle tropikal ve subtropikal iklim kuşağında yaygın görülen epidemilere neden olmaktadır. Dünyada yaklaşık 12 milyon insan leishmaniasise yakalanmış olup 350 milyon kişi risk altındadır. Olguların %90'ından fazlası Afganistan, Irak, İran, Sudan, Suriye, Suudi Arabistan, Kolombiya, Cezayir, Peru, Bolivya ve Brezilya'da bulunmaktadır (2). Sıtma, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2011 yılı verilerine göre ülkemiz nüfusu da dahil dünyada 3 milyar nüfus risk altında olup bu nüfustan her yıl 160 ile 200 milyon kişi sıtma parazitiyle enfekte olmaktadır (3, 4). Ekonomik ve sosyal ilişkiler içinde olduğumuz komşu ülkelerde sıtma insidansı (1000 nüfusta) Suriye'de 0.0, İran'da 0.5, Irak'ta 0.0 ve Bulgaristan'da 0.0, Yunanistan'da 0.0 ve Rusya'da 0.0 düşük seviyelerde seyretmektedir (5, 6). Komşu olan illerde yapılan çalışmalarda, leishmaniasis olgularının Suriyeli mültecilerin bulunduğu sığınmacı kampları ve yerleşim bölgelerinde ciddi oranlarda artış bildirilmiştir (7, 8). İlimiz coğrafi konumu nedeni ile sürekli göç almakta olup 202173 mülteci bulunmakta ve Mersin



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

nüfusunun %11'ini oluşturmaktadırlar (9). Çalışmamızda, ilimizde yaşayan mültecilerde leishmaniasis ve sıtma olgularını belirleyerek retrospektif olarak değerlendirmek istenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

2005-2014 tarihleri arasında Mersin Halk Sağlığı Müdürlüğü Bulaşıcı Hastalıklar Kontrol Programları Şubesine bildirimde bulunulan; Mersin Devlet Hastanesi, Toros Devlet Hastanesi, Mersin Kadın Doğum ve Çocuk Hastanesi, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Toplum Sağlığı Merkezlerine (TSM) ait mülteci kaynaklı olgular retrospektif olarak incelenmiştir. Dermatolojik bulgular ile birlikte yayma ve gerektiğinde histopatolojik inceleme yapılarak leishmaniasis tanısı alan olgular çalışmaya alınmıştır. Olgular yıllar, cinsiyet, yerleşim bölgeleri ve tanı aldığı merkezlere göre dağılımı retrospektif olarak incelenmiştir.

Sıtma kan numuneleri, Mersin Halk Sağlığı Bulaşıcı Hastalıkları Sıtma teknisyenleri tarafından aktif sürveyans ile (10200 kadın ve 3200 erkek) mülteci kan örnekleri alınmış olup ince yayma ve kalın damla preparatları hazırlanmıştır. Hazırlanan preparatlar Mersin Halk Sağlığı Laboratuvarı Sıtma biriminde Giemza ile boyanmış ve mikroskopta incelenmiştir. Veriler Halk Sağlığı Laboratuvarı Sıtma Kayıt Defterinden geriye dönük olarak taranarak elde edilmiştir.

BULGULAR

2005-2014 yılları arasında klinik ön tanısı leishmaniasis konulan ve parazitolojik olarak doğrulanmış 575 mülteci kaynaklı olgu çalışmaya alınmıştır. 575 leishmaniasis olgusu tespit edilmiş ve bunlardan 7'si (%1,2) 2013 yılında, 568'i (%98,8) 2014 yılları arasında saptanmıştır. Olguların 219'u (%38,1) erkek, 356'sı (%61,9) kadındır. Olguların tamamına kutanöz leishmaniasis tanısı konulmuştur. Tanı, en yüksek 560 (%97,4) olgu ile Toplum Sağlığı Merkezlerinde (TSM) konulmuş olup bunu 14 (%2,4) olgu ile Devlet Hastaneleri ve 1 (%0,2) olgu ile Üniversite Hastanesi takip etmektedir. Olguların 528'i (%98,8) il merkezinde yaşarken 47'si (%8,2) ilçelerde yaşamaktadır. Sıtma parazitinin belirlenmesine yönelik 2005-2014 yıllarında alınan 13400 (10200 kadın ve 3200 erkek) mültecilere ait sıtma preparatının incelenmesi sonucunda herhangi bir sıtma paraziti tespit edilmemiştir.

TARTIŞMA

Suriye'de 2011 yılında iç savaş başlaması ile 4,8 milyon Suriyeli, mülteci olarak çeşitli ülkelere göç etmek zorunda kalmıştır. Türkiye 1 Eylül 2016 itibarıyla geçici koruma altındaki Suriyeli mülteci statüsünde 285 bini kamplarda olmak üzere 2,7 milyon Suriyeli özellikle Şanlıurfa, Gaziantep, Hatay, Kilis, Mardin, Adana, Mersin, Adıyaman, Kahramanmaraş, İstanbul, Ankara ve İzmir gibi şehirlerde yoğunlaşmıştır (10). İlimizde ise 1 Ağustos 2019 itibarıyla 202173 mülteci il ve ilçelerde yaşamaktadır (9).

Ülkemize yerleşen mülteciler sağlık problemlerini de beraberinde taşımaktadırlar. İlimizde mülteci kaynaklı sıtma ve leishmaniasis olguları incelendiğinde sınır komşularımızda düşük sıtma insidansı ve ülkemizde sıtma eradikasyonu sonucu ilimiz mülteci kaynaklı herhangi bir sıtma bildirimini bulunmamaktadır.

Ancak komşu ülkelerde yüksek leishmaniasis insidansı bulunmakta (2) olup ilimizde 2005-2012 yılları arasında mülteci olgu bildirimini "0" iken 2013-2014 yılları arasında göçlerle beraber bu sayı 575'e ulaşmıştır.

Leishmania türlerine ve konağın immün yanıtına göre enfeksiyon; kutanöz, mukokutanöz ve visseral hastalıkla sonuçlanmaktadır. (11). Ülkemizde en yaygın kutanöz leishmaniasis (KL) görülmekte olup



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

her yıl yaklaşık olarak 1500-2000 KL olgusu bildirilmektedir. 1990-2010 yılları arasında ülkemizde toplam 46.003 yeni KL olgusu bildirilmiştir ve bu olguların %96'sı Kahramanmaraş, Şanlıurfa, Hatay, Osmaniye, Diyarbakır ve Mersin'de bulunmaktadır. Bu bölgelerdeki olgu sayısının Sağlık Bakanlığının istatistiklerine göre son 10-12 yıl içinde artış göstermeye devam ettiği belirtilmektedir (12-15). İlimizde bildirimde bulunan mültecilerin tamamında KL tanısı konulmuş ve olguların 356'sı (%61,9) kadındır.

Leishmaniasis olgularında erken tanı ve tedavinin yeni enfeksiyon risklerinin önlenmesinde büyük önem taşıdığı düşünülmektedir. En yüksek tanı yoğunlaştıkları il merkezlerinde (%98,8) ve birinci basamak sağlık hizmetleri veren TSM (%97,4) tarafından konulmuş olması TSM önemini ortaya koymaktadır. Mültecilerin sağlık hizmetlerine etkin katılımı ve erişimi ile erken tanı ve tedavi sağlanarak yerel halkın sağlığının korunması ve yeni endemik bölgelerin oluşumunun engellenebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Harman M. Kutanöz Leishmaniasis. Turk J Dermatol 2015; 9:168-76 .
2. WHO Technical Report Series, 949; Control of the Leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis. Erişim Tarihi:14.06.2018.
3. WHO Regional Publications, Eastern Mediterranean Series, 35; Manual for case management of Cutaneous Leishmaniasis in the WHO Eastern Mediterranean Region, 2014.
4. Çulha G, Akçalı C. Hatay ve çevresinde saptanan Kutanöz Leishmaniasis olguları. Türkiye Parazitol Derg 2006; 30(4):268-271. 2.
5. WHO. World malaria report 2017. Erişim yeri: <http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2017/wmr2017-annex-table-h.xls?ua=Erişim> Tarihi:14.06.2018.
6. World Health Organization. World Malaria Report 2015. Erişim yeri: <http://www.who.int/malaria/visual-refresh/en/>. ISBN 978 92 4 156515 8. NLM classification: WC 765 Erişim tarihi: 17.01.2018.
7. Akman A, Durusoy Ç, Seckin D, Alpsoy E. Antalya'da görülen Kutanöz Leishmanyazis olgularının epidemiyolojik özellikleri. Turkderm 2007; 41: 93-6. 3.
8. Sucaklı MB, Saka G. Diyarbakır'da Şark çibani epidemiyolojisi. Türkiye Parazitol Derg 2007; 31(3):165-9.
9. <https://multeciler.org.tr/turkiyedeki-suriyeli-sayisi/>. Erişim tarihi:27.08.2019.
10. World Health Organization. Türkiye'deki Suriyeli Mültecilerin Sağlık Durumu Araştırması Türkiye'de Yaşayan Suriyeli Mültecilerde Bulaşıcı Olmayan Hastalık Risk Faktörleri Sıklığı. Prof.Dr. Mehmet Balcılar. https://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/kitaplar/suriyeli_multeci.pdf Ekim 2016. Erişim:27.08.2019.
11. Berkel E, Özkan K, Aksu M, Çiçek H, Eser M. Mersin'de bir Cutaneous Leishmaniasis olgusu. Kocatepe Vet J 2015; 8(1): 103-105.
12. T.C Sağlık Bakanlığı İstatistik Yıllıkları. Erişim: <http://www.saglik.gov.tr/TR/belge/1-2952/istatistik-yilliklari.html>. 2009. Erişim Tarihi:14.06.2018.
13. Baz K, Köktürk A, Türsem Ü, Kaya Tİ, İkiçoğlu G, Kanık A. Anamur'da Kutanöz Leishmaniasis. Türkiye Klinikleri J Dermatol 2002;12(1):5-10.
14. Çulha G, Akçalı C. Hatay ve çevresinde saptanan Kutanöz Leishmaniasis olguları. Türkiye Parazitol Derg 2006; 30(4):268-271. 2.
15. Akman A, Durusoy Ç, Seckin D, Alpsoy E. Antalya'da görülen Kutanöz Leishmanyazis olgularının epidemiyolojik özellikleri. Turkderm 2007; 41: 93-6. 3



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06

SB52

02 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Yatağa Bağımlı Bir Hastada Visseral Leishmaniasis: Türkiye'nin Endemik Olmayan Bir İlinden Olgu Sunumu

Muhammed JAİTEH¹, Nursel ÇALIK BAŞARAN¹, Lale ÖZİŞİK¹, Orkun AKMAN²,
Nasib HASANLI³, Sema TORTOP⁴, Büşra Betül ÖZMEN ÇAPIN⁴,
Sabina HÜSEYİNOVA¹, Ahmet İNKAYA³

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹İç Hastalıkları AD; ²Tıbbi Patoloji AD; ³Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD; ⁴Tıbbi Mikrobiyoloji AD, ANKARA

E-posta: busrabetulozmen@gmail.com

TAM METİN

ÖZET

Leishmaniasis Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından bildirilen “ihmal edilen tropikal hastalıklar” arasındadır. Kutanöz leishmaniasis daha sık görülen klinik form olsa da visseral leishmaniasis yüksek mortaliteyle ilişkilidir. Bu bildiride, 39 yaşında yatağa bağımlı bir kadın hastada saptanan ve tanısında gecikilen bir visseral leishmaniasis vakası sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Leishmania*, lipozomal amfoterisin B, nedeni bilinmeyen ateş, pansitopeni, visseral leishmaniasis

Visceral Leishmaniasis in a Bed-Ridden Patient Presenting with Fever of Unknown Origin: A Case Report From a Low-Endemic Region of Turkey

SUMMARY

Leishmaniasis is one of the ‘neglected tropical diseases’ declared by World Health Organization (WHO). Even though cutaneous leishmaniasis is the most common clinical form, visceral leishmaniasis is associated with high mortality. Herein, we reported a case of delayed diagnosis of visceral leishmaniasis detected in a 39-year-old bed-ridden female patient.

Keywords: *Leishmania*, liposomal amphotericin B, fever of unknown origin, pancytopenia, visceral leishmaniasis

GİRİŞ

Leishmaniasis, tropikal ve subtropikal bölgelerde *Leishmania* spp.’nın etken olduğu paraziter bir enfeksiyondur. Visseral leishmaniasis (VL) ateş, kilo kaybı, organomegali ve pansitopeniye neden olur. Türkiye, 2016 yılı Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre kutanöz ve visseral leishmaniasis için endemik bir ülkedir. Visseral leishmaniasis insidansı 0.5/100000’dir (www.who.int). Bu olguda dış merkezde yanlış tanı nedeniyle aldığı tedaviden fayda görmeyen ve hastanemize yönlendirilen bir leishmaniasis vakası sunulmuştur.

OLGU

Serebral palsy ve epilepsi tanıları olan, Zonguldak’ta yaşayan 39 yaşında yatağa bağımlı kadın hasta, tekrarlayan ateş nedeniyle dış merkezde otoimmün pansitopeni tanısı alarak iki kez steroid ve bir kez



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

intravenöz immünglobulin tedavisi almıştır. Şikayetlerin başlamasından iki ay sonra ileri tetkik açısından merkezimize yönlendirilmiştir.

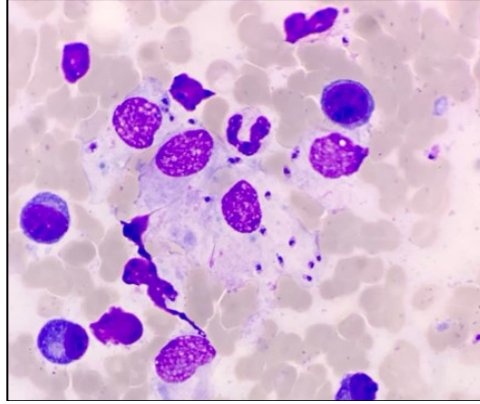
Hastanın hastanemize yatışında patolojik bulunan bulgu ve laboratuvar değerleri tablo 1’de gösterilmiştir. Febril nötropeni nedeniyle hastaya meropenem başlanmıştır. Takibinde takipnesi şiddetlenerek (>35/dk) respiratuvar alkalozu derinleşmiştir (arteriyel kan gazında pH 7,53; pCO₂ 35,2mmHg ve laktat değeri 4,0mMol/L). Posterior anterior akciğer grafisinde belirgin patoloji saptanmayan hastaya sürekli pozitif havayolu basıncı (CPAP) cihazı ile aralıklı non-invaziv mekanik ventilasyon (NIMV) başlanmıştır. Yatışının ikinci gününde kliniği düzelmeyen hasta nedeni bilinmeyen ateş açısından araştırılmaya başlanmıştır. Çekilen abdomen bilgisayarlı tomografisinde (BT) hepatomegali ve intraabdominal serbest sıvı saptanmıştır. Toraks BT’sinde ise perikardiyal ve bilateral plevral sıvı dışında patolojik bulgu saptanmamıştır. Yatışının üçüncü gününde ilerleyici takipne ve derinleşen respiratuvar alkaloz (pH: 7,66) nedeniyle entübe edilmiştir. Pansitopenin etiyojisini aydınlatmak amacıyla hastaya kemik iliği aspirasyon biyopsisi yapılmıştır. Laboratuvarımıza gönderilen hasta serumundan çalışılan *Leishmania* dipstick testi pozitif sonuç vermiştir ve Giemsa boyalı kemik iliği yaymasında *Leishmania* amastigotları saptanmıştır (Resim 1). Visseral leishmaniasis tanısı konulan hastaya lipozomal amfoterisin B tedavisi başlanmıştır. Takibinde MRSE bakteriyemisi ve ventilatör ilişkili pnömonisi gelişen hastaya uygun tedavi verilmiştir. Kliniği ve laboratuvar bulguları düzelen hasta sağaltımla taburcu edilmiştir.

Tablo 1. Hastanın hastanemize yatışındaki bulgu ve laboratuvar değerleri.

	Hastanın değerleri	Normal değerler
Ateş	39.5°C	36.8±0.4°C
Solunum sayısı	30/dk	16-20/dk
Prokalsitonin	2.73 ng/ml	0-0.1 ng/ml
CRP	21.4 mg/dl	0-0.8 mg/dl
Sedimantasyon	27 mm/saat	0-25 mm/saat
Hemoglobin	9.7 g/dl	11.7-15.5 g/dl
Eritrosit sayısı	3.39 x10 ⁶ /µl	3.83-5.08 x10 ⁶ /µl
Lökosit sayısı	0.7 x10 ³ / µl	4.1-11.2 x10 ³ / µl
Nötrofil sayısı	0.4 x10 ³ / µl	1.8-6.4 x10 ³ / µl
Trombosit sayısı	32 x10 ³ / µl	159-388 x10 ³ / µl
Alkalem fosfataz	128 U/L	30-120 U/L
Gama glutamil transferaz	80 U/L	<38 U/L

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu olguda, dış merkezde otoimmün pansitopeni tanısı olmuş nedeni bilinmeyen ateş vakasının visseral leishmaniasis kaynaklı olduğu tespit edilmiştir. Visseral leishmaniasis ateş, hepatosplenomegali ve pansitopeni ile karakterizedir. Bu vakada değinildiği gibi VL, nedeni bilinmeyen ateş ayırıcı tanısı yapılırken özellikle de pansitopeni ve organomegalinin eşlik ettiği vakalarda akla gelmelidir. DSÖ 2016 verilerine bakıldığında Türkiye’den 37 VL vakası bildirilmiştir, ancak Zonguldak’tan bildirilen vaka mevcut değildir (1). Hasta yatağa bağımlıdır ve hastanın il dışına çıkma öyküsü mevcut değildir. VL tanısı klinik şüphe ardından kemik iliği, dalak veya lenf nodu aspiratının parazitolojik incelemesi ile konulmaktadır.



Şekil 1. Giemsa boyalı kemik iliği yaymasında *Leishmania* amastigotları

Bu örnekler invaziv yöntemlerle alınmakta ve değerlendirilmesi aşamasında konusunda deneyimli uzman gerektirmektedir. Öte yandan duyarlılık ve özgüllükleri değişmekle birlikte, rK39 antijenine karşı oluşmuş antikorları araştıran dipstick testi hasta serumuyla çalışılmakta hızla ve kolaylıkla değerlendirilmektedir. Laboratuvarımızda hem hasta serumundan çalışılan rK39 dipstick testi ile, hem de gönderilen kemik iliği aspiratının Giemsa ile boyanan yaymasında hastanın VL tanısı konulmuştur. Tedavide lipozomal amfoterisin B ilk seçenektir. Amfoterisin B deoksikolata göre üstün etkinliği ve daha düşük toksisite profiline sahip olması nedeniyle, özellikle kaynak kısıtlılığı olmadığında kullanılmalıdır (2). Diğer tedavi seçenekleri amfoterisin deoksikolat, antimon içeren bileşikler (sodyum stiboglukonat ve meglumin antimoniyat), paromomisin ve oral verilen miltefosindir (3). Hastamız da lipozomal amfoterisin B ile tedavi edilmiş ve sağaltımla taburcu edilmiştir. Sonuç olarak, nedeni bilinmeyen ateş etiyojisi araştırılan hastalarda ek klinik bulgular dikkatle araştırılmalı ve VL akla getirilmelidir.

KAYNAKLAR

1. <https://www.who.int/leishmaniasis/burden/Turkey.pdf?ua=1> Erişim: 12.07.2019
2. Bosilkovski M, Dimozva M, Stevanovic M, Cvetkovska VS, Duganovska M. Fever of unknown origin--diagnostic methods in a European developing country. *Voinosanit Pregl.* 2016;73(6):553-8.
3. Moore EM, Lockwood DN. Treatment of Visceral Leishmaniasis. *Journal of Global Infectious Diseases.* 2010;2(2):151-158. doi:10.4103/0974-777X.62883



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06

SB53

02 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Aydın'da Beş Yıldır Tanı Alamayan Bir Fascioliasis Olgusu

**Evren TİLEKLIĞLU¹, Sema ERTUĞ¹, Şerife Barçın ÖZTÜRK², İbrahim YILDIZ¹,
Hatice ERTABAKLAR¹**

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Tıbbi Parazitoloji AD; ²Enfeksiyon Hastalıkları AD, AYDIN

E-posta: etileklioglu@gmail.com

TAM METİN

ÖZET

Dünya Sağlık Örgütü'nün gıda kaynaklı trematod hastalıklar grubu içinde İhmal Edilen Tropikal Hastalıklar (NTD'ler) listesinde yer alan fascioliasis (*Fasciola hepatica* ve *Fasciola gigantica*) tüm dünya da olduğu gibi yurdumuzda da görülen paraziter bir hastalıktır. İnsanlarda enfeksiyon, parazitin enfektif formu olan metaserkarya içeren başta su teresi olmak üzere çeşitli sucul bitkilerin iyi yıkanmamış ve çiğ olarak yenilmesiyle meydana gelmektedir. Nonspesifik klinik bulgulardan kaynaklı olmak üzere parazit akla gelmediği için tanı koymak oldukça gecikmektedir. Çalışmamızda eozinofilisi (%10,7- 13,5) olan ve yaklaşık olarak beş yıl tanı alamamış fascioliasis olgusu irdelenmiştir. Aydın'da ikamet eden 60 yaşındaki kadın olgu 2014 yılında bulantı ve kusma şikayetleri ile başvurduğu merkezde hepatit tanısı almıştır. Tedavi sonrası semptomların geçmediği ve 2017 yılında şiddetli bir şekilde sırta vuran şekilde karın ağrısı ve sağ üst kadranda ağrı nedeniyle başvuran olguya yapılan radyolojik yöntemlerde koledok taşı varlığı saptanmıştır. Ayrıca, şikayetleri giderek artan olgu daha sonra sırt ve boyun ağrısı nedeniyle aynı dönemde fizik tedavi aldığı da öğrenilmiştir. Ateş, kilo kaybı, kusma, bulantı ve batında ağrı ile tekrar 2019 yılında başvuran olguya yapılan endoskopik retrograt kolanjiopankreatografi (ERCP) sonucunda safra yollarında üç adet *F. hepatica* saptanmış olup parazit çıkartılarak tedavisine başlanmıştır. Ülkemiz *F. hepatica* için uygun sıcaklık ve ara konakların olması bakımından açısından risk altındadır. Bu olgu sunumunda eozinofili ile çeşitli klinik bulguların eşlik ettiği olgularda fascioliasis unutulmaması gerektiği vurgulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Aydın, Eozinofili, Fascioliasis, tanı

A Case Who Had Not Been Diagnosed in Aydın For Five Years: A Case Of Human Fascioliasis

SUMMARY

The World Health Organization includes fascioliasis (*Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica*), in the list of the Neglected Tropical Diseases (NTDs) among the group of food-borne trematodiasis. Fascioliasis is a parasitic disease in our country as well as in the world. Human infections are commonly acquired by eating metacercaria, the infective form of the parasite, encysted on watercress and leaves that are eaten as vegetables. Diagnosis is delayed because the parasite missing due to nonspecific clinical findings. In this study, a case of fascioliasis with eosinophilia (10.7%-13.5%) who had not been diagnosed for approximately five years was evaluated. A 60-year-old female patient living in Aydın



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

province was diagnosed with hepatitis in 2014 at the hospital where she went with complaints of nausea and vomiting. After hepatitis treatment, the patient's symptoms did not disappear and she was admitted to the hospital again in 2017 due to severe pain in the right upper quadrant. Choledocholithiasis was detected as a result of radiological methods. In addition, it was learned that case, who had back and neck pain, received physical therapy in the year. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) was performed to the case who presented with fever, weight loss, vomiting, nausea and abdominal pain in 2019. As a result of ERCP, three *F. hepatica* were removed in the biliary tract and treatment was started. Our country is at risk due to the presence of intermediate hosts and the suitable temperature for *F. hepatica*. In this case report, it is emphasized that fascioliasis should be considered in cases with eosinophils and various clinical findings.

Key Words: Aydın, Eosinophilia, Fascioliasis,

GİRİŞ

Fascioliasis, *Fasciola* cinsine bağlı türlerin (*Fasciola hepatica* ve *Fasciola gigantica*) neden olduğu paraziter bir hastalıktır. Halk arasında karaciğer kelebeği olarak da bilinen ve ana etkeni *F. hepatica* olan parazit, enfektif formu olan metaserkarya içeren başta su teresi olmak üzere çeşitli sucul bitkilerin iyi yıkanmamış veya çiğ olarak tüketilmesiyle bulaşmaktadır (1). İnsan vücuduna giren parazit karaciğer parankiminden geçerek safra yollarına yerleşmektedir. Safra yollarına yerleşmesine kadar geçen süreye akut dönem denmekle beraber bu dönemde çeşitli klinik belirtiler (ateş, karın ağrısı hepatomegali, anemi gibi) gözlenebilmektedir (2). Safra yollarına yerleşen parazitler ise aylar ve yıllarca sürebilen latent bir dönemin ardından asemptomatik enfeksiyondan ağır karaciğer sirozu, sarılık ve hatta ölümle sonuçlanabilecek bir tablo ile kendini gösteren kronik dönemi meydana getirmektedir (3). Bu nedenlerden dolayı hastalığın tanısı oldukça önemlidir. Tanıda fizik muayene, dışkı mikroskopisi, serolojik yöntemler kullanılmaktadır (4, 5). Ancak serolojik yöntemler ile beraber radyolojik testler (girişimsel olmayan ultrasonografi (USG), bilgisayarlı tomografi (BT)) tanıda yol gösterici rol oynamaktadır. Bu testlere ek olarak manyetik rezonans kolanjiopankreatografi (MRCP), endoskopik ultrasonografi (EUS), endoskopik retrograt kolanjiopankreatografi (ERCP) gibi yöntemler hem tanı hem de tedavi olanağı sağlamaktadır (6). Bu çalışmada, bulantı ve kusma şikayeti ile başlayan ve yaklaşık olarak beş yıl tanı konamayan fascioliasis olgusu sunulmuştur.

OLGU

Altmış yaşında ve Aydın merkezde ikamet eden kadın olgunun öyküsünden; 2014 yılının sonlarında ateş, kilo kaybı, batında şiddetli ağrılar, bulantı ve kusma şikayetleri nedeniyle dış merkeze başvurmuş. Yapılan tetkikler sonucunda olgu hepatit tanısı olarak tedavisi başlanmış. Şikayetleri devam eden olgu 2017 yılında şiddetli bir şekilde sırta vuran şekilde karın ağrısı ve idrarında koyulaşma nedeniyle Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp fakültesi hastanesinde MRCP tekniği ile koledok çapının normalden geniş (12 mm) olduğu saptanmış ve koledok taşı tespit edilmiştir. Laboratuvar incelemede hemogramında %10,7 eozinofil, %0,342 prokalsitonin (PCT), 31 mm sedimentasyon ve %45,9 nötrofil dışındaki tüm kan biyokimyasına ait parametrelerin normal olduğu gözlemlenmiştir. Olgu, tedavi sonrasında şikayetlerinin geçmediğini ve ilerleyen kas ağrıları nedeniyle fizik tedavi aldığını söylemiştir. Tekrar eden şikayetler nedeniyle 2019 yılında Ege Üniversitesi Tıp fakültesi hastanesi gastroenteroloji kliniğine başvurmuş ve olgunun raporunda yapılan ERCP sonucunda koledok içerisinde röntgen negatif gölgeler olduğu saptanmıştır. Ayrıca intrahepatik safra yollarının genişlediği



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

belirlenmiştir. Endoskopik biliyer sfinkteretomi yapıldıktan sonra safra yollarından üç adet *F. hepatica* çıkarıldığı rapor edilmiştir.

Olgunun devam eden şikayetleri nedeniyle aynı hafta içerisinde yine Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hastanesi Enfeksiyon polikliniğine başvurmuştur. Yapılan tetkikler sonucunda olgunun hemogramında %13,5 eozinofil, %0,339 PCT ve %41,3 nötrofil olduğu belirlenmiştir. Olgunun öyküsünden ve olgudan alınan raporlar ışığında üç dışkı örneği gün aşırı olacak şekilde istemi yapılmış ve incelenen dışkı örneğinde *F. hepatica* yumurtalarına rastlanmıştır. Ayrıca olguya fascioliasis serolojisi yapılarak pozitif olarak saptanmış olup tedavisine başlanmıştır.

TARTIŞMA

Dünya Sağlık Örgütü'nün gıda kaynaklı trematod hastalıklar grubu içinde İhmal Edilen Tropikal Hastalıklar (NTD'ler) listesinde fascioliasis yer almaktadır (7). Global bir yayılım gösteren fascioliasis yurt dışında önemli bir halk sağlığı problemi olarak görülmekle birlikte 180 milyon insanın risk altında olduğu ifade edilmektedir (8). Ülkemizde ise sıklıkla Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde prevalansı çeşitli oranlarda bildirilmiştir (9, 10). Fascioliasis, asemptomatik olabileceği ateş, halsizlik, epigastriyumda veya daha yaygın bölgelerde ağrılar, hepatomegali ve sarılık gibi spesifik olmayan bulgular içermesi ile tanıda zorluklar yaşanmaktadır (11). Bu nedenle olgumuzun yaklaşık olarak beş yıl tanı konulamaması bu durumu destekler niteliktedir. Tanıda başlıca yöntem olarak dışkıda yumurtanın görülmesi olarak ifade edilmekte ancak parazitin akut dönemde olması, ektopik yerleşimi ve yalancı parazitlik gibi nedenlerden dolayı kesin tanı konulamamaktadır (12). Bu yüzden klinik olarak şüphe edilen hastalardan ilk olarak dışkı mikroskopisi, seroloji ve USG istenmelidir. Bunların dışında özellikle akut dönem olmak üzere tanıda yardımcı olacak en sık laboratuvar bulgusu eozinofili olarak bildirilmektedir (13). *Fasciola hepatica*, iyi yıkanmamış veya çiğ olarak tüketilen su teresi gibi sucul bitkilerde bulunan metaserkarya formu ile bulaşmaktadır (14). Olgumuz öyküsünde de şikayetleri başlamadan 2014 yılından önce ve sonrasında sürekli olarak su teresi tükettiğini bildirmiştir. Bu nedenle alınacak iyi bir anamnez bu paraziter enfeksiyonun tanısı için oldukça önemlidir.

Fascioliasis olgularda meydana gelen biliyer obstrüksiyon nedeniyle uygulanan ERCP altın standart olarak kullanılmaktadır ancak invaziv bir işlemdir (15). Bu nedenle dışkı mikroskopisi ve serolojik yöntemler gibi yöntemler noninvaziv olduğundan dolayı şüpheli olgularda bu yöntemlerin beraber kullanılması kesin tanı için oldukça önemlidir.

SONUÇ

Ülkemiz, bitki çeşitliliğinin fazlalığı, hayvancılığın yaygın oluşu ve sulak alanların zenginliği nedeniyle *F. hepatica* açısından risk altındadır. Enfeksiyon metaserkarya içeren sucul bitkiler, kontamine içme suları veya bu sularla yıkanmış sebze ve meyvelerin vücuda alınmasıyla meydana gelmektedir. Bu nedenle, parazitin üzerinde önemle durulması gerekmektedir. Ayrıca nonspesifik bulguların yan sıra eozinofilisi olan, hepatit ve safra yollarında farklılıklar saptanan olgularda yanlış tanıya gidilmemesi için, fascioliasis'in akla gelmesi gerektiği düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Ibrahim N. Fascioliasis: systematic review. Adv Biol Res 2017; 11: 278-85. doi: 10.5829/idosi.abr.2017.278.285.
2. Nyindo M, Lukumbagire AH. Fascioliasis: an ongoing zoonotic trematode infection. BioMed research international 2015; 3:1-8. doi: 10.1155/2015/786195.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

3. Kiladze M, Chipasshvili L, Abuladze D, Jatchvliani D. Obstruction of common bile duct caused by liver fluke- *Fasciola hepatica*. *Sb Lek* 2000; 101: 255-9.
4. Cabada MM, White AC. New developments in epidemiology, diagnosis, and treatment of fascioliasis. *Curr Opin Infect Dis* 2012; 25: 518-22. doi: 10.1097/QCO.0b013e3283567b7e.
5. Mas-Coma S, Bargues MD, Valero MA. Diagnosis of human fascioliasis by stool and blood techniques: update for the present global scenario. *Parasitology* 2014; 141: 1918-46. doi: 10.1017/S0031182014000869.
6. Ashrafi K, Bargues MD, O'Neill S, Mas-Coma S. Fascioliasis: a worldwide parasitic disease of importance in travel medicine. *Travel Med Infect Dis* 2014; 12: 636-49. doi: 10.1016/j.tmaid.2014.09.006.
7. Hotez PJ, Brindley PJ, Bethony JM, King CH, Pearce EJ & Jacobson J. Helminth infections: the great neglected tropical diseases. *J Clin Invest* 2008; 118: 1311-21. doi: 10.1172/JCI34261.
8. Mas-Coma S, Valero MA, Bargues MD. *Fasciola*, lymnaeids and human fascioliasis, with a global overview on disease transmission, epidemiology, evolutionary genetics, molecular epidemiology and control. *Adv Parasitol* 2009; 69: 41-146. doi: 10.1016/S0065-308X(09)69002-3.
9. Özturhan H, Emekdaş G, Segin O, Korkmaz M, Altıntaş E. Mersin ili ve ilçelerinde *Fasciola hepatica* seroepidemiolojisi ve bulaşta aile öyküsünün önemi. *Turk J Gastroenterol* 2009; 20: 198-203.
10. Taş Cengiz Z, Akbayram S, Çiçek M, Yılmaz H. Van'da İlköğretim Okulu Öğrencilerinde Saptanan Bağırsak Parazitleri. *Türkiye Parazitol Derg* 2009; 33: 289-93.
11. Guerrero AA, Lopez JA, Rosales YT. Clinical-radiological relationship in fasciolosis: A case report. *MOJ Surg* 2018; 6: 41-44. doi: 10.15406/mojs.2018.06.00122.
12. Saba R, Korkmaz M. Human fascioliasis. *Clin. Microbiol. Newsl* 2005; 27:27-34. 10:385-7. doi.org/10.1016/S0196-4399(05)80004-2.
13. Price TA, Tuazon CU, Simon GL. Fascioliasis: case reports and review. *Clin Infect Dis* 1993; 17: 426-30. doi: 10.1093/clinids/17.3.426.
14. Carrada-Bravo, T. Fascioliasis: diagnosis, epidemiology and treatment. *Revista de gastroenterologia de Mexico* 2003; 68: 135-142.
15. Ozer B, Serin E, Gumurdulu Y, Gur G, Yılmaz U, Boyacıoğlu S. Endoscopic extraction of living *Fasciola hepatica*: case report and literature review. *Turk J Gastroenterol* 2003; 14: 74-77.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06

SB54

02 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Dev Hücreli Arterit (Temporal Arterit)'li Bir Hastada *Strongyloides stercoralis*

**Tuğba KAYA¹, Mehmet ÇABALAK², İlke Evrim SEÇİNTİ³, Ümit Bilge DOĞAN⁴,
Gezmiş KİMYON⁵, Gülnaz ÇULHA¹**

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Parazitoloji AD; ²Enfeksiyon Hastalıkları AD; ³Tıbbi Patoloji AD; ⁴İç Hastalıkları (Gastroenteroloji) AD; ⁵İç Hastalıkları (Romatoloji) AD, HATAY

E-posta: tugbakaya42@yahoo.com

TAM METİN

ÖZET

Tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygın olarak görülen *Strongyloides stercoralis* (*S. stercoralis*), özellikle immunsuprese hastalarda mortalite ile seyreden önemli paraziter bir enfeksiyondur. Çalışmada, Temporal arteriti (dev hücreli arterit) olan, 2 aydır kortikosteroid ve metotreksat kullanan hastada *S. stercoralis* saptanması üzerine konuya dikkat çekmek ve parazitin türünün belirlenmesinin önemini vurgulamak amaçlanmıştır. Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji bölümünde takibi yapılan 65 yaşında erkek hasta, dispepsi şikayetiyle Gastroenteroloji Bölümüne yönlendirilmiştir. Mide biyopsisi yapılan hastadan alınan materyalin Patoloji Bölümü'nde incelemesinde parazit ve parazit yumurtalarının görüldüğü rapor edilmiş ve Enfeksiyon Hastalıklarına yönlendirilmiştir. Hastadan alınan dışkı örneği, Parazitoloji laboratuvarına gönderilmiştir. Dışkı örneğinin nativ-lugol incelemesinde *S. stercoralis* saptanmıştır. Hastaya Albendazole tedavisi başlanmış ancak tedavi sonrası incelenen dışkı örneğinde tekrar parazit tespit edilmiş olup mebendazole tedavisine başlanmıştır. Üç günlük tedavi sonrası kontrole gelen hastanın dışkısında yoğun bir şekilde larvalar görülmüş ve ivermektin ile tedaviye devam edilmiştir. Tedavi sonrası 15. günde ve daha sonraki kontrollerinde hastanın dışkısında *S. stercoralis* larvalarına rastlanmamıştır. Çeşitli tanı yöntemleriyle helmint saptanan olgularda vakit kaybetmeden hastanın Parazitoloji laboratuvarına yönlendirilerek parazit türünün belirlenmesinin, erken tanı ve tedaviye katkı sağlayacağı sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Strongyloides stercoralis*, Parazitolojik tanı, Temporal arterit, Hatay

***Strongyloides stercoralis* in a Patient with Giant Cell Arteritis (Temporal Arteritis)**

SUMMARY

Strongyloides stercoralis (*S. stercoralis*), which is common in tropical and subtropical regions, is an important parasitic infection to caused of mortality especially in immunosuppressed patients. The aim of this study was to draw attention to the subject determined *S. stercoralis* in a patient with temporal arteritis (Giant Cell Arteritis) who had been using corticosteroid and methotrexate for 2 months and emphasized the importance of determining the species of parasite.

A 65-year-old male patient who was followed in the rheumatology department of Hatay Mustafa Kemal University Medical Faculty was referred to Gastroenterology Department with complaints of dyspepsia. In the pathology examination of the material taken from the gastric biopsy, parasite and



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

parasite eggs were reported and directed to Infectious Diseases. The stool specimen taken from the patient was sent to the Parasitology laboratory. *S. stercoralis* was detected in the native-Lugol examination of the stool sample. Albendazole treatment was started, but parasites were detected again in the stool sample examined and mebendazole treatment was started. After three days of treatment, the patient was called back for control and larvae were seen intensely in stool sample and treatment was continued with ivermectin. *S. stercoralis* larvae were not detected in the stool sample of the patient on the 15th post-treatment day and later.

In cases that helminths were detected by various diagnostic methods, it was concluded that the determination of the parasite species by directing the patient to the Parasitology laboratory would contribute to the early diagnosis and treatment.

Key Words: *Strongyloides stercoralis*, Parasitologic diagnosis, Temporal arteritis, Hatay.

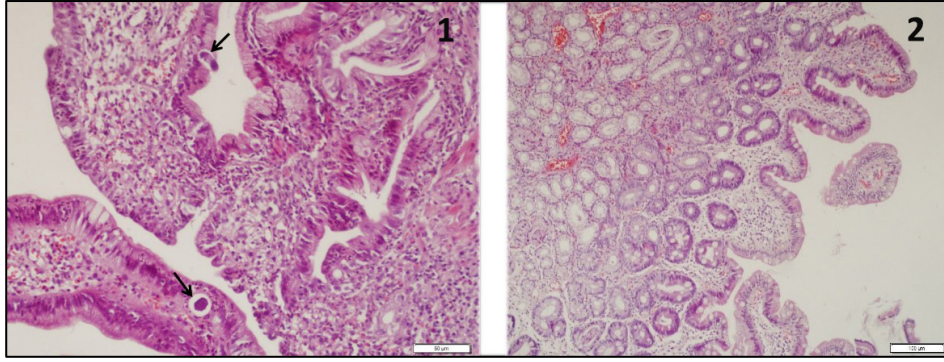
GİRİŞ

En küçük bağırsak nematodu olan *Strongyloides stercoralis* (*S. stercoralis*) sıcak ve nemli bölgelerde sıklıkla görülmektedir. Ülkemizde sporadik vakalar şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Toprakta bulunan filariform larvanın deriden girmesiyle insanda hastalık oluşturmaktadır. Dolaşım yoluyla larvalar akciğere, trakea, farinkse geçerek yutulur ve duodenuma geçerler. Duodenum mukozasında rhabditoid larva oluşur ve dışkı ile dışarı atılırlar. Kortikostereoid kullanan hastaların *Strongyloides stercoralis* ile enfekte olma ihtimalinin 2-3 kat daha fazla olduğu ve hiperenfeksiyonu tetiklediği bildirilmektedir (1, 2). Enfeksiyon immun sistemi sağlam kişilerde asemptomatik ya da hafif klinik bulgular ile seyretmektedir. Ancak uzun süre kortikosteroid kullanan ve immunsupresif hastalarda ölüme sebep olan hiperenfeksiyona neden olabilmektedir (3, 4). Hastalığın kesin tanısı dışkı, duodenum sıvısı ve balgamda larvaların görülmesiyle konmaktadır. Tedavisinde ivermectin ve albendazole grubu ilaçlar kullanılmaktadır (1, 5). Çalışmada, kortikosteroid kullanan temporal arteritli bir hastada *S. stercoralis* olgusu sunulmaktadır.

OLGU

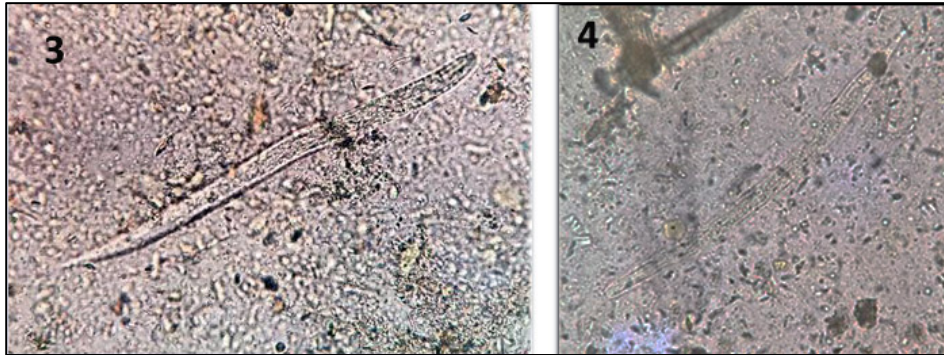
Altmış üç yaşında erkek hastanın Hatay'ın Antakya ilçesinde yaşadığı ve inşaat işleriyle uğraştığı öğrenilmiştir. Temporal arteriti (dev hücreli arterit) olan, 2 aydır kortikosteroid ve metotreksat kullanan hasta, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji kliniğinde takip edilirken dispepsi şikayeti ile Gastroenteroloji bölümüne konsülte edilmiştir. Hastaya kolonoskopi ve endoskopi yapılmıştır. Mide biyopsisi yapılan hastadan alınan materyal Patoloji bölümüne gönderilmiştir. Histopatolojik incelemede eozinofillerden zengin yoğun aktif kronik inflamasyon ile intaeptilyal parazit ve parazit yumurtaları görüldüğü bildirilmiştir (Şekil 1). Hastaya Romatoloji kliniği tarafından albendazol 400mg 2x1 tedavisi başlanılmış, kortikostereoid ve metotreksat tedavisi kesilmiştir. Hasta Enfeksiyon hastalıkları polikliniğine yönlendirilmiştir. Fizik incelemede; ateş 37 °C, nabız 76atm/dakika, tansiyon arter 120/70mmhg, sistemik muayene ve cilt muayenesi ise normal olduğu saptanmıştır. Hastanın tam kan sayımında beyaz küre 12760/µL, Hb:13.9g/dl, Htc: %51,5trombosit: 328000/µL, periferik yaymasında %66,1 nötrofil, %21,7 lenfosit, %2,6eozinofil, %9,1monosit görülmüştür. Total protein 4.1 g/dl, albümin 2.3 g/dl, ALP 278U/L, GGT 604U/L ve diğer biyokimyasal parametreleri normal bulunmuştur. Anti HIV negatif, HBsAg negatif, Anti HCV negatif, akciğer filmi ve batin USG' si normal sınırlarda bulunmuştur. Parazitoloji laboratuvarında üç kez alınan dışkı örneğinin nativ-lugol incelemesinde yoğun olarak *S. stercoralis* saptanmış (Şekil 3) ve 2x400 mg 14gün albendazole tedavisi, tedavinin yetersiz kaldığı düşünülerek 28 güne tamamlanmıştır. Tedavi sonrası incelenen dışkıda tekrar parazit saptanması üzerine mebendazole tedavisi ve aile tedavisi önerilmiştir (Şekil 4). Mebendazol 2x1 üç gün 2 hafta aradan sonra tekrar 2x1 üç günlük tedavisi sonrası hasta kontrole çağrılmış ve hastanın dışkı örneğinin incelemesinde parazite ait larvaların yoğun bir şekilde görülmeye

devam ettiği tespit edilmiştir (Şekil 5, 6). Bunun üzerine hastaya ivermektin il eczacılar odasına reçete edilerek yurt dışından getirilmiştir. Hastaya ivermektin 200 mcg/kg (1x5 tb) iki gün başlanılmış ve ivermektin tedavisi sonrası 15. günde hastanın dışkıında *S. stercoralis* larvalarının bulunmadığı görülmüştür (Şekil 2). Hastanın daha sonraki takiplerinde şikayetleri olmamıştır.

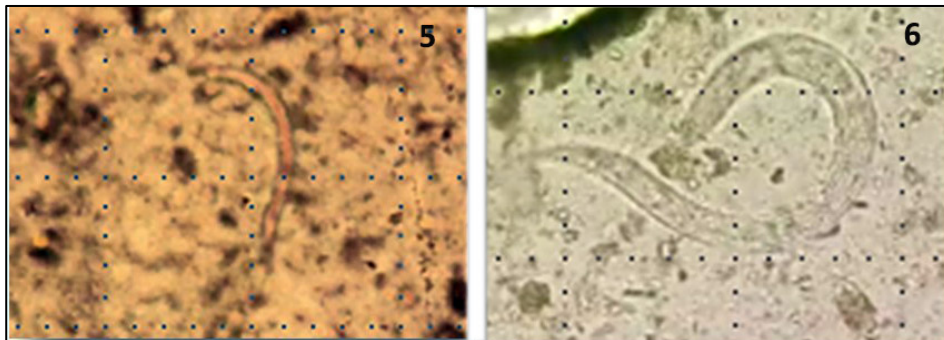


Şekiller 1. Şiddetli gastritin bulunduğu biyopsi örneğinde aşağıdaki okta intraepitelyal parazit yumurtaları, yukardaki okta intraepitelyal parazit gösterildi. H.Ex200.

2. Tedavi sonrası alınan biyopside parazit ve veya yumurtaları görülmemekte. HEx100



Şekiller 3. *S. stercoralis* larvası (x40); 4. 28 günlük Albendazole tedavisi sonrası (x40)



Şekiller 5. Mebendazole tedavisi sonrası (x10) (Çekilen videodan alınmıştır.);

6. Mebendazole tedavisi sonrası (x40), (Çekilen videodan alınmıştır.)



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

TARTIŞMA

İhmal edilen tropikal hastalıklar arasında yer alan *S. stercoralis*, özellikle immunsuprese hastalarda ölümcül seyreden önemli bir helmint enfeksiyonudur. Humuslu toprak yapısı, nem, 15°C'nin üzerindeki sıcaklıklar ve hijyen gibi faktörler enfeksiyonun insidansını etkilemektedir. Maden ocaklarında, tuğla/kiremit yapım yerlerinde, dere ve bataklıkta çıplak ayakla gezen kişilerde sık görülmektedir. Kesin tanısı dışkıda, duodenum sıvısında ve balgamda larvaların görülmesi ile konmaktadır. Parazitin tür ayırımında ağız yapısı, overlerin yerleşimi ve perivulval kutikülün yapısı gibi özelliklere dikkat edilmektedir (1, 6).

Çulha ve ark 5-6 yıldır diyare ve karın ağrısı ile birlikte inatçı öksürüğü bulunan, parazitolojik tetkik yapılmayan ve çeşitli tedaviler alan ancak semptomları geçmeyen bir hastanın Parazitoloji laboratuvarında incelenen dışkı materyalinde *S. stercoralis* saptadıklarını bildirmişlerdir. Kronik diyaresi olan ve endemik bölgelerde toprakla teması olan hastalarda parazitolojik incelemenin ve *S. stercoralis*'in düşünülmesinin önemli olduğunu belirtmişlerdir (1).

Yaldız ve ark Hatay'da 2009 yılında, mide ağrısı, bulantı ve kusma öyküsü bulunan 72 yaşında erkek hastadan alınan mide biyopsisinin histopatolojik incelemesinde gastrik kriptlerde parazit saptamışlar ve hastanın dışkı örneği Parazitoloji laboratuvarına gönderilerek *S. stercoralis* olarak tiplendirilmiştir. Hastada paraziter enfeksiyona bağlı spesifik semptomlar görülme bile gastrik tutulumu olan hastalarda *S. stercoralis*'in düşünülmesi gerektiğini vurgulamışlardır (7).

Sidoni ve ark 1994 yılında, temporal arterit için kortikosteroid tedavisine başlanılan ve tedavi sonrası 6. haftada progresif solunum yetmezliği gelişen 78 yaşındaki bir erkek hastanın ölümünden bir gün önce balgamında enfektif *S. stercoralis* filariform larvası tespit etmişlerdir. Çalışma sonucunda immunsupresif tedavilerden önce hastaların dışkı ve vücut sıvılarında parazitolojik incelemelerinin yapılmasını önermişlerdir (8).

2002 yılında Kuveyt'te 69 yaşında temporal arteriti olan ve prednizolon tedavisine başlanan bir hasta intravasküler koagülasyon ve akut respiratuar distres sendromu bulguları sonucunda ölmüş ve hastanın öldüğü gün balgamında *S. stercoralis* saptamışlardır. Dışkı örneğinde parazit tanısının konulmasının, erken tanı ve tedavinin önemli olduğu sonucuna vardıklarını bildirmişlerdir (9).

Çalışmamızda temporal arteritli bir hastanın dispepsi şikayeti ile başlayan hikayesinde *S. stercoralis* varlığı tespit edilmiştir. Dışkı örneğinin parazitolojik incelemesinin yapılmasına öncelik ve önem verilmesinin tanı ve tedavinin seyri açısından önemli bir faktör olduğunu düşünmekteyiz. Bunun yanı sıra immunsupresif tedaviye başlanılması düşünülen hastalarda, tedavi öncesi *S. stercoralis* açısından kontrolünün yapılması önem arz etmektedir.

SONUÇ

Endoskopi ile mide biyopsisi yapılan hastada biyopsi örneğinde helmint saptanan olgunun Parazitoloji laboratuvarına yönlendirilerek yapılan dışkı incelemesinde *S. stercoralis* olarak tiplendirilmiştir. Parazitin türünün belirlenmesinin, erken tanı ve tedaviye destek olacağı sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Çulha, G., Savaş, L., & Önen, Y. (2006). Kronik diyare yakınması olan bir hastada Strongyloides stercoralis. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 30(4), 293-295.
2. Altıntop, L., Cakar, B., Hokelek, M., Bektas, A., Yıldız, L., & Karaoglanoglu, M. (2010). Strongyloides stercoralis hyperinfection in a patient with rheumatoid arthritis and bronchial asthma: a case report. Annals of clinical microbiology and antimicrobials, 9(1), 27.
3. Schär, F., Trostorf, U., Giardina, F., Khieu, V., Muth, S., Marti, H., ... & Odermatt, P. (2013). Strongyloides stercoralis: global distribution and risk factors. PLoS neglected tropical diseases, 7(7), e2288.
4. Turhan, V., Çoban, M., Öncül, O., & Çavuşlu, Ş. (2008). Kısa süreli steroid kullanan bir hastada saptanan strongyloidoz ve Loeffler sendrom tablosu. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 32(1), 48.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

5. Fardet, L., Génereau, T., Poirot, J. L., Guidet, B., Kettaneh, A., & Cabane, J. (2007). Severe strongyloidiasis in corticosteroid-treated patients: case series and literature review. *Journal of infection*, 54(1), 18-27.
6. Ardiç, N. (2009). Strongyloides Stercoralis Ve Enfeksiyonlarına Genel Bakış. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 43(1), 169.
7. Yaldiz, M., Hakverdi, S., Aslan, A., Temiz, M., & Culha, G. (2009). Gastric infection by Strongyloides stercoralis: a case report. *The Turkish journal of gastroenterology: the official journal of Turkish Society of Gastroenterology*, 20(1), 48-51.
8. Sidoni, A., Polidori, G. A., Alberti, P. F., & Scionti, L. (1994). Fatal Strongyloides stercoralis hyperinfection diagnosed by Papanicolaou-stained sputum smears. *Pathologica*, 86(1), 87-90.
9. Mohammed, B. A. K., Cherian, S., & Rahman, H. I. A. (2002). Hyperinfection with strongyloides stercoralis. *Kuwait Medical Journal*, 34(3), 221-223.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06

SB55

02 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Yeni Doğanda Uyuz Olgusu

Tülay AKSOY, Ahmet ÖZBİLGİN

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, MALATYA

E-posta: bylg.aksoy19@gmail.com

TAM METİN

ÖZET

Uyuz, kaşıntılı döküntülerle seyreden, insandan insana bulaşmanın olduğu, sıklıkla toplu yaşam alanlarında ve daha çok kış aylarında yaygın görülen, zorunlu insan paraziti olan *Sarcoptes scabiei*'nin neden olduğu kaşıntılı bir deri hastalığıdır. Tüm dünyada yaygın görülen en kaşıntılı dermatozlardan olan uyuz, geceleri şiddetlenen kaşıntı ile karakterize olup özellikle el bileklerinde, parmak aralarında, aksilla, gluteal bölge ve peniste görülen polimorfik döküntü ve süperenfeksiyonlarla karakterize klinik bir tablodur. Bebeklerde ve küçük çocuklarda uyuzun gelişimi, kliniği ve lezyonların dağılımı büyük çocuklara ve erişkinlere göre farklılıklar göstermektedir. Avuç içi ve ayak tabanları sıklıkla etkilenmekte ve beş yaş altı çocuklarda bu kısımlar en fazla akarların bulunduğu yerler olmaktadır. Baş, boyun bölgesi, bacak ve kalça en fazla tutulan bölgeler olup, bebeklerde tüm deri yüzeyinde uyuz lezyonları bulunabilmektedir. Uyuzun tanısı çoğunlukla hikaye ve lezyon dağılımının tanınması ile konur. Özellikle geceleri şiddetlenen kaşıntı, yakın temas eden kişilerde benzer şikayetlerin olması, hastada tünel saptanması ve nonspesifik lezyonların tipik dağılımı tanıda önemlidir. Olgumuzda, vücudunda yaygın büllöz döküntüsü olan 4 aylık erkek hasta ile yaklaşık bir aydır kaşıntılı döküntü şikayeti olan 3,5 aylık kadın hasta yer almaktadır. Öyküsü alınan ve muayene edilen hastalara uyuz hastalığı tanısı konularak tedavi verilmiştir. Bu olgu sunumuyla, son yıllarda dışarıdan göç alan ülkemizde uyuz olgularıyla daha sık karşılaştığımız, sosyo-ekonomik ve kültürel gelişmelere rağmen *S. scabiei*'nin ülkemiz için hala bir sorun olduğu, bu nedenle de halkın özellikle korunma ve kontrol önlemleri konusundaki eğitiminin gerekli olduğu ve kontrolünde; doğru tanı ve uygun bir tedavinin önemli olduğu kanısındayız. Bu konuya dikkat çekmek ve farkındalık uyandırmak amacı ile bu olguların sunulmasının uygun olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: *Sarcoptes scabiei*, uyuz, yeni doğan

A Scabies Case in A Newborn

SUMMARY

Scabies is an itchy skin disease caused by itchy rashes, spreading from person to person, often common in community areas and mostly in winter, caused by *Sarcoptes scabiei*, a compulsory human parasite. Scabies, one of the most itchy dermatoses that are common all over the world, is characterized by itching at night and it is characterized by polymorphic rash and superinfection especially in wrists, fingers, axilla, gluteal region and penis. In infants and young children, the development of the scabies, the clinic and the distribution of lesions vary according to older children and adults. The palms and soles are frequently affected, and in children under the age of five, these parts are most likely to be mites. Head,



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

neck region, leg and hip are the most affected areas and scabies lesions can be found on the whole skin surface in infants. The diagnosis of scabies is usually made by recognizing the history and distribution of the lesions. It is especially important in the diagnosis that itching exacerbated at night, similar complaints in close contact persons, tunnel detection and typical distribution of nonspecific lesions.

In our case, a 4 month old male patient with bullous rash on his body and a 3,5 month old female patient with itchy rash for about a month were included. Patients with a history and examination were diagnosed with scabies and treated. With this case report, it is revealed that *S. scabiei* is still a problem for our country, despite socio-economic and cultural developments, in which we have more frequently encountered scabies in our country, which has received external migration in recent years. Therefore, we believe that the education of the public, especially on prevention and control measures, is necessary and that correct diagnosis and appropriate treatment are important in its control. We think that it may be appropriate to present these cases in order to draw attention to this issue and raise awareness.

Key Words: *Sarcoptes scabiei*, scabies, newborn

GİRİŞ

Uyuz hastalığı; kaşıntılı döküntülerle seyreden, insandan insana bulaşmanın olduğu, sıklıkla toplu yaşam alanlarında ve daha çok kış aylarında yaygın görülen parazitik bir hastalıktır. Dünya çapında yıllık yaklaşık 300milyon olgu olduğu tahmin edilmektedir (1). Üçüncü dünya ülkeleri, tropikal ve subtropikal ülkelerde endemiktir. Kışın daha yaygın olarak görülmekle birlikte bahar aylarında da sıklığı artar. Bazı kırsal ve yoksul topluluklarda görülme sıklığı %10'a ulaşır ve vakaların %60'ı çocuktur. Endemik olduğu yerler dışında her 7 yılda bir dalgalanma (7 yıllık kaşıntı), bazı bölgelerde 15-25 yılda bir pik ve savaşılar süresince artışlar bildirilmiştir (2).

Tüm hayat döngüsünü insan derisinde geçiren bu parazitin en belirgin klinik özelliği şiddetli gece kaşıntısıdır. Dişi *Sarcoptes* deri içinde kazdığı tünellerde yaşamaktadır. Sillion denilen bu tüneller deriden biraz kabarık, pembe-beyaz renktedir. Günde 0,5-2 mm uzayan bu tünelin uç kısmında dişi parazitin bulunduğu incimsi vezikül bulunmaktadır. Kaşıntıdan sonra sillion ve incimsi vezikül bu parazitin önemli klinik belirtilerindedir ve tanıda oldukça önemlidir (3).

Bu olgu sunumunda tüm vücutta yaklaşık 1 aydır kaşıntı şikayeti ile polikliniğimize başvuran 2 bebek hastada, alınan öykü ve yapılan muayene sonrasında tanısı konulan sık rastlanan, sık atlanan ve ayırıcı tanısı geniş olan uyuz hastalığına dikkat çekmek istedik.

OLGULAR

Olgu 1: Öksürük, ateş, hırıltılı solunum ve vücutta yaygın büllöz döküntüsü olan 4 aylık ve 4 kg ağırlığındaki erkek hasta hastaneye başvurmuştur (Şekil 1). 20 gün önce başlayan veziküler daha sonra kurutlanmış olan döküntüleri mevcuttur. Ailede suççu geçiren ya da bebeğin suççu temas öyküsü yoktur. Ayrıca ailede tüm vücudunda yaygın kaşıntısı olan 2 kişi mevcuttur. Hastanın el, ayak ve tüm vücutta yaygın döküntüleri bulunmaktadır (Şekil 2).

Olgu 2: Yaklaşık bir aydır kaşıntılı döküntü şikayeti olan 3,5 aylık ve 4 kg ağırlığındaki kız hasta hastaneye başvurmuştur (Şekil 3). Hastada başka aktif bir yakınma bulunmamaktadır. Aile öyküsüne bakıldığında baba 5 ay önce uyuz tanısı konmuş ve tedavi almış, anne ise gebelik döneminde uyuz geçirmiş ve bunun dışında herhangi bir hastalık öyküsü bulunmamaktadır. Hastanın el, ayak ve tüm vücutta yaygın döküntüler mevcut olup Parazitoloji bölümüne yönlendirilmiştir (Şekil 4).

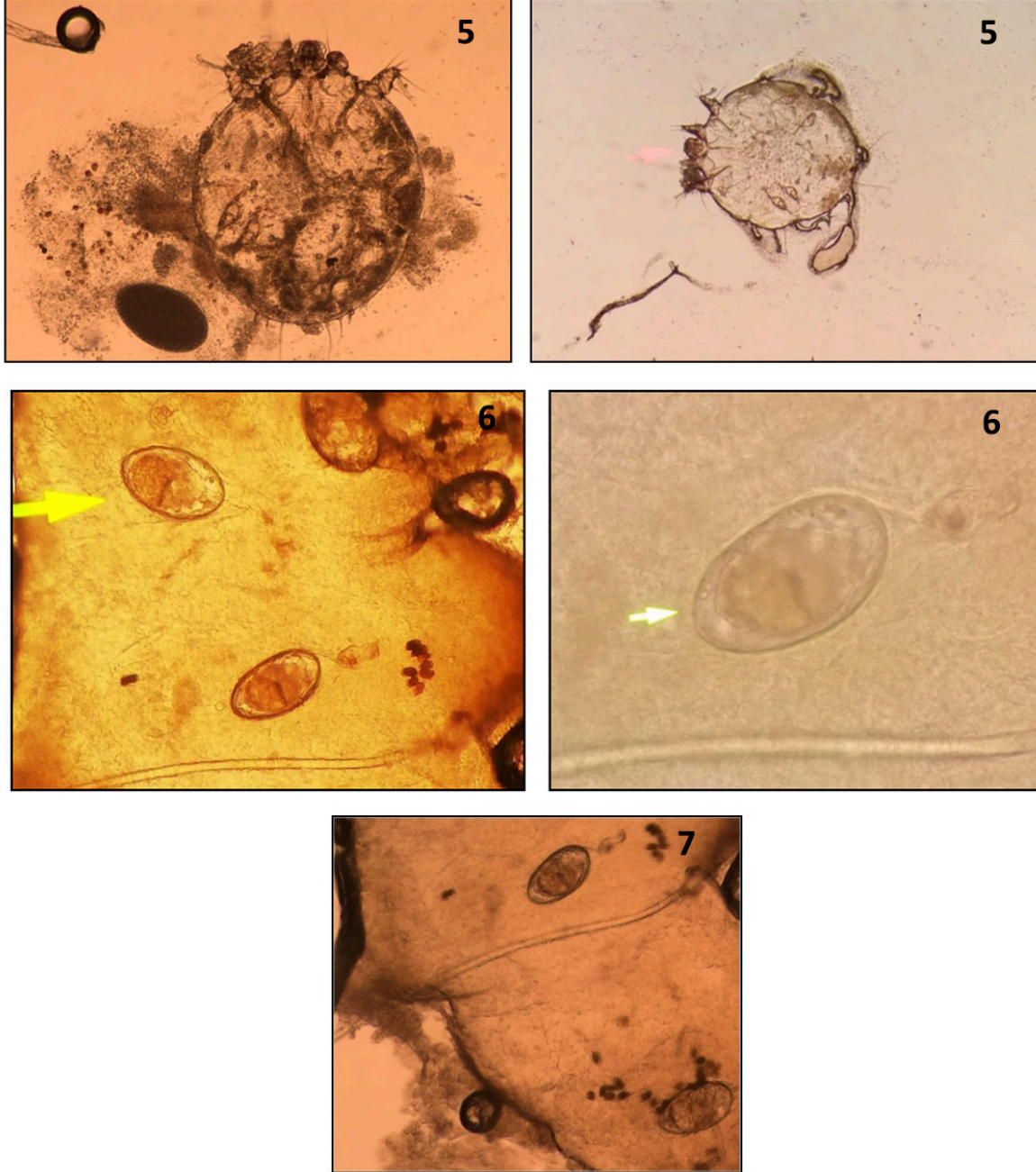
Laboratuvar tanısı: Tanı amacıyla her 2 hastada bulunan lezyonlardan bisturi yardımı ile deri kazıntıları alınmıştır. Alınan örneklerin üzerine %10'luk potasyum hidroksit (KOH) damlatılmış ve saydamlaşmaya kadar bekletilmiştir. Saydamlaşan örneklerden lam lamel arası hazırlanan preparatlar

ışık mikroskopunun 10X4 ve 10X10 büyütmelerinde incelenmiştir. İnceleme sonucunda, preparatlarda *Sarcoptes scabiei*'nin erişkin (Şekil 5), yumurta (Şekil 6) ve uyuz dışkısı (cybala) (Şekil 7) gözlenerek tanı konmuştur.

Tedavi: Olgu 1'deki hastaya %5'lik permetrin krem tedavisi uygulanmıştır. Permetrin, memeliler için toksisitesi düşük olan sentetik bir piretroid ve potent bir insektisittir. Olgu 2'deki hastaya Baum De peru balsam tedavisi reçete edilmiş ve 2 hafta sonra tekrar kontrole çağırılmıştır. İki hafta sonra aile tedaviyi uygun kullanmamış ve bu nedenle aileye soufre precipite, bebek hastaya tekrar Baum De peru balsam tedavisi reçete edilmiştir. Ayrıca her iki olguda da aileye giysileri, yatak çarşafı ve nevresimleri çamaşır makinesinde en az 60 °C'de yıkanmasının gerekli olduğu izah edilmiştir.



Şekiller 1. Vücutta yaygın büllöz döküntüsü olan 4 aylık erkek hasta (Olgu 1); 2. Olgu 1'in tüm vücuttaki yaygın döküntüleri; 3. Vücutta kaşıntılı döküntü şikayeti olan 3,5 aylık kadın hasta (Olgu 2); 4. Olgu 2'nin tüm vücuttaki yaygın döküntüleri



Şekiller 5. *Sarcptes scabiei*'nin erişkini; 6. *Sarcptes scabiei*'nin yumurtası; 7. *Sarcptes scabiei* dışkısı (cybala)

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bebeklerde ve küçük çocuklarda uyuzun gelişimi, kliniği ve lezyonların dağılımı büyük çocuklara ve erişkinlere göre farklılıklar göstermektedir. Avuç içi ve ayak tabanları sıklıkla etkilenmekte ve beş yaş altı çocuklarda bu kısımlar en fazla akarların bulunduğu yerler olmaktadır. Baş, boyun bölgesi, bacak ve kalça en fazla tutulan bölgeler olup, bebeklerde tüm deri yüzeyinde uyuz lezyonları bulunabilmektedir. Bebeklerde vezikül ve ekzematöz lezyonlar sık olduğu için tünelleri bulmak ve hastalığı tanımlamak daha zor olmaktadır (4).



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Olgu sunumumuzdaki hastaların yapılan fizik muayenelerinde tüneller tespit edilmiştir. Uyuz için tünel (sillion) görülmesi patognomoniktir (5). Uyuzun tanısı çoğunlukla tipik döküntü ve tıbbi öykü sonrası sağlanan klinik bir tanıdır. Diğer aile üyelerinde de kaşıntı ve benzer bir döküntü varlığı da tanı için genellikle yardımcı olur (5). Bizim olgu 2’de de uyuza dair tipik döküntüler ve aile öyküsü mevcuttur. Erişkinlerde tutulmayan palmoplantar bölge çocuklarda sık olarak tutulur ve lezyonlar el, ayak ve vücut kıvrımlarında en yoğundur (5). Sunmuş olduğumuz her iki olgunun el ve ayaklarında da lezyonlar mevcut durumdaydı.

Uyuz hastalığı tedavisinde ilk basamakta önerilen ilaçlar arasından, ülkemizde eczanelerden sadece permetrinin %5’lik krem ve losyonları temin edilebilmektedir. Uyuz tedavisinde bugün birinci derecede seçilen ilaç olup, toksik etkisi azdır ve iyi tolere edilmektedir (6). İki aydan büyük çocuklarda uyuz tedavisinde permetrin %5 losyonun topikal olarak kullanımı yeterlidir (1). Uyuz tedavisinin başarılı olabilmesi için uyuz kişi ile birlikte yaşayan kişilerin de aynı zamanda tedaviye alınması gerekmektedir. Özellikle aile fertlerinin kaşıntıya bakılmaksızın mutlaka birlikte tedavisi önemle tavsiye edilmektedir (4). Olgumuzdaki hastalara da permetrin %5 losyonun vücudun yıkanması sonrasında, kuru deriye uygulanması, 8-12 saat sonra yeniden banyo yapması önerilmiştir. Bu örnek olgular ışığında, sık rastlanan, geniş bir ayırıcı tanı yelpazesi olan, etkenin saptanmasındaki zorluktan ve atipik klinik prezentasyondan kaynaklanan tanı güçlükleri olabilen ve bu sebepten dolayı sık atlanan uyuz hastalığı açısından klinisyenlerin dikkatli olması önerilebilir. Son derece bulaşıcı olan uyuza ülkemizde de zaman zaman rastlanılmaktadır. Özellikle son yıllarda dışarıdan göç alan ülkemizde uyuz olgularıyla daha sık karşılaştığımız düşünülmektedir. Sosyo-ekonomik ve kültürel gelişmelere rağmen *S. scabiei*’nin ülkemiz için hala bir sorun olduğu, bu nedenle de halkın özellikle korunma ve kontrol önlemleri konusundaki eğitiminin gerekli olduğu ve kontrolünde; doğru tanı ve uygun bir tedavinin önemli olduğu kanısındayız.

Teşekkür: MCBÜ Çocuk Hastalıkları Polikliniğine teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Şimşek, E., Keskin, A., Dağcıoğlu, B.F. Sık Rastlanan ve Sık Atlanan Hastalık Uyuz: Olgu Sunumu. *Ankara Medical Journal*, 2019, 19.1: 205-209.
2. Tüzün, Y., et al. Theepidemiology of scabies in Turkey. *International journal of dermatology*, 1980, 19.1: 41-44.
3. Ünver AY, Turgay N: Uyuzlu Hastaya Yaklaşım. *Türkiye ParazitolDerg*, 30 (1): 78-83, 2006
4. Ünver, A.Y., Turgay, N. Uyuzlu Hastaya Yaklaşım. *Türkiye ParazitolDerg*, 2006, 30.1: 78-83.
5. Falay T, Gürel MS. Uyuz. *Turkiye Klinikleri J Dermatol-Special Topics* 2017;10(2):143-53.
6. McCarthy JS, Kemp DJ, Walton SF, Currie BJ, 2004.Scabies: morethanjust an irritation. *PostgradMed J*,80(945):382-7



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07

02 Ekim 2019 - 09:00–10:00

Oturum Başkanları: Metin KORKMAZ / Ali KİLİMCİOĞLU

SB56. Kedi Nötrofillerinde *Toxoplasma gondii*'ye Karşı Şekillenen NETosis Reaksiyonunda Nötrofil Elastaz Aktivitesi

Neslihan SÜRSAL, Kader YILDIZ

SB57. *Toxoplasma gondii* ile Enfekte İnsan Trophoblastik Hücrelerinin (BeWo) Toll-Like Reseptör Yolağına Nitrofurantoinin Etkisi

Eda SİVCAN, Merve YÜRÜK, Tülay AKSOY, Emrah ERDOĞAN

SB58. Karabük ili ve Çevresinde 15-49 Yaş Aralığındaki Kadınlarda *Toxoplasma gondii* Seroprevalansı

Elçin KAL ÇAKMAKLIOĞULLARI

SB59. Kronik Böbrek Yetmezliği Olan Hastalarda *Toxoplasma gondii* Seroprevalansı

Berna HAMAMCI, Oğuzhan ÖZCAN, Hüseyin ERDAL, Ülfet ÇETİNKAYA, Faruk Hilmi TURGUT

SB60. Sıçanlarda Deneysel *Toxoplasma gondii* Enfeksiyonunun Epileptiform Aktivite Üzerine Etkisinin BOS Biyobelirteçleri Değerlendirilerek İncelenmesi

Erol AYAZ, Şule AYDIN TÜRKOĞLU, Hayriye ORALLAR, Şerif DEMİR, Cahit BABÜR, **Kerem YAMAN**, Aysel KÜKNER, Bihter BOZAT

SB61. Sıçanlarda Deneysel *Toxoplasma gondii* Enfeksiyonunun Epileptiform Aktivite Üzerine Etkisinin Beyin Dalgalarını Power Spektral Analiz İle İncelenerek Değerlendirilmesi

Erol AYAZ, Şule AYDIN TÜRKOĞLU, Hayriye ORALLAR, Şerif DEMİR, Ayhan ÇETİNKAYA, Cahit BABÜR, **Kerem YAMAN**, Seyit ANKARALI, Serpil YILDIZ

SB62. *Toxoplasma gondii* ile Deneysel Enfekte Sıçanların Yavrularındaki Davranış Değişikliklerinin İncelenmesi

Erol AYAZ, Hayriye ORALLAR, Kerem YAMAN, Ayhan ÇETİNKAYA, Bihter BOZAT, **Mücahit ÇAKMAK**, Enes EĞİLMEZ



Kedi Nötrofillerinde *Toxoplasma gondii*'ye Karşı Şekillenen NETosis Reaksiyonunda Nötrofil Elastaz Aktivitesi

Neslihan SÜRSAL¹, Kader YILDIZ²

¹Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, AKSARAY;

²Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, KIRIKKALE

E-posta: neslihansursal@hotmail.com

Amaç: Eozinofil ve bazofillerle birlikte polimorf nükleer lökositleri (PMN) oluşturan nötrofiller konağa ait doğal bağışıklığın önemli savunucuları olarak bilinmektedir. Patojenlere karşı organizmanın ilk savunma hattını oluşturan PMN'in büyük kısmını nötrofiller oluşturmaktadır. Nötrofillerin, omurgalı canlılarda aktif olarak enfeksiyon bölgesine ulaşarak sahip olduğu savunma stratejileri (fagositoz, degranülasyon ve NETosis) ile patojenleri ortadan kaldırmaktadır. NETosis; nötrofillerin çekirdek ve granüler içeriklerini hücre dışı alana vererek patojenlere karşı geliştirdiği bir savunma şekli olarak tanımlanmaktadır. Nötrofil, patojenler için potansiyel etkili olması dışında konak için de oldukça toksik özellik gösteren, oldukça reaktif, fakat hedef spesifitesi zayıf efektör molekülleri barındırmaktadır. Bu moleküllerin çoğu "granül" olarak adlandırılan özel kompartmanlarında depolanmaktadır. Bu moleküllerden en yaygın olarak bilinen nötrofil elastaz (NE) azurofilik granülde depolanmaktadır. Organizmada patojenle karşılaşan nötrofil geliştirdiği NETosis reaksiyonu esnasında hücre dışı tuzaklar (NET) şekillendirmektedir. Bu tuzaklar nötrofilin granüler enzimleri ile kaplı kromotin iplikçiklerinden oluşmaktadır. Hücre dışı tuzaklar organizma içindeki patojeni hem mekanik hemde kimyasal yolla etkisiz hale getirmeye çalışmaktadır. Kedilere ait PMN'nin *Toxoplasma gondii* tachyzoitlerine karşı NET geliştirdiği bilinmektedir. Bu çalışma ile *in vitro* ortamda *T. gondii*'yi tachyzoitleri ile inkube edilen kedi PMN'inde gelişen NETosis reaksiyonu esnasında nötrofillerden açığa çıkan NE aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Sağlıklı kedilerin (n: 5) venöz kan örneklerinden değişik yoğunluktaki Percoll solüsyonları (%72, %63, %54ve %45) kullanılarak PMN izole edilmiştir. *T. gondii* takizoitleri ile kedi PMN'i 1:1 oranında 96 kuyucuklu pleytlerde inkube edilmiştir. İnkübasyonun başlangıcında NE aktivitesinin belirlenebilmesi için 20,70-dichlorofluorescein diacetate (DCFHDA, 10 µg/ml; SigmaAldrich) PMN-takizoit kültürü üzerine eklenmiştir. Pleytler 37 °C'ye ayarlanmış fluorometre içerisinde 150 dakika süreyle inkube edilmiştir ve 10 dakika ara ile inkübasyon süresi boyunca ölçüm yapılmıştır. İnkübasyon esnasında PMN-takizoit kültüründe şekillenen NE aktivitesi ise 355/460 nm dalga boyu kullanılarak ölçülmüştür. Çalışmada phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) pozitif kontrol olarak, hiçbir kimyasal eklenmemiş PMN ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Her bir kedi için çift kuyucuk çalışılmıştır.

Bulgular: İnkübasyon süresince kedi PMN-tachyzoit kültüründe açığa çıkan NE aktivitesinin negatif kontrole göre daha yüksek seyrettiği saptanmıştır. PMN-tachyzoit kültüründe açığa çıkan NE aktivitesi aynı zamanda PMA ile uyarılan kedi nötrofillerinde (pozitif kontrol) tespit edilen NE aktivitesinden de yüksek olduğu belirlenmiştir. Parazit-PMN kültüründeki NE aktivitesi tüm inkübasyon süresince kontrol gruplarından yüksek olduğu tespit edilmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Sonuç: Nötrofillerin taşıdığı granüler enzimler canlı türüne göre değişmektedir. İnsan ve laboratuvar kemirgenlerinin nötrofillerindeki enzimatik içeriğe dair bilgiler mevcutken kedi nötrofillerinde mevcut enzimler hakkında bilimsel literatürde yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışma sonucunda *T. gondii* takizoitleri ile karşılaşan kedi nötrofillerinden NE'in açığa çıktığı belirlenmiştir. Nötrofil elastazın, yangılı dokularda açığa çıkan hücrelerin lize edilmesinde ve organizmaya giren patojenlerin ortadan kaldırılmasında rol oynadığı bilinmektedir. Nötrofillerin en önemli granuler enziminden biri olan NE, hücre içi ve hücre dışı patojen yıkımında oksidatif olmayan yol ile ilişkilendirilmektedir. *T. gondii*'nin yaşam çemberinde arakonak rolü üstlenen canlılara ait nötrofillerin ve taşıdıkları granüler enzimlerin parazit karşısındaki aktivitesinin anlaşılması parazitin konak içindeki gelişiminin belirlenmesine katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: *In vitro*, Kedi, NETosis, Nötrofilelastaz, *Toxoplasma gondii*



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07

SB57

02 Ekim 2019 – 09:00-10:00

**Toxoplasma gondii ile Enfekte İnsan Trofoblastik Hücrelerinin (BeWo)
Toll-Like Reseptör Yolağına Nitrofurantoinin Etkisi**

Eda SİVCAN¹, Merve YÜRÜK¹, Tülay AKSOY², Emrah ERDOĞAN¹

¹Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD., KAYSERİ; ²İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD., MALATYA

E-posta: edasvcn_38@hotmail.com

Amaç: Toxoplasmosis, zorunlu hücre içi protozoan parazit *Toxoplasma gondii*'nin neden olduğu yaygın bir paraziter hastalıktır. Konjenital toxoplasmozis, fetustan erişkinliğe kadar olan dönemde ciddi sonuçlar doğurmakta olup, insan sağlığı için büyük bir problem teşkil etmektedir. Enfeksiyonun kronik ve akut döneminde makrofajlar, dentritik hücreler ve nötrofiller gibi bağışıklık sistemi hücrelerinden sitokinler ve kemokinler salgınlmaktadır. Bu sitokin ve kemokinlerin salınımı Toll-Like Reseptörlere (TLR) bağımlı sinyal mekanizması ile gerçekleşmektedir. Günümüzde kongenital bulaşmada bu adaptör moleküller ve onların izledikleri yollar hakkında pek fazla bilgi bulunmamakla birlikte, özellikle toxoplasmozis tedavisinde kullanılacak ilaçların yüksek etkinlikle ve düşük toksiteye sahip olmaları istenmektedir. Bu nedenle kullanılacak ilaçların toksitelerinin belirlenmesi ve immün cevabın oluşması sırasında meydana gelen reaksiyon yollarının araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, *Toxoplasma gondii* ile enfekte insan trofoblastik choriocarcinoma hücresi olan BeWo hücre hattında, doğal bağışıklık ile kazanılmış bağışıklık sistemleri arasında önemli rol oynayan TLR ait sinyal yolağına gebelerde kullanılan nitrofurantoinin (NF) etkisinin *in vitro* ortamda araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmada ilk olarak DMEM HAM's / F-12 besiyerinde, 25 cm²'lik flasklarda BeWo hücrelerinin çoğaltma işlemi yapılmıştır. Flasklarda %80-100 doluluk görüldüğünde yaklaşık 1x10⁶ BeWo hücresi olduğu belirlenmiştir. Takizoitlerin üretimi sağlandıktan sonra hücreler, 1:1 oranında takizoitler ile enfekte edilmiştir. Enfeksiyondan hemen önce DMSO içinde ısı verilerek çözdürülen NF konsantrasyonları (320, 160, 80, 40, 20, 10, 5, 2,5 ve 1,25 µM) oluşturulmuştur. Kontrol grupları ve deney gruplarını oluşturan hücrelere eklenmiştir. Giemsa boyama yöntemi ve tripan blue boyama yöntemleri ile birlikte MTS testi uygulanarak hücre morfolojisi ve canlılık deneyleri yapılmıştır. MTS ölçüm sonrasında Prism 8.0 istatistik programı kullanılarak IC₅₀ (maksimum inhibisyon konsantrasyonu), EC₅₀ (maksimum cevabın yarısını vermek için gerekli ilaç konsantrasyonu) ve R² değerleri belirlenmiştir. Uygun ilaç konsantrasyonunun TLR yolağına etkinliğinin belirlenmesi için 24, 48 ve 72 saat olmak üzere üç ayrı deney grubu oluşturulmuştur. Deney sonrası (toplam üç günde) hücre kültüründen alınan örneklerin RNA izolasyonu yapılarak cDNA'ları sentezlenmiş ve Real Time (RT-qPCR) analizleri yapılmıştır.

Bulgular: Giemsa boyama yöntemi ile yapılan hücre morfoloji deneyi ve tripan blue boyama yöntemi ile yapılan hücre canlılık deneyleri sonucunda invert mikroskopta yapılan inceleme sonrasında 1,25 µM'lık ilaç konsantrasyonunda, normal morfolojili BeWo hücrelerin tüm yüzeyi kaplamış olduğu, takizoit sayısının parazit kontrole göre daha az olduğu ve ebat olarak büyüdükleri görülmüştür. Canlı



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

hücre ve takizoit sayısı tüm konsantrasyonlar için hesaplanmış ve en iyi hücresel canlılık oranı 1,25 μ M konsantrasyonda tespit edilmiştir. BeWo hücrelerinin, bu konsantrasyondaki canlılık oranı %80, takizoitlerin ise %40 olarak hesaplanmıştır. MTS testi ile $IC_{50}=1,339 \mu$ M, $EC_{50}=1,239 \mu$ M değerleri elde edilmiş ve uygun ilaç konsantrasyonu 1.25 μ M olarak belirlenmiştir. GAPD ve B2M referans genleri kullanılarak gen ekspresyonlarındaki orantısal değişim hesaplanmıştır. TLR paneli ile 84 adet gen incelenmiş olup bunlardan ACTB, HPRT1, PGK, GUSB, PPIA, RPL13A olmak üzere yedisi 'house keeping' genlerden oluşmaktadır. Buna göre; CHUK, FADD, IKBKB, IL-12b, IL-6, MAP2K1, MAP2K2, MAPK9, MAPK3, MYD88, NFKb1, RAC1, STAT1, genlerinin 24. saatten 72. saate kadar kademeli olarak ekspresyon seviyelerinde azalma tespit edilirken, MAPK1, SPP1, TLR6 ve TLR8 genlerinde görülen ekspresyon seviyesindeki azalmaya bağlı olarak ilacın en etkili saat diliminin 48. saat olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: *T. gondii* tedavisinde karaciğer üzerine yan etkisi daha az, etkin bir tedavi seçeneği olarak NF gösterilmektedir. Bu çalışmada, NF'nin *in vitro* kültür ortamında *T. gondii* ile enfekte BeWo hücreleri ile etkileşimi sonrasında gelişen spesifik immün yanıtta rol alan TLR'ler ve yolakla ilişkili diğer moleküller hakkında veriler elde edilmiştir. Sonuç olarak, NF'nin toxoplasmosisle mücadelede kullanılan etkin dozajının uyardığı bu moleküllerin bilinmesi, hastalığın tedavisinde alternatif bir yöntem olarak bu moleküller üzerinden etki eden daha az yan etkili geniş kullanım alanlı yeni preparatların geliştirilebileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: BeWo, Nitrofurantoin, Toll-Like Reseptör, *Toxoplasma gondii*, Toxoplasmosis



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07

SB58

02 Ekim 2019 – 09:00-10:00

**Karabük ili ve Çevresinde 15-49 Yaş Aralığındaki Kadınlarda
Toxoplasma gondii Seroprevalansı**

Elçin KAL ÇAKMAKLIOĞULLARI

Karabük Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, KARABÜK

E-posta: drelcinkal@yahoo.com

Amaç: Toksoplazmoz, zorunlu hücre içi paraziti olan *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*)'nin neden olduğu memeli ve kanatlılarda görülen bir enfeksiyondur (1). Dünyada en yaygın görülen paraziter zoonozlardan biri olup, dünya nüfusunun yaklaşık %30'u bu enfeksiyon etkenini taşımaktadır (2, 3). *T. gondii*'nin asıl rezervuarı kediler olup insanlara bulaşması; kedi ve kedigillerin ookistli dışkısı ile kontamine su ve yiyeceklerin tüketilmesi, bradizoit içeren etlerin az pişmiş olarak tüketilmesi, kan transfüzyonu, organ transplantasyonu veya transplental geçiş ile olmaktadır (4, 5). Gebelik döneminde alınan *T. gondii* ile akut enfeksiyon sonucunda fetüsta ve yenidoğanda şiddetli sağlık sorunları gelişebilmekte (görme ve işitme kayıpları, mental ve psikomotor retardasyon, nöbetler, hematolojik problemler, hepatosplenomegali) veya ölüm meydana gelmektedir. Bu nedenle, doğurganlık çağındaki kadınlara serolojik tarama yapılması önem taşımaktadır (6, 7). Çalışmamızda, Karabük ili ve çevresinde 15-49 yaş aralığındaki kadın hastalarda *T. gondii* seroprevalansının araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem Bu çalışmada, Ocak 2017-Ocak 2019 tarihleri arasında Karabük Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen serum örneklerinden çalışılan *T. gondii* IgM ve IgG ELISA sonuçları retrospektif olarak tarandı. Çalışmaya 15-49 yaş aralığındaki kadın hastalar dahil edildi. Gri zon tespit edilen hastalar çalışma dışı bırakıldı. Serum örneklerinde *T. gondii* IgM ve *T. gondii* IgG testleri Architect İ2000 (Abbot Diagnostic, USA) cihazı ile çalışılmıştır. *T. gondii* IgM için, >0,6 pozitif; 0,5-0,6 arası gri zon; <0,5 olanlar negatif kabul edildi. *T. gondii* IgG için, >3,0 pozitif; 1,60-3,0 arası değerler gri zon; <1,60 negatif kabul edildi. *T. gondii* IgM ve IgG sonuçları laboratuvar bilgi sistemi kayıtlarından elde edildi. Serum örneklerinde *T. gondii* IgG avidite testleri VIDAS TOXO IgG Avidity (bioMerieux, Fransa) kitleri kullanılarak ELFA (Enzyme-Linked Fluorescent Assay) yöntemi ile üretici firmanın önerilerine göre çalışıldı. IgG avidite testi için ise < 0.200 düşük avidite, 0.200-0.300 arası sınırdaki avidite ve ≥ 0.300 yüksek avidite olarak kabul edildi.

Bulgular: Ocak 2017-Ocak 2019 tarihleri arasında 15-49 yaş arası kadınlara ait toplam 5198 *T. gondii* IgM, 5141 *T. gondii* IgG testi çalışılmıştır. *T. gondii* IgM : %0.6 (36/5198), *T. gondii* IgG ise %15.4 (792/5141) oranında pozitif bulunmuştur. Toplam 21 vakada IgG ve IgM birlikte pozitif saptandı. Bu vakalara *T. gondii* IgG avidite testi çalışılmıştır. 19'unda yüksek avidite saptanırken, ikisinde düşük avidite saptanmıştır.

Tartışma ve Sonuç: Toksoplazmozun insan popülasyonlarındaki seroprevalansı, ülkelere, bölgelere ve etnik gruplara göre farklılıklar göstermektedir (8). Türkiye'de toksoplazma seropozitifliği ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmış olup, bölgelere ve çalışma gruplarına göre farklılık göstermekle birlikte %14 ile %85 arasında değişen oranlar bildirilmektedir (9, 10, 11). Bizim yaptığımız çalışmada ise bu oran %15,4



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

olarak saptandı. Bu farklı seropozitif değerlerinin nedeni risk faktörleri ve bulaş kaynakları ile temasın sıklığındaki değişkenlerdir. Toksoplazmoz, sağlıklı kişilerde asemptomatik ya da hafif bulgular ile seyrederken, gebelikte geçirildiğinde fetüs üzerinde olumsuz etkiler yaratmaktadır. Karabük ili ve çevresinde 15-49 yaş aralığındaki kadınlarda *T. gondii* seropozitifliği çoğu çalışmaya göre düşük bulunmuştur. Ancak unutulmamalıdır ki bu da hamilelik döneminde *T. gondii* teması için risk altında olan kadınların fazla olduğunu ifade eder.

Sonuç olarak, temasın önlenmesi alınacak önlemlerle mümkün olduğu için ilimizde hamile ya da hamilelik planlayan *T. gondii* IgG negatif kadınların konu ile ilgili bilgilendirerek alınacak önlemlerin anlatılması önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Toxoplasma gondii*, seroprevalans, Karabük

Kaynaklar

1. Montoya JG, Remington SJ. *Toxoplasma gondii*. In: Mandell GL, Bennett EJ, Dolin R, eds. Principles and Practise of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000; 2858-88.
2. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int J Parasitol 2000;30(1213):1217-58.
3. Henriquez SA, Brett R, Alexander J, Pratt J, Roberts CW. Neuropsychiatric disease and *Toxoplasma gondii* infection. Neuroimmunomodulation. 2009;16(2):122-33.
4. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Tıbbi Mikrobiyoloji (Çev. Ed. Başustaoglu AC). Atlas Kitapçılık, 6. Baskı, 2010:841-3.
5. Kuman HA, 2002. *Toxoplasma gondii*. Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. ed. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. s.1883-1897.
6. Montoya JG, Remington JS. Management of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. Clin Infect Dis 2008;47(4):554-66.
7. Murphy RG, Williams RH, Hughes JM, Hide G, Ford NJ, Oldbury DJ. The urban house mouse (*Mus domesticus*) as a reservoir of infection for the human parasite *Toxoplasma gondii*: an unrecognised public health issue? Int J Environ Health Res 2008;18(3):177-85.
8. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int J Parasitol 2000; 30(12-13): 1217-58.
9. Maral I, Aksakal N, Çırak M, Kayıkçioğlu F, et al. Sosyal Sigortalar Kurumu Ankara Doğumevi ve Kadın Hastalıkları Eğitim Hastanesinde doğum yapmış kentli kadınlarda anti-*Toxoplasma* antikorlarının saptanması. Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst 2002;12(2): 139-41
10. Ertug S, Okyay P, Turkmen M, Yuksel H. Seroprevalence and risk factors for toxoplasma infection among pregnant women in Aydın province, Turkey. BMC Public Health 2005; 5: 66.
11. Kuk S, Ozden M. A four year investigation of the seropositivity of *Toxoplasma gondii* in our hospital. Türkiye Parazitoloj Derg 2007; 31(1): 1-3.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07

SB59

02 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Kronik Böbrek Yetmezliği Olan Hastalarda *Toxoplasma gondii* Seroprevalansı

**Berna HAMAMCI¹, Oğuzhan ÖZCAN², Hüseyin ERDAL³, Ülfet ÇETİNKAYA⁴,
Faruk Hilmi TURGUT⁵**

¹Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay SHMYO, HATAY; ²Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD, HATAY; ³Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, HATAY; ⁴Erciyes Üniversitesi, Halil Bayraktar SHMYO, KAYSERİ; ⁵Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nefroloji AD, HATAY

E-posta: uzmberna@hotmail.com

Amaç: *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*)'nin neden olduğu toxoplasmosis, immün sistemi sağlam bireylerde genellikle asemptomatikken T-hücrelerine bağlı immünite bozukluğuna yol açan çeşitli hastalık ve durumlarda ciddi ve hayatı tehdit eden bir tabloya yol açabilmektedir. Kronik böbrek yetmezliği (KBY), hastalık sıklığının artması, yüksek tedavi maliyeti gibi sebeplerden dolayı ülkemizde ve dünya genelinde önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bu hastalarda ölüm oranları oldukça yüksek olup, bunun nedenleri arasında da enfeksiyonlar önemli bir yere sahiptir. Hemodiyaliz uygulanan kronik böbrek yetmezliği olan hastalar, bağışıklık sistemindeki sorunlar nedeni ile toxoplasmosis açısından risk altında bulunmaktadır. Transplantasyon sonrası immünsupresif tedavi sırasında meydana gelebilecek reaktivasyonlar ciddi sorun oluşturabilmektedir ve mortalite oranları artabilmektedir. Bu nedenle bu çalışmada kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda anti-*T. gondii* antikorlarının seroprevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Nefroloji polikliniğine gelen yaş ortalaması 49.16 olan, 38'i erkek, 22'si bayan olmak üzere toplam 60 kronik böbrek hastası çalışmaya dahil edilmiştir. Bu hastalardan 30'u prediyaliz ve 30'u da hemodiyaliz tedavisi almaktaydı. Ayrıca çalışmaya kontrol grubu olarak da yaş ortalaması 51.13 olan, 18'i erkek, 12'si bayan 30 sağlıklı gönüllü dahil edilmiştir. Çalışmada; IgG ve IgM ELISA için DIA.PRO ticari kiti (Milano, Italy) test prosedürüne uygun olarak çalışılmıştır. Ayrıca aynı örneklerde her hastanın CRP düzeyleri, biyokimya analizleri ve hemogram parametreleri kaydedilmiştir.

Bulgular: Prediyaliz hastalarının 25'inde, hemodiyaliz hastalarının 28'inde ve kontrol grubunun 12'sinde IgG seropozitifliği saptanmış olup çalışmada prediyaliz, hemodiyaliz ve kontrol gruplarının hiçbirinde anti-*T. gondii* IgM antikorları saptanmamıştır.

Sonuç: Konik böbrek yetmezliği olan hastalarda özellikle diyalize girme riski arttıkça toxoplasmosis riski de artmaktadır. Toxoplasmosis ile böbrek fonksiyonları arasında yakın bir ilişki bulunmaktadır. Bu nedenle konik böbrek yetmezliği olan hastalarda anti-*T. gondii* IgM ve IgG antikor seropozitifliğinin araştırılması gerektiği kanaatindeyiz. Riskli grupların hastalıktan korunması için özellikle seroprevalansın yüksek olması sebebiyle gerekli önlemlerin alınmasını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: *Toxoplasma gondii*, Kronik Böbrek Yetmezliği, ELISA



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07

SB60

02 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Sıçanlarda Deneysel *Toxoplasma gondii* Enfeksiyonunun Epileptiform Aktivite Üzerine Etkisinin BOS Biyobelirteçleri Değerlendirilerek İncelenmesi

Erol AYAZ¹, Şule AYDIN TÜRKÖĞLU², Hayriye ORALLAR SOYTÜRK³, Şerif DEMİR⁴, Cahit BABÜR⁵, Kerem YAMAN¹, Aysel KÜKNER⁶, Bihter BOZAT⁷

¹Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, BOLU; ²Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji AD, BOLU; ³Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliği Bölümü, BOLU; ⁴Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD, DÜZCE
⁵T.C. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, ANKARA; ⁶Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, LEFKOŞA, KKTC; ⁷Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, BOLU

E-posta: keremyamantbb@yahoo.com.tr

Amaç: *Toxoplasma gondii* insan vücudundaki tüm hayati organları tutabilen, son konağı kedigiller, ara konağı kedi dahil insanın da içinde bulunduğu tüm sıcak kanlı canlılar olan, intrasellüler bir zoonoz parazittir. Merkezi sinir sistemi (MSS), kalp kası, göz ve gebelerde plasenta olmak üzere bazı dokulara tropizm göstermektedir. Özellikle immun sistemin baskılandığı veya sağlıklı çalışmadığı kişilerde MSS'nin farklı bölgelerindeki dokulara yerleşen ve parazitin bradizoit formları tarafından meydana getirilen doku kistlerinin ensefalopati tablosu oluşturduğu ve epileptik nöbetlere sebep olabildiği bildirilmektedir. İnsanlarda görülen epileptiform aktivitenin bir kısmının *T. gondii*'ye bağlı olabildiğinin tespit edilmesiyle birlikte, doku kistlerini ortadan kaldırmaya yönelik tedavinin uygulanmasıyla bazı epilepsi hastalarındaki semptomların elimine edilmesi mümkündür. Parazitin doku kistlerinin beyin farklı bölgelerine yerleşmesine göre beyin- omurilik sıvısı (BOS) materyalinde, latent enfeksiyona bağlı olarak nörotransmitter ve elektrolitler gibi biyobelirteçlerin düzeylerinde değişiklikler olabileceği tahmin edilmektedir. Bu araştırmanın amacı, deneysel olarak parazitin takizoitleriyle enfekte edilen sıçanlarda beyin farklı bölgelerine yerleşen doku kistlerinin oluşturabileceği epilepsi benzeri semptomları ile BOS materyalindeki nörotransmitterlerin (GABA, Glutamat, Norepinefrin, Serotonin, Asetilkolin, Dopamin) ve elektrolitlerin (Na, K, Ca, Cl, Mg) düzeylerindeki değişikliklerin ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi (UPLC) ve iyon kromatografisi (IC) kullanarak saptayıp, ilişkilendirmektir. Böylelikle *T. gondii*'nin sebep olabileceği epileptiform aktiviteleri tespit etmektir.

Yöntem: Bu amaçla wistar albino cinsi 2- 4 aylık, 250-300gr ağırlığında erkek sıçanlar, deney hayvanı olarak kullanılmıştır. Hayvanlar 7'şerli; 1 kontrol, 1 deneme ve 3 pozitif kontrol olmak üzere beş gruba (G1, G2, G3, G4, G5) ayrılmışlardır. Kontrol grubu (G1) ve deneme grubu (G5) hayvanlara üç alt grup olacak şekilde, beyin farklı bölgelerine (Amigdala, hipokampus ve serebral kortekse), sırasıyla serum fizyolojik (SF) ve *T. gondii* RH suşuna ait 8- 10 takizoit/µl olarak uygulanmıştır. Pozitif kontrol grubu olarak ise deneysel epilepsi modellerinin sık kullanılan indüktörlerinden birisi olan pentilentetrazol (PTZ) ile epilepsi oluşturulan (G2), 2.5x 106 intraperitoneal (İP) takizoit uygulanan (G3) ve İP takizoit + PTZ verilen (G4) deney grupları oluşturulmuştur. Tüm gruplardaki sıçanlarda çalışmaya başlamanın 7.,15.,30. günlerinde mikrodializ metodu ile BOS toplanmış ve toplanan BOS örneklerinde UPLC ile



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

nörotransmitterler (GABA, Glutamat, NE, Serotonin, Asetilkolin, Dopamin) ve IC ile de elektrolitlerin (Na, K, Ca, Cl, Mg) miktarlarının belirlenmesi planlanmıştır.

Bulgular: Elde edilen sonuçlar istatistiki olarak çift yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiş ve p değeri 0,05'den küçük değerler anlamlı kabul edilmiştir. Çalışma sonucunda *T. gondii*'nin epileptik aktiviteye neden olup olmadığı BOS biyobelirteçlerine göre değerlendirilmiştir.

Sonuç: Pozitif kontrol grubu (G2) ile IP enfekte grup (G3) karşılaştırıldığında BOS' daki nörotransmitter ve elektrolitlerin oranlarında anlamlı farklılıklar belirlenmiştir. Epilepsi vakalarında nörotransmitter ve iyon miktarlarının epilepsi ve epileptiform aktivitenin ayırıcı tanısında rol alabileceği vurgulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Elektrolitler, epileptiform aktivite, epilepsi, nörotransmitterler, *Toxoplasma gondii*



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07

SB61

02 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Sıçanlarda Deneysel *Toxoplasma gondii* Enfeksiyonunun Epileptiform Aktivite Üzerine Etkisinin Beyin Dalgalarını Power Spektral Analiz İle İncelenerek Değerlendirilmesi

Erol AYAZ¹, Şule AYDIN TÜRKÖĞLU², Hayriye ORALLAR SOYTÜRK³, Şerif DEMİR⁴, Ayhan ÇETİNKAYA⁵, Cahit BABÜR⁶, Kerem YAMAN¹, Seyit ANKARALI⁵, Serpil YILDIZ²

¹Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, BOLU; ²Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji AD, BOLU; ³Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliği Bölümü, BOLU; ⁴Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD, DÜZCE; ⁵Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD, BOLU; ⁶T.C. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, ANKARA

E-posta: keremyamantbb@yahoo.com.tr

Amaç: *Toxoplasma gondii* insan vücudundaki tüm hayati organları tutabilen, son konağı kedigiller, ara konağı kedi dahil insanın da içinde bulunduğu tüm sıcak kanlı canlılar olan, intrasellüler bir zoonoz parazittir. Merkezi sinir sistemi (MSS), kalp kası, göz ve gebelerde plasenta olmak üzere bazı dokulara tropizm göstermektedir. Özellikle immun sistemin baskılandığı veya sağlıklı çalışmadığı kişilerde MSS'nin farklı bölgelerindeki dokulara yerleşen ve parazitin bradizoit formları tarafından meydana getirilen doku kistlerinin ensefalopati tablosu oluşturduğu ve epileptik nöbetlere sebep olabileceği bildirilmektedir. İnsanlarda görülen epileptiform aktivitenin bir kısmının *T. gondii*'ye bağlı olabileceğinin tespit edilmesiyle birlikte, doku kistlerini ortadan kaldırmaya yönelik tedavinin uygulanmasıyla bazı epilepsi hastalarındaki semptomların elimine edilmesi mümkündür. Parazitin doku kistlerinin beynin farklı bölgelerine yerleşmesine bağlı olarak elektroensefalografi (EEG) kayıtlarında değişiklikler olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı deneysel olarak takizoitlerle enfekte edilen sıçanlarda beynin farklı bölgelerinde oluşan doku kistlerinin meydana getirebileceği epilepsi benzeri semptomları EEG kayıtlarıyla saptamak ve *T. gondii*'nin sebep olabileceği aktiviteleri tespit etmektir.

Yöntem: Bu amaçla wistar albino cinsi 2- 4 aylık, 250-300gr ağırlığında erkek sıçanlar kullanılmıştır. Bu amaçla wistar albino cinsi 2- 4 aylık, 250-300gr ağırlığında erkek sıçanlar, deney hayvanı olarak kullanılmıştır. Hayvanlar 7'şerli; 1 kontrol, 1 deneme ve 3 pozitif kontrol olmak üzere beş gruba (G1, G2, G3, G4, G5) ayrılmışlardır. Kontrol grubu (G1) ve deneme grubu (G5) hayvanlara ise üç alt grup olacak şekilde, beynin farklı bölgelerine (Amigdala, hipokampus ve serebral kortekse), sırasıyla serum fizyolojik (SF) ve *T. gondii* RH suşuna ait 8- 10 takizoit/µl olarak uygulanmıştır. Pozitif kontrol grubu olarak ise deneysel epilepsi modellerinin sık kullanılan indüktörlerinden birisi olan pentilentetrazol (PTZ) ile epilepsi oluşturulan (G2), 2,5x 106 intraperitoneal (İP) takizoit uygulanan (G3) ve İP takizoit + PTZ verilen (G4) deney grupları oluşturulmuştur. Tüm gruplardaki sıçanlarda çalışmaya başlamanın 7.,15.,30. günlerinde power lab spektral analiz sistemi ile EEG kayıtları alınmıştır.

Bulgular: Elde edilen sonuçlar istatistiki olarak çift yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiş ve p değeri 0,05'den küçük değerler anlamlı kabul edilmiştir. Çalışma sonucunda *T. gondii*'nin epileptik aktiviteye neden olup olmadığı EEG kayıtlarına göre yorumlanmıştır.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Sonuç: Pozitif kontrol grubu (G2) ile IP enfekte grup (G3), epileptiform aktivite yönünden karşılaştırıldığında diken dalga deşarjları (DDD), nöbet sayısı ve nöbet geçirme süresi gibi kriterlerin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği anlaşılmıştır ($p>0,05$), parazit enfeksiyonunun ise epilepsi benzeri deşarjlar oluşturduğu ve epileptiform aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Epilepsi vakalarında EEG kayıtlarının parazit kökenli olabilecek epilepsi ve epileptiform aktivitenin ayırıcı tanısında rol alabileceği vurgulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Elektroensefalografi, epileptiform aktivite, epilepsi, power spektral analiz, *Toxoplasma gondii*



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07

SB62

02 Ekim 2019 – 09:00-10:00

Toxoplasma gondii ile Deneysel Enfekte Sıçanların Yavrularındaki Davranış Değişikliklerinin İncelenmesi

**Erol AYAZ¹, Hayriye ORALLAR SOYTÜRK², Kerem YAMAN¹, Ayhan ÇETİNKAYA³,
Bihter Gökçe BOZAT⁴, Mücahit ÇAKMAK⁵, Enes EĞİLMEZ⁶**

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, ¹Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD; ²Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliği Bölümü; ³Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD; ⁴Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Disiplinlerarası Sınır Bilimleri AD; ⁵Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji AD; ⁶Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi, BOLU

E-posta: cakmakmcht@gmail.com

Amaç: *Toxoplasma gondii* özellikle kas ve beyin dokusunu tercih eden, hücre içi yerleşim gösteren zoonoz bir parazittir. Doku kistlerinin beyin hipokampus, amigdala ve korteks gibi farklı bölgelerine yerleşmesine bağlı olarak davranışsal bozukluklara sebep olduğu bilinmektedir. Parazitin akut enfeksiyon döneminde yavrulara geçtiği ve patolojik bozukluklara sebep olduğu bilinmekle beraber, kronik dönemdeki etkileri, özellikle de beyinde oluşturduğu davranışsal bozukluklar hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışmada *T. gondii* ile enfekte sıçanların birinci ve ikinci nesil yavrularına olan nörodejeneratif ve nöropsikiyatrik etkilerinin davranış testleri ile araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu amaçla her grupta 4 dişi ve 1 erkek sıçan olacak şekilde çiftleştirme yapılmış ve bir grup kontrol (G4=Anne ve Baba enfekte olmayan) diğer 3 grup ise enfekte ebeveynlerin yer aldığı 4 grup oluşturulmuştur (G1=dişi enfekte, erkek normal; G2=dişi normal, erkek enfekte; G3=dişi ve erkek enfekte). Bu ebeveyn gruplarından elde edilen ilk nesil (F1) yavrular ise kendi aralarında çiftleştirilerek ikinci nesil (F2) yavrular elde edilmiştir. Her iki nesilden 8'er erkek ve dişi sıçana davranış testleri (öğrenme, anksiyete ve depresyon) uygulanmıştır. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi, Morris Su Tankı Testi ve Zorunlu Yüzme Testi sonucu elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve p<0,05 olduğu durumlar anlamlı olarak yorumlanmıştır.

Bulgular: Anksiyete değerlendirmesi için yapılan yükseltilmiş artı testi sonuçlarında kronik *T. gondii* enfeksiyonu oluşturulan ebeveyn sıçanların erkek bireylerinde anksiyetenin arttığı, F1 dişi bireylerinde ise anlamlı bir değişiklik olmadığı görülmüştür. G3F2 dişilerinde ise anksiyetenin arttığı görülürken, F2 erkek grupları arasındaki farkın önemli olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Öğrenme açısından değerlendirmeler için yapılan Morris Su Tankı Testi sonucunda, F1 ve F2 grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Depresyon açısından değerlendirmeler için yapılan Zorunlu Yüzme Testi sonucunda enfekte ebeveynlerin F1 dişilerinde depresyonun azaldığı, F1 erkeklerinde ise depresyon açısından anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür. G3F2 erkeklerinde depresyonun arttığı, F2 dişilerinde depresyonun azaldığı, fakat bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur. Ayrıca enfekte dişilerde bir batındaki yavru sayısının önemli derecede azaldığı görülmüştür.

Sonuç: Bu çalışma ile enfekte anne ve babadan yavrulara parazit proteinlerinin aktarılacağı ve parazitin cinsiyete göre farklı etkilerinin olabileceği, bu durumun aydınlatılması için ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte bu çalışmada toxoplasmosis için farkındalık oluşturulması gerektiğinin vurgulanması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Anksiyete, Depresyon, Öğrenme, Rat, *Toxoplasma gondii*



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08

02 Ekim 2019 - 11:00–12:30

Oturum Başkanları: Hande DAĞCI / Esin GÜVEN

SB63. Kistik Ekinokokkoz Tanısında Doğal ve Rekombinant Antijenlerin Karşılaştırılması
Fatma İRVASA BİLGİÇ, Derya DİRİM ERDOĞAN, Cumhur GÜNDÜZ, Metin KORKMAZ

SB64. İnsanlarda Alveolar Ekinokokkoz Serolojik Tanısında Em70/Em90 Bantlarının Kullanımı: 10 Yıllık Deneyim
Aylin BABAOĞLU, Fatma İrvasa BİLGİÇ, Eylem AKDUR ÖZTÜRK, Sefer Özer BABAT, Derya DİRİM ERDOĞAN, Tonay İNCEBOZ, Metin KORKMAZ

SB65. *Echinococcus granulosus*'un Sığır ve Koyun İzolatlarındaki Antijen B (AgB) Gen Polimorfizminin Belirlenmesi ve Serolojik Tanı Üzerindeki Etkinliğinin Araştırılması
Harun Kaya KESİK, Sami ŞİMŞEK, Seyma GÜNYAKTI KILINÇ, Ergün KÖROĞLU

SB66. Erzincan'da Kistik Ekinokokkozisin İnsan ve Hayvanlarda Prevalansı
Murat KARA, İsmail DAVARCI, Necip TAŞ, Bülent DABANLIOĞLU

SB67. İnaktif kisti olan Kistik Ekinokokkozis'li Hastalarda Serolojik Test Sonuçlarının Klinik Bulgularla Korelasyonunun Araştırılması
Serra ÖRSTEN, Türkmen ÇİFTÇİ, Gökhan YÜCE, Aynur AZİZOVA, Emre ÜNAL, Ahmet Bülent DOĞRUL, Devrim AKINCI, Okan AKHAN

SB68. Erzurum Yöresinde Kistik ve Alveolar Ekinokokkozisin Moleküler Epidemiyolojisi
Hamza AVCIOĞLU, Esin GÜVEN, İbrahim BALKAYA, Ali KURT, Akgün ORAL, Rıdvan KİRMAN, Mohammed BIA, Hatice GÜLBAYEN, Sali YAYA, Muzaffer AKYÜZ

SB69. Elazığ İlinde Kesimi Yapılan Sığırlardan Elde Edilen *Echinococcus granulosus* İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu
Harun Kaya KESİK, Şeyma GÜNYAKTI KILINÇ, **Figen ÇELİK**, Sami ŞİMŞEK

SB70. Türkiye'de Bir Yaban Domuzunda Akciğer Hidatik Kistin Moleküler Karakterizasyonu
Şeyma GÜNYAKTI KILINÇ, Canan AKDENİZ İNCİLİ, Harun Kaya KESİK, Burak KARABULUT, Sami ŞİMŞEK

SB71. Kistik Ekinokokkoz ve Fasiyoliz'de IL-4, IL-5, TNF- α ve IFN- γ Düzeylerinin Araştırılması
Cüneyt ALBAYRAK, İrem GÜVEN, **Yunus Emre BEYHAN**

SB72. Koyun ve Keçilerden Elde Edilen *Cysticercus tenuicollis* İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu ve Haplotiplerinin Belirlenmesi
Şeyma GÜNYAKTI KILINÇ, Harun Kaya KESİK, **Sami ŞİMŞEK**



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08

SB63

02 Ekim 2019 – 11:00-12:30

Kistik Ekinokokkoz Tanısında Doğal ve Rekombinant Antijenlerin Karşılaştırılması

Fatma IRVASA BİLGİÇ¹, Derya DİRİM ERDOĞAN¹, Cumhur GÜNDÜZ², Metin KORKMAZ¹

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Parazitoloji AD; ²Tıbbi Biyoloji AD, İZMİR

E-posta: irvasafatma@ymail.com

Amaç: Kistik ekinokokkoz (KE) *Echinococcus granulosus* larvalarının neden olduğu en yaygın helmint enfeksiyonlarından biridir. KE tanısı ve takibi serolojik testlerle tamamlanan görüntüleme yöntemlerine dayanır. Başta ELISA, İHA ve WB olmak üzere spesifik antikorların arandığı serolojik testlerde kist sıvısı (KS) en yaygın kullanılan antijen kaynağıdır. Fakat kist sıvısının heterojen yapısı, testlere göre değişen oranlarda yalancı pozitif veya yalancı negatif reaksiyonlara neden olmaktadır. Ayrıca iyileşen hastalarda KS'e karşı oluşan antikorların uzun süre varlığını koruması nedeniyle tedavi sonrası takipte yetersiz kalabilmektedir. Standardizasyonun sağlanması ve test performansının artırılması amacıyla özellikle kist sıvısının bileşenlerinden AgB ve Ag5'in alt üniteleri olmak üzere çok sayıda rekombinant antijen tanımlanmıştır. Çalışmamızda, her biri yüksek duyarlılık ve özgüllük değerlerine sahip yeni AgB8/1, AgB8/2 ve Ag5'den oluşan rekombinant füzyon protein (Ag5+AgB8/1+AgB8/2) in total IgG ELISA performansları KS ile karşılaştırılmış, KE hastalarının tanı ve takibinde yararlılığı araştırılmıştır. **Yöntem:** Radyolojik, serolojik ve/veya cerrahi olarak doğrulanmış 182 KE hastasına ait toplam 252 KE hasta serumu, diğer paraziter enfeksiyonlar açısından klinik, serolojik veya parazitolojik olarak pozitif tanı alan (alveoler ekinokokkoz (AE), fasiyolaz, toksokariyaz, toksoplazmoz, visseral leyişmanyaz, trişinelloz) 160 hasta serumu ve sağlıklı bireylere ait 30 serum örneği olmak üzere toplam 442 serum ELISA yöntemiyle test edilmiştir.

Bulgular: Kist sıvısı ve rekombinant antijen ELISA'da duyarlılık sırasıyla %86,5 ve %29,3, özgüllük sırasıyla %82,6 ve %94,2 olarak saptanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün bildirdiği şekilde yapılan sonografik sınıflandırmaya göre kist evreleri ve tedavi cevaplarına göre KS ELISA'nın pozitiflik oranı değiştirmiştir. Buna göre KS ELISA inaktif kist evresine (CE4-CE5) sahip hasta serum örneklerinde düşük oranlarda pozitiflik gösterirken, tedavi öncesi veya postoperatif nüks olduğu bilinen hastalarda, tedavi sonrası iyileşenlere göre daha yüksek seropozitiflik göstermiştir. Rekombinant antijen ELISA'da ise kist evrelerine göre anlamlı bir fark saptanmamış (P=0,085) iken, kistin karaciğer ve diğer organlarda yerleşimi arasında anlamlı fark bulunmuştur (P=0,030).

Sonuç: Çalışmamızda ilk kez tanımlanan (Ag5+AgB8/1+Ag8/2) füzyon rekombinant proteini, KE hastalarının tanı ve tedavi sonrası takibinde kullanılabilecek aday antijen olarak değerlendirilmiş, ancak antijenlerin tek tek olan hallerinden daha düşük duyarlılıkta bulunmuştur. Buna, rekombinant antijenlerin birbirine bağlanmasıyla oluşan füzyon proteinin üç boyutlu konfigürasyonu etki etmiş olabilir. Bu nedenle füzyon protein ve bileşenlerinin (Ag5, AgB8/1, Ag8/2) aynı şartlar altında karşılaştırılmalı olarak test edilmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Ag5+AgB8/1+Ag8/2 füzyon rekombinant protein, kistik ekinokokkoz, seroloji



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08

SB64

02 Ekim 2019 – 11:00-12:30

İnsanlarda Alveolar Ekinokokkoz Serolojik Tanısında Em70 ve Em90 Bantlarının Kullanımı: 10 Yıllık Deneyim

Aylin BABAOĞLU¹, Fatma İrvasa BİLGİÇ¹, Eylem AKDUR ÖZTÜRK¹, Sefer Özer BABAT², Derya DİRİM ERDOĞAN¹, Tonay İNCEBOZ³, Metin KORKMAZ¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD, İZMİR; ²Şırnak Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı, ŞIRNAK; ³Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD, İZMİR

E-posta: aylinoral.babaoglu@gmail.com

Amaç: Alveolar ekinokokkoz (AE), insanlarda *Echinococcus multilocularis* (*E. multilocularis*) metasesstodlarının neden olduğu, Türkiye ve Kuzey Yarımküre'deki en ölümcül helmint enfeksiyonlarından biridir. AE'un semptomları ve prognozu karaciğer kanserine benzemektedir. Bu nedenle AE'un erken ve doğru tanısı, hastalığın prognozu için önemlidir.

Yöntem: Laboratuvarımızda yaptığımız çalışmalar sonucunda, Western yöntemi ile saptadığımız 70 kDa ve 90 kDa büyüklüğündeki iki *E. multilocularis* antijeni (Em70 ve Em90) AE tanısı için kullanılmıştır. Ocak 2008 - Ocak 2018 tarihleri arasındaki 10 yıllık dönemde Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji Seroloji laboratuvarına alveolar ekinokokkozun serolojik tanısı için gönderilen 1027 serum örneği retrospektif olarak incelenmiştir.

Bulgular: Çalışmada yer alan hastaların %6,4'ünde (66/1024) Em70 ve Em90 bantları saptanmıştır. Hastaların 30'u kadın (%45,5), 36'sı erkek (%54,5) olup, 12'sinin (%18) AE seropozitifliği patolojik olarak doğrulanmıştır.

Sonuç: AE Türkiye'de önemi her geçen gün artan bir helmint enfeksiyonudur. Em70 ve Em90 bantlarının Western yöntemi ile saptanması, AE'un erken ve doğru tanısında yol gösterici olmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Alveolar ekinokokkoz, Em70, Em90, serolojik tanı, Türkiye



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08

SB65

02 Ekim 2019 – 11:00-12:30

***Echinococcus granulosus*'un Sığır ve Koyun İzolatlarındaki Antijen B (AgB) Gen Polimorfizminin Belirlenmesi ve Serolojik Tanı Üzerindeki Etkinliğinin Araştırılması**

Harun Kaya KESİK¹, Sami ŞİMSEK², Seyma GÜNYAKTI KILINÇ^{1,2}, Ergün KÖROĞLU²

¹Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, BİNGÖL;

²Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ELAZIĞ

E-posta: hkesik@bingol.edu.tr

Amaç: Kistik Ekinokokkozis (KE), *Echinococcus granulosus*'un larval formu tarafından meydana getirilen, dünya çapında yaygın bir helmint hastalığıdır. Antijen B (AgB), *E. granulosus* larvasının bir ekskret-sekret ürünü olup, bu antijen parazitin larval formu tarafından bol miktarda salgılanmakta ve KE'nin serolojik teşhisi amacıyla antijen kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı; sığır ve koyunlardan elde edilen *E. granulosus*'un farklı izolatları arasında genetik farklılığı belirlemek ve AgB1 genindeki polimorfizmi DNA dizi analiziyle tespit ederek ELISA ve Western Blot testini kullanarak serolojik yanıtla olan ilişkisini araştırmaktır.

Yöntem: Bu amaçla; Elazığ ve Erzincan illerindeki mezbanelerde kesim sonrası, her bir ilden 30 sığır ve 30 koyundan hidatik kistlere ait germinal membranlar ve bu hayvanlara ait kan serum örnekleri toplanmıştır. Total genomik DNA izolasyonundan sonra genetik karakterizasyon amacıyla tüm izolatların 12S rRNA geni PZR metoduyla çoğaltılmış, band elde edilemeyen örneklerin mitokondriyal sitokrom c oksidaz 1 (mt-CO1) gen bölgesi DNA sekans analiziyle incelenmiştir. Daha sonra gDNA'lar AgB1 spesifik primerler kullanılarak PZR ile çoğaltılmış ve DNA dizi analiziyle genetik varyasyon araştırılmıştır. Son aşamada bütün serum örnekleri kısmi pürifiye kist sıvısı antijeni kullanılarak ELISA ve Western Blot testleri ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Sonuç olarak; toplam 120 izolatın 114 (%95)'ünün 12S rRNA-PZR, 6 izolatın da mt-CO1-PZR ve takiben yapılan DNA dizi analizi neticesinde *E. granulosus sensu stricto* olduğu belirlenmiştir. Takiben yapılan DNA dizi analiziyle 120 örneğin 13 (%10,8)'ünde AgB1 geninde nükleotid değişimleri belirlenmiştir. Bu çalışma ile DNA dizi analizi kullanılarak AgB1 geninde polimorfizm tespit edilen 13 hidatik kistli örneğin 9 (%69,2)'u ELISA ile 6 (%46,1)'sı da WB ile pozitif bulunmuştur. Öte yandan AgB1 geninde herhangi bir polimorfizm saptanmayan 107 örneğin 80 (%74,7)'i ELISA ile 75 (%70,9)'i de WB ile pozitif bulunmuştur.

Sonuç: *E. granulosus sensu stricto*'nun AgB1 geninde değişik oranlarda varyasyon belirlenmiş ve bunun serolojik yanıt üzerinde kısmi etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antigen B (AgB), Cattle, *Echinococcus granulosus*, Polymorphism, Sheep



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08

SB66

02 Ekim 2019 – 11:00-12:30

Erzincan'da Kistik Ekinokokkozisin İnsan ve Hayvanlarda Prevalansı

Murat KARA, İsmail DAVARCI, Necip TAŞ, Bülent DABANLIOĞLU

1Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Tıp Fakültesi, ERZİNCAN; Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, EDİRNE;
Erzincan Tarım İl Müdürlüğü, ERZİNCAN

E-posta: muratkara44@gmail.com

Bu çalışma, hem hayvanlar hem de insanlar üzerinde Erzincan'da yürütülmüştür.

Erzincan İl Belediyesi Mezbahası'nda 2010 ve 2018 yılları arasında kesilen toplam 88.466 hayvan üzerinde bu çalışma yürütülmüş ve kistik ekinokokkozis araştırması yapılmıştır. Kesimler sonrası kistik ekinokokkozis açısından yapılan muayeneler sırasında 37.469 sığır, 46.067 koyun, 4.552 keçi ve 378 mandanın karkasları incelenmiştir.

Prevalans oranları koyunlarda %5,43, keçilerde %2,54, sığırlarda %5,61 ve mandalarda %7,14 oranında belirlenmiştir. Tüm hayvanlar için genel prevalans oranı ise %5,3'tür. Erzincan'da her ne kadar daha önce bir çalışma yapılmamış ise de yaptığımız bu çalışmanın sonuçları kist hidatik prevalans oranının Erzincan'da kesilen hayvanlarda beklenenden daha düşük olduğunu göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçları, son yıllarda Türkiye'nin diğer illerinde veya bölgelerinde yapılan bazı çalışmaların sonuçları ile pozitif uyumluluk göstermektedir.

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Araştırma Hastanesi'ne 2010 - 2018 yılları arasında kistik ekinokokkozis şüphesi ile gelen insanlardan alınan kan örnekleri laboratuvarında indirekt hemaglutinasyon testi ile analiz edildi. Sekiz yıllık bir süre boyunca şüphe üzerine test edilen 1.102 insandan iki yüz kırk sekizinin (100,000 kişide yıllık ortalama 12,4) kistik ekinokokkozis ile enfekte olduğu bulunmuştur. Daha önce bir çalışma yapılmamış olsa bile Erzincan'da kist hidatik hastalığının giderek azaldığı anlaşılmaktadır, ancak hem insanlar hem de hayvanlar için her zaman kistik ekinokokkozis için bir artış riski vardır.

Anahtar Kelimeler: Kistik ekinokokkozis, sığır, koyun, keçi, manda, prevalans, Erzincan



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08

SB67

02 Ekim 2019 – 11:00-12:30

İnaktif Kisti Olan Kistik Ekinokokkozisli Hastalarda Serolojik Test Sonuçlarının Klinik Bulgularla Korelasyonunun Araştırılması

Serra ÖRSTEN¹, Türkmen ÇİFTÇİ², Gökhan YÜCE³, Aynur AZIZOVA², Emre ÜNAL², Ahmet Bülent DOĞRUL⁴, Devrim AKINCI², Okan AKHAN²

¹Hacettepe Üniversitesi Sağlık Hizmetleri MYO, ANKARA; ²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyoloji Ana Bilim Dalı, ANKARA; ³Ankara Bilkent Şehir Hastanesi, Radyoloji Bölümü, ANKARA; ⁴Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı, ANKARA

E-posta: serraorsten@gmail.com

Amaç: Kistik ekinokokkozis (KE) veya Kist hidatik, *E. granulosus* larvalarının ara konaklarda neden olduğu zoonotik bir hastalıktır. Özellikle inaktif CE4-CE5 kistleri, daha geniş bir ayırıcı tanı gereksinimi olan kist tipleri (örneğin basit kistler, neoplastik lezyonlar ile) olup serolojik sonuçları da yorumlamak zor olmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün Ekinokokkozis çalışma grubunun (WHO-IWGE) önerdiği sınıflamaya göre CE4, heterojen hipoekoik veya hiperekoik dejeneratif içerikli, kız kist içermeyen ve 'yün yumağı' görünümünde dejeneratif membranların izlenebildiği lezyon olarak tanımlanmaktadır. Yapılan tanımlama kistin sıvı içeriği açısından yeterli ayrımı sağlamamaktadır. Bu çalışmada, inaktif kisti olan (CE4 veya CE5) KE'li hastalarda 6 aylık takip ile birlikte hastaların kist değişimlerinin ve serolojik profillerinin belirlenmesi, bunun yanı sıra CE4 kisti olan hastalar kistlerin sıvı içeriğine göre 3'e ayrılmış ve 6 aylık radyolojik kontrol bulguları ile serolojik yanıt arasında bir korelasyon olup, olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: İnaktif kisti olan 18-90 yaş aralığındaki kist hidatik hastaları, US ile abdomen taraması sonrası, serolojik profillerinin belirlenmesi amacıyla, ilk tanı sırasında ve 6. ay kontrolleri sırasında toplamda 2 sefer olmak üzere serum elde edilmesi amacıyla kan alınmıştır. Elde edilen serum örneklerinde, *E. granulosus*'a karşı gelişen antikor yanıtını göstermek ve karşılaştırmak amacıyla, ticari bir ELISA kiti olan Hydatidosis IgG ELISA (Vircell SL, Granada, Spain) ve rutin laboratuvarlarda sık kullanılan ticari bir IHA kiti olan Hydatidose (FUMOZUE Laboratories France) kiti üretici firmanın talimatları doğrultusunda kullanılmıştır. Toplanan veriler SPSS 18.0 istatistik paket programı kullanılarak, Spearman Korelasyon analizi ile yorumlanmıştır. İstatistiksel anlamlılık için p<0,05 kabul edilmiştir.

Bulgular: Toplamda inaktif kisti olan 30 KE'li hasta (20 kadın-10 erkek, ort. yaş ±44) çalışmaya dahil edilmiştir. Hastaların 21'inde uniloküler kist, 9'unda ise birden fazla inaktif hidatik kist kaydedilmiştir. Kist tiplerine göre dağılım göz önüne alındığında, 39 kist CE4 ve 7 kist CE5 olarak sınıflandırılmıştır. IHA sonuçlarına göre, ilk kontrolde 13 hasta pozitif sonuç vermiş olup, 6. ay kontrolü sonrası bu sayı 7'ye düşmüştür. ELISA sonuçlarına bakıldığında, tanı sırasında, 11 hasta pozitif sonuç vermiş olup, 6. ay kontrolü sonrası bu sayı 10'a düşmüştür. 6 aylık kontroller sonucu, CE5 olarak sınıflandırılan kistlerde herhangi bir değişiklik kaydedilmemiştir. CE4 olarak sınıflandırılan kistler sıvı içeriklerine göre 3 gruba ayrılmıştır. Buna göre (A) %50 ve daha fazla sıvı komponenti bulduranlar, (B) minimal sıvı komponenti (<%50) bulduranlar ve (C) sıvı komponenti buldurmeyenler olarak belirlenmiştir. 6. ay kontrolleri sırasında sıvı içerikleri yeniden kontrol edilmiş ve 3 tane kistin sıvı içeriğinin arttığı,



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

buna karşın 10 tane kistin sıvı içeriğinin azaldığı tespit edilmiştir. Sıvı içeriği azaldığı tespit edilen hastalarda IHA sonuçlarında da ilk tanı sırasında alınan değerden daha düşük pozitif değer izlenmiş, aynı şekilde sıvı içeriği artan hastalarda 6. ay IHA sonuçlarında daha yüksek pozitif sonuç alınmıştır. Kist sıvısındaki bu değişim ile IHA sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı orta düzey korelasyon görülmüştür ($r_s = -0,454$, $p=0,029$). ELISA'da ise böyle bir korelasyon tespit edilememiştir.

Sonuç: Yapılan bu çalışma ile ilk kez inaktif kistlerde sıvı içeriğine göre serolojik test sonucunun değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Daha büyük örnek grubunda yapılacak çalışmalar sonucu hem inaktif kistlerin serolojik yanıt profili daha iyi anlaşılacak hem de sınıflandırmada çeşitli değişiklikler yapılması gündeme gelecektir.

Anahtar Kelimeler: ELISA, Kistik ekinokokkozis, IHA



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08

SB68

02 Ekim 2019 – 11:00-12:30

Erzurum Yöresinde Kistik ve Alveolar Ekinokokkozisin Moleküler Epidemiyolojisi

**Hamza AVCIOĞLU¹, Esin GÜVEN¹, İbrahim BALKAYA¹, Ali KURT², Akgün ORAL³,
Rıdvan KİRMAN¹, Mohammed BIA¹, Hatice GÜLBAYEN¹, Sali YAYA¹, Muzaffer AKYÜZ¹**

¹Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ERZURUM; ²Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji AD, ERZURUM; ³Dr. Behcet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi EAH, Çocuk Cerrahisi Kliniği, İZMİR

E-posta: havcioglu@atauni.edu.tr

Amaç: Bu çalışma, Erzurum yöresinde insanlarda kistik (KE) ve alveolar (AE) ekinokokkozisin moleküler karakterizasyonunu, hayvanlarda KE'in moleküler epidemiyolojisini, AE'in varlığını ve moleküler epidemiyolojisi belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Son konak karnivorlarda KE ve AE'in varlığını ve yaygınlığını belirlemek amacıyla Şubat 2016 - Şubat 2017 tarihlerinde 446 sokak köpeği ve 600 tilki dışkı ile karayollarında ölü olarak bulunan 43 tilki, iki vaşak ve bir adet kurt karkasları toplanmıştır. AE'in ara konağını, ara konaktaki varlığını ve yaygınlığını belirlemek amacıyla Şubat-Aralık 2016 tarihlerinde 498 tarla faresi yakalanıp incelenmiştir. Ara konaklarda KE'in yaygınlığını belirlemek amacıyla Şubat 2016-Ocak 2017 tarihlerinde kesimhanelerde 3319 koyun, 1241 sığır, 64 keçi ve 2 adet manda KE yönünden incelenmiştir. İnsanlarda CE ve AE'nin moleküler karakterizasyonunu belirlemek amacıyla Ekim 2015-Nisan 2017 tarihleri arasında 106 hidatik kist ve 28 alveolar kist (5 alveolar kist, 23 parafinli doku kesiti) örneği toplanmıştır. Toplanan dışkı örnekleri flotasyon-sieving ve moleküler yöntemlerle; karkaslar makroskobik inceleme ve ardından şüpheli materyalin makroskobik ve moleküler analizi ile; kist örnekleri hem makroskobik hem de moleküler yöntemlerle incelenmiştir.

Bulgular: Toplanan tilki ve köpek dışkı örneklerinin moleküler analiz sonucu tilkilerde %10,5 (63/600) *E. multilocularis*, köpeklerde ise %10,8 (48/446) *E. granulosus* ve %3,6 (16/446) *E. multilocularis* pozitifliği saptanmıştır. Elde edilen 43 tilki karkası, 2 vaşak ve 1 adet kurt nekropsisi sonrasında tilkilerin %41,7 (18/43)'sinin *E. multilocularis* ile, vaşaklardan birinin yine *E. multilocularis* ile, kurdun ise hem *E. multilocularis* hem de *E. granulosus* ile enfekte olduğu saptanmıştır. Kırsal alanlarda yakalanan rodentlerin %1 (5/498)'inin *E. multilocularis* ile enfekte olduğu belirlenmiştir. KE'in yaygınlığı sığırlarda %24 (299/1241), koyunlarda %31,7 (1051/3319) ve keçilerde %4,7 (3/64) olarak tespit edilmiştir. İnsanlardan toplamda 106 hidatik kist ve 28 adet alveolar kist örneği alınmış bunlardan 98 hidatik kist ve 24 alveolar kistin tanıları moleküler analizle de doğrulanmıştır. Seçilip sekansa gönderilen pozitif örneklerin sekans verilerinin filogenetik analiz sonuçlarına bakıldığında köpeklerde *E. granulosus*'un G1-G3 (42), G6 (3), G4 (3) ve G5 (1) genotipleri; sığırlarda G1-G3 (235), G1 (40) ve G3 (3) genotipleri; koyunlarda G1-G3 (352), G1 (53) ve G3 (16) genotipleri; keçilerde 3 adet G1 genotipi ve insanlarda G1 (98) ve G1-G3 (3) genotiplerinin varlığı belirlenmiştir. Erzurum'dan elde edilen *E. multilocularis* insan,



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

vaşak, kurt, tilki ve rodent izolatlarının filogenetik analizi ise hepsinin Avrupa suşları ile aynı grupta yer aldığını göstermiştir.

Sonuç: Erzurum ili insan olgu bildirimlerine dayanılarak KE ve AE yönünden endemik bölge olarak kabul edilmektedir. Bu çalışma ile bölgede ekinokokkozisin son, ara ve rastlantısal konaklarda varlığı ve yaygınlığı ortaya konmuştur. AE'in Türkiye'deki ara konağı ilk kez bu çalışma ile *Microtus irani* olarak belirlenmiştir. Türkiye'de sokak köpeklerinde *E. multilocularis* varlığı bu çalışma ile kayda girmiştir. Yine KE'in G5 suşunun ülkedeki varlığı köpeklerden ilk kez rapor edilmiştir.

Anahtar Kelimeler Erzurum, kistik ekinokokkozis, alveoler ekinokokkozis, yaygınlık

Bu çalışma TÜBİTAK (Proje no:115S420) tarafından desteklenmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08

SB69

02 Ekim 2019 – 11:00-12:30

Elazığ İlinde Kesimi Yapılan Sığırlardan Elde Edilen *Echinococcus granulosus* İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu

Harun Kaya KESİK¹, Şeyma GÜNYAKTI KILINÇ¹, Figen ÇELİK², Sami ŞİMŞEK²

¹Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, BİNGÖL;

²Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, ELAZIĞ

E-posta: figencilik2502@hotmail.com

Amaç: Kistik ekinokokkozis (KE) Dünya çapında önemli helmantik bir zoonoz olup, ciddi ekonomik ve halk sağlığı problemlerine yol açmaktadır. *Echinococcus granulosus*'un türleri içinde birtakım intraspesifik varyasyonlar ve suşların olduğu bilinmektedir. Bu suşların statüsünü ve epidemiyolojik önemini belirlemek için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğu birçok çalışmada ifade edilmiştir. Bu çalışmanın amacı, Elazığ ilinden elde edilen *E. granulosus*'un sığır izolatlarındaki genetik çeşitliliği araştırmaktır.

Yöntem: Bu amaçla, 64 sığır izolatu mezbahadan kesimi takiben toplanmıştır. Elde edilen bütün örnekler akciğerlerden toplanmıştır. Toplanan germinal membranlar %70 etanol içerisine konulmuş ve DNA izolasyonu yapıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır. Total genomik DNA her bir kist örneğinden ayrı ayrı olarak standart prosedür kullanılarak izole edilmiştir. PZR işlemiyle mitokondriyal 12S rRNA gen bölgesi spesifik primerlerle çoğaltılmıştır.

Bulgular: Bu işlemin neticesinde pozitif band veren 61 örnek *E. granulosus sensu stricto* olarak kabul edilmiştir. Band vermeyen 3 örneğin mitokondriyal CO1 gen bölgesinin DNA sekans analizi yaptırılmış ve bunların da *E. granulosus sensu stricto* olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: Bu çalışma ile sığırlarda *E. granulosus sensu stricto*'nun halen en yaygın tür olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Echinococcus granulosus*, sığır, akciğer, PZR



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08

SB70

02 Ekim 2019 – 11:00-12:30

Türkiye’de Bir Yaban Domuzunda Akciğer Hidatik Kistin Moleküler Karakterizasyonu

**Seyma GÜNYAKTI KILINÇ¹, Canan AKDENİZ İNCİLİ², Harun Kaya KESİK¹,
Burak KARABULUT², Sami ŞİMŞEK³**

¹Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, BİNGÖL;
Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, ²Patoloji AD; ³Parazitoloji AD, ELAZIĞ

E-posta: seymagunyakti@gmail.com

Amaç: Kistik ekinokokkozis (KE), *E. granulosus* sensu lato'nun larva döneminin sebep olduğu zoonotik bir hastalıktır. Önemli bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmesine rağmen Türkiye de dahil birçok ülkede epidemiyolojik ve moleküler veriler sınırlıdır. Bu çalışmanın amacı, avcılar tarafından vurulduktan sonra nekropsisi yapılmak üzere Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na getirilen bir yaban domuzunda görülen akciğer hidatik kistin moleküler karakterizasyonu yapmaktır.

Yöntem: Kiste ait germinal membran alındıktan sonra genomik DNA izolasyonu yapıldı. Mitokondriyal sitokrom c oksidaz subunit 1 (mt-CO1) gen bölgesi PZR ile çoğaltıldı ve sekans analizi yapıldı.

Bulgular ve Sonuç: mt-COI PZR neticesinde 446 bp boyutunda bant elde edildi ve sekans verilerinin BLAST analizi sonucunda yaban domuzuna ait hidatik kistin *E. granulosus* sensu stricto (önceden G1-G3) ile %100 benzer olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: *Echinococcus granulosus*, yaban domuzu, PZR, sekans



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08

SB71

02 Ekim 2019 – 11:00-12:30

Kistik Ekinokokkoz ve Fasiyoliyaz'da IL-4, IL-5, TNF- α ve IFN- γ Düzeylerinin Araştırılması

Cüneyt ALBAYRAK, İrem GÜVEN, Yunus Emre BEYHAN

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, VAN

E-posta: yebeyhan@gmail.com

Amaç: Kistik ekinokokkoz (KE) ve fasiyoliyazda, Th1 ve Th2 immün yanıtlarında meydana gelen değişiklikler hastalıkların kliniği, patolojisi ve tanısı hakkında bilgiler sunmaktadır. Bu nedenle bu hastalıklarda immün yanıtların meydana gelmesinde görev alan spesifik sitokinlerin, sitokin reseptörlerinin ve kemokinlerin araştırılması büyük önem taşımaktadır.

Yöntem: Materyal olarak Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezine başvuran ve yaşları 18-95 arasında değişen, 111 hastanın serum örnekleri kullanıldı. Bu aşamadan sonra üretici firmanın protokolüne göre IL-4, IL-10, TNF α ve IFN γ parametrelerinin düzeyleri ELISA testi ile araştırıldı. Sonuçlar spektrofotometrede okundu ve hangi immünolojik parametrelere hangi enfeksiyonda yanıt verildiği görüldü. Sitokin sonuçları ayrıca hasta yaş grupları ve cinsiyetlerine göre değerlendirildi. Sitokin yanıtının hastalık, yaş ve cinsiyet ile ilişkisinin incelenmesinde ki-kare ve/veya Fisher'in exact testi uygulandı.

Bulgular: KE için 86 hastanın 34 (%39,5)'inde, seropozitif 61 hastanın 26 (%50,9)'unda, kontrol grubu 35 hastanın ise 8 (%22,8)'inde IL-4 yanıtına rastlanmıştır (P=0.032). Fasiyoliyaz için 87 hastanın 32 (%36,8)'inde, seropozitif 51 hastanın 22 (%43,1)'inde, kontrol grubu 36 hastanın ise 10 (%27,8)'inde IL-4 pozitifliği görülmüştür (P=0.016). KE için toplam 89 hastanın 29 (%32,6)'sında, seropozitif 52 hastanın 23 (%44,2)'sinde, kontrol grubu 37 hastanın ise 6 (%16,2)'sinde IL-10 yanıtına rastlanmıştır (P=0.005). Fasiyoliyaz için 87 hastanın 29 (%33,3)'ünde, seropozitif 51 hastanın 20 (%39,2)'sinde, kontrol grubu 36 hastanın ise 9 (%25)'inde IL-10 yanıtı gözlenmiştir (P=0.166). Toplam 90 hastanın 29 (%32,2)'sinde, KE seropozitif 30 hastanın 13 (%43,3)'ünde, fasiyoliyaz seropozitif 32 hastanın 11 (%34,4)'ünde, kontrol grubu 28 hastanın ise beş (%17,9)'unda TNF- α yanıtına rastlanmıştır (P=0.110). Toplam 90 hastanın 33 (%36,6)'sında, KE seropozitif 30 hastanın 13 (%43,3)'ünde, fasiyoliyaz seropozitif 31 hastanın 13 (%41,9)'unda, kontrol grubu 28 hastanın ise 7 (%25)'inde IFN- γ yanıtı tespit edilmiştir (P=0.297). Sonuç: Sitokin yanıtları ile yaş grupları arasında bir ilişkiye rastlanmazken, TNF- α ve IFN- γ yanıtlarının erkek hastalarda anlamlı derecede fazla olduğu görülmüştür. Her iki enfeksiyonda da Th1 ve Th2 yanıtının varlığı gözlemlenmiştir.

Sonuç: Bu sitokin düzeylerinin ölçümü ile, hastalıkların ve nükslerin erken saptanmasında yararlı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kistik Ekinokokkoz, Fasiyoliyaz, IFN γ , TNF α , IL-4 ve IL-10



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08

SB72

02 Ekim 2019 – 11:00-12:30

Koyun ve Keçilerden Elde Edilen *Cysticercus tenuicollis* İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu ve Haplotiplerinin Belirlenmesi

Şeyma GÜNYAKTI KILINÇ¹, Harun Kaya KESİK¹, Sami ŞİMŞEK²

¹Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, BİNGÖL;

²Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, ELAZIĞ

E-posta: ssimsek@firat.edu.tr

Amaç: *Cysticercus tenuicollis*, evcil ve yabani etçillerin ince bağırsaklarında yerleşen *Taenia hydatigena*'nın larvası olup ara konak ruminant ve domuzlarda sistiserkozise sebep olmaktadır. Yaygın bir parazit olan *C. tenuicollis* hem veteriner hekimlik hem de ülke ekonomisi açısından önem arz etmektedir. Bu çalışmada koyun (n=20) ve keçilerden (n=20) elde edilen *C. tenuicollis* izolatlarındaki genetik çeşitliliğin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu amaçla, Bingöl ilindeki bir mezbahanedeki kesimi takiben elde edilen *C. tenuicollis* izolatları laboratuvara getirilip kullanılmaya kadar %70 etanol içinde -20 °C'de saklanmıştır. Her örnekten ayrı ayrı total genomik DNA izolasyonu yapıldıktan sonra, genetik karakterizasyonun belirlenmesi amacıyla mitokondriyal nikotinamid adenin dehidrogenase subunit 1 (NAD1) gen bölgesi, JB11-JB12 primerleri kullanılarak PZR ile çoğaltılıp DNA dizi analizi yaptırılmıştır. Elde edilen veriler haplotiplerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

Bulgular: Neticede, koyun ve keçi *C. tenuicollis* örneklerinin dizi analizlerinde sırasıyla 16 ve 15 farklı haplotipin varlığı saptanmış ve bu izolatlarda çoklu nükleotid değişiklikleri belirlenmiştir.

Sonuç: Bu bulgular, *C. tenuicollis*'in Türkiye'deki koyun ve keçi izolatlarındaki nükleotid değişikliklerini göstermesi açısından önemli bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Cysticercus tenuicollis*, haplotip, keçi, koyun



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09

02 Ekim 2019 - 13:30–14:30

Oturum Başkanları: Levent AYDIN /Ayşen GARGILI KELEŞ

SB73. *Hyalomma marginatum* (Acari: Ixodidae)'un Mitokondriyal Genom Karakterizasyonu
Arif ÇİLOĞLU, Abdullah İNCİ

SB74. Kene Aşısı Adayı Plazminojen Reseptörü Enolase'ın *Hyalomma marginatum* ve *H. anatolicum*'da Moleküler Karakterizasyonu ve Ekspresyonu
Gamze YETİŞMİŞ, Alparslan YILDIRIM, Münir AKTAŞ, Önder DÜZLÜ, Arif ÇİLOĞLU, Zuhâl ÖNDER, Emrah ŞİMŞEK, Abdullah İNCİ

SB75. Species of Tick Collected From Patients Coming to The Pediatric Emergency Department of Denizli State Hospital
Miray TÜRK, Meral TÜRK, İsmail EFİL, Aynur GÜLANBER, Fatmanur ŞAHPAZ, Şakir PEHLİVAN

SB76. Türkiye'de Doğal Olarak Yaşayan Çeşitli Yabani Hayvanlardan Kan Emen Keneler ve Bu Kenelerdeki Kene-Kaynaklı Patojenlerin İdentifikasyonu: *Theileria capreoli*, *Hepatozoon ursi* ve *Candidatus Rickettsia barbariae*'nin Türkiye'deki İlk Bildirimleri
Ömer ORKUN, Hasan EMİR

SB77. Türkiye'deki Küçük Ruminantlarda Kene ile Bulaşan Patojenler
Nazir DUMANLI, Mehmet Fatih AYDIN

SB78. Bursa ve Çevresindeki Yabani Kuşlarda Tespit Edilen Dış Parazitler
Oya GİRİŞGİN, Ahmet Onur GİRİŞGİN

SB79. Kayseri Yöresinde Yaygınlık Gösteren Hamam Böceklerinin (Insecta: Blattaria) Filogenetik Karakterizasyonu
Fatma CEVAHİR, Önder DÜZLÜ



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09

SB73

02 Ekim 2019 – 13:30-14:30

***Hyalomma marginatum* (Acari: Ixodidae)'un Mitokondriyal Genom Karakterizasyonu**

Arif ÇİLOĞLU, Abdullah İNCİ

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-posta: arifciloglu@gmail.com

Amaç: Bu çalışmada hem insan hem de hayvan sağlığı açısından oldukça önemli hastalıklara vektörlük yapan *Hyalomma marginatum*'un mitokondriyal genomunun yeni nesil dizileme yöntemiyle (NGS) elde edilmesi ve karakterizasyonunun yapılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Morfolojik identifikasyonla *H. marginatum* olduğu belirlenen bir adet ergin dişi kene örneğinin genomik DNA (gDNA) izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen gDNA izolatu, mitokondriyal genomun amplifiye edilebilmesi amacıyla dizayn edilen spesifik primer çiftleri ile Long-range PCR analizlerine tabii tutulmuştur. Analizler sonucu mitokondriyal genomun ikisi forward ve ikisi reverse olmak üzere toplam dört farklı primer ile iki parça halinde ve çakışan fragmentler şeklinde amplifikasyonu sağlanmıştır. Elde edilen PCR ürünleri, Nextera XT DNA Library Preparation Kit (Illumina, ABD) kullanılarak dizileme kütüphanesi hazırlama işlemine tabii tutulmuştur. Dizileme kütüphanelerinin oluşturulması aşamasında kite ait üretici firmanın protokolü takip edilmiştir. Elde edilen DNA kütüphanesi, MiSeq (Illumina, ABD) platformunda analiz edilmek üzere üretici firmanın sekanslama kartuşuna yüklenmiştir. Daha sonra kartuş, MiSeq cihazına yerleştirilmiş, gerekli komutlar ve parametreler sisteme girildikten sonra sistem çalıştırılarak dizileme işlemi başlatılmıştır. Dizileme işlemi sonunda örneğe ait ham mitokondriyal genom DNA verileri alınmış ve bu veriler Geneious Prime programına aktarılarak analiz edilmiştir.

Bulgular: İç içe geçmiş 7521 bp ve 7247 bp'lik alanları amplifiye edebilecek şekilde dizayn edilmiş primer çiftleri ile yapılan Long-range PCR analizleri sonucunda, hedef bölgelerin amplifikasyonu başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. NGS sonucu MiSeq platformundan alınan ham veriler düzenlenmiş ve kalite skorları ≥ 20 olan, 50-301 bp uzunluğuna sahip toplam 686.082 sekans elde edilmiştir. Bu sekanslar, GenBank veri tabanında mevcut olan *H. asiaticum* mitokondriyal genomu (MF101817) ile "Map to Reference" uygulaması kullanılarak birleştirilmiştir. Bu işlem sonucunda, *H. marginatum*'un, ortalama 7900X coverage ile referans olarak kullanılan genoma uygun ve düzgün bir şekilde sıralanmış 14.764 bp uzunluğundaki mitokondriyal genomu elde edilmiştir. Gen anotasyonları sonucunda, elde edilen mitokondriyal genomun iki ribozomal RNA (rRNA) geni, 22 transfer RNA (tRNA) geni, 13 protein kodlayan gen (toplam 37 gen) ve kontrol bölgeleri şeklinde yapılandığı belirlenmiştir. Bununla birlikte *H. marginatum* mitokondriyal genomunun AT içeriğinin zengin (%79,8), GC içeriğinin ise düşük olduğu (%20,2) tespit edilmiştir.

Sonuç: Bu çalışma ile *H. marginatum*'a ait mitokondriyal genom, Dünya'da ilk kez ortaya konarak biyoinformatik yazılımlarla kapsamlı karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Dizayn edilen primerler, protokoller ve uygulanan biyoinformatik analizler kapsamında ön araştırma niteliğinde olan bu çalışma, gelecekte aynı veya farklı soylarda yer alan keneler üzerinde planlanan mitokondriyal genom ve popülasyon genetiği araştırmaları için bir model oluşturacaktır.

Anahtar Kelimeler: Kene, Long-range PCR, mitokondriyal genom, yeni nesil dizileme



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09

SB74

02 Ekim 2019 – 13:30-14:30

Kene Aşısı Adayı Plazminojen Reseptörü Enolase'ın *Hyalomma marginatum* ve *H. anatolicum*'da Moleküler Karakterizasyonu ve Ekspresyonu

**Gamze YETİŞMİŞ¹, Alparslan YILDIRIM¹, Münir AKTAŞ², Önder DÜZLÜ¹, Arif ÇİLOĞLU¹,
Zuhal ÖNDER¹, Emrah ŞİMŞEK³, Abdullah İNCİ¹**

¹Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, KAYSERİ;

²Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, ELAZIĞ;

³Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, KAYSERİ

E-posta: gamzeyet@hotmail.com

Amaç: Multi fonksiyonel bir protein olan enolase, plazminojen reseptörü olarak etki gösterip kenenin beslenmesi sırasında pıhtılaşma şekillenmesini engelleyen fibrinolysis'de görev almaktadır. Dolayısıyla bu proteini kodlayan gen üzerine araştırmalar, kene kontrolü için aşı adayları olabilecek potansiyel hedef antijen geliştirilmesi noktasında oldukça önemli görülmektedir. Buna karşın günümüze kadar enolase sınırlı sayıda kene türünde karakterize edilmiş olup, ülkemiz için önemli vektör türleri olan *Hyalomma marginatum* ve *H. anatolicum* için herhangi bir veri dünya literatüründe ve gen veri tabanlarında bulunmamaktadır. Bu çalışmada Kayseri yöresinden izole edilmiş *H. marginatum* ve *H. anatolicum* türlerine ait ergin kenelerde enolase geninin bakteriyel ekspresyon sistemine klonlanarak ekspresye ve karakterize edilmeleri, antijenik profillerinin ortaya çıkarılması ve aşı adayları olabilecek rekombinant antijenlerin elde edilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada Kayseri yöresinden izole edilip morfolojik analizlerle *H. marginatum* ve *H. anatolicum* olarak tanımlanmış olan ve cryobankta muhafaza edilen toplam üç adet ergin dişi kene kullanılmıştır. Örneklerin ön homojenizasyon işlemlerinden sonra total RNA ve sonrasında cDNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. İlgili türlerde enolase geninin amplifikasyonu amacıyla optimum primer dizaynı için gen veri tabanlarında diğer kene türlerine ait mevcut sekanslar referans alınarak ön çalışmalar yürütülmüş ve optimum primer dizaynı yapılarak hedef gen bölgeleri uygun amplifikasyon koşullarında PCR'da çoğaltılmıştır. Elde edilen ampliconlar agaroz jel üzerinden saflaştırılmıştır. Enolase sekanslarının eldesi için ilgili pürifiye ampliconlar pJET 1.2 plazmit vektörüne CloneJET PCR cloning kit (Thermo Fisher Scientific) kullanılarak klonlanmış ve katı besi yerinde belirlenen kolonilerden rekombinant plazmid DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Rekombinant plazmidler spesifik primerlerle çift yönlü olarak sekanslanmış ve kromatogramlar De Novo Assemble üzerinden işlenerek hedef insert sekanslar vektör plazmid DNA'sı içerisinde çıkarılmış ve konsensüs sekanslar elde edilmiştir. Elde edilen dizilimlerin gen veri tabanlarındaki mevcut enolase sekansları ile filogenetik ilişkileri araştırılmıştır. Tüm bu araştırmalar sonucu *H. marginatum* ve *H. anatolicum* için karakterize edilen enolase geninin ekspresye ettiği proteinlerin rekombinant olarak eldesi için çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Enolase geninin bakteriyel ekspresyon sistemine aktarımı için pLATE52 ekspresyon vektörüne (Thermo Scientific) klonlanması yapılmıştır. Elde edilen rekombinant plazmidler *E. coli* kompetent BL21 (DE3) hücrelerine transforme edilerek optimum koşullarda ekspresyon çalışmaları yürütülmüş ve ekspresyon etkinliği SDS-PAGE ve Western Blot analizleri ile belirlenmiştir. Ekspresye



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

edilen rekombinant enolase proteinleri afinite kromatografi kullanılarak saflaştırılmış ve immun reaktiflikleri Western Blot analizleri ile tespit edilmiştir.

Bulgular: Çalışmada her iki kene türü içinde elde edilen cDNA izolatlarında enolase geninin dizayn edilen primerlerle PCR'da amplifiye edilmesi sonucu 1317 bp büyüklüğünde ampikonlar saptanmıştır. Pürifiye ampikonların klonlanması sonucu ilgili izolatlara ait açık okuma çerçevesi (ORF) sekanslarının 1302 bp uzunluğunda olduğu ve 433 aa uzunluğunda bir proteini kodladıkları belirlenmiştir. Çalışmada *H. marginatum* ait iki izolatın (HmenoTR1-2) nükleotid sekansları arasında %0,1'lik bir farklılık belirlenirken, ilgili izolatların *H. anaticum* izolatı (HaenoTR1) ile %1,3 genetik farklılık gösterdikleri tespit edilmiştir. HaenoTR1 izolatı GenBank'ta mevcut olan *H. excavatum* (GEFH01000580) ve *Haemaphysalis flava* (KM191327) izolatlarıyla sırasıyla %0,5 ve %16,9 genetik farklılık gösterirken HmenoTR1-2'in ilgili izolatlarla %1,3 ve %17,2 farklılık gösterdikleri belirlenmiştir. ORF amino asit sekanslarının hizalama analizlerinde *Hyalomma* soyu içerisinde identiklik oranı %99,8-100 belirlenirken, *Haemaphysalis flava* (KM191327) amino asit sekanslarıyla yaklaşık %10 farklılık saptanmıştır. İlgili izolatlara ait amino asit sekanslarının in-silico analizlerde enolase geninin 47,043 kDa büyüklüğünde proteini eksprese ettiği, bu proteinin sitoplazmik olduğu ve transmembran bölge içermediği tespit edilmiştir. Ayrıca ilgili ORF sekansları içerisinde uzunluğu 6-20aa arasında değişen 19 antijenik bölge olduğu belirlenmiştir. İlgili izolatlara ait enolase genlerinin pLATE52 ekspresyon sistemine klonlanması sonrasında elde edilen rekombinant plazmitlerin *E. coli* kompetent BL21(DE3) hücrelerine transformasyonu ve ekspresyonu sonrasında yapılan SDS-PAGE analizlerinde in-silico analiz sonuçlarına paralel olarak yaklaşık 47kDa'luk protein jel üzerinde görüntülenmiştir. İlgili rekombinant protein afinite kromatografide HisTrap FF crude (GE Healthcare) kolonları kullanılarak saflaştırılmış ve pürifiye rekombinant antijenin immun-reaktifliği Western-Blot analizleriyle gösterilmiştir.

Sonuç: Bu çalışma ile Türkiye'de insan ve hayvan sağlığı açısından önem arz eden ve vektörlük potansiyeli yüksek olan *H. marginatum* ve *H. anaticum* için vektör aşı adayları antijenler arasında önem arz eden enolase ilk kez karakterize edilmiş ve filogenetik yapısı ortaya çıkarılmıştır. Model ve ön araştırma niteliğinde olan bu çalışma kene kontrolünde biyoteknolojik aşı geliştirilme çalışmalarına katkı sağlayacaktır. Aşı adayları enolase antijenini kodlayan genlerin Türkiye'de yayılış gösteren başta *Hyalomma* soyundaki keneler olmak üzere, kene popülasyonlarında araştırılması, genetik analizler sonucu immunizasyon denemeleri ile etkinlik değerlendirmeleri üzerine kapsamlı yeni proje çalışmaları planlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Ekspresyon, enolase, *H. marginatum*, *H. anaticum* kene aşısı, moleküler karakterizasyon



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09

SB75

02 Ekim 2019 – 13:30-14:30

Species of Ticks Collected From Patients Coming to The Pediatric Emergency Department of Denizli State Hospital

Miray TÜRK¹, Meral TÜRK², İsmail EFİL¹, Aynur GÜLANBER¹, Fatmanur ŞAHPAZ¹, Şakir PEHLİVAN¹

¹İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, İSTANBUL;

²Denizli Devlet Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarı, DENİZLİ

E-mail: turk_miray@hotmail.com

Aim: The aim of this study is to determine the demographic characteristics of the patients admitted to the pediatric emergency department of Denizli State Hospital due to a tick bite, to evaluate the follow-up results and to determine the characteristics of the ticks and species distinctions.

Method: The removed ticks were identified morphologically and most of them were belonging to the *Ixodidae* family.

Results: The most common cases were the ticks belonging to the *Hyalomma* line (91%) and these ticks were the most common nymphal stages. *Hyalomma marginatum* (40%) was the most common species in adult ticks which most frequently affect humans.

Conclusion: This study supports the fact that it is more appropriate not to hospitalize and not to have laboratory analysis in patients who underwent tick removal therapy. In fact, it is better to apply to the health institution in case of complaints are developed such as sudden fever, headache, intense weakness, nausea, vomiting within 10 days as suggested by Ministry of Health.

Anahtar Kelimeler: Tick, *Hyalomma*



Türkiye’de Doğal Olarak Yaşayan Çeşitli Yabani Hayvanlardan Kan Emen Keneler ve Bu Kenelerdeki Kene-Kaynaklı Patojenlerin İdentifikasyonu: *Theileria capreoli*, *Hepatozoon ursi* ve *Candidatus Rickettsia barbariae*’nin Türkiye’deki İlk Bildirimleri

Ömer ORKUN¹, Hasan EMİR²

¹Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, ANKARA; ²Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü, Yaban Hayatı Dairesi Başkanlığı, ANKARA

E-posta: omerorkun@yahoo.com.tr

Amaç: Yabani hayvanlar kene-kaynaklı mikroorganizmaların enzootik sikluslarında hem konak/rezervuar rolü oynayarak hem de vektör kenelerin yaşam siklusunda uygun konaklık vazifesi görerek önemli yer tutarlar. Bundan dolayıdır ki kene-kaynaklı hastalıklara karşı etkin mücadelede yabani hayattaki kenelerin ve bu kenelerin taşıdıkları patojenlerin belirlenmesi esastır. Bu araştırmada; Ankara, Bolu ve Kırşehir illerinde doğal olarak yaşayan bazı yabani hayvanlardan elde edilmiş kenelerin belirlenmesi ve bu kenelerdeki birtakım kene-kaynaklı mikroorganizma varlığının moleküler olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada, 2016-2018 yılları arasındaki farklı zaman dilimlerinde elde edilmiş Kızıl geyik (*Cervus elaphus*) (n=1), Boz ayı (*Ursus arctos*) (n=1), Kurt (*Canis lupus*) (n=2), Kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) (n=2), Yaban tavşanı (*Lepus europaeus*) (n=1) ve tosbağa (*Testudo graeca*) (n=1)’dan toplanmış keneler morfolojik olarak tanımlanmış ve bu kenelerden bireysel olarak DNA ekstraksiyonları yapılmıştır. Elde edilen DNA örnekleri birtakım kene-kaynaklı patojenlerin (*Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Hepatozoon/Hemolivia* spp., *Rickettsia* spp. ve *Theileria* spp.) varlığı yönünden PCR analizleri gerçekleştirilmiş ve pozitif örnekler sekanslanmıştır. Elde edilen DNA dizimleri ve GenBank’ta kayıtlı diğer sekanslar ile uygun matematiksel modeller kullanılarak bu çalışmada tanımlanmış etkenlerin filogenetik analizleri yapılmıştır.

Bulgular: Geyik, ayı, kurt, tilki, tavşan ve tosbağadan toplamda 92 kene elde edilmiştir. Bu kenelerden doymuş haldeki bir dişi yumurtlatılmış ve bunlardan 30 aç larva da çalışmaya dahil edilerek toplamda 122 kene analiz edilmiştir. Keneler morfolojik olarak tür bazında tanımlanmış olup: geyikten *Hyalomma excavatum* (n=12) ve *Rhipicephalus turanicus* (n=2); ayıdan *Rh. turanicus* (n=3) ve *Hyalomma marginatum* (n=1); kurtlardan *Haemaphysalis parva* (n=7) ve *Dermacentor reticulatus* (n=1); tilkilerden *Rh. turanicus* [n=15, bunlardan bir dişi yumurtlatılmış ve aç larvalarından 30 tanesi (1 örnek olarak) çalışmaya dahil edilmiştir] ve *Ha. parva* (n=1); tavşandan *Rh. turanicus* (n=39) ve *Ha. parva* (n=4); tosbağadan ise *Hyalomma aegyptium* (n=7) varlığı tespit edilmiştir. Toplanan bu kenelerden elde edilen DNA örnekleri kene-kaynaklı patojenlerinin varlığı yönünden PCR-sekans analizleri yapılarak araştırılmıştır. Moleküler analizler neticesinde: Kızıl geyikten toplanan 1 *H. excavatum* ve 1 *Rh. turanicus* kenelerinde *Theileria capreoli*; Boz ayıdan toplanan 1 *Rh. turanicus* ve 1 *H. marginatum* kenelerinde *Hepatozoon ursi*; kurtlardan toplanan 3 *Ha. parva*’da *Hepatozoon* sp. ve *Rickettsia hoogstraalii* miiks olarak;



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

tilkilerden toplanan 2 *Rh. turanicus*'da *Babesia* sp. tavsan2, 4 *Rh. turanicus*'da *Hepatozoon canis* (bunlardan 2 *Rh. turanicus*'da *Babesia* sp. tavsan2 ile *H. canis* miks olarak bulunmuştur) ve 1 *Ha. parva*'da *H. canis* ve *R. hoogstraalii* miks olarak; tavşandan toplanan kenelerden 1 *Rh. turanicus*'da *Babesia* sp. tavsan2, 1 *Rh. turanicus*'da *Candidatus Rickettsia barbariae* ve 1 *Ha. parva*'da *R. hoogstraalii*; tosağadan toplanan 2 *H. aegyptium*'da ise *Hemolivia mauritanica* varlığı tespit edilmiştir. Buna karşın hiçbir kene örneğinde *Borrelia burgdorferi sensu lato* ve *Anaplasma* spp. varlığına rastlanmamıştır.

Sonuç: Bu araştırmada tespit edilen *Theileria capreoli*, *Hepatozoon ursi* ve *Candidatus Rickettsia barbariae* türlerinin Türkiye'deki varlıkları ilk defa rapor edilmiştir. Bunun yanında, yaban tavşanlarında genetik olarak karakterize edilmiş *Babesia* sp. tavsan2'nin varlığı da ilk defa bir kene türünde (*Rh. turanicus*) tespit edilmiştir. Ek olarak daha önce Türkiye'deki köpeklerin kanında tespit edilmiş olan bir *Hepatozoon* sp. genotipi ilk defa bir kene türünde (*Ha. parva*) tespit edilmiş olup bu genotipin kurtlar ile potansiyel ilişkisi gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Keneler, Kene-kaynaklı patojenler, Yaban hayatı, *Theileria capreoli*, *Hepatozoon ursi*, *Candidatus Rickettsia barbariae*, Türkiye



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09

SB77

02 Ekim 2019 – 13:30-14:30

Türkiye'deki Küçük Ruminantlarda Kene ile Bulaşan Patojenler

Nazir DUMANLI¹, Mehmet Fatih AYDIN²

¹Kırgızistan Türkiye Manas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, BİŞKEK, KIRGIZİSTAN;

²Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, KARAMAN

E-posta: ndumanli2@yahoo.com

Keneler ve kene kaynaklı hastalıklar hayvan yetiştiriciliği açısından önemli sorunlara neden olmaktadır. Türkiye uygun iklim koşullarına ve çok çeşitli hayvan nüfusuna sahip olduğundan, son yıllarda Türkiye'de kene kaynaklı hastalıklar artmıştır. Koyun ve keçi yetiştiriciliği, ulusal ekonomide önemli bir yer tutmaktadır. Türkiye'deki küçük ruminantlarda kene ile nakledilen başlıca patojenler; *Babesia ovis*, *B. motasi*, *B. crassa*, *Babesia* sp., *Theileria ovis*, *T. uilenbergi*, *T. luwenshuni*, *Theileria* sp. MK, *Theileria* sp. OT1, *Theileria* sp. OT3, *Anaplasma ovis* ve *A. phagocytophilum*'dur. Coğrafik bölge, il, konak, incelenen hayvan sayısı, örnekleme tekniği, örnekleme yılı ve teşhis metodu açısından koyun ve keçilere kene ile bulaşan önemli patojenler kronolojik olarak özetlenmiş ve Türkiye'deki mevcut durum sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler Keçi, kene, koyun, patojen, Türkiye



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09

SB78

02 Ekim 2019 – 13:30-14:30

Bursa ve Çevresindeki Yabani Kuşlarda Tespit Edilen Dış Parazitler

Oya GİRİŞGİN¹, Ahmet Onur GİRİŞGİN²

Bursa Uludağ Üniversitesi, ¹Karacabey M.Y.O., Karacabey; ²Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, Nilüfer, BURSA
E-posta: oyagirisgin@gmail.com

TAM METİN

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, Bursa ve çevre illerden elde edilen yabani kuşlar üzerinde 2013 ve 2018 yılları arasında yapılan çalışmayla, toplam 188 yabani kuş üzerindeki dış parazitlerin araştırılması amaçlanmıştır

Yöntem: Bu amaçla, beyaz bir zemin üzerine alınan her kuşun üzerine bir insektisit uygulanmış, düşen parazitler toplanarak %70 alkol içeren tüplere alınmıştır. Örnekler %10'luk potasyum hidroksitte 24 saat bekletilmiş, Kanada balzamu ile preparat yapılarak veya direk olarak ışık / stereo mikroskop altında teşhis edilmişlerdir.

Bulgular: Toplamda 38 bit türü, iki sinek türü ve üç kene türü tespit edilmiş; incelenen yabani kuşların 88'i (%46,8) en az bir dış parazitte enfeste bulunmuştur. Kuşlarda en yüksek oranda bitler bulunmuş (%40,4); bunu akarlar (%10,6), sinekler (%2,1) ve keneler (%2,1) izlemiştir.

Sonuç: Yapılan çalışmayla, teşhis edilen dış parazitlerin bir kısmı, daha önce Türkiye'de yapılan çalışmalarda türlerle benzer çıkmışken, bazı türler ülkemiz için ilk kayıtlar olarak kaydedilmiştir. Bitlerden; ekin kargalarında *Colpocephalum fregili*, gri balıkçıda *Ciconiphilus decimfasciatus*, küçük balabanda *Ardeicola ixobrychae*, çullukta *Saemonssonsonia clayae*, saztavuklarında *Fulicoffula gallinule* ve *Pseudomenapon pilosum*; sineklerden ise saksaganlarda *Ornithophila metallica* Türkiye'de ilk defa bildirilmektedir. Akarların teşhisleri devam etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Dış parazit, vahşi kuş, bitler, sinekler, akarlar, keneler, Türkiye

Ectoparasites of Wild Birds in and Around Bursa

SUMMARY

Aim: Turkey has lots of wild birds either residential or migratory species. A survey was carried out to investigate the ectoparasites of totally 188 wild birds were examined between the years 2013 and 2018, which collected from the north-west part of Turkey.

Methods: To sample for the presence of ectoparasites, an insecticide was pulverised on the feathers of each bird over a white piece of paper, and then all of the fallen parasites were collected and placed in tubes containing 70% alcohol. Specimens were cleared in 10% KOH for 24 hours, mounted in Canada balsam and identified using a light or stereo microscope.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Results: In total, 38 louse species, two fly species and three tick species determined and 88 (46.8%) wild birds were ectoparasite-positive with at least one species. Louse species had the highest prevalence (40.4%) followed by mites (10.6%), flies (2.1%) and ticks (2.1%) infesting the birds.

Conclusion: The survey presented herein is nearly consistent with previous parasitological studies conducted on the ectoparasites of wild birds in Turkey, except for the occurrence of *Colpocephalum fregili* in rooks; *Ciconiphilus decimfasciatus* in grey heron, *Ardeicola ixobrychae* in little bittern, *Fulicoffula gallinule* and *Pseudomenapon pilosum* in common moorhens; and *Ornithophila metallica* in common magpies. Also, identification of mite species is being conducted currently.

Key Words: Ectoparasite, Phthiraptera, Ixodoidea, Acarina, Diptera, wild birds, Turkey

GİRİŞ

Kuşlar, hayatlarını tehdit edebilecek birçok dış parazit tarafından enfeste olabilmektedir. Dış parazitler tüy hasarı, davranışların ve termoregülasyonun bozulması; yavruların yaşaması, çiftleşme başarısı ve gelişmenin azalması gibi zararlar vermektedir. Bit, akar, sinek, pire ve diğer kan emen parazitlerle oluşan ağır enfestasyonlar, kuşlarda özellikle yavrularda bazı hastalıklara ve hatta ölümlere neden olabilmektedir (1 - 4).

Türkiye’de şimdiye kadar 448 adet yabancı kuş türü belirlenmiştir ve bunların bir kısmı göçmendir. Bu kuşlar Türkiye’yi yaz yerleşimi olarak veya göç yolunda dinlenme alanı olarak kullanmaktadır. Bursa ili göçmen kuşların göç yolları üzerinde bulunur ve sınırları içinde dört adet önemli kuş alanı bulunmaktadır (5, 6).

Türkiye’deki yabancı kuşlarda yüzlerce dış parazit türü bildirilmiştir fakat bunların çoğu bit ve akar türlerine aittir ve çalışmalar genelde Orta Anadolu’da yapılmıştır (7 - 12). Yabancı kuşlarda bit ve akar türleriyle yapılan çalışmaların yoğunluğuna rağmen, kenelerle ilgili birkaç (13 - 15), sineklerle ilgili ise tek çalışma (16) vardır.

Bu çalışmayla, daha çok Marmara Bölgesinde bulunan, göçmen veya kalıcı yabancı kuşlardaki dış parazit türlerinin tespiti ve dağılımlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Ocak 2013 – Şubat 2018 tarihleri arasında Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesinde gerçekleştirilmiştir. Üniversite Etik Kurul ve Bakanlık çalışma izinleri temin edilmiştir. Yöre halkı veya veteriner hekimler tarafından tıbbi yardıma muhtaç halde hastaneye getirilen yabancı kuşlar, dış parazit muayenesi öncesi ayrı yerlerde tutulmuş ve muhtemel parazit bulaşması önlenmiştir.

Yabancı kuşların çoğu Bursa’nın kırsal veya şehirleşmiş bölgelerinden getirilmiştir. Bursa’ya yakın illerden getirilen kuşlar da, Kuzey-batı Anadolu’yu temsil etmesi bakımından çalışmaya dâhil edilmiştir. Bu iller Marmara Bölgesinden Balıkesir ve Bilecik; Karadeniz Bölgesinden Bolu ve Zonguldak’tır. Toplam beş ilden getirilen kuşlar üzerinde çalışma yürütülmüştür.

Kırk üç tür, 36 cins, 26 aile ve 17 diziden toplam 188 yabancı kuş dış parazitleri yönünden muayene edilmiştir. Kuş teşhislerini (17) takiben, kuşlar bireysel olarak tabanında beyaz kâğıt bulunan kutu/kafeslere alınmışlar, %0,09 tetrametrin ve %0,45 piperonil butoksit karışımı içeren ticari ürün kuşlara sprey şeklinde uygulanmıştır (18). On beş dakika sonra tabana düşen parazitler toplanmış, ayrıca kuşun kanatları, kafa-boyun-kuyruk bölgesi de tüyler aralanarak gözle muayene edilmiştir (19). Gözden kaçabilecek akarlar için, beyaz kâğıt daha sonra laboratuvarında stereo-mikroskop altında tekrar muayene edilmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Enfeste kuşlardan toplanan dış parazitler %70'lik etil alkol içeren deney tüplerine alınmış ve mikroskop muayenesine kadar muhafaza edilmişlerdir. Laboratuvarında bit ve akarlar %10'luk KOH solüsyonunda 24 saat bekletilmiş, daha sonra saf suyla yıkanıp alkol serilerinden geçirilerek Kanada balzamıyla kalıcı preparat haline getirilmişlerdir. Kene ve sinek numuneleri ise stereo mikroskop altında sabitlenerek muayene edilmiştir. Tüm dış parazitlerin teşhisleri ilgili kaynaklar kullanılarak morfolojilerine göre yapılmıştır.

BULGULAR

Çalışma boyunca 43 türe ait 188 adet yabancı kuş dış parazitler yönünden incelenmiştir. Bunlardan 21 türe ait 71 kuş (%37,7) göçmen, 22 türe ait 117 kuş (%62,2) ise kalıcı kuşlardır. Toplamda 27 türe ait 88 adet yabancı kuş (%46,8) en az bir dış parazit türü ile enfeste bulunmuştur. Her enfeste kuş için ortalama parazit sayıları bitler için 8,3; kene ve sinekler için 1,0 olarak hesaplanmıştır.

Enfeste kuşlardan toplam olarak 38 bit türü, üç kene türü ve iki sinek türü teşhis edilmiştir. Bu kuşlarda en yüksek dış parazit dağılımı %40,4 ile bitlerde olmuş, daha sonra sırasıyla akarlar (%10,6), sinekler (%2,1) ve keneler (%2,1) gelmiştir. Bit türleri içerisinde *Ciconiphilus quadripustulatus* en yüksek ortalama yoğunluğa (62,0) sahiptir.

Teşhisler içinde, bit türlerinden *Colpocephalum fregili*, *Pseudomenapon pilosum*, *Fulicoffula gallinula*, *Ciconiphilus decimfasciatus*, *Ardeicola ixobrychae* ve *Saemondsonia clayae* örnekleri Türkiye için ilk parazit kayıtlarıdır. Kenelerden *Haemaphysalis punctata*, *Ixodes sp.* (larva) ve *Rhipicephalus sp.* (nimf) türleri teşhis edilmiştir. Toplanan akarların teşhisi ise halen devam etmektedir.

Göçmen veya kalıcı kuşlar arasındaki dış parazit dağılımına bakıldığında, enfestasyonun kalıcı kuşlarda daha yüksek olduğu (52/88; 59.09%) görülmektedir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Tüm dünyada yabancı kuşların dış parazitleri ile ilgili çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Fakat bunların çoğu genelde bit türleriyle yapılan dizi tabanlı çalışmalardır. Bunun sebebi olarak, diğer dış parazitlere göre bitlere daha sık rastlanması gösterilebilir. Bizim de daha önceki ön çalışmamız (7) bitlere yönelik yapılmış, farklı dizilerde dış parazitlere de rastlandığı için çalışmanın genişletilmesine ve tüm dış parazitlere yönelik bir çalışma yapılmasına karar verilmiştir.

Kuşlardaki dış parazitler konakları üzerinde ciddi tehditler meydana getirebilmektedir. Kuşların gelişimi, üremesi, davranışları veya yaşam sürelerini olumsuz yönde etkileyebilmektedir (1 - 4). Dış parazit enfestasyonlarının kuşlar üzerindeki dinamiği; birbirleriyle temas durumu, mevsimsel değişiklikler, göçmen olup olmadıkları gibi koşullara göre değişebilmektedir. Göçmen kuşlardaki enfestasyonlar, onların zorlu göç yolculukları nedeniyle fazladan bir risk oluşturmaktadır. Çalışmamızda kalıcı kuşlardaki enfestasyon oranı göçmenlere göre daha yüksek (%59,09) olmasına rağmen, veriler değişken olabilmektedir ve bu veri belirgin kabul edilmeyebilir.

Türkiye'deki yabancı kuşlarda daha çok bit türlerine yönelik çalışmalar yapılmışken (8 - 10, 20), akarlar (11, 12), keneler (13 - 15) ve sinekler üzerine de (16) bazı çalışmalar bulunmaktadır.

Hippoboscidae ailesindeki sinekler konağının kanını emmekte ve Haemoproteosis gibi hastalıklara veya anemiye sebep olabilmektedir. Çalışmamızda düşük bir oranda da olsa (%2,1) bazı kuşlarda bu sinekler tespit edilmiştir. Teşhis edilen bu sineklerin çoğu, daha önce ülkemizden bildirilen ve genelde evcil güvercinlerden toplanan türle aynıdır. Çalışmamızda kaya güvercinlerinden elde edilen yaygın tür *Pseudolynchia canariensis* dışında, bir saksığandan *Ornithophila metallica* türü az yaygın bir sinek de bulunmuştur.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Yabani kuşlardaki kene enfestasyonları, muayene sırasında bazen görülebilmektedir. Çalışmamızdaki düşük yaygınlık oranı (%2,1), Türkiye’de yapılan diğer çalışmalarda bulunan %0,72 (15), %0,5 (13) gibi oranlarla uyumlu sayılabilir.

Kuşlarda parazitik ve tüy akarları olmak üzere iki sınıf akar bulunmaktadır ve çalışmamızda her iki sınıf da tespit edilmiştir. Akarlar kuş yuvalarından da köken alabilir ve bulaşabilir, fakat çalışmamızda sadece kuşlar üzerindeki akarlar araştırılmıştır. Tür teşhisleri devam etmektedir.

Sonuç olarak uzun süreli bu çalışmamız, kuzeybatı Türkiye’deki göçmen veya kalıcı yabani kuşların, dış parazit enfestasyonları hakkında değerli bilgiler ve yeni coğrafi / konak kayıtları ile sonuçlanmıştır. Bulunan parazit türleri dizi tabanlı olarak ayrı ayrı değil tek bir çalışmada bir arada sunulmuştur. Bulgularımız, ilgili alanlardaki kuş çalışmalarına önderlik edebilecektir.

KAYNAKLAR

1. Loye, J.E. and Carroll, S.P. (1991). Nest ectoparasite abundance and cliff swallow colony site selection, nestling development, and departure time. In Bird-parasite interactions: Ecology, evolution and behaviour, J. E. Loye and M. Zuk (eds.). Oxford University Press, Oxford, U.K., Pp. 221-241.
2. Moller, A.P. (1993). Ecto-parasites increase the cost of reproduction in their hosts. *Journal of Animal Ecology*, 62: 309-322.
3. Clayton, D.H. and Walther, B.A. (1997). Collection and Quantification of Arthropod parasites of Birds in: Clayton, D. H. and Moore, J. (eds). Host-parasite evolution: general principles and avian models. Oxford University Press, Oxford. Pp 419-440.
4. Clayton, D.H, Koop, J.A.H, Harbison, C.W, Moyer, B.R; Bush, S.E. (2010). How Birds Combat Ectoparasites. *The Open Ornithology Journal*, 3:41-71.
5. Magnin, G., Eken, G., Yarar, M., 2000. Turkey. In Heath, M.F., Evans, M.I. (Ed.), Important bird areas in Europe: Priority sites for conservation. 2: Southern Europe. Birdlife International (Birdlife Conservation Series No.8), Cambridge, UK, pp. 651-655.
6. Anonymus, 2018: Trakus: Turkey’s anonymous birds. Available at <http://www.trakus.org>. (Accessed 28 December 2018).
7. Girişgin AO, Dik B, Girişgin O. Chewing lice (Phthiraptera) species of wild birds in northwestern Turkey with a new host record. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 2, 217-221, 2013.
8. Dik B, Yamaç E, Uslu U. (2013). Studies on Chewing Lice (Phthiraptera: Amblycera, Ischnocera) Species from Domestic and Wild Birds in Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 19(4), 553-560.
9. Dik B, Per E, Erciyas-Yavuz K, Yamaç E. (2015). Chewing lice (Phthiraptera: Amblycera, Ischnocera) species found on birds in Turkey, with new records and a new host association. *Turk J Zool*, 39: 790-798.
10. Dik B, Erciyas-Yavuz K, Per E. (2017). Chewing lice (Phthiraptera: Amblycera, Ischnocera) on birds in the Kızılırmak delta, Turkey. *Revue de médecine vétérinaire*, 1(1):53-62.
11. Gürler, A.T., Mironov, S.V., Erciyas-Yavuz, K. Avian feather mites (Acari: Astigmata) of Samsun, Turkey. *Acarologia*, 2013, 53(1), 17-23.
12. Per E, Aktaş M. (2018) The monitoring of feather mites (Acari, Astigmata) of the Warbler (Aves: Sylviidae) species in the Kızılırmak delta, Samsun, Turkey. *Turk J Zool*, 42: 394-401.
13. Leblebicioğlu, H., Eroğlu, C., Erciyas-Yavuz, K., Hokelek, M., Acici, M., & Yılmaz, H. (2014). Role of migratory birds in spreading Crimean-Congo hemorrhagic fever, Turkey. *Emerging infectious diseases*, 20(8), 1331-1334.
14. Oğuz B, Değer S, Özdal N, Biçek K, Oruç-Kılınç Ö, Aslan L. (2015). The first case of *Rhipicephalus turanicus* from red hawk (*Buteo rufinus*) in Van. *Van Vet J*, 26(1): 39-41.
15. Keskin, A., & Erciyas-Yavuz, K. (2015). A Preliminary Investigation on Ticks (Acari: Ixodidae) Infesting Birds in Kızılırmak Delta, Turkey. *Journal of medical entomology*, 53(1), 217-220.
16. Erdem I, Zerek A, Yaman M. The first record *Pseudolynchia canariensis* (Diptera: Hippoboscidae) in an Eurasian eagle owl (*Bubo bubo* Linnaeus, 1758) in Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 25 (x): xxx-xxx, 2019. DOI: 10.9775/kvfd.2019.22882 (Baskıda)
17. Heinzel, H., Fitter, R., Parslow, J., 1995. Pocket guide to birds of Britain & Europe with North Africa & the Middle East. Harper Collins Publishers Ltd., UK.
18. Clayton, D.H, Drown DM. (2001). Critical evaluation of five methods for quantifying chewing lice (Insecta: Phthiraptera). *Journal of Parasitology*, 87(6), 1291-1301.
19. Mey, E., 2003. Bird collections—an essential resource for collecting ectoparasites, in particular chewing lice. *Bonner Zoologische Beiträge*, 51, 131-135.
20. Dik B, Yamaç, E. E., & Uslu, U. (2011). Chewing lice (Phthiraptera) found on wild birds in Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17(5), 787-794.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09

SB79

02 Ekim 2019 – 13:30-14:30

**Kayseri Yöresinde Yaygınlık Gösteren Hamam Böceklerinin (Insecta: Blattaria)
Filogenetik Karakterizasyonu**

Fatma CEVAHİR, Önder DÜZLÜ

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-posta: fcevahir@erciyes.edu.tr

Amaç: Bu çalışmada, Kayseri yöresinde yaygınlık gösteren hamam böceği türlerinin mitokondrial genler bazında filogenetik karakterlerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada hastane, çeşitli gıda işletmeleri ve evlerden toplanan hamam böceği örnekleri %70 etil alkol içerisinde alınarak uygun koşullarda laboratuvara intikal ettirilmiştir. Genotiplendirme ve filogenetik analizler için toplam 112 hamam böceği örneğinden bireysel genomik DNA (gDNA) izolasyonu yapılmıştır. DNA ekstraksiyonunu takiben izolatların moleküler tür identifikasyonları için small subunit ribosomal RNA (SSU rRNA) geninin 1775 bp kısmı PCR'da amplifiye edilmiş ve *AvaI* ve *EciI* enzimleriyle RFLP analizleri gerçekleştirilmiştir. PCR-RFLP sonuçlarına göre tür bazında gruplandırılan hamam böceği örneklerinin filogenetik analizleri için mitokondrial cytochrome c oxidase subunit I (mt-COI) DNA barkod bölgesi standart primerlerle amplifiye edilmiştir. Elde edilen ampikonlar saflaştırıldıktan sonra PCR primerleri ile çift yönlü olarak sekanslanmıştır. Sekans kromotogramları De Novo Assemble üzerinden işlenerek izolatlara ait konsensüs sekanslar elde edilmiştir. İlgili sekanslar GenBank veri tabanında Blastn analizlerine tabii tutularak moleküler identifikasyonları sağlanmış ve filogenetik analizler için elde edilen izolatlara ait sekansla birlikte Dünyanın farklı ülkelerinden GenBank veri tabanına kaydedilmiş izolatları içeren ve toplam 32 sekanstan oluşan mt-COI data seti oluşturulmuştur. Data set içerisinde haplotip çeşitliliği, inter ve intra spesifik nükleotid farklılıkları DNAsp ve Mega X üzerinden Kimura Two Parameter modeli ile analiz edilmiştir. Filogenetik ağaç oluşturulmasında maximum likelihood (ML) analizleri 1000 tekrarlı bootstrap kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen 112 hamam böceğinin 54 (%48,2), 45 (%40,2) ve 13'ü (%11,6) PCR-RFLP sonuçlarına göre sırasıyla *Blattella germanica*, *Blatta orientalis* ve *Periplaneta americana* türlerine ait oldukları saptanmıştır. İlgili türlere ait elde edilen mt-COI barkod gen bölgesi sekanslarının GenBank veri tabanındaki referans sekanslarla birlikte analizlerinde *B. germanica*, *Bl. orientalis* ve *P. americana* için sırasıyla 3 (TRERUBger1-3), 1 (TRERUBori1) ve 1 (TRERUPame1) olmak üzere toplam 5 haplotip tespit edilmiş (GenBank aksesyon: MK798137-MK798141) ve ortalama haplotip diversitesi 0.962 ± 0.017 belirlenmiştir. *B. germanica* haplotiplerine ait izolatların birbirleriyle %99,6-99,8 arasında identik oldukları görülmüştür. Mt-COI data set içerisinde intraspecific nükleotid farklılıkları *B. germanica*, *Bl. orientalis* ve *P. americana* için sırasıyla $1,0 \pm 0,2$, $0,4 \pm 0,1$, $2,4 \pm 0,5$ olarak saptanmıştır. İnterspecific nükleotid farklılıkları *B. germanica* ve *Bl. orientalis* arasında $22,7 \pm 2,5$, *B. germanica* ve *P. americana* arasında $24,6 \pm 2,5$, *Bl. orientalis* ve *P. americana* arasında da $14,5 \pm 1,8$ olarak belirlenmiştir. Mt-COI data setinin ML analizlerinde her üç türe ait sekansların monofiletik yapılanma gösterdiği tespit



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

edilmiştir. Filogenetik analizlerde *B. germanica* TRERUBger1-3 haplotiplerine ait izolatların ABD (KU543634), İran (JQ267496), Rusya (KR063252), Fransa (KU494084) ve Çin'den (KX962511) bildirilmiş izolatlarla daha yakın oldukları (%99,8-%100), *Bl. orientalis* TRERUBori1 haplotipine ait izolatların en yüksek identikliği %99,8 ile İspanya (AM114926), Fransa (EU253827) ve ABD (JX402723) izolatlarıyla gösterdiği, *P. americana* TRERUPame1 haplotipine ait izolatların ise ABD (KC617844, KU543637) ve Venezuela (KM577049) izolatlarıyla %100 identik olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TDK-2017-7760 kod numarasıyla desteklenen doktora tez çalışmasıyla Türkiye'de yayılış gösteren hamam böceği türlerinin Türkiye'deki popülasyonları için ilk DNA barkodları sağlanmış ve filogenetik yapılanmaları ortaya çıkarılmıştır. Vektörlük potansiyelleriyle insan ve hayvan sağlığı açısından önem arz eden hamam böceklerinin Türkiye'de yayılış gösteren popülasyonlarının genetik çeşitliliğinin ortaya çıkarılması için farklı coğrafyalardan daha fazla örneklem üzerinde araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Blatta orientalis*, *Blattella germanica*, DNA barkodlama, filogenetik karakterizasyon, hamam böceği, *Periplaneta americana*, Türkiye



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 10

02 Ekim 2019 - 14:30–15:30

Oturum Başkanları: Soykan ÖZKOÇ / Alparslan YILDIRIM

SB80. Laboratuvar Ortamında Tıbbi Larva (*Lucilia sericata*) Üretimi
Uğur USLU, Mustafa ŞAHİN, Onur CEYLAN, Ceylan İLHAN, Abdullah KÜÇÜKYAĞLIOĞLU

SB81. Kutanöz Leishmaniasise Karşı *Lucilia sericata* Proteinleri
Emrah ERDOĞAN, Serkan KARACA, Eda SIVCAN, Merve YÜRÜK

SB82. *Hypoderma bovis* Hypodermin A, B ve C Antijenlerini Kodlayan Genlerin Klonlanması, Gen Ekspresyonu ve Karakterizasyonu
Mübeccel OKUR, Alparslan YILDIRIM, Abdullah İNCİ

SB83. Tedaviye Dirençli Rozasea ve Akne vulgaris'de *Demodex* spp.'nin Rolü
Erdal POLAT, **Serhat SİREKBASAN**, Zekayi KUTLUBAY, İsmail ÇEPNİ

SB84. Farklı Popülasyonlarda Ciltten İzole Edilen *Demodex* spp. Sıklığının Araştırılması
Merih ŞİMŞEK

SB85. Üniversite Öğrencilerinde *Demodex* spp. Yaygınlığının Araştırılması: Sağlık Bilimleri Fakültesi Örneği
Neriman MOR, Sinem Naz SEVGİN

SB86. Kortikosteroid Kullanımı Oküler Demodikozis Tedavisini Nasıl Etkiler? Pilot Çalışma
Şerife AKKÜÇÜK, Özlem KAYA



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 10

SB80

02 Ekim 2019 – 14:30-15:30

Laboratuvar Ortamında Tıbbi Larva (*Lucilia sericata*) Üretimi

Uğur USLU¹, Mustafa ŞAHİN², Onur CEYLAN³, Ceylan İLHAN³, Abdullah KÜÇÜKYAĞLIOĞLU⁴

Selçuk Üniversitesi, ¹Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD; ²Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD; ³Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD; ⁴Selçuklu Belediyesi, Sağlık İşleri Müdürlüğü, KONYA

E-posta: uuslu@selcuk.edu.tr

Amaç: Bu çalışmanın amacı, steril 1. ve 2. dönem *Lucilia sericata* larvası üretmektir. Yeşil et sineği olarak da bilinen *Lucilia sericata* sineklerin larvaları, sadece ölü dokular ile beslenmesi ve yarayı temizlemesi Maggot Debridman Tedavisi (MDT) Biyocerrahi = Biyoterapi = Larva Tedavisi olarak bilinmektedir. Maggot Debridman Tedavi (MDT)'sinde sadece nekrotik dokulara saldıran *Lucilia sericata* (yeşil sinek)'nin genellikle 2 - 4 mm boyundaki I. ve II. dönem larvaları kullanılmaktadır.

Yöntem: *L. sericata*'nın yaşam çemberi yaklaşık 16 gündür. Yumurta, larva, pupa ve erişkin şekilleri vardır. Erişkin dişi sinekler üçer gün aralıklarla ortalama 225-250 adet yumurta yumurtlamaktadırlar. Kafeslerden yumurta almak için petri kutusu içinde tavuk karaciğerinden 10 gr bırakılır. 3 - 4 saat sonra toplanan yumurtalar 50 ml'lik test tüpüne aktarılır. Test tüpünde birbirine yapışık yumurtaları ayırmak ve steril etmek için, önce 0.05'lik 35 ml sodyum hipoklorit ve sonra %0,5'lik 35 ml formaldehit ile yumurtalar steril edilmektedir.

Bulgular: Yumurtalar, bir gece inkübe edildikten sonra birinci dönem larvalar çıkar. Larvalar, içerisinde karaciğer besi yeri bulunan 5 litrelik üzeri tülle kapalı olan tüplere konulur. Larvalar %45-50 nem ve 25 °C'de 5-6 gün içinde pupaya dönüşür. Toplanan 1000 adet pupa 30x50x30 cm boyutlarında üzeri tülle kaplı plastik kafeslere aktarılır. Pupadan 7-10 içinde erişkin sinek oluşur. Sinek kolonisi 8-10 gün sonra yumurta vermektedir. Sinek kolonisinin ömrü 2-2,5 aydır. Fakat, yumurta verimi 1,5 aydır. Steril larvalar 5-8 °C'de beş güne kadar canlılıklarını korurlar.

Sonuç: Steril 1. ve 2. dönem larvalar diyabetli ayak yaralarının tedavisinde kullanılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Larva, *Lucilia sericata*, Üretim, Konya



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 10

SB81

02 Ekim 2019 – 14:30-15:30

Kutanöz Leishmaniasise Karşı *Lucilia sericata* Proteinleri

Emrah ERDOĞAN, Serkan KARACA, Eda SİVCAN, Merve YÜRÜK

Erciyes Üniversitesi, ¹Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-posta: emrah@erciyes.edu.tr

Amaç: *Lucilia sericata*'yı tıbbi olarak önemli kılan larvalarının Maggot Debridman Tedavisi'nde kullanılmasıdır. Tüm kronik yaralarda dokuların polimikrobiyal flora ile kolonize olması iyileşmeyi geciktiren faktördür. Larvaların salgıladığı sekresyonların çeşitli anti-mikrobiyal ajanlar içerdiği bilinmektedir. Larvanın salgıladığı defensin bazlı bu peptitler; larvayı polimikrobiyal koloniden korurken aynı zamanda yara iyileşmesine de ilginç bir şekilde katkı sunmaktadır. Yakın zamanda tespit edilen ve anti-fungal etkiye sahip olan lucimycin, anti-bakteriyel etkileri ve özellikle dirençli gram (-)/(+) bakterilere etkilerinden dolayı kimotripsin ve lucifensin salgıları da son yıllarda önem kazanmıştır. Bu çalışmada, *L. sericata*'nın farklı hayat dönemlerinin ürettiği ve özellikle iyileşmeyen yaraların tedavisinde önemli defensin moleküllerinden olan lucimycin, kimotripsin ve lucifensin gen tabanlı füzyon proteinin rekombinant olarak üretilmesi ve bu füzyon proteinin kutanöz leishmaniasis etkeni *Leishmania tropica* ile enfekte BALB/c fareler üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: *L. sericata* larvaları, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD. laboratuvarında uygun nem ve sıcaklıkta steril ayrı bir oda içerisindeki inektaryumdan alınıp kullanıldı. Larvadan DNA izolasyonu, QIAamp Tissue Kits (QIAGEN, ABD) prosedürüne göre yapıldı. PCR çalışmalarına geçilmeden önce füzyon geni elde etmek için dizayn edilen primerlerin bazılarında kesim enzimi dizileri eklendi. Ayrıca kronik yara oluşturulması için 4 erkek ve 4 dişi Balb/c fare *L. tropica* ile çeşitli vücut bölgelerinden enfekte edildi. Elde edilen genomik DNA'dan lucimycin, kimotripsin ve lucifensin gen spesifik primerlerle PCR karışımları hazırlanıp gen bölgeleri PCR ile çoğaltıldı. PCR ürünlerinin klonlanmasında CloneJET PCR Cloning Kit (Thermo Scientific, ABD) kullanıldı. Klonlamalar öncesi ve sonrasında ürünler PCR tarama ve sekans analizleri ile mevcut gen bölgelerini içermeleri yönünden doğrulandı. Ayrıca dünyada diğer izolatlar ile karşılaştırmalı moleküler karakterizasyonları yapıldı.

Bulgular: Çalışmamızda; şu ana kadar yapışkan uçlu kesim enzim bölgelerini içeren lucimycin, kimotripsin ve lucifensin genleri ve klonlama ürünleri elde edildi. Bu genlerin moleküler karakterizasyonları sonucunda dünyadaki diğer izolatlarla benzer diziye sahip oldukları belirlendi.

Sonuç: İyileşmeyen yaralarda klinik enfeksiyonları tedavi için sistemik ve topikal antibiyotikler veya antiseptikler kullanılır. Bununla birlikte son yıllarda yürütülen çalışmalarda yara iyileşmesinde antibiyotiklerin istenilen sonucu desteklemediği belirtilmiştir. Antibiyotiğe cevap almamayan kronik yara tedavilerinde etkili stratejilerin desteklenmesine ve tanımlanmasına acil ihtiyaç duyulmaktadır. Karşılaşılan bu durum hekimleri alternatif olabilecek farklı alanlara yönelmelerine ve tedavi modalitelerine ilgi duymalarına neden olmaktadır. Çalışmamızın geri kalan bölümünde füzyon proteinin elde edilmesi, farelerde lezyon bölgelerine uygulanması ve etkinliğinin araştırılması planlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Lucilia sericata*, *Leishmania tropica*, balb/c fare, yara tedavisi, füzyon protein



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 10

SB82

02 Ekim 2019 – 14:30-15:30

Hypoderma bovis Hypodermin A, B ve C Antijenlerini Kodlayan Genlerin Klonlanması, Gen Ekspresyonu ve Karakterizasyonu

Mübeccel OKUR, Alparslan YILDIRIM, Abdullah İNCİ

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-posta: m.okurr@hotmail.com

Amaç: *Hypoderma* larvaları tarafından salgılanan chymo- trypsin familyasındaki hypodermin C ve trypsin familyasında yer alan ve ortak biyokimyasal özellikler taşıyan hypodermin A ve B, immunizasyon çalışmalarında ve seroloji tabanlı tanı teknikleri geliştirilmesinde önemli proteinler olarak bilinmektedir. Dolayısıyla bu proteinleri kodlayan gen üzerine araştırmalar, potansiyel hedef antijen geliştirilmesi noktasında oldukça önemli görülmektedir. Buna karşın günümüze kadar ilgili hypodermin genleri üzerine verilerin yalnızca *Hypoderma lineatum* ve *H. diana* türlerine ait sınırlı sayıda izolatta bulunduğu görülmüştür. Bu doktora tez çalışmasında sığırlarda enfeksiyona yol açan *H. bovis* larvalarının vücutta göçü sırasında salgıladıkları ve immun modülasyonda aktif görev alan önemli serine proteazları hypodermin A, B ve C antijenlerini kodlayan genlerin moleküler karakterizasyonunu sağlamak, eksprese ettikleri proteinleri rekombinant olarak elde ederek immun reaktivitelerini ortaya çıkarmak amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada Mayıs-Haziran 2018 tarihleri arasında Kayseri yöresinde mezbaha incelemeleri yapılmış ve kesime gelen üç Simental ırkı sığırın dorsal ve lumbal bölgelerinde hypodermosis'e bağlı şişlikler belirlenmiştir. İlgili hayvanlar kesim süresince takip edilerek deri altındaki *Hypoderma* larvaları toplanmış ve larvalar RNA later içerisine alınarak soğuk zincir altında muhafaza edilmiştir. Aynı zamanda enfekte belirlenen hayvanlara ait tam kan örnekleri de kesim esnasında silika jelli serum tüplerine alınmıştır. Tüm örnekler soğuk zincir altında laboratuvara intikal ettirilmiştir. Toplanan larva örneklerinin morfolojik identifikasyonları RNA later solüsyonu içerisinde stereo-mikroskop altında yapılmıştır. Toplam 10 adet larva örneğinden alınan doku parçalarından ticari kitler ile genomik DNA ve total RNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Sonraki basamakta total RNA izolatlarından cDNA izolasyon kitleri ile komplementer DNA izole edilmiştir. *Hypoderma* larvalarının moleküler identifikasyonu amacıyla mitokondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) DNA barkod bölgesi standart primerlerle amplifiye edilmiş ve sekans karakterizasyonu yapılmıştır. Elde edilen cDNA kalıplarında hypodermin genlerinin (A, B, C) amplifikasyonu amacıyla GenBank veri tabanında referans *H. lineatum* hypodermin gen sekansları üzerinde analizler gerçekleştirilmiş ve primerler dizayn edilerek optimizasyonları sağlanmıştır. Uygun koşullarda PCR'da çoğaltılan hypodermin genlerine ait ampikonlar agaroz jel üzerinden saflaştırılarak pGEM®-T Easy Vector (Promega) sistemine klonlanmış ve transformasyon basamaklarından sonra rekombinant plazmit pürifikasyonu yapılmıştır. Rekombinant plazmidler spesifik primerlerle çift yönlü olarak sekanslanmış ve kromotogramlar De Novo Assemble üzerinden işlenerek hedef insert sekanslar vektör plazmid DNA'sı içerisinde çıkarılmış ve konsensüs sekanslar elde edilmiştir. Elde edilen dizimlerin gen veri tabanlarındaki mevcut hypodermin sekansları ile filogenetik ilişkileri araştırılmıştır. Tüm bu araştırmalar sonucu karakterize edilen hypodermin genlerinin eksprese ettiği proteinlerin rekombinant olarak eldesi için çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Hypodermin genlerinin



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

bakteriyel ekspresyon sistemine aktarımı için pET100 (Invitrogen) (hypodermin C, B) ve pET-32a(+) (Kodon optimize hypodermin A) ekspresyon plazmidlerine (Novagen) klonlanması gerçekleştirilmiştir. Elde edilen rekombinant plazmitler *E. coli* kompotent BL21(DE3) hücrelerine transforme edilerek optimum koşullarda ekspresyon çalışmaları yürütülmüş ve ekspresyon etkinliği SDS-PAGE ve Western Blot analizleri ile belirlenmiştir. Eksprese edilen hypodermin rekombinant proteinleri afinite kromatografi kullanılarak saflaştırılmış ve immun reaktivlikleri Western Blot analizleri ile tespit edilmiştir.

Bulgular: Çalışmada sığırlardan toplanan larvaların morfolojik ve COI barkod gen bölgesi karakterizasyonuna göre *H. bovis*'e ait oldukları belirlenmiştir. Toplam 10 adet larvadan elde edilen cDNA izolatlarında çoğaltılan Hypodermin genlerine ait pürifiye amplikonların klonlanması ve sekans analizleri sonucu hypodermin A, B ve C genlerine ait açık okuma çerçevesi (ORF) sekanslarının sırasıyla 705 bp, 771 bp, 783 bp uzunluğunda oldukları ve 234 aa, 256aa ve 260 aa uzunluğunda proteinleri kodladıkları belirlenmiştir. Her üç hypodermin geninde intraspesifik nükleotid farklılığı belirlenmezken interspesifik nükleotid farklılıkları hypodermin A ve B arasında %29,5, hypodermin A ve C arasında %57,9, Hypodermin B ve C arasında %53,9 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada *H. bovis* hypodermin genleri ilk kez karakterize edilmiş olup ilgili sekanslar MK473847-9 aksesyon numaraları ile GenBank'a kaydedilmiştir. *H. bovis* hypodermin A gen sekansının (MK473849), GenBank'a kaydedilmiş *H. lineatum* hypodermin A gen sekansları (L24914, X74303) ile %7,5-7,8, *H. bovis* hypodermin B gen sekansının (MK473848), GenBanktaki *H. lineatum* Hypodermin B gen sekansları (L24915, X74304, X74305) ile %6,0-6,2 ve *H. bovis* hypodermin C gen sekansının (MK473847) da, GenBank'taki *H. lineatum* hypodermin C gen sekansları (AB054066, X74306) ile %2,9-3,4 *H. diana* hypodermin C gen sekansı (EU999953) ile %8,3 genetik farklılık gösterdikleri tespit edilmiştir. *H. bovis* hypodermin amino asit sekansları da GenBank'taki diğer türlere ait amino asit sekanslarıyla hypodermin A, B ve C için sırasıyla %16,7-17,1, %9,4-11,3 ve %5,0-13,3 farklılık göstermiştir. In-silico analizlerde *H. bovis* hypodermin A, B ve C genlerinin sırasıyla 25,744 kDa, 27,795 kDa ve 28,516 kDa büyüklüğünde proteini eksprese ettikleri, translyasyon analizlerinde hypodermin B ve C'nin sırasıyla 22 ve 21 aa uzunluğunda transmembran bölge içerirken hypodermin A geninin tamamen sitoplazmik olduğu ve transmembran bölge içermediği tespit edilmiştir. Hypodermin A geninin ORF aminoasit sekansları içerisinde uzunluğu 9-45 aa arasında değişen 7 antijenik bölge, hypodermin B geninde uzunluğu 7-26 aa arasında değişen 13 antijenik bölge ve hypodermin C geninde de uzunluğu 7-32 aa arasında değişen 11 antijenik bölge olduğu belirlenmiştir. İlgili izolatlarla ait hypodermin genlerinin pET100 (Invitrogen) (hypodermin C, B) ve pET-32a (+) (Kodon optimize hypodermin A) ekspresyon sistemlerine klonlanması sonrasında elde edilen rekombinant plazmitlerin *E. coli* kompotent BL21(DE3) hücrelerine transformasyonu ve ekspresyonu sonrasında yapılan SDS-PAGE analizlerinde in-silico analiz sonuçlarına paralel olarak yaklaşık 26 ve 28kDa'luk proteinler jel üzerinde görüntülenmiştir. İlgili rekombinant proteinler afinite kromatografide HisTrap FF crude (GE Healthcare) kolonları kullanılarak saflaştırılmış ve pürifiye rekombinant antijenin immun-reaktifliği Western-Blot analizleriyle gösterilmiştir.

Sonuç: Bu doktora tez çalışması ile sığırların önemli bir paraziti olan ve ekonomik kayıplara yol açan *H. bovis* için antijenik değeri yüksek olan ve immun modülasyonda aktif görev alan hypodermin A, B ve C proteinlerini kodlayan genler için ilk moleküler karakterizasyon verileri sağlanmış ve immun reaktiviteleri üzerine çıktılar elde edilmiştir. Hypodermosis'in serolojik tanısında önem arz eden ilgili antijenik gen bölgeleri üzerine elde edilen özgün çıktılarının bu enfeksiyonların spesifik serolojik teşhisi ve immunizasyon çalışmaları için model oluşturacağı ve katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ekspresyon, hypodermosis, hypodermin A, hypodermin B, hypodermin C, moleküler karakterizasyon, sığır



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 10

SB83

02 Ekim 2019 – 14:30-15:30

Tedaviye Dirençli Rozasea ve Akne vulgaris'de *Demodex* spp.'nin Rolü

Erdal POLAT¹, Serhat SİREKBASAN², Zekayi KUTLUBAY³, İsmail ÇEPNİ⁴

¹İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İSTANBUL; ²Çankırı Karatekin Üniversitesi, Eldivan SHMYO, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, ÇANKIRI; ³İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar AD, İSTANBUL; ⁴İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, İSTANBUL

E-posta: serhatsirekbasan@gmail.com

Amaç: Rozasea ve akne vulgaris tedavisinde kullanılan topikal ve sistemik antibiyotikler bakterisid ve bakteristatik etkiye sahiptir. Topikal ajanların ise; bakterisid, komedolitik, antienflamatuar, keratolitik, trigliseridlerin hidrolizinin azaltılması, foliküler epitelin deskuamasyonunu artırarak komedon oluşumunu engellenmesi gibi etkileri vardır. Bu ajanlar rozasea ve akne vulgaris tedavisinde aylarca hatta yıllarca kullanılmaktadır. Bu tedavilerden sonuç alınmadığında insanların pek çok sistemini etkileyen ve ciddi yan etkileri olan ilaçlardan izotretinoin altı-sekiz ay süre ile kullanılmaktadır. İzotretinoin'in özellikle over rezervine olumsuz etkileri konusunda çalışmalar dikkat çekmektedir. Ancak rozasea ve akne tedavisinde kullanılan bu ajanların hiçbiri *Demodex* spp.'ye etkili değildir. Eğer rozasea ve akne vulgaris patogeneğinde *Demodex* spp. yer almakta ise bu parazit tedavi edilmedikçe tedavide başarı sağlanamayacaktır. Rozasea ve akne vulgaris tedavisine başlamadan önce hastalarda *Demodex* spp. bakılmasının tedavinin planlanmasında ve başarısında önemli rolünün olacağını düşünmekteyiz. Bundan dolayı uzun süre aldığı tedavilere rağmen iyileşmeyen rozasea ve akne vulgaris hastalarında *Demodex* spp. bakılmalı ve varlığı halinde parazite yönelik tedavi planlanmalıdır.

Yöntem: Çalışma fakültemiz dermatoloji ve kadın doğum polikliniğine müracaat eden, uzun süre aldığı tedavilere rağmen iyileşmeyen 20 rozasea, 26 akne vulgaris hastası ve 20 kontrol grubu üzerinde yapılmıştır. Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen hastaların; yanak, çene, alın ve burun üzerindeki lezyonlarından deri yüzey biyopsi tekniği ile örnekler alınarak *Demodex* spp. bakılmıştır. Temiz bir lamın üzerine bir damla siyanoakrilat yapıştırıcı damlatılarak örnek alınacak lezyon yüzeyine yapıştırılmış ve yaklaşık bir dakika bekletildikten sonra yavaşça çekilmiştir. Bu şekilde derinin stratum korneumunun yüzeysel tabakası ve folikül içeriğinin kökünden çıkarılıp alınması sağlanmıştır. Örneğin bulunduğu lamın üzerine bir damla Hoyer eriyiği damlatılıp lamel kapatıldıktan sonra ışık mikroskopunun 10X ve 40X büyütmeleri ile incelenerek sonuçlar kayıt edilmiştir. Bulgular: Rozasea hastalarının 6 (%30)'sı erkek 14 (%70)'ü kadın olup yaşları 20 ile 75 aralığında değişmekteydi. Burnunda rozasea olan 6 erkek hastanın yaşı 70 üzerinde idi. Akne vulgaris hastalarının ise 6 (%23,1)'sı erkek 20 (%76,9)'si kadın olup yaşları 19 ile 75 arasında idi. Rozasea hastalarının 20 (%100)'ünde, akne vulgaris hastalarının ise 14 (%53,8)'ünde *Demodex* spp. görülmüştür. Hasta gruplarında pozitif saptanan akarların yoğunluğuna bakıldığında; 1 cm² başına düşen parazit sayısının rozasea ve akne vulgaris hastalarında 5'ten fazla olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunun ise 1 (%5)'inde *Demodex* spp. görülmüş, 1 cm² başına düşen parazit sayısının 1'den az olduğu belirlenmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Sonuç: *Demodex* spp. insanın başta yüzü olmak üzere vücudunun değişik bölgelerindeki kıl foliküllerine ve yağ bezlerine yerleşen bir akardır. Patojen olup olmadığı hakkında farklı görüşler olan bu akar sağlıklı deride hiçbir patoloji oluşturmadan yaşayabileceği gibi rozasea, akne vulgaris, perioral dermatit, blefarit ve immün yetmezliği olan insanlarda demodicosis'e neden olabilir. Parazit hançer şeklindeki şeliserleri ile hücre duvarını delerek foliküler ve sebaceöz bezlerinin epitel hücrelerinin içeriği ile beslenir. Bu şekilde deri bütünlüğünü bozan parazit normal deri florasında bulunan bakterilerin çoğalması için uygun bir ortam hazırlayarak apse oluşumuna, şiddetli deri reaksiyonlarına ve belirgin pigmentasyona neden olur. Parazitin salgıladığı lipaz enzimi sebumdaki lipidleri hidrolizlediğinden akne irritasyon oluşur. Rozasea ve akne vulgaris tedavisinde kullanılan topikal, sistemik antibiyotikler ve ajanlar başlangıçta etkili gibi görünse de *Demodex* spp.'nin oluşturduğu reaksiyonlardan dolayı tekrarlamakta ve tedavi başarısız olmaktadır. Rozasea ve akne vulgaris gibi deri rahatsızlıkları her ne kadar genel sağlığı etkilemeyip, hayati tehlikesi olmayan basit bir hastalık gibi görünse de insan iletişiminin üst düzeye ulaştığı günümüz toplumsal yaşamında yalnızca görüntüsüyle dahi önemli bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkabilmektedir. Rozasea ve akne vulgaris hastalarında tedaviye başlamadan önce deri yüzey biyopsi tekniği ile örnekler alınarak *Demodex* spp. bakılmasının bu hastalıkların tedavisinde ve tedavisinin planlanmasında faydalı olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Akne, *Demodex*, rozasea, tedaviye direnç



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 10

SB84

02 Ekim 2019 – 14:30-15:30

Farklı Popülasyonlarda Ciltten İzole Edilen *Demodex* spp. Sıklığının Araştırılması

Merih ŞİMŞEK

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, AFYONKARAHİSAR

E-posta: smerih16@gmail.com

Amaç: *Demodex* spp., Demodiacidae ailesine ait bir akardır. Bu akar, şeffaf ve puroya benzeyen vücuda sahiptir. Bu parazitin dişi ve erkeği yaklaşık 440 µm x 55 µm ve 300 µm x 40 µm değerlerinde boyutlara sahiptirler. Hayat döngülerinde, yumurtalarından üç çift bacaklı larva, larvadan da dört çift bacaklı nimf meydana gelmektedir. Nimf iki kez gömlek değiştirerek erişkin formunu oluşturur. Dünyada belirlenmiş 65 *Demodex* türü vardır. Bunlardan sadece *Demodex folliculorum* ve *Demodex brevis* insanları enfekte etmektedir. *D. folliculorum* insanda kıl folliküllerine, *D. brevis* ise yağ bezlerine yerleşmektedir. Bu iki türün en fazla bulunduğu bölgeler; alın, çene, yanak, burun, dış kulak yolu ve kirpik olarak belirtilmiştir. Bu ikisi sağlıklı insanlarda herhangi bir deri lezyonu olmadan kolonize olabilmektedir. *D. folliculorum* enfestasyonu daha yaygın olamakla birlikte en çok yüzde lokalize iken, *D. brevis* boyun ve göğüste lokalizedir. Çoğu araştırmacıya göre, insanda kıl folliküllerinde 5 akardan fazla bulunması veya bezlerdeki akar sayısının >5/cm² olması patojenite açısından kriter kabul edilmektedir. Dermatolojik lezyonlar; rozasea, pityriasis, blefarit ve püstüler olarak belirlenebilir. Araştırmamızda, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversite Hastanesi'ne başvuran hastalarda yüzeyel deri biyopsisi yöntemi kullanılarak *Demodex* spp. sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Araştırmaya, Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına Ocak 2013 - Aralık 2018 tarihleri arasında *Demodex* spp. aranması için rozasea, akne ve diğer alerjik şikayetleriyle gönderilen 234 hastaya ait *Demodex*'e ilişkin veriler retrospektif olarak dahil edilmiştir. Tanı için yüzeysel deri biyopsisi yöntemi kullanılmıştır. Lamının üzerine bir damla siyanoakrilat içeren yapıştırıcı damlatılmıştır. Lamın yapışkan yüzeyi hastanın cildine bastırılarak yaklaşık bir dakika tutularak ve yavaşça kaldırılmıştır. Alınan örneğin üzerine bir damla gliserin damlatılarak lamel kapatılmış ve hazırlanan preparat ışık mikroskopunda x40 ve x100 büyütmelemlerle incelenmiştir. Preparatta *Demodex* türlerinin varlığı ve yoğunluğu araştırılmıştır. Tanıda cm²'de 5 ve daha fazla *Demodex* spp. görülmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışmaya yaşları 17-85 arasında değişen, 159 kadın ve 75 erkek olmak üzere toplam 234 hasta verileri dahil edilmiştir. Hastaların yaş ortalaması 50 olarak belirlenmiştir. Hastaların 140'ı rozasea'lı, 85'i akne vulgaris'li, 9'u diğer alerjik olgulardan oluşmuştur. Verilere göre, 159 kadının 96(%60)'sında ve 75 erkeğin 40(%47)'inde *Demodex* belirlenmiştir. *Demodex* en çok sırasıyla Dermatoloji, Göz hastalıkları ve Fizik tedavi rehabilitasyon kliniklerinden gelen hastalardan izole edilmiştir. *Demodex*'in en çok izole edildiği yaş aralığı 40-60 yaş olarak belirlenmiştir. *Demodex* varlığı belirlenen hastalarda bu parazit, 76 hastada yanaktan, 47 hastada alın bölgesinden, 23 hastada çeneden ve 21 hastada burundan izole edilebilmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Sonuç: Bulgularımız, bugüne kadar yapılmış çalışmalar ile bezerlik göstermekle birlikte, rozasea ve akne vulgaris'in etyopatogenezinde *Demodex*'in rolünün büyük olduğunu kanıtlar niteliktedir. Ayrıca, *Demodex* varlığına rastlanan hastaların çoğunluğunu kadınların oluşturması, *Demodex*'in cilde tutunmasında ve enfestasyon gelişiminde cinsiyete bağlı hormon seviyelerindeki farklılıkların incelenmesi gerektiğine işaret ettiği akılda tutulmalıdır.

Bununla birlikte, yüzeysel deri biyopsisi yöntemi, derideki folikül içeriğinin tamamen incelenebilmesine ve böylece parazitin kolaylıkla görüntülenebilmesine olanak sağladığı bir kez daha gözlenmiştir. Sonuç olarak, 18 yaş üzerindeki özellikle rozasea'lı hastaların *Demodex* enfestasyonu açısından araştırılması erken tanıya gidilebilmesi açısından yarar sağlayacağı kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Demodex spp*, rozasea, akne vulgaris, yüzeysel deri biyopsisi



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 10

SB85

02 Ekim 2019 – 14:30-15:30

Üniversite Öğrencilerinde *Demodex spp.* Yaygınlığının Araştırılması: Sağlık Bilimleri Fakültesi Örneği

Neriman MOR¹, Sinem Naz SEVGİN²

Kafkas Üniversitesi, ¹Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD; ²Fen Bilimleri Enstitüsü, İlköğretim AD,
Sağlık Eğitim BD, KARS

E-posta: nery.man@hotmail.com

Amaç: İnsanda daha çok yüz bölgesi olmak üzere yağ bezlerine ve kıl foliküllerine yerleşen *Demodex folliculorum* ve *D. brevis*'in sebep olduğu demodicosis ırk veya cinsiyet farkı gözetmeksizin yaygınlık göstermektedir. Özellikle ergen dönemdeki bireylerde birçok deri hastalığıyla birlikte görülerek yaygınlık oranının arttığı bilinmektedir. Bu çalışma çoğunlukla ergen dönemdeki bireylerden oluşan üniversite öğrencilerinde *Demodex spp.*'nin yaygınlığının belirlenmesi amacıyla Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi'nde yapılmıştır.

Yöntem: Çalışma 2016-2017 Eğitim-Öğretim yılında yapılmıştır. Araştırmaya başlanmadan önce öğrencilere *Demodex spp.* ile ilgili eğitim seminerleri verilerek akar hakkında farkındalık oluşturulmuştur. Öğrencilere enfestasyon ile ilişkisi olabileceği düşünülen sosyo-demografik özellikler, yaşam tarzı, cilt tipi ve hijyene yönelik sorular içeren anket uygulanmıştır. Daha sonra gönüllük esasına dayanarak çalışmaya katılan yaşları 17-28 arasında değişen 131'i erkek ve 244'ü kadın olmak üzere toplam 375 üniversite öğrencisinden Standart Yüzeyel Deri Biyopsi (SYDB) yöntemiyle örnekler alınmıştır.

Bulgular: Araştırmada elde edilen bulgulara göre; araştırmaya katılan, 291 Hemşirelik bölümü öğrencisinin 126'sında (%43,3), 84 Ebelik bölümü öğrencisinin 34'ünde (%40,5) ve erkeklerde %47,3, kadınlarda %40,2 oranında olmak üzere toplam 375 öğrencinin 160'nda (%42,7) *Demodex spp.* varlığı tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel analizlerde katılımcıların anket sorularına verdikleri yanıtlara göre; fondöten/makyaj ürünleri kullananlar ile kullanmayanlar arasında ve epilasyon yapmayanlar ile yaptırmayanlar arasında *Demodex spp.*'nin yaygınlığı açısından istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmiştir (p<0.05).

Sonuç: Araştırma sonucunda; farklı demografik özelliklere sahip ergen dönemindeki bireylerde herhangi bir hastalık bulunmasına veya dermatolojik şikayetlerinin olması ayrıca cilt tipi, hijyen koşulları ve ilaç kullanımına bağlı olmaksızın *Demodex spp.*'nin oldukça yaygın ve yoğun olduğu sonucuna varılmıştır. Bunun sonucunda dermatologların özellikle bu yaş grubundaki bireylerde yüz bölgesinde şekillenmiş olan dermatozların etiyoloji ve patogenezinde *Demodex spp.* varlığını da göz önünde bulundurmaları gerektiği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *D. folliculorum*, *D. brevis*, *Demodex spp.*, yaygınlık



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 10

SB86

02 Ekim 2019 – 14:30-15:30

Kortikosteroid Kullanımı Oküler Demodikozis Tedavisini Nasıl Etkiler? Pilot Çalışma

Serife AKKÜÇÜK, Özlem KAYA

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji AD, HATAY

E-posta: serifeakkucuk@hotmail.com

Amaç: *Demodex folliculorum* ve *Demodex brevis* insanlarda yaygın olarak görülmesine (1, 2) rağmen oküler yüzey inflamasyonunun nedeni olarak göz ardı edilebilen akarlardır (3). Oküler yüzey inflamasyonlu hastalarda bakteriyel enfeksiyonlar ve alerjik durumlar öncelikli olarak akla getirildiği için tedavide antibakteriyel, antihistaminik ve steroid içeren ilaçlar seçilmektedir (4). *Demodex* spp. enfestasyonu tedavisinde ise antibakteriyel ilaçlar yarar sağlamamaktadır. Günümüzde en çok tercih edilen tedavi terpinen-4-ol içeren çay ağacı yağı (tea tree oil, TTO) uygulamasıdır (5). Amacımız kortikosteroid kullanımının enfestasyon tedavisini nasıl etkileyebileceğini belirlemektir.

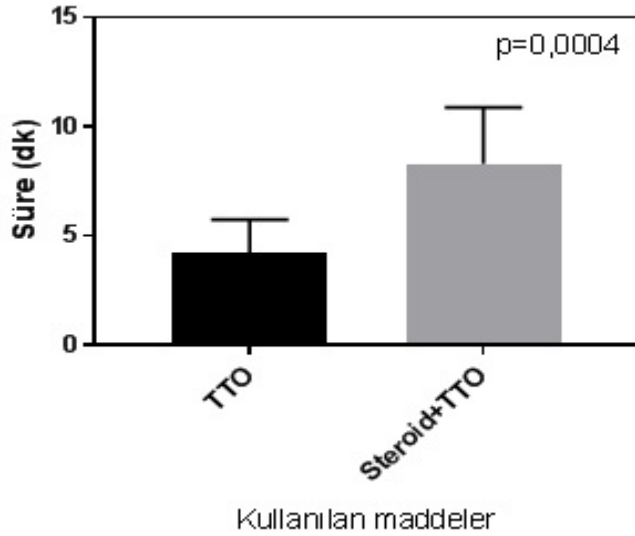
Yöntemler: Oküler demodikozis şüphesi ile rutin olarak laboratuvara gönderilen kirpiklerden izole edilen erişkin *Demodex folliculorum*'lar *in vitro* çalışmaya dahil edildi. Her grupta onar adet akar olmak üzere üç grup oluşturuldu. Birinci grupta %100 TTO, İkinci grupta tek dozluk kaptta (0,4 ml) 0,400 mg deksametazona eşdeğer 0,526 mg deksametazon sodyum fosfat içeren kortikosteroid kullanıldı. Üçüncü grupta ise lam üzerindeki parazitler önce kortikosteroid ile 15 dk muamele edildikten sonra steril eküvyon çubuk ile bölge kurulandı. Ardından akarlar 5 dk boyunca serum fizyolojikte bekletilerek yıkandı ve kurulama işlemi tekrarlandı. Son olarak akarlar %100 TTO uygulandı. Çalışma akarlar için *in vitro* optimum sıcaklığın 16-22 °C olduğu ortamda gerçekleştirildi. Hareket değerlendirme kriterlerine göre ışık mikroskobunda x100 ve x400 büyütmede yaşam süreleri kontrol edildi. Yaşam süresi kayıt edilirken birinci ve üçüncü grupta TTO, ikinci grupta ise kortikosteroid damlatılması başlangıç kabul edildi.

Bulgular: Akarların ortalama yaşam süresi sırasıyla 1. grupta 4,2±1,5 dk (min: 2, max: 7); 2. grupta 1308±222,4 dk (min: 840, max: 1560) ve 3. grupta 8,3±2,5 dk (min: 5, max: 14) olarak tespit edildi. Birinci grupta kullanılan TTO'nun kortikosteroid grubuna göre (p<0,0001) ve 3. grupta kullanılan kortikosteroid+TTO'ya göre (p=0,0004) (Şekil 1) akarları daha kısa sürede öldürdüğü gözlemlendi. Ayrıca 3. gruptaki akarların sadece kortikosteroid kullanılan 2. gruba göre daha kısa yaşam süresi olduğu saptandı (p<0,0001).

Sonuç: Oküler demodikozisli hastalarda TTO ile göz kapağı temizliğinin *Demodex* spp., ortadan kaldıran ve klinik iyileşmeye yol açan etkili bir yöntem olduğu bildirilmektedir (6, 7). Lokal steroid kullanımının kulakta akar görülme sıklığını arttırdığına dair çalışma (8) bulunmaktadır. Ancak ulaşılan literatürler doğrultusunda oküler problemlerde kullanılan kortikosteroidlerin *Demodex* spp., üzerine etkilerine dair bir çalışmaya rastlanamamıştır. Mevcut tedavide kullanılan TTO'nun akarisidal etkisini destekleyen çalışmamızda kortikosteroid muamelesinin akar yaşam süresini yaklaşık iki katına çıkardığı tespit edilmiştir. Bu da *Demodex* spp., ile ilişkili blefarit, şalazyon, meibomian bez disfonksiyonu gibi oküler problemlerde tedavide yer alacak olan TTO ürünlerinin ve kortikosteroid ilaçların dikkatli kullanımının önemli olduğunu göstermektedir. Özellikle enfestasyon tedavisinde aynı

anda kullanılacak olan kortikosteroidlerin TTO'nun akarisidal etkisini azalttığı sonucunun göz ardı edilmemesi gerektiğini düşünmekteyiz. Bu çalışma bir pilot çalışma niteliğinde olup serum fizyolojik gibi farklı maddelerin dahil edildiği ve daha fazla akar sayısı ile benzer bir çalışmaya devam edilmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Demodex* spp., kortikosteroid, tea tree oil



Şekil 1. Tea tree oil ve kortikosteroid+TTO uygulanan akarların yaşam sürelerinin karşılaştırılması

KAYNAKLAR

1. Aycan OM, Otlu GH, Karaman U, Daldal N, Atambay M. Çeşitli hasta ve yaş gruplarında *Demodex sp.* görülme sıklığı. Türkiye Parazitol Derg 2007;31(2):115-8.
2. Aycan-Kaya O, Atambay M, Daldal N. Sağlıklı kişilerin kirpiklerinde *Demodex folliculorum* ve *Demodex brevis* görülme sıklığı. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2012;18:57-60.
3. Fromstein SR, Harthan JS, Patel J, Opitz DL. Demodex blepharitis: clinical perspectives. Clin Optom (Auckl) 2018;10:57-63.
4. Czepita D, Kuzna-Grygiel W, Czepita M, Grobelny A. *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* as a cause of chronic marginal blepharitis. Ann Acad Med Stetin 2007;53(1):63-7.
5. Zorbozan O, Okut EB, Unver A, Turgay N. *Demodex folliculorum* ile ilişkili blefarit olgusu. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2016;46(1):47-50.
6. Gao YY, Xu DL, Huang I J, Wang R, Tseng SC. Treatment of ocular itching associated with ocular demodicosis by 5% tea tree oil ointment. Cornea 2012;31(1):14-7.
7. Maher TN. The use of tea tree oil in treating blepharitis and meibomian gland dysfunction. Oman J Ophthalmol 2018;11(1):11-5.
8. Cevik C, Kaya OA, Akbay E, Yula E, Yengil E, Gulmez MI, et al. Investigation of demodex species frequency in patients with a persistent itchy ear canal treated with a local steroid. J Laryngol Otol 2014;128(8):698-701.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

INTERAKTİF GECE OTURUMU

SB87

30 Eylül 2019 – 21:00-22:30

Akademik Çalışma Yaşamında Ayrımcı Bir Uygulama: Gebelik, Proje Bursiyerliğinin Sona Erdirilmesi İçin Geçerli Bir Neden midir?

Özlem MİMAN¹, Cemal GÜVERCİN², Sema ÖZAN³

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Tıbbi Parazitoloji AD, ²Tıp Tarihi ve Etik AD, ³Tıp Eğitimi AD, İZMİR

E-posta: ozlem.miman@deu.edu.tr

Çalışma yaşamındaki kadınlar doğurganlığa ve gebeliğe yönelik birçok sorunla karşılaşmaktadır. İşveren açısından gebe bir çalışan değişik nedenlerle istenmeyebilmektedir. Benzer sorunlar, akademik ortamdaki kadın çalışanlar için de geçerlidir. Bu çalışmada, gerçek bir olaydan uyarlanan kurgusal bir olgu üzerinden, akademik ortamda gebe çalışana karşı sergilenen bir yaklaşımın kadın hakları, toplumsal cinsiyet eşitsizliği ve akademik ortamdaki kadınlar açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Kurgusal olguda, bir projede bursiyer olarak çalışan gebe bir doktora öğrencisinin, sağlık sorunu olarak "gebelik ve doğum" gerekçe gösterilip projeden çıkarılması konu edilmektedir. Böyle bir uygulama, iş kanunu ve ilişik düzenlemelere uymamakta; akademik ortamda hibe/teşvik destekli projelerde görevli bursiyerlere ilişkin yeni düzenlemelerle getirilen haklar açısından da kişilerde hak mağduriyetleri yaşanmasına yol açmaktadır. Akademik dünyada, toplumsal cinsiyet eşitliğinin sağlanabilmesi için bireylerin cinsiyeti nedeniyle ayrımcılığa uğramaması, haklar ve fırsatlar açısından eşit koşullara sahip olması savunulmalıdır. Örnek olgudaki kişinin projeden çıkarılmak yerine sorumlu olduğu iş paketlerinde fizyolojik durumuna uygun değişikliğe gidilmesi, "askı süresi" gibi önlemler alınması cinsiyet eşitsizliğinden kaynaklanan mağduriyeti ortadan kaldıracağı gibi; genç bir akademisyenin kazanılmış hakkı olan eğitim hakkını sürdürebilmesi ve deneyimini geliştirebilmesi de engellenmemiş olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Kadın, Akademi, Proje, Bursiyer, Gebelik, Doğum izni, İşten çıkarma, Toplumsal cinsiyet eşitsizliği



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

POSTER BİLDİRİLER



P01.

Arı Ürünlerinin (bal, propolis, arı sütü) *Leishmania tropica* Promastigotları Üzerine Anti-Leishmanial Etkilerinin Araştırılması

Tülay AKSOY¹, Eda SIVCAN², Fatma DOĞAN², Songül ÇETİN²

¹İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD, MALATYA;

²Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-posta: bylg.aksoy19@gmail.com

TAM METİN

ÖZET

Amaç: Bu çalışma, *Leishmania tropica*'nın neden olduğu kutanöz leishmaniasise (KL) karşı arı ürünlerinin (bal, propolis ve arı sütü) anti-leishmanial etkilerini *in vitro* hücre kültüründe araştırılması amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Çalışmada kullanılan bal (çam, çiçek ve kestane), propolis ve arı sütünün *in vitro* anti-leishmanial etkinliği mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Arı ürünlerinden olan bal ve arı sütü %10 FCS (fetal calf serum) içeren RPMI besiyeri ile çözdürülmüş, %10 FCS içeren RPMI besiyeri içerisinde sulandırılmış ve 1000 mg/ml-62,5 mg/ml arasındaki konsantrasyonlarda seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Propolis ise %96'lık etil alkol ile çözdürülmüş, hazırlanmış olan bu konsantrasyonlarda alkol oranının %50'den fazla olmasından ve bu oranın parazit gelişimini olumsuz etkileyeceğini düşündüğümüzden dolayı, tüm bu konsantrasyonlardan sadece 2,5 µl kullanılarak %10 FCS içeren RPMI besiyeri içerisinde sulandırılmış ve 781,25 µg/ml-48,82 µg/ml arasındaki konsantrasyonlarda seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Ardından kuyucuklardaki son konsantrasyonları 1x10⁶ hücre/mL olacak şekilde promastigot süspansiyonu ilave edilmiştir. 25°C'lik etüvde 24 ve 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra promastigotlar morfoloji, hareketlilik ve canlı parazit yoğunluğu yönünden mikroskopik olarak, sitotoksik etkinliği ise MTS yöntemi ile incelenerek %50 inhibitör konsantrasyonları (IC₅₀) kontrol grupları ile karşılaştırılarak belirlenmiştir.

Bulgular: Mikroskopik incelemelerde 48. saatte çam balı 62,5 mg/ml, çiçek balı 250 mg/ml ve kestane balı ise 125 mg/ml konsantrasyonlarından itibaren anti-leishmanial etkinlik gösterdiği ve çam balının promastigotlar üzerine daha etkin olduğu, arı sütünün 62,5 mg/ml ve propolisin de 97,65 µg/ml konsantrasyonundan itibaren etki ettiği gözlemlenmiştir. Propolisin çok düşük konsantrasyonlarının özellikle parazitlerin morfolojik yapılarında değişmelere sebep olduğu ve bu konuda diğer arı ürünlerinden daha etkin olduğu belirlenmiştir. *L. tropica* hücre kültürü üzerine uygulanan arı ürünlerinin, hücre çoğalmasını engellediği ve IC₅₀ değerlerinin zamana bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir.

Sonuç: Yapılan bu çalışmada, bal, propolis ve arı sütünün çeşitli konsantrasyonlarının *L. tropica* promastigotları üzerine anti-leishmanial etkinlik gösterdiği tespit edilmiş olup bunlardan çam balının 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda promastigotlar üzerinde daha etkin olduğu ve ayrıca propolisin çok düşük konsantrasyonlarında dahi parazitlerin hem morfolojisinde hem de sitotoksitesinde daha etkin olduğu gözlemlenmiştir. Elde edilen bu veriler doğrultusunda arı ürünlerinin kutanöz leishmaniasis enfeksiyonlarına karşı alternatif bir tedavi yöntemi olarak kullanılabilirliği ve ileri çalışmaların yapılması gerektiği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Leishmania tropica*, bal, propolis, arı sütü, anti-leishmanial etki



Investigation of Anti-Leishmanial Effects of Bee Products (Honey, Propolis, Royal Jelly) On *Leishmania tropica* Promastigotes

SUMMARY

Aim: The aim of this study was to investigate the anti-leishmanial effects of bee products (honey, propolis and royal jelly) against cutaneous leishmaniasis (CL) caused by *Leishmania tropica* in *in vitro* cell culture.

Methods: *In vitro* anti-leishmanial activity of honey (pine, flower and chestnut), propolis and royal jelly used in the study was evaluated by microdilution method. Honey and royal jelly which is one of the bee products were dissolved with RPMI medium containing 10% FCS (fetal calf serum), diluted in RPMI medium containing 10% FCS and serial dilutions were prepared at concentrations between 1000mg/ml-62,5mg/ml. Propolis was dissolved with 96% ethyl alcohol, since these alcohol concentrations were more than 50% and we think that this ratio would adversely affect the development of parasites, only 2,5 µl of these concentrations were diluted in RPMI medium containing 10% FCS. Serial dilutions were then prepared at concentrations between 781,25 µg/ml-48,82 µg/ml. The promastigote suspension was then added to the wells at final concentrations of 1×10^6 cells / mL. Incubate at 25 degrees for 24 and 48 hours. After incubation, promastigotes were determined microscopically in terms of morphology, motility and viable parasite density, and cytotoxic activity was determined by MTS method and 50% inhibitor concentrations (IC₅₀) were compared with control groups.

Results: Microscopic examination showed that pine honey showed anti-leishmanial activity at the concentrations of 62,5 mg/ml, flower honey 250 mg/ml and chestnut honey at the 48th hour and that pine honey was more effective on promastigotes, royal jelly 62,5 mg/ml and propolis was effective from 97,65 µg/ml. It has been determined that very low concentrations of propolis cause changes in the morphological structures of parasites and are more effective than other bee products. It was found that bee products applied on *L. tropica* cell culture inhibited cell proliferation and IC₅₀ values decreased with time.

Conclusion: In this study, it was found that various concentrations of honey, propolis and royal jelly showed anti-leishmanial activity on *L. tropica* promastigotes. It was observed that pine honey was more effective on promastigotes after 48 hours incubation period and also it was more effective on both morphology and cytotoxicity of parasites even at very low concentrations of propolis. In the light of these data, it was concluded that bee products could be used as an alternative treatment method against cutaneous leishmaniasis infections and further studies should be performed.

Key Words: *Leishmania tropica*, honey, propolis, royal jelly, anti-leishmanial effect

GİRİŞ

Leishmania türleri, Kinetoplastea sınıfında ve Trypanosomatidae ailesinde yer alan intrasellüler yaşayan doku parazitleri olup leishmaniasis hastalığına neden olmaktadır. Leishmaniasis dünyada sıtmadan sonra mortalite sıralamasında ikinci, tropikal parazitler hastalıklar içerisinde morbidite sıralamasında ise dördüncü sırada bulunmaktadır (1). Leishmaniasis ile dünya çapında 12 milyon insanın enfekte olduğu, tropikal ve subtropikal toplam 98 ülkede veya bölgede 350 milyon insanın tehdit altında olduğu ayrıca her geçen yıl 1-2 milyon yeni olgunun da eklendiği bildirilmiştir. Bu olguların 1,5 milyonu kutanöz leishmaniasis iken 500.000'inin visseral leishmaniasise ait olduğu tespit edilmiştir (2). *Leishmania* sp. enfeksiyonlarında ilk tedavi seçeneği olarak beş değerli antimon bileşikler uzun süreli ve günlük enjeksiyon şeklinde uygulanmaktadır. *Leishmania* sp. karşı daha etkili ve daha az toksik bir ilaç henüz geliştirilememiş olmasına rağmen Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından Glucantime ve Pentostam önerilmektedir (3). Tedavide kullanılan pentavalan antimon bileşiklerinin ve diğer tedavi edici ajanların, yan etkilerinin ve toksisitesinin olmasının, yüksek maliyete sahip olması ve bu ajanlara karşı konakta bir direncin oluşması aşı geliştirme çalışmaları ve alternatif tedavi yöntemlerinin



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

gerekliliğini gündeme getirmiştir (4). Bu nedenle insanlar doğal ürünleri bir ilaç olarak kullanmaya yönelmişlerdir. Kullanılan bu doğal ürünler arasında en çok tercih edilenler arı ürünleri olmaktadır. Arı ürünlerinin (bal, propolis, arı sütü, arı zehri ve bal mumu gibi) tıbbi amaçlı kullanımına apiterapi denilmektedir (5). Apiterapik uygulamalar son yıllarda tıp alanında çok fazla gelişim göstermektedir. Arı ürünlerinin bir besin maddesi olması ve içerisinde yer alan fenolik karaktere sahip bileşiklerden dolayı birçok biyolojik aktif özelliği bulunmaktadır (6).

Türkiye’de günümüze kadar parazitler üzerine, özellikle de *Leishmania* paraziti üzerine arı ürünlerinin (bal, propolis ve arı sütü) birlikte kullanıldığı çalışmaların bulunmaması nedeniyle çalışmamız bu açıdan oldukça özgündür. Bu çalışmada bal, propolis ve arı sütünden oluşan arı ürünlerinin KL etkeni *L. tropica* promastigotları üzerine *in vitro* anti-leishmanial etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

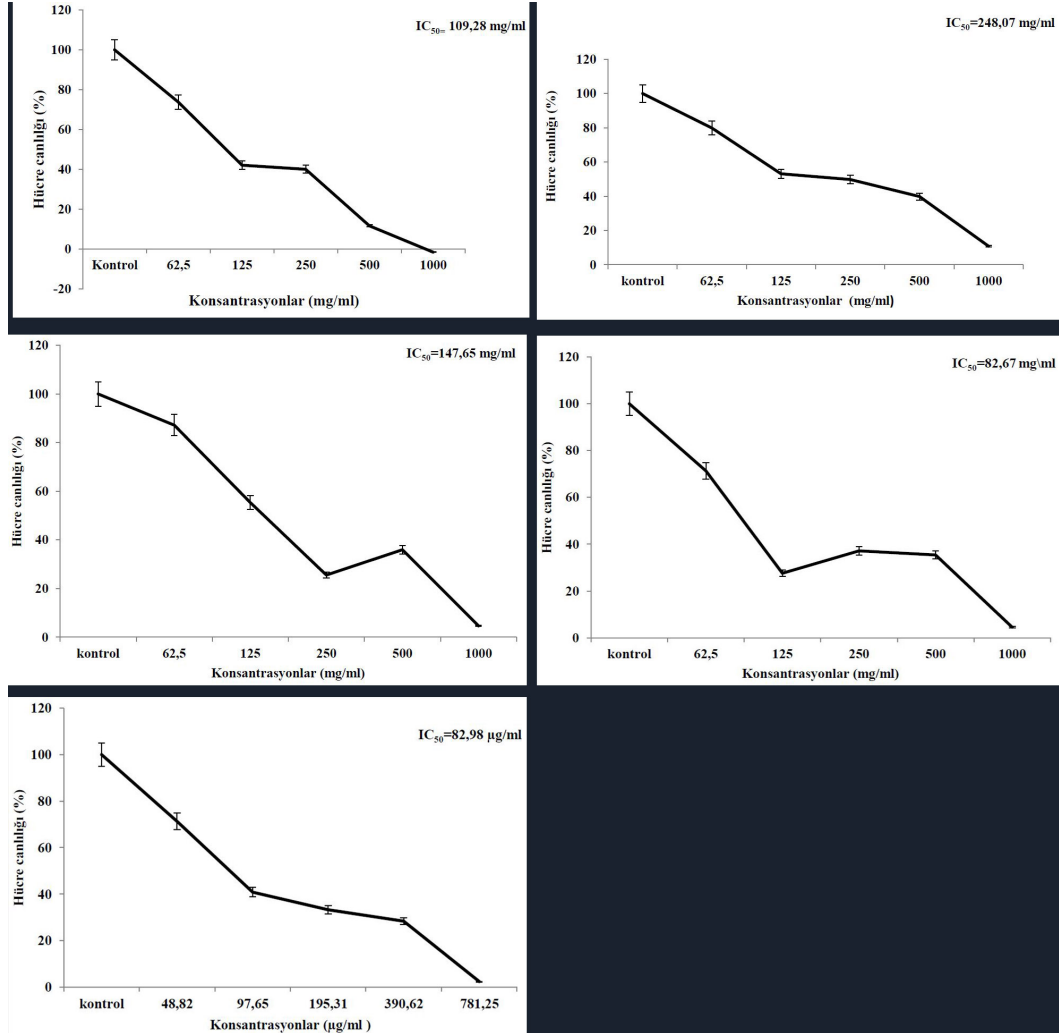
Çalışmada kullanılan bal (çam, çiçek ve kestane), propolis ve arı sütünün *in vitro* anti-leishmanial etkinliği mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Arı ürünlerinden olan bal ve arı sütü %10 FCS (fetal calf serum) içeren RPMI besiyeri ile çözdürülmüş, %10 FCS içeren RPMI besiyeri içerisinde sulandırılmış ve 1000 mg/ml-62,5 mg/ml arasındaki konsantrasyonlarda seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Propolis ise %96’lık etil alkol ile çözdürülmüş, hazırlanmış olan bu konsantrasyonlarda alkol oranının %50’den fazla olmasından ve bu oranın parazit gelişimini olumsuz etkileyeceğini düşündüğümüzden dolayı, tüm bu konsantrasyonlardan sadece 2,5 µl kullanılarak %10 FCS içeren RPMI besiyeri içerisinde sulandırılmış ve 781,25 µg/ml-48,82 µg/ml arasındaki konsantrasyonlarda seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Ardından kuyucuklardaki son konsantrasyonları 1×10^6 hücre/mL olacak şekilde promastigot süspansiyonu ilave edilmiştir. 25 °C’lik etüvde 24 ve 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra promastigotlar morfoloji, hareketlilik ve canlı parazit yoğunluğu yönünden mikroskopik olarak, sitotoksik etkinliği ise MTS yöntemi ile incelenerek %50 inhibitör konsantrasyonları (IC₅₀) kontrol grupları ile karşılaştırılarak belirlenmiştir.

BULGULAR

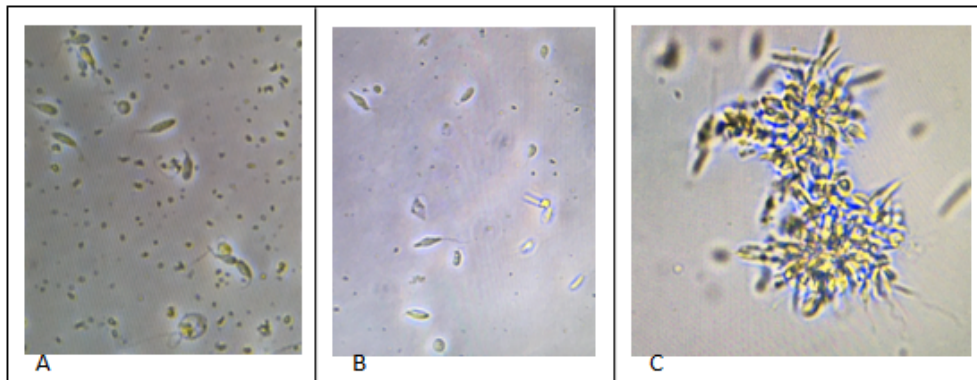
Mikroskopik incelemelerde 48. saatte çam balı 62,5 mg\ml (Şekil 1), çiçek balı 250 mg\ml (Şekil 2) ve kestane balı ise 125 mg\ml (Şekil 3) konsantrasyonlarından itibaren anti-leishmanial etkinlik gösterdiği ve çam balının promastigotlar üzerine daha etkin olduğu, arı sütünün 62,5 mg\ml (Şekil 4) ve propolisin de 97,65 µg/ml (Şekil 5) konsantrasyonundan itibaren etki ettiği gözlemlenmiştir. Propolisin çok düşük konsantrasyonlarının özellikle parazitlerin morfolojik yapılarında değişmelere sebep olduğu ve bu konuda diğer arı ürünlerinden daha etkin olduğu belirlenmiştir (Şekil 6). *L. tropica* hücre kültürü üzerine uygulanan arı ürünlerinin, hücre çoğalmasını engellediği ve IC₅₀ değerlerinin zamana bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Kutanöz leishmaniasis (KL) çoğunlukla deri ve deri mukozalarında skar bırakarak kendiliğinden iyileşebilen lezyon ya da lezyonlar ile kendini gösteren bir deri hastalığıdır. Bu lezyonlar kişilerde kendiliğinden veya tedavi ile iyileştikten sonra ömür boyu bir bağışıklık bırakmaktadır (7). *Leishmania* sp. enfeksiyonlarında ilk tedavi seçeneği olarak beş değerli antimon bileşikleri uzun süreli ve günlük enjeksiyon şeklinde uygulanmaktadır. Tedavide kullanılan pentavalan antimon bileşiklerinin ve diğer tedavi edici ajanların, yan etkilerinin ve toksisitesinin olması, yüksek maliyete sahip olmaları ve bu ajanlara karşı canlıda bir direncin oluşması gibi olumsuz özelliklerinden dolayı aşı geliştirme çalışmaları ve alternatif tedavi yöntemlerinin gerekliliğini gündeme getirmiştir (4). Alternatif tedavi yöntemlerinden olan arı ürünlerinin (bal, propolis, arı sütü, arı zehri ve bal mumu gibi) tıbbi amaçlı kullanımına apiterapi denilmektedir (5).



Şekiller: 48 saat inkübasyon sonrası arı ürünlerinin promastigotlar üzerindeki sitotoksisite analizi
1. Çam balı; 2. Çiçek balı; 3. Kestane balı; 4. Arı sütü; 5. Propolis



Şekil 6. Propolisin promastigotlar üzerindeki morfolojik etkisi. A-B: Propolis+promastigot, C: Kontrol promastigot



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Arı ürünlerinin yüksek biyolojik aktif özelliğe sahip olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Ancak parazitler üzerine, özellikle de *Leishmania* paraziti üzerine arı ürünlerinin (bal, propolis ve arı sütü) bir arada olduğu çalışmaların bulunmaması nedeniyle çalışmamız bu açıdan özgündür. Mevcut çalışmamızda, bal, propolis ve arı sütünden oluşan arı ürünlerinin KL etkeni *L. tropica* promastigotları üzerine *in vitro* anti-leishmanial etkinliği araştırılmıştır.

Balın hem doğal bir gıda maddesi ve önemli bir enerji kaynağı olması hem de içerisinde yer alan fenolik bileşikler ve diğer birçok madde sayesinde biyolojik aktif özellik kazandırması onu değerli yapmaktadır (8). Klinik ve laboratuvar çalışmaları da balın; mikroplar, mantarlar, protozoalar ve virüslere karşı antimikrobiyal özellik taşıdığını göstermektedir. Leishmaniasis lezyonlarının kronik olduğu ve enfeksiyonlara karşı duyarlı olduğu göz önüne alındığında çalışmamız, balın yukarıda belirtilen özelliklerinden yararlanılarak leishmaniasis lezyonlarının tedavisi üzerine yapılacak daha sonraki çalışmalara zemin hazırlamak amacıyla yapılmıştır.

Nilforushzadeh ve ark. 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada, KL'li 90 hasta seçerek iki grup oluşturmuşlardır. Birinci gruba glucantime ve tropik bal birlikte verilirken, ikinci gruba 6 hafta boyunca sadece glucantime vermişlerdir. Sadece glucantime ile tedavi edilen grupta 32 hasta (%71,1) tam iyileşme gösterirken hem glucantime hem de bal ile tedavi edilen grupta 23 hasta (%51,1) tam iyileşme göstermiştir. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve araştırmacılar balın standardize edilmiş oranının sahip olduğu antibakteriyel etkinliğinden dolayı KL enfeksiyonlarının tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar aynı zamanda farklı bal çeşitlerinin antimikrobiyal özelliklerinin farklı olmasından ve bu nedenle tıbbi olarak bal ve Glucantime'nin birlikte uygulanmasının balın etkinliğinin azalmasına neden olabileceğini rapor etmişlerdir (9).

Zeina ve ark. *Leishmania* parazitleri üzerine balın *in vitro* etkinliği üzerine ilk çalışmayı yapmışlardır. Bu çalışma ile *L. major*, *L. tropica* ve *L. infantum* parazitleri üzerine bal dilüsyonlarının etkinliği yine aynı konsantrasyonlardaki şeker dilüsyonları ile karşılaştırılmıştır. Bunun için hücre mediumu içerisine 10^4 , 10^5 ve 10^6 parazit/mL olacak şekilde, bal ve şeker dilüsyonları da 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 ve 1:64 g/mL konsantrasyonlarında hazırlanıp eklenerek 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonunda bal ve şekerin tüm konsantrasyonları 10^4 ve 10^5 parazit/mL parazit yüküne etki etmiş ancak 10^6 parazit/mL parazit yüküne balın tüm konsantrasyonları etki etmesine rağmen şekerin sadece 1:1 ve 1:2 dilüsyonları etki edebilmiştir. Çalışma ile bal ve şekerin anti-leishmanial etkinliğe sahip olduğu, fakat elde edilen sonuçlar ile balın şekerden daha üstün olduğunu ve balın düşük konsantrasyonlarının dahi parazit hareketini engelleme yeteneğinin olduğu sonucuna varmışlardır (10).

Çalışmamızda, 1×10^6 promastigot/ml parazit üzerine 1000, 500, 250, 125 ve 62,5 mg/mL konsantrasyonlarındaki üç bal (çam, çiçek ve kestane) çeşidinin 24 ve 48 saatteki etkinliği araştırılmıştır. Yirmi dört saatlik inkübasyondan sonra çam balı 125 mg/mL, çiçek balı 250 mg/mL ve kestane balında ise 125 mg/mL konsantrasyondan sonra parazitlerin morfolojisinde, hareketliliğinde ve yoğunluğunda değişimler gözlemlenmiştir. Kırk sekizinci saatte ise bu durum daha düşük konsantrasyonlarda meydana gelmiştir. Zaman ilerledikçe balın parazit üzerine olan etkisinin doğru orantılı olarak değiştiği gözlemlenmiştir. Ayrıca üç çeşit balı karşılaştırdığımızda çam balının diğer iki bala göre parazit üzerindeki etkisinin daha fazla olduğu görülmüştür.

Doğal bir ürün olan propolis, toksik olmaması, geniş bir biyolojik aktiviteye sahip olması ve kolay elde edilebilir olması gibi özelliklerinden dolayı tedavi amacıyla kullanımı gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Propolisin, *Leishmania* türleri üzerine anti-leishmanial aktivitesinin araştırıldığı birçok çalışma bulunmaktadır. Ancak *Leishmania*'nın farklı türleri ve formları üzerine çeşitli çalışmalar bulunmakla birlikte propolisin *L. tropica* üzerine etkinliğinin araştırıldığı sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Duran ve ark. Adana propolis ekstraktının *L. tropica*'nın büyümesi üzerindeki *in vitro* etkinliğini araştırmışlardır. Bunun için parazit hücreleri propolisin 25, 50, 100, 250, 500 ve 750 µg/ml konsantrasyonları ile muamele edilerek 24, 48 ve 72 saat inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

hemasitometre ile hücre sayımı yapılmıştır. Bunun sonucunda propolisin 100 µg/ml 'ye kadar olan konsantrasyonlarının parazit hücrelerine karşı anti-leishmanial aktivite göstermediği ve bu konsantrasyonlarda parazitlerin morfolojisinde herhangi bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Aynı zamanda Adana propolisinin 250, 500 ve 750 µg/ml konsantrasyonlarının *L. tropica* parazitlerinin çoğalmasında önemli ölçüde azalttığı, hatta bu durumun 48 saatlik inkübasyonda daha düşük konsantrasyonlarda gerçekleştiği bildirilmiştir. Çalışmamızda ise, 24 saatlik inkübasyonun ardından propolisin 195,31 µg/ml konsantrasyonda ve 48 saatlik inkübasyondan sonra ise 97,65 µg/ml konsantrasyondan itibaren *L. tropica* promastigotları üzerine hem morfolojik hem de canlı sayısında azalma gibi önemli etkileri olduğu tespit edilmiştir. Duran ve ark. çalışmalarında, propolis örneklerini DMSO (dimethyl sulfoxide) içerisinde hazırlamışlar ve DMSO'nun çalışılan konsantrasyonlardaki parazitler üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı bildirilmiştir. Çalışmamızda ise, propolis için en iyi çözücülerden biri olan %96'lık etil alkol kullanılmış ve böylece propolisin *L. tropica* promastigotları üzerindeki etkisini artırmada etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Çünkü propolis, kloroform, eter, aseton gibi çözücülerde kısmen, alkolde oldukça fazla çözünürlük göstermekte, suda ise çok az ya da hiç çözünmemektedir. Çeşitli çalışmalarda etanol dışında metanol, glikol ve yağ gibi çözücülerde de çözüldüğü bildirilmiştir. Eğer çözücü olarak etanol dışında bir madde kullanılırsa, propolisden elde edilecek birçok bileşenin izole edilemediği ve izole edilecek maddelerin farklılaştığı saptanmıştır (11).

Yapılan *in vitro* çalışmalar ile arı sütünün anti-bakteriyel, antifungal, anti-viral ve immünolojik etki gibi birçok biyolojik özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir (12). Günümüze kadar ülkemizde ve dünyada, *Leishmania* türleri üzerinde arı sütünün anti-leishmanial aktivitesinin araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamız Türkiye'de *L. tropica* üzerine arı sütünün etkinliğinin araştırıldığı ilk çalışma olması bakımından orijinaldir.

Bucekova ve ark. 2017 yılında yaptıkları çalışmada, arı sütünün çeşitli hücre tiplerinde antibakteriyel, antienflamatuar ve immünomodülatör aktivitelere sahip olduğunu ve yara tedavilerinde bir ilaç olarak başarı ile kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Çalışmaları ile keratinositlerin, arı sütünün su bazlı ekstraktı ile inkübe edildikten sonra artmış matris metalloproteinaz-9 (MMP-9) üretiminden sorumlu olduğunu ortaya koymuşlardır. Defensin-1, keratinositlerden MMP-9 sekresyonunu uyarmakta ve *in vitro* keratinosit göçünü ve yara kapanmasını arttırmaktadır. Bu veriler ışığında, bal ve arı sütünde bulunan defensin-1'in keratinosit göçünü ve MMP-9 sekresyonunu arttırarak kutanöz yara kapanmasına katkıda bulunduğu sonucuna varmışlardır (13). Bizim çalışmamızda da KL etkeni *L. tropica* promastigotları kullanılmış ve arı sütünün bu parazit üzerindeki anti-leishmanial etkinliği araştırılmıştır. Bunun için belirli konsantrasyonlardaki arı sütünün 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonrasında 62,5 mg/ml 'den itibaren promastigotlar üzerinde etkin olduğu ve bu etkinliğin zaman ilerledikçe daha düşük konsantrasyonlarda gerçekleştiği gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak bu çalışma ile *L. tropica*'nın neden olduğu KL karşı arı ürünlerinin (bal, propolis ve arı sütü) *in vitro* hücre kültür ortamında anti-leishmanial etkileri mikroskopik ve sitotoksisite analizi ile ilk kez araştırılmıştır. Çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan bal, propolis ve arı sütünün zaman ilerledikçe promastigotlar üzerindeki etkisinin arttığı ve bu ürünlerden çam balının 48 saatlik inkübasyondan sonra promastigotların morfolojisi ve canlılığı üzerine oldukça etkili olduğu ve propolisin çok düşük konsantrasyonlarının dahi parazitlerin morfolojisinde ve canlılığında benzer etki meydana getirdiği gözlemlenmiştir. Model bir *in vitro* araştırma karakteristiğine sahip olan bu çalışma, arı ürünlerinin kutanöz leishmaniasis etkeni *L. tropica* enfeksiyonlarında alternatif bir tedavi seçeneği olarak kullanılabileceği ve böylece literatüre ve bilime önemli katkı sağlayacaktır. Elde edilen sonuçlar arı ürünlerinin alternatif tedavide kullanılması üzerine yapılacak daha sonraki çalışmalar için çok iyi bir yol gösterici olacaktır.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KAYNAKLAR

1. Serin MS, Dağlıoğlu K, Bağırova M, Allahverdiyev A, Uzun S, Vural Z, et al. Rapid diagnosis and genotyping of Leishmania isolates from cutaneous and visceral leishmaniasis by microcapillary cultivation and polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism of miniexon region. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005; 53(3):209-14
2. Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases.* 2004; 27:305-18
3. Berman JD, Waddell D, Hanson B. Biochemical mechanisms of the anti-leishmanial activity of sodium stibogluconate. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 1985;27(6):916-20
4. Ergüven S. Kan ve Doku Protozoonlarına Karşı Kullanılan Yeni İlaçlar. *Ankem Dergisi.* 2012; 26:108-15
5. Hamdy M, El-Banby M, Khakifa K, Gad E, Hassanein E, editors. Antimicrobial effect of honey in the management of septic wounds. *Proceedings of the Fourth International Conference on Apiculture in Tropical Climates, 6-10 November 1988, Cairo, Egypt*
6. Tezcan F, Kolaylı S, Ulusoy H, Erim FB. Evaluation of organic acid, saccharide composition and antioxidant properties of some authentic Turkish honeys. *Journal of Food and Nutrition Research.* 2011; 50(1):33-40
7. Berman J. Current treatment approaches to leishmaniasis. *Current opinion in infectious Diseases.* 2003; 16(5):397-401
8. Gürdal M, Kireççi S, Pirinççi N, Sakiz D, Karaman M. Greft Ve Flep Tedavisinde Doğal Balın Yara İyileşmesindeki Etkisi. *Türk Üroloji Dergisi.* 2003; 29 (3): 245-249
9. Nilforoushzadeh MA, Jaffary F, Moradi S, Derakhshan R, Haftbaradaran E. Effect of topical honey application along with intralesional injection of glucantime in the treatment of cutaneous leishmaniasis. *BMC complementary and alternative medicine.* 2007; 7(1):13
10. Bassam Z, Zohra BI, Saada AA. The effects of honey on Leishmania parasites: an in vitro study. *Trop Doct.* 1997; 27(1_suppl):36-8
11. Duran G, Duran N, Culha G, Ozcan B, Oztas H, Ozer B. In vitro anti-leishmanial activity of Adana propolis samples on *Leishmania tropica*: a preliminary study. *Parasitology research.* 2008; 102(6):1217-25
12. Erdem ÖB. Kemoterapi alan yetişkin hastalarda arı sütü ile yapılan ağız bakımının mukozit derecelerine etkisi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Halk Sağlığı Hemşireliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, 2012:98
13. Bucekova M, Sojka M, Valachova I, Martinotti S, Ranzato E, Szep Z, et al. Beederived antibacterial peptide, defensin-1, promotes wound re-epithelialisation in vitro and in vivo. *Scientific reports.* 2017; 7(1):7340



P02.

Hatay'da Göç Öncesi ve Sonrası Saptanan Kutanoz Leishmaniasis Olgularının Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Genotiplendirilmesi

Gülnaz ÇULHA¹, Tuğba KAYA¹, Asena DOĞRAMACI²

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Parazitoloji AD; ²Deri ve Zührevi Hastalıkları AD, HATAY

E-posta: tugbakaya42@yahoo.com

Amaç: Leishmaniasis, enfekte dişi tatarcıkların ısırmasıyla insandan insana bulaşan paraziter bir hastalıktır. Kutanoz, Mukokutanöz, Visseral ve Post Kala Azar Dermal Leishmaniasis olmak üzere dört ana klinik tablo ile karşımıza çıkmaktadır (1). Kutanoz Leishmaniasis (KL), ülkemizde Güney Doğu Anadolu Bölgesinde sık görülmekle birlikte Akdeniz, İç Anadolu ve Ege bölgelerinde de vakaların olduğu bilinmektedir. Ülkemizde KL'nin en sık görülen türleri *Leishmania tropica* (*L. tropica*) ve *Leishmania infantum* (*L. infantum*)'dur (2). Ancak 2010 yılı sonrası yapılan çalışmalarda *Leishmania major* (*L. major*) ve *Leishmania donovani* (*L. donovani*)'nin de KL'ye neden olan türler olduğu gösterilmiştir (3). 2011 yılı Nisan ayında Suriye'de yaşanan iç karışıklıktan dolayı yaklaşık 300-400 kişi Hatay ili Cilvegözü sınır kapısından giriş yapmış ve ilk sığınma kamplarına yerleşmişlerdir (4). İlimizde ilk yıl Altınözü, Yayladağı, Reyhanlı da toplam beş kamp kurulmuştur. Ancak bugün itibarıyla 10 ilimizde (başta Hatay, Şanlıurfa, Gaziantep olmak üzere) oluşturulmuş kamplar dışında 81 ilimizde kamp dışında da yaşayan toplam 3 milyondan fazla Suriyeli olduğu tahmin edilmektedir (2, 5). Bu durumun ülkemizde görülen KL vakalarının sayısının artmasına neden olabileceği ihtimalini artırmaktadır.

Göç öncesi yapılan bir çalışmada *L. infantum*'un Hatay ilinde KL'ye sebep olan türlerin başında geldiği saptanmıştır (6). Göç sonrası yapılan çalışmalarda ise *L. infantum* ile birlikte *L. tropica* ve *L. major*'un da Hatay'da KL'ye neden olan türler olduğu tespit edilmiştir (7, 8). Suriye'de ise bildirilen KL olgularının büyük çoğunluğunun *L. tropica* kaynaklı olduğu ve geri kalan olguların ise *L. major* tarafından oluşturulduğu bilinmektedir (9).

Çalışmada, Hatay'da göç öncesi ve sonrası yerli (Türk hasta) ve importe (Suriyeli hasta) KL olan hastalara ait smear örnekleri arşivden seçilerek moleküler yöntem (GZ-PZR) ile tiplendirilerek bölgemizdeki göç öncesi ve sonrası KL tür farklılığının ortaya konulması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada; preparatların mikroskop ile incelemesinde amastigot varlığı tespit edilen ve arşivde yer alan göç öncesi 50 Türk hasta örneği, göç sonrası 50 Türk hasta örneği ve Suriyeli hastalara ait 50 örnek olmak üzere toplam 150 adet Giemsa boyalı preparat seçilmiştir. Seçilen hastalara ait yayma örnekleri PBS ile yıkanmış ve DNA izolasyon kiti (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen, Germany) içerisinde bulunan protokole uygun olarak çalışılmıştır. Elde edilen DNA'lar -20 °C'de saklanmıştır.

Örneklerde tür tayini yapabilmek için ITS1 problu GZ-PZR ile çalışılmıştır (6). *Leishmania* parazitlerinin ssu rRNA ve 5.8S rRNA'yı kodlayan genleri ayıran ribozomal internal transcribed spacer 1 (ITS1) bölgesi, Forward primer; 5'-CTGGATCATTTTCCGATG-3', Reverse Primer; 5'-GAAGCCAAGTCATCCATCGC-3' primerleri ile birlikte Probe 1: 5'-CCGTTTATACAAAAATATACGGCGTTTCGGTTTFluo-3', Probe 2: 5'-LCRed-640-GCGGGTGGGTGCGTGTGTG-Pho-3' özgün problemler kullanılmıştır. PZR analizi için 1,5 µL H₂O (PCR grade water), 1 µL Forward Primer, 1 µL Reverse Primer, 0,5 µL Probe1, 0,5 µL Probe2, 12,5 µL QuantiTect Probe PCR Kit Master karışımı (Qiagen) ve 5 µL genomik DNA olmak üzere toplam hacmi 25 µL olan karışım hazırlanmıştır (10, 11). Rotor-Gene cihazında melting analizi yapılarak tiplendirme yapılmıştır.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Bulgular: Göç öncesi ve sonrasına ait seçilen Türk örneklerin kayıtlarına bakıldığında hastaların Altınözü, Hassa, Kırıkhan, Yayladağ, Samandağ gibi Hatay'da KL'nin sık olarak görüldüğü bölgelerden geldiği saptanmıştır. Göç öncesi yıllara ait seçilen preparatların GZ-PZR testi sonucunda 50 Türk örneğin 40'ının *L. infantum/donovani*, 8'inin *L. tropica*, 2'sinin *L. major* olduğu tespit edilmiştir. Göç sonrası seçilen 50 Türk örneğin ise 28'inin *L. infantum/donovani*, 3'ünün *L. major*, 19'unun *L. tropica* olduğu saptanmıştır.

Suriyeli hastalara ait kayıtlarda daha çok İdlip, Halep, Hama gibi Suriye'nin KL açısından endemik olduğu bilinen bölgelerden geldiği tespit edilmiştir. 50 Suriyeli hasta örneğinin 2'si *L. infantum/donovani*, 1'i *L. major* ve 47'si ise *L. tropica* olarak tiplendirilmiştir.

Sonuç: GZ-PZR analizi sonucunda Hatay'da göç öncesi yerli olgularda çoğunlukla etken tür olarak *L. infantum/donovani* karşımıza çıkarken, göç sonrası Türk hastalara ait örneklerin sonucuna bakıldığında *L. tropica*'nın sayıca arttığı görülmektedir. Suriye'deki KL olgularının %85'inin *L. tropica*, %15'inin ise *L. major* tarafından oluşturulduğu bildirilmiştir. Bu durum göz önüne alındığında Hatay iline gelen Suriyeli vatandaşların bölgemizdeki *Leishmania* türünün üzerinde farklılığa neden olabileceği sonucuna varılmıştır. İl Sağlık Müdürlükleri ile birlikte ve üniversiteler arasında bu konu üzerinde koordineli bir çalışma yapılmasının ve düzenli vektör kontrol programlarının oluşturulmasının önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Teşekkür: Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankası'na referans suşların temin edilmesinde sağladığı katkılardan dolayı teşekkür ederiz.

Etik kurul onayı: Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan çalışma için onay alınmıştır. (Araştırmanın Protokol Kodu:17/12/2018-02-9).

Anahtar Kelimeler: Kutanöz Leishmaniasis, Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu Hatay.

KAYNAKLAR

1. Özbel Y, Özensoy Töz S. Leishmaniasis. Özcel MA, Özbel Y, Ak M, editors. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları Kitabı. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını, No: 22; 2007. p. 197-244.
2. Uzun S, Gürel MS, Harman M. Kutanöz Layşmanyazis Tanı ve Tedavi Rehberi. Türk Dermatoloji Derneği, Haziran 2017. Galenos Yayınevi, İstanbul, Türkiye.
3. Çulha G, Türkiye'de Göç ve Kutanöz Leishmaniasis. 20. Ulusal Parazitoloji Kongresi Uluslararası Katılımlı. Eskişehir, 2017, 227-229.
4. <https://www.goc.gov.tr/turkiye-de-gecici-koruma>
5. Cengiz, D. (2015). Zorunlu Göçün Mekânsal Etkileri Ve Yerel Halkın Algısı; Kilis Örneği. Electronic Turkish Studies, 10(2).
6. Toz, S. O., Nasereddin, A., Ozbel, Y., Ertabaklar, H., Culha, G., Sevil, N., ... & Jaffe, C. L. (2009). Leishmaniasis in Turkey: molecular characterization of Leishmania from human and canine clinical samples. Tropical Medicine & International Health, 14(11), 1401-1406.
7. Culha G, Akyar I, Yıldız Zeyrek F, Kurt Ö, Gündüz C, Özensoy Töz S, Östan I, Cavus I, Gülkan B, Kocagöz T, Özbel Y, Özbilgin A. Leishmaniasis in Turkey: Determination of Leishmania Species by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS). ran J Parasitol. 2014 Apr-Jun;9(2):239-48. / 12.
8. Özbilgin A, Çulha G, Uzun S, Harman M, Topal SG, Okudan F, Zeyrek F, Gündüz C, Östan İ, Karakuş M, Töz S, Kurt Ö, Akyar I, Erat A, Güngör D, Kayabaşı Ç, Çavuş İ, Bastien P, Pratlong F, Kocagöz T, Özbel Y. Leishmaniasis in Turkey: first clinical isolation of Leishmania major from 18 autochthonous cases of cutaneous leishmaniasis in four geographical regions. Trop Med Int Health. 2016 Jun;21(6):783-91.
9. Haddad, N., Saliba, H., Altawil, A., Villinsky, J., & Al-Nahhas, S. (2015). Cutaneous leishmaniasis in the central provinces of Hama and Edlib in Syria: Vector identification and parasite typing. Parasites & vectors, 8(1), 524.
10. Özbilgin, A., Çavuş, İ., Yıldırım, A., Kaya, T., & Ertabaklar, H. (2018). Leishmania tropica Üzerinde In vitro ve In vivo İlaç Etkinliğinin Değerlendirilmesi: Pilot Çalışma. Türkiye Parazitolojii Dergisi, 42(1), 11.
11. Toz, S. O., Culha, G., Zeyrek, F. Y., Ertabaklar, H., Alkan, M. Z., Vardarlı, A. T., ... & Ozbel, Y. (2013). A real-time ITS1-PCR based method in the diagnosis and species identification of Leishmania parasite from human and dog clinical samples in Turkey. PLoS neglected tropical diseases, 7(5), e2205.



P03.

**Kamerun Orjinli *Plasmodium vivax* ve *Plasmodium falciparum*
Mix Enfeksiyonu ve Tanısı**

Emrah ERDOĞAN, Merve YÜRÜK, Eda SİVCAN

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-posta: emrah@erciyes.edu.tr

Amaç: Sıtma, günümüzde dünyada en çok çocuk ölümüne neden olan parazitozudur. Bu hastalığın %85'i Afrika'da görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü 2017 yılı verilerine göre 219 milyon yeni sıtma olgusu ve 445 bin ölümlü sıtma olgusu bildirilmiştir. Dünya'da nüfus hareketliliğinin artması hastalığın en önemli ölümcül tipi olan tropikal sıtmanın endemik bölgelerden diğer kıta ve ülkelere taşınmasına zemin hazırlamaktadır. Çok yönlü ve çok pahalı olan sıtma savaşında her zaman aynı seviyenin başarılı bir şekilde sürdürülebilirliği konunun devlet politikası olarak yürütülmesine bağlıdır. Farklı disiplinlerden uzmanların ekip ruhu ile birlikte uyumlu bir çalışma sergilemeleri mümkündür. Çalışmamızda; sıtma ön tanısı ile hastanemize başvuran, yakın geçmişte Kamerun seyahati olan Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı erkek hastanın hangi *Plasmodium* türü veya türleri ile enfekte olduğunun tespiti amaçlanmıştır.

Yöntemler: Bu çalışmada Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği'nde ateş, üşüme ve titreme şikayetiyle yatmakta olan erkek hastanın kan örneği Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı rutin tanı laboratuvarlarımıza gönderildi. Öncelikle hastanın periferik kanından ince yayma kan preparatları hazırlanarak Giemsa ile boyandı ve 100x objektif altında mikroskopta incelendi. DNA izolasyonu, "PureLink Genomic DNA Mini Kit" (Invitrogen, ABD) prosedürüne göre yapıldı. *P. vivax*, *P. malariae*, *P. falciparum*, *P. ovale* ve *P. knowlesi* türlerine özgül primerler ile prob bazlı kantitatif gerçek zamanlı PCR (qRt-PCR) çalışıldı.

Bulgular: Hastanın ilk klinik bulgularında dört gündür ateşinin olduğu ve dış merkezde uygulanan amoksisilin klavulonat tedavisine rağmen kusma ve ateş şikayetlerinin devam ettiği belirlenmiştir. Hastanın periferik kanından hazırlanan Giemsa boyalı preparatlar incelendiğinde *Plasmodium* cinsine ait trofozoitler tespit edildi. Özellikle *P. falciparum*'un ayırıcı tanısında saptanan eritrositler içinde birden fazla trofozoit veya gametosit formlarına mikroskop bakısında rastlanmadı. Klinik ön tanısı *P. falciparum* sıtması olan hastanın hangi tür veya türler ile enfekte olduğunu kesin tespit etmek için yapılan qRt-PCR çalışmasında hastanın hem *P. vivax* hem de *P. falciparum* ile enfekte olduğu tespit edildi.

Sonuç: Bu çalışmada; ilk klinik bulgulara göre tropikal sıtma olduğu düşünülen hastada ilave olarak tersiyana sıtması da tespit edilmiştir. Dış merkezde uygulanan tedaviye yanıt vermediği anlaşılan hastamız özelinde bu tarz sıtma mix enfeksiyon olgularında farklı tedavi modalitelerinin uygulanması gerektiği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, sıtma, mix enfeksiyon, qRt-PCR



P04.

Yenidoğanda Ölümcül Seyreden *Encephalitozoon intestinalis* ve *Enterocytozoon bieneusi* Mix Enfeksiyonu ve Tanısı

Emrah ERDOĞAN, Merve YÜRÜK, Eda SİVCAN

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-posta: emrah@erciyes.edu.tr

Amaç: Fırsatçı patojen olarak kabul edilen mikrosporidialar; bütün dünyada gittikçe önemi artan, 144 cinse bağlı 1200'den fazla türü tanımlanan hem omurgalı hem de omurgasız birçok canlıda enfeksiyon oluşturan zorunlu hücre içi primitif ökaryotik parazitlerdir. Bir konaktan diğerine geçiş sporoplazma ve polar filamentlerden oluşan sporlarla olmaktadır. Sporların en karakteristik özelliği, enfektif materyali (sporoplasm) hücreye enjekte etmede kullandıkları bir tubuler atma mekanizmasına sahip olmalarıdır. Sistemik olarak pulmoner tutulumu, serebral tutulumu, cilt ve kemik tutulumuna, sinüzit, miyozit, peritonit, pankreatit, hepatit, prostatit, dil ülserlerine neden olabilmektedirler. İnsanlarda enfeksiyon oluşturan ve yakın zamana kadar tespit edilen 7 cinse bağlı 14 tür bulunmaktadır. Tanı için inceleme materyali yerleşim yerine göre değişmekle birlikte; dışkı, duodenal drenaj örnekleri, balgam, bronkoalveolar lavaj, nazal akıntı veya beyin omurilik sıvısı (BOS), konjonktiva sürüntüsü, kornea kazıntısı veya doku örneği incelenebilir. Sindirim sistemi enfeksiyonlarında en sık izole edilen türler; *Encephalitozoon intestinalis*, *Enterocytozoon bieneusi* ve *Encephalitozoon cuniculi*'dir. Genellikle HIV pozitif, organ transplant alıcıları, kanserli hastalar gibi immün yetmezlikli bireyler ile çocuklar, turistler, kontakt lens kullananlar ve yaşlılarda fırsatçı enfeksiyonlara neden olmaktadır. Enfektif sporların insana; kontamine su ve yiyeceklerle, solunum yoluyla, seksüel yolla bulaştığı belirtilse de henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Bu çalışmada intrasellüler parazitler olmaları ve sporlarının doğal direnci nedeniyle tedavisi oldukça zor olan mikrosporidiosisin hekimler gözünde daha dikkatli değerlendirilmesi, kesinlikle göz ardı edilmemesi noktasında farkındalık oluşturulması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Pediatri Yoğunbakım Ünitesi'nde yatmakta olan yenidoğan hastanın dışkı örneği, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı rutin tanı laboratuvarlarında öncelikle nativ-lugol yöntemi ile direk ışık mikroskobu altında incelendi. Dışkı örneğinden total genomik DNA İzolasyonu QIAmp Fast DNA Stool mini kit (QIAGEN, ABD) kullanılarak yapıldı. Dışkı örneğiyle ayrıca IFA-MAbs (Immunfluoresan monoklonal antikor) (Bordier Affinity Products, İsviçre) testi çalışıldı. PCR çalışmasında; *E. intestinalis*, *E. bieneusi* ve *E. cuniculi* türlerinin 16S rRNA gen bölgesini hedefleyen primerlerle kantitatif gerçek zamanlı PCR (qRt-PCR) çalışıldı.

Bulgular: Kronik diyaresi ve solunum yetmezliği olan hastanın nativ-lugol yöntemi ile direk ışık mikroskobu bakısında dışkısında nadir lökosit ve eritrosit tespit edilmiş, parazite rastlanmamıştır. Hasta örneğine ilave olarak IFA-MAbs çalışılması sonucunda fluoressan mikroskop altında *E. intestinalis* ve *E. bieneusi* sporları tespit edilmiştir. qRt-PCR çalışmasında ise yine *E. intestinalis* ve *E. bieneusi* mix enfeksiyonu tespit edilmiştir.

Sonuç: Mikrosporidialar; fırsatçı enfeksiyonlara neden olan ve dünyada önemi hızla artan kronik diyare etkeni parazit gruplarından. Enfeksiyonun bulaşması noktasında hijyen koşullarına dikkat edilmesi çok değerlidir. Zorunlu hücre içi paraziti olmaları, enfeksiyonun bulaşması ile ilgili birçok noktanın



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

bilinmemesi, bazı memelilerde transplasental geçiş bildirilmesine rağmen insanlarda bu konunun aydınlatılmamış olması enfeksiyonla mücadelede önemlidir. Daha önemlisi hijyen koşullarına ne kadar dikkat edilirse edilsin iki aylık yenidoğan hastamız özelinde ölümcül seyreden olgularda, anne sütü ile de bulaşın olup olmayacağı da düşünüldüğünde konunun önemi bir kez daha anlaşılmaktadır. Tedavisi oldukça zor olan microsporidiosis olgularına yaklaşımda özellikle immunsupresif hasta gruplarında değerlendirme yapılırken azami dikkat gösterilmesi gerektiği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: *Microsporidia*, yenidoğan, mix enfeksiyon, IFA-MAbs, qRt-PCR



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

P05.

Gebelerde *Toxoplasma gondii* Serolojik Test Sonuçlarının Retrospektif Analizi

Fatma ESENKAYA TAŞBENT, Duygu ÜZEL, Mehmet ÖZDEMİR

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, KONYA

E-posta: mehmetozdem@yahoo.com

Amaç: Bu çalışmada, Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi'ne Ocak 2018-Temmuz 2019 tarihleri arasında başvuran gebe hastalarda anti-*Toxoplasma gondii* IgM ve IgG seropozitifliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Toxoplasmosis şüphesiyle gönderilen serum örneklerinde *Toxoplasma* IgM ve *Toxoplasma* IgG antikorları ve anti-*Toxoplasma* IgG avidite test sonuçları ELFA (Enzyme-Linked Fluorescent Assay) yöntemi ile araştırılmıştır.

Bulgular: Gebe hastalara ait 18 aylık retrospektif araştırmada toplam 2285 hastada IgM, 203 hastada IgG pozitifliği araştırılmıştır. *Toxoplasma* IgM prevalansı %2,2, *Toxoplasma* IgG prevalansı %37,9 olarak bulunmuştur. IgM ve IgG'nin pozitif olduğu 34 hastada avidite çalışılmış ve 18 hastada (%53) yüksek avidite, 9 hastada (%26,5) sınırdaki avidite ve 7 hastada da (%20,5) düşük avidite tespit edilmiştir.

Sonuç: Konya bölgesi verilerini yansıtan çalışmada *Toxoplasma* IgG antikor negatifliği gebe hastalarda %62,1 olarak bulunmuştur. Ayrıca risk altındaki 34 hastanın 16'sında (%47) düşük ve sınırdaki avidite tespit edilmiştir. Sonuç olarak yüksek seronegatiflik düzeyinden dolayı gebelikte *Toxoplasma* rutin taraması, konjenital toxoplasmosis ve olası komplikasyonları açısından önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Toxoplasma gondii*, avidite, ELFA, gebe



P06.

Türkiye’de Evcil Tavşanlarda *Eimeria exigua*’nın İlk Bildirimi

Sezin Beyza GÖŞKER, Rıdvan KIRMAN, Muzaffer AKYÜZ, Esin GÜVEN

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ERZURUM

E-posta: sezinbeyza.gosker17@ogr.atauni.edu.tr

Amaç: Bu çalışmanın amacı, Erzurum ilinde botanik bahçesinde hobi amaçlı yetiştirilen evcil tavşanlardan alınan dışkı örneklerinin paraziter yönden mikroskopik olarak incelenmesidir.

Yöntemler: Botanik bahçede bulunan tavşanların yaşam alanlarından dışkı örnekleri toplandı. Örnekler ilk olarak Fuelleborn flotasyon yöntemi ile incelendi. *Eimeria* oocysti saptanan örnekler, tür identifikasyonu yapılabilmesi amacıyla %2,5’luk K₂Cr₂O₇ eklenerek sporlandırma işlemine tabi tutuldu. Sporlanmış *Eimeria* oocystlerinde, literatürde bildirilen morfolojik kriterlere göre tür tayini yapıldı.

Bulgular: Mikroskopik incelenme sonucu dışkı örneklerinde *Eimeria* oocystleri tespit edildi. Sporlandırılan oocystler, morfolojik özelliklerine göre değerlendirildiğinde *Eimeria flavescens* (*E. flavescens*), *E. media*, *E. intestinalis*, *E. perforans* ve *E. exigua* türleri tespit edildi.

Sonuç: Bu çalışmada, Erzurum ilinde evcil tavşanlarda *Eimeria* etkenleri mikroskopik olarak belirlendi. Türkiye’de tavşanlarda *E. exigua* morfolojik olarak ilk defa tespit edildi. Eimeriosis, hayvanlarda çoğunlukla subklinik seyir gösteren ancak yoğun enfeksiyonlarda klinik boyuta ulaşan hatta ilerleyen durumlarda ölümcül de olabilen protozoer bir hastalıktır. *Eimeria* etkenleri özellikle kanatlı işletmeciliği, çiftlik hayvanları ve pet hayvanlarında dikkat çekmekte olup bu çalışma ile evcil tavşanlardaki varlığı ve yaygınlığının da araştırılması gerekliliği sonucu elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Eimeria exigua*, Erzurum, Tavşan



P07.

Farklı Hasta Gruplarında *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar* ve *Entamoeba moshkovskii* Değerlendirmesi

Emrah ERDOĞAN, Bora ÖZKAN, Merve YÜRÜK, Eda SİVCAN

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-posta: emrah@erciyes.edu.tr

Amaç: Amebiyazis dünya çapında, ağırlıklı olarak gelişmekte olan ülkelerde sanitasyonun azalması ve su kaynaklarının fekal kirlenmesinin artması nedeniyle görülmektedir. Yılda yaklaşık 50 milyon insan enfeksiyona yakalanmakta, yine yıllık amebiyazis nedeniyle 100.000'den fazla insan ölmektedir. Enfeksiyonun temel kaynağı, *Entamoeba histolytica* kistlerini içeren dışkı ile kontamine olmuş su veya yiyeceklerin alınmasıdır. Ayrıca enfektif kişilerin anal-oral yolla cinsel ilişkisi sırasında veya tuvalette kullanılan ekipmanlardan da enfeksiyon sağlıklı kişilere bulaşmaktadır. Sıtmadan sonra dünyada en çok mortalite ve morbiditeye neden olan protozoon hastalık olmasına rağmen amebiyazisi önlemek için hiçbir aşı veya profilaktik ilaç bulunmamaktadır. Çalışmamızda amebiyazis şüpheli farklı hasta gruplarından alınan 52 dışkı örneğinin çeşitli yöntemlerle incelenmesi ve değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri farklı kliniklerinde tedavi gören amebiyazis şüpheli 52 hastanın dışkı örneği Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı rutin tanı laboratuvarlarına gönderildi. Laboratuvarında örneklerin tamamı nativ-lugol yöntemi ile ışık mikroskobu altında incelendi. Pozitif görülen bazı örnekler trikrom boyama yapıldı. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) çalışması *E. histolytica* II™ (TechLab, ABD) ticari kiti kullanılarak bütün örnekler uygulandı. Ayrıca morfolojik olarak birbirlerinden ayırt edilmeleri zor olan üç türün kesin tür ayrımlarının yapılabilmesi için öncelikle örneklerden total genomik DNA izolasyonu QIAmp Fast DNA Stool mini kit (QIAGEN, ABD) kullanılarak yapıldı. Son olarak total genomik DNA örneklerinden *E. histolytica*, *E. dispar* ve *E. moshkovskii* türlerinin 18S rRNA kısmı gen bölgesini hedefleyen primerlerle kantitatif gerçek zamanlı PCR (qRt-PCR) çalışıldı.

Bulgular: Öncelikle klasik yöntem ile incelenen örneklerden *E. histolytica*/*E. dispar* tespit edilen 45 örnekten bazıları trikrom boyama sonucunda ışık mikroskobu altında görüntülenmiştir. Mikroskopta negatif görülen 7 örnek ile beraber örneklerin tamamı ile ELISA çalışması yapıldı ve bu çalışmanın sonucunda 7 örnek *E. histolytica* pozitif tespit edildi. Örneklerin tamamına qRt-PCR çalışılması sonucunda 45 örnekte *E. dispar* tespit edilmiş ancak diğer iki parazit yönünden negatiflik görülmüştür.

Sonuç: Sonuç olarak bu çalışma ile önemli patojenlerden *E. histolytica* ile beraber rapor edilen *E. dispar* ve *E. moshkovskii*'nin farklı klinik şüpheli örneklerde farklı yöntemler ile incelemesi yapılmıştır. Son yıllarda yapılan araştırmalarda *E. histolytica*'nın bazı apatojen suşlarının olabileceği diğer taraftan *E. dispar* ve *E. moshkovskii*'nin ise patojen olabileceği ileri sürülmektedir. Özellikle hassas gruplar olan; hamile kadınlar, doğum sonrası kadınlar, yenidoğanlar, yetersiz beslenen bireyler, kortikosteroid alan bireyler, maligniteli bireylerde vs. gruplarda, şüpheli örnekler incelenirken klasik yöntemlerin yanında kesinlikle gelişmiş yöntemlerin kullanılmasının da hasta sağlığı ve değerlendirilmesi açısından daha uygun olacağı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovskii*, Elisa, qRtPCR

P08.

Kars İlindeki Mezbahalarda Kesilen Sığırların Fasciolosis, Dicrocoeliosis ve Echinococcosis Yönünden İncelenmesi

**Mesut Erdi IŞIK¹, Nilgün AYDIN¹, Mesut YİĞİT¹, Neslihan ÖLMEZ², Atila AKÇA¹,
Gencay Taşkın TAŞÇI¹, Zati VATANSEVER¹, Barış SARI¹**

Kafkas Üniversitesi, ¹Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD; ²Kars Meslek Yüksekokulu, KARS

E-posta: erdi190591@gmail.com

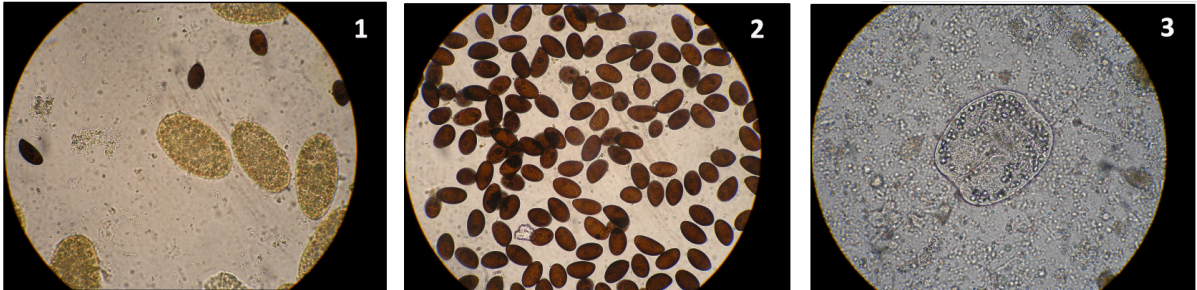
Amaç: Bu çalışma, Kars yöresindeki sığırlarda distomatosis ve echinococcosis enfeksiyonlarının yaygınlığını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Çalışmada, Mayıs-Temmuz 2019 tarihleri arasında Kars ilinde mezbahada kesilen farklı yaş, ırk ve cinsiyetteki 190 adet sığırın karaciğer, safra kanalları bıçakla kesitler atılarak muayene edilmiştir. Aynı hayvanların safra sıvıları ise laboratuvarda sedimentasyon yöntemi ile incelenmiştir.

Bulgular: İncelemeler neticesinde 11 (%5,8) sığırdaki erişkin *Fasciola hepatica* ve 37 (%19,5) sığırdaki erişkin *Dicrocoelium dendriticum*'a rastlanmıştır. Safra kesesinin sedimentasyon ile muayenesinde 40 (%21,1) sığırdaki *F. hepatica* yumurtası (Şekil 1), 80 (%42,1) sığırdaki *D. dendriticum* yumurtası (Şekil 2) ise görülmüştür. Kesilen sığırların 13'ünde (%6,8) Echinococcosis kisti tespit edilmiştir. Bu kistlerden alınan örneklerin sedimentasyonu sonucu 1 (%7,7) örnekte Protoskoleks bulunmuş (fertil kist) (Şekil 3), 12 (%92,3) örneğin ise steril kist (protoskoleks bulunmayan) olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: Kars yöresindeki bu çalışmada mezbaha muayenesi ile sığırlarda distomatosis ve echinococcosis enfeksiyonları tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular fasciolosis, dicrocoeliosis ve echinococcosis enfeksiyonlarının Kars yöresinde yüksek oranlarda seyreden enfeksiyonlar olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla bu enfeksiyonlarla bir an önce ve kararlılıkla mücadele edilmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kars, Distomatosis, Echinococcosis, Post-mortem Muayene Sedimentasyon, Sığır



Şekiller 1. Sığırdaki saptanan *F. hepatica* yumurtası; **2.** Sığırdaki saptanan *D. dendriticum* yumurtası; **3.** Protoskoleks bulunan fertil kist



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

P09.

Ağrı Yöresindeki Sığırlarda Karaciğer Trematod Enfeksiyonlarının Yaygınlığı

Cuma SALTAN¹, Gencay Taşkın TAŞCI²

Kafkas Üniversitesi, ¹Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji AD; ²Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KARS

E-posta: taskintasci@hotmail.com

Amaç: Bu çalışma, Ağrı yöresindeki sığırlarda distomatosis enfeksiyonlarının prevalansını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Çalışmanın ilk aşamasında, Mart-Ekim 2018 tarihleri arasında Ağrı ilinde mezbahada kesilen 200 adet sığırın karaciğer ve safra kanalları bıçakla kesitler atılarak muayene edilmiştir. Aynı hayvanların safra sıvıları ise laboratuvarında sedimentasyon yöntemi ile incelenmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında Ağustos-Kasım 2018 tarihleri arasında 188 adet sığırdan alınan dışkı örnekleri sedimentasyon-çinko sülfat flotasyon ve ELISA yöntemleriyle incelenmiştir.

Bulgular: Mezbahada post mortem muayenesi yapılan 47 sığırdan erişkin *Fasciola hepatica* ve 25 sığırdan da erişkin *Dicrocoelium dendriticum*'a rastlanmıştır. Sığırların safra keselerinin sedimentasyon ile muayenesinde 63 örnekte *F. hepatica* yumurtası, 48 örnekte ise *D. dendriticum* yumurtası tespit edilmiştir. Dışkı örneklerinin mikroskopik ve serolojik muayenelerinde ise ELISA ile 148 (%78,7) örnekte *F. hepatica* kopro antijenine, sedimentasyon ile 63 (%33,5) örnekte *F. hepatica* yumurtasına rastlanmıştır. Her iki yöntemle pozitif sonuç alınan örnek sayısı 55 olarak belirlenmiştir. EPG değeri en yüksek 83, en düşük 17 bulunmuştur. Hem sedimentasyon hem de ELISA sonuçları, en yüksek fasciolosis prevalansının 3 yaş üzeri ve dişi sığırlarda görüldüğünü ortaya çıkarmıştır. Sığırlarda *D. dendriticum*'un dışkı muayenesi ile prevalansı %25,5 olarak belirlenmiş, EPG değeri en yüksek 67, en düşük ise 17 olarak tespit edilmiştir. Yapılan incelemelerde, en fazla 3 yaş üzeri, dişi ve Yerlikara ırkı sığırlarda *D. dendriticum* yumurtası görülmüştür.

Sonuç: Ağrı yöresindeki bu çalışmada kopro antijen ELISA ve sedimentasyon-çinko sülfat flotasyon yöntemleri kullanılarak sığırlarda distomatosis enfeksiyonları tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular, bu enfeksiyonlara karşı etkili bir korunma ve kontrol programının bir an önce devreye sokulması, yetiştiricilerin bu hastalıklar konusunda bilinçlendirilmesi ve yörede daha detaylı çalışmaların yapılması gerektiğini ortaya çıkarmıştır.

Anahtar Kelimeler: Ağrı, Distomatosis, ELISA, Sedimentasyon, Sığır

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2019-TS-02).



P10.

Meram Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına Gönderilen Kistik Ekinokokkozis Şüpheli Örneklerin Değerlendirilmesi

Fatma ESENKAYA TAŞBENT, Burcu YAĞCI, Mehmet ÖZDEMİR

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, KONYA

E-posta: mehmetozdem@yahoo.com

TAM METİN

ÖZET

Amaç: Kistik ekinokokkozis, gelişmekte olan ülkelerde hem sağlığı tehdit eden hem de ekonomik kayıplara sebep olan önemli bir hastalıktır. Bu çalışmada Ocak 2018- Temmuz 2019 tarihleri arasındaki veriler retrospektif olarak incelenerek, Konya bölgesine ait kistik ekinokokkozis seroprevalansının ortaya konması amaçlanmıştır.

Yöntem: Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına kistik ekinokokkozis şüphesiyle gönderilen toplam 386 hastaya ait serum örnekleri, laboratuvarımızda tarama testi olarak kullanılan immünokromatografik kart test (Virapid Hydatidosis, Vircell) yöntemiyle değerlendirilmiş ve pozitif sonuçlanan numuneler indirekt hemaglutinasyon (Echinococcus Fumouze, Fumouze) yöntemiyle çalışılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen 386 hastanın 211'i (%55) kadın, 175'i (%45) erkek hastalardan oluşmaktadır. İmmünokromatografik kart test ile incelenen hastaların 52'si (%13) pozitif olarak bulunmuştur. Pozitif bulunan örneklerde çalışılan indirekt hemaglutinasyon testinde ise 52 hastanın 47'sinde (%90) pozitif titrasyon değerleri saptanmış ve bu hastalar seropozitif olarak değerlendirilmiştir. İndirek hemaglutinasyon testi ile seropozitif olarak bulunan hastalar, tüm hastaların %12'sini oluşturmaktadır. Seropozitif olarak değerlendirilen 47 hastanın %55'i bayan, %45'i erkek hastadır. Seropozitif hastaların %6'sı 0-18 yaş aralığında, %28'i 18-40 yaş aralığında ve %66'sı 40 yaş üzerinde bulunmuştur.

Sonuç: Kistik ekinokokkoz, tanısında serolojik test ve görüntüleme yöntemlerinin temel alındığı ciddi bir halk sağlığı sorunudur. Hastalık açısından endemik olan ülkemiz ve bölgemizde, kontrol programlarına rağmen parazitoz önemini korumaktadır.

Anahtar Kelimeler: İHA, Kart test, Kistik ekinokokkozis, Konya

The Evaluation of the Cystic Echinococcosis Suspected Samples in the Parasitology Laboratory of Meram Medical Faculty, Konya

SUMMARY

Objective: Cystic echinococcosis is an important disease that causes both health and economic losses in developing countries. In this study, we aimed to investigate the seroprevalence of cystic echinococcosis in Konya region retrospectively by analyzing the data between January 2018 and July 2019.

Material-Method: Serum samples of 386 patients who were referred to Parasitology Laboratory of Necmettin Erbakan University Meram Medical Faculty with suspicion of cystic echinococcosis were evaluated by immunochromatographic card test method (Virapid Hydatidosis, Vircell) which was used



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

as screening test in our laboratory. Then positive samples were studied with indirect hemagglutination method (*Echinococcus Fumouze*, *Fumouze*).

Results: Of the 386 patients included in the study, 211 (55%) were female and 175 (45%) were male. Of the patients examined by immunochromatographic card test, 52 (13%) were positive. In the indirect hemagglutination test, positive titration values were found in 47 (90%) of the 52 patients and these patients were evaluated as seropositive. Seropositive patients with indirect hemagglutination test accounted for 12% of all patients. Of 47 patients evaluated as seropositive, 55% were female and 45% were male. 6% of seropositive patients were in the 0-18 age range, 28% were in the 18-40 age range, and 66% were over 40 years of age.

Conclusion: Cystic echinococcosis is a serious public health problem which diagnose based on serological testing and imaging methods. In our country and region, which is endemic in terms of disease, parasitosis maintain importance despite control programs.

Key Words: IHA, Card test, Cystic echinococcosis, Konya

GİRİŞ

Kistik ekinokokkozis (KE), *Echinococcus granulosus* (*E. granulosus*) larvalarının neden olduğu çok eski tarihlerden beri bilinen zoonotik bir enfeksiyondur (1). Bir sestod olan parazitin kesin konağı köpek ve köpekgiller olup; ara konak olarak koyun, keçi ve sığırların yanı sıra insanlar da parazitin hayat döngüsünde yer almaktadırlar (2). Köpek dışkıyla dış ortama atılan parazit yumurtalarının ara konaklar tarafından sindirim veya solunum yoluyla alınması ile enfeksiyon oluşmaktadır (3). Alınan parazit yumurtalarından gelişen larval form, ara konakların başta karaciğer ve akciğer olmak üzere çeşitli iç organlarına yerleşebilmekte ve bu organlarda yıllar içerisinde kistik lezyonlar oluşturmaktadır. Parazitözün klinik bulguları genellikle kistin yerleşim yerine ve büyüklüğüne bağlı olmakla birlikte, vakaların büyük kısmı asemptomatiktir (2, 4). Bu nedenle genellikle tanısı geç fark edilen veya tesadüfen tespit edilen KE, zaman zaman hayati organlara yaptığı bası ve komplikasyonlarla önemli morbite ve mortatite sebeplerinden olabilir (5).

KE tanısında genellikle radyolojik görüntüleme yöntemleri ve serolojik testler kullanılmaktadır. Serolojik testler KE tanısının yanı sıra, cerrahi tedavi sonrası takiplerde de önemlidir. Serolojik testlerden indirekt hemagglütinasyon (IHA), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), indirekt immunofluoresans (IFAT), aglütinasyon testleri, immünoelektroforez, western blot en sıklıkla kullanılan yöntemlerdir (1, 6). Bu testlerden manuel bir yöntem olan IHA, uygulaması kolay, güvenilir ve kısa sürede sonuç alınan bir test olması sebebiyle birçok laboratuvar tarafından tercih edilmektedir (7). IHA testinin temel prensibinde, gluteraldehit veya tannik asitle eritrosit yüzeyi duyarlılaştırılarak antijen tutucu özellik kazandırılmakta ve bu şekilde hazırlanan antijen kaplı koyun eritrositleri hasta serumu ile karşılaşınca çökme olup olmamasına göre sonuçlar değerlendirilmektedir. *E. granulosus* ile ortak antijenlere sahip olması nedeniyle *Ascaris lumbricoides*, *Taenia saginata*, *Taenia solium*, *Fasciola hepatica*, *Toxoplasma gondii* gibi paraziter enfeksiyonların varlığı durumunda yanlış pozitiflik görülebileceği bildirilmektedir. Bundan dolayıdır ki KE tanısı için IHA'da 1/360 ve üzeri titreler anlamlı kabul edilmelidir. Düşük titrelerde yanlış pozitiflik riski artmaktadır (6, 7).

Son zamanlarda KE tanısına yönelik immüno-kromatografik hızlı tanı testleri rutin laboratuvarlarda sıkça tercih edilmektedir. Bu testlerin; yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmaları, kullanım kolaylığı, hızlı sonuç vermesi ve maliyet etkin olmaları nedeniyle özellikle parazitözün endemik olduğu bölgelerde tarama testi olarak kullanılabileceği belirtilmektedir (8).

Bu çalışmada çeşitli kliniklerden KE şüphesiyle gönderilen serum örneklerinden immüno-kromatografik hızlı tanı testi ve IHA yöntemiyle *E. granulosus*'e karşı antikörlerin araştırılması ve Konya bölgesindeki KE seroprevalansının ortaya konması amaçlanmıştır.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

GEREÇ VE YÖNTEM

Çeşitli kliniklerden Ocak 2018- Temmuz 2019 tarihleri arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına KE şüphesiyle gönderilen 386 hastaya ait serum örnekleri retrospektif olarak değerlendirildi. Çalışmada ilk olarak laboratuvarımızda tarama testi olarak kullanılan immüno-kromatografik kart test (Virapid Hydatidosis, Vircell) yöntemiyle serum örnekleri çalışılmış ve pozitif bulunan örnekler bir sonraki aşama olarak İHA yöntemiyle değerlendirilmiştir. İHA yöntemi, ticari kit (Hydatidose, Fumouze Laboratoires, France) ile test prosedürüne uygun olarak çalışıldı.

Serum sulandırılmaları U tabanlı mikropklarda yapıldı. Antijenli eritrosit süspansiyonu eklenmiş serum dilüsyonlarında, 2 saatlik inkübasyon sonrası düğme iliği şeklinde çökelti varsa sonuç negatif, kenarı tırtıklı düzensiz bir çökelti veya çökelti olmaması pozitif olarak değerlendirildi. Bu hastalardan 1/320 ve üzeri titrasyon bulunanlar pozitif olarak kaydedilirken; 1/80 ve 1/160 değerindeki düşük titrasyon değerlerindeki hastalara ait sonuçlar şüpheli bulunarak 15 gün sonra test tekrarı istendi.

BULGULAR

Kan örnekleri incelenen 386 hastanın 211'i (%55) kadın, 175'i (%45) erkek hastalardan oluşmaktadır. Örnekler öncelikle immüno-kromatografik kart test ile incelenmiş ve hastaların 52'si (%13) pozitif olarak bulunmuştur. Pozitif bulunan örneklerde çalışılan indirekt hemagglütinasyon testinde 52 hastanın 47'sinde (%90) pozitif titrasyon değerleri (1/320 ve üzeri) saptanmış ve bu hastalar seropozitif olarak değerlendirilmiştir. Beş hastada ise düşük titrasyon tespit edildiğinden bu hastalar şüpheli bulunarak 15 gün sonra test tekrarı istenmiş ve tekrarlarında da düşük titrasyon saptandığından negatif olarak kaydedilmiştir. Hastaların indirek hemagglütinasyon testinde saptanan titrasyon değerlerinin dağılımı Tablo 1'de özetlenmiştir. İndirek hemagglütinasyon testi ile seropozitif olarak bulunan hastalar tüm hastaların %12'sini oluşturmaktadır. Seropozitif olarak değerlendirilen 47 hastanın %55'i bayan, %45'i erkek hastadır. Seropozitif hastaların %6'sı 0-18 yaş aralığında, %28'i 18-40 yaş aralığında ve %66'sı 40 yaş üzerinde bulunmuştur.

Tablo 1. Çalışmadaki İHA titrasyon değerleri ve yüzde dağılımları

Titreler	Örnek Sayısı	%
1/80	3	5.7
1/160	2	3.8
1/320	4	7.7
1/640	1	1.9
1/1280	38	73
1/5120	4	7.6
Toplam	52	100

TARTIŞMA

KE hem insan sağlığını hem de hayvan sağlığını tehdit eden önemli helmint enfeksiyonlarından biridir. Bulaşmada köpek dışkıyla atılan yumurtalar primer rol oynarken, kist formunu taşıyan ara konakların çığ olarak köpeklere yedirilmesi parazitin döngüsünü tamamlamasına ve hastalığın yaygınlaşmasına sebep olmaktadır. Ülkemizde başıboş köpek popülasyonunun fazla olması, hayvan kesimleri ile ilgili kontrollerin yeterli olmaması, hastalık konusundaki bilgi düzeyinin eksikliği gibi sebeplerle ülkemizde parazitoz önemini korumaktadır (9).



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Hayvancılığın yaygın olarak yapıldığı ülkemizde KE enfeksiyonlarına sık rastlanmaktadır. Türkiye seroprevalansı farklı yöntemlerle farklı bölgelerden yapılan çalışmalarda %2,7 ile %54,1 arasında bildirilmektedir (7, 8).

Ülkemizin tüm bölgelerine ait kistik ekinokokkozis verilerini içeren çok merkezli retrospektif bir araştırmada; 2001-2005 yılları arasında ülkemizdeki ulaşılabilen verilere göre toplam 14789 KE olgusu olduğu bunlardan da 171 (%0,88) vakanın ölümle sonuçlandığı bildirilmiştir. Sözü edilen çalışmada vaka sayısının en yüksek olduğu bölge %38,57'lik oranla İç Anadolu Bölgesi olarak bulunurken, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu bölgesi sırasıyla %6,8 ve %2,75 oranlarla en düşük vaka sayısının olduğu bölgeler olarak belirtilmiştir (9). Oysa birçok çalışmada Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde hastalığın daha yaygın olduğu bildirilmektedir. Hayvancılığın yaygın olduğu bir bölge olan Kars bölgesinden yapılan bir çalışmada KE seroprevalansı %34,6 olarak bulunmuştur (3, 10). Erzurum bölgesinden yapılan bir diğer çalışmada, KE pozitiflik oranı %26,6 olarak rapor edilmiştir (8). Eşgin ve ark. Ankara bölgesinden yaptıkları çalışmalarında KE şüpheli 85 hastadan 46'sında (%54,1) IHA yöntemiyle seropozitiflik saptamışlardır (7).

İç Anadolu Bölgesi sınırlarında yer alan Konya bölgesine ait bu çalışmada parazitoza ait seroprevalans oranı %12 olarak bulunmuştur. Hayvancılığın önemli bir geçim kaynağı olduğu bölgemizde ülke verilerine göre bu oran düşük görünmektedir. Bu durumun, çalışmadaki hastaların çoğunlukla Konya şehir merkezine ait olması, hastalığın asemptomatik seyriden dolayı kırsal bölgedeki hastaların daha az sıklıkta hekime başvurmaları ile ilgili olabileceği düşünülmektedir.

SONUÇ

KE ülkemiz için önemli bir parazitöz olduğundan prevalans çalışmalarıyla bildirilecek veriler, hastalığın takibi ve kontrolü açısından önemlidir. Bu çalışma Konya bölgesi KE verileri ile literatüre katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Aydın M, Adıyaman G, Doğruman-Al F, Kuştimur S, Özkan S. Kist hidatik şüpheli hastalarda anti-Echinococcus IgG seropozitifliğinin ELISA yöntemiyle belirlenmesi. Türkiye Parazitol Derg 2012; 36: 61-4.
2. Ertuğ S, Çalışkan SÖ, Malatyalı E, Ertaabklar H. Investigation of the Applicability of a Rapid Diagnosis Test in the Diagnosis of Cystic Echinococcosis. Türkiye Parazitol Derg 2018; 42: 118-21.
3. Karaman Ü, Mıman Ö, Kara M, Gıcık Y, Aycan ÖM, Atambay M. Kars Bölgesinde Hidatik Kist Prevalansı. Türkiye Parazitol Derg 2005; 29: 238-40
4. Karadağ A, Yanık K, Ünal N, Odabaşı H, Hökelek M. Kistik ekinokokkozis şüphesi ile 2005-2011 yılları arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına gönderilen örneklerin değerlendirilmesi. Türkiye Parazitol Derg 2013; 37(1): 28-31.
5. Ertaabklar H, Dayanır Y, Ertuğ S, Aydın İlinin Farklı Bölgelerinde Ultrason ve Serolojik Yöntemlerle Kistik Ekinokokkozis Araştırılması ve Eğitim Çalışmaları Türkiye Parazitol Derg 2012; 36: 142-6
6. Gönlügör U, Gönlügör TE, Akkurt İ. Kist Hidatik tanısında serolojik testlerin değeri. Türkiye Klinikleri Arch Lung. 2004; 5: 158-61
7. Eşgin M, Aktaş M, Coşkun Ş. İndirekt hemaglutinasyon testi (IHA) yöntemi ile kistik ekinokokkozis şüpheli hastaların serumlarında antikor varlığının araştırılması. Türkiye Parazitol Derg 2007; 31: 283-7.
8. Yılmaz A, Karamişe M, Akkaş Ö, Uslu H. Kistik Hidatik şüpheli hastaların Tanısında ELISA ve İmmunokromotografik Yöntemin Karşılaştırılması. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Dergisi 2016; 3: 13-6.
9. Yazar S, Özkan AT, Hökelek M ve ark. Türkiye'de 2001-2005 yılları arasında kistik ekinokokkozis. Türkiye Parazitol Derg 2008; 32: 208-20.
10. Çobanoğlu U, Sayır F, Mergan D. Kist hidatik hastalarıyla aynı yaşam alanını paylaşan bireylerde radyolojik ve serolojik tarama sonuçları. Türkiye Parazitol Derg 2012; 36: 65-70.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

P11.

Bolu ve Yöresinde Kistik Ekinokokkoz'un Seroprevalansı

Erol AYAZ¹, Mehmet DEMİRCİ², Kerem YAMAN¹

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, ¹Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, ²Sağlık Bilimleri Enstitüsü; BOLU

E-posta: demircimehmed@hotmail.com

Amaç: Kistik ekinokokkoz, tüm dünyada görülebilen zoonotik paraziter enfeksiyonlardan birisi olup, *Echinococcus granulosus*'un metasestod larvasının farklı iç organlara yerleşerek oluşturduğu bir hastalıktır. Son konağı etçil hayvanlar olan bu parazitin, larvası insanlar dahil, etkenin izolatına göre değişen farklı memelilerde parazitlik yapmaktadır. Yerleştiği iç organlar arasında ağırlıklı olarak karaciğer bulunsa da akciğer ve merkezi sinir sistemi (MSS) dokularına da yerleşim gözlenmektedir. Ülkemiz ve yakın coğrafyalar bu hastalık bakımından endemik/hiperendemik bölgeler arasındadır. Özellikle hayvancılığın yaygın olduğu bölgelerde önem taşımakta ve ekonomik açıdan kayıplara neden olabilmektedir. Bu çalışmada, kistik ekinokokkoz yönünden Bolu ve yöresindeki prevalans değerlerinin ortaya çıkarılması ve meslekleri gereği etkenle karşılaşma olasılıkları daha yüksek olan veteriner hekimlerden elde edilen değerlerle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu amaçla araştırmaya Bolu yöresinde çalışan 72 veteriner hekim ile 384 diğer gönüllüden alınan serum örneklerinde, indirekt hemaglutinasyon (İHA) testi ile kistik ekinokokkoz için antikor araması yapılmıştır. Örnek alınan kişilerde, veteriner hekimler ve diğer gönüllüler için farklı olmak üzere, sosyo- ekonomik kriterlerin belirlenmesi ve farkındalık oluşturulması amacıyla 17 soruluk bir anket de düzenlenmiştir. Elde edilen değerler ki-kare testiyle istatistiki olarak analiz edilmiştir ve anlamlılık araştırılmıştır.

Bulgular: Araştırma sonucunda veteriner hekimlerde kistik ekinokokkoz seropozitifliğine (0/72) rastlanılmamıştır ve Bolu ili genelinde ise kistik ekinokokkoz prevalansı %0,52 (2/384) olarak tespit edilmiştir.

Sonuç: Bolu ve yöresinde genel nüfusda kistik ekinokokkoz prevalansı da 50/105 değerindeki Türkiye ortalamasının oldukça üzerinde olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmamızda; kistik ekinokokkoz prevalansı ile sebze-meyvenin yıkanmadan tüketilmesi ve kuyu suyu içilmesi gibi kriterler arasında da istatistiki olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Veteriner hekimlerde ise seropozitiflik saptanmamasının nedeni, bu hastalık hakkında daha bilinçli oldukları için kendilerini daha iyi korudukları şeklinde yorumlanmıştır. Bu araştırma ile, kistik ekinokokkozun Bolu yöresinde, önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturan zoonozlardan biri olduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kistik ekinokokkoz, seroprevalans, veteriner hekim, Bolu



P12.

Kars Yöresinde Atlarda Gastrointestinal Protozoon ve Helmintlerin Prevalansı

**Mesut YİĞİT¹, Atila AKÇA¹, Mesut Erdi IŞIK¹, Zati VATANSEVER¹, Nilgün AYDIN¹,
Neslihan ÖLMEZ², Barış SARI¹, Gencay Taşkın TAŞÇI¹**

Kafkas Üniversitesi, ¹Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD; ²Kars Meslek Yüksekokulu, KARS

E-posta: mesutyigit1377@gmail.com

Amaç: Platyhelminthes şubesi nematoda sınıfında yer alan *Trichostrongylus axei*, *Strongyloides westeri*, *Parascaris equorum*, *Strongylus* türleri, *Oxyruis equi*, *Probstomayria vivipara*, *Gastrodiscus* spp., *Pseudodiscus collinsi* türleri, cestoda sınıfından *Anoplocephala* türleri, protozoa aleminden *Trichomonas*, *Eimeria*, *Cryptosporidium* ve *Giardia* türleri atlarda görülebilmekte ve sindirim sistemi bozukluklarına yol açabilmektedir. Türkiye'nin Doğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan Kars yöresi sayısı itibariyle tektırnaklı hayvan yetiştiriciliğinin ciddi ölçüde yapıldığı yörelerden biridir. Tektırnaklılar Kars yöresinde iklim şartlarına bağlı olarak 7 ay (Nisan-Ekim) süreyle meradan beslenmekte bu yüzden mera kaynaklı birçok paraziter enfeksiyona da maruz kalmaktadır. Bu çalışma, Kars yöresinde yetiştiriciliği yapılan atlarda gastrointestinal helmint ve protozoon enfeksiyonlarının yaygınlığını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada, Kars yöresinde Haziran-Ağustos 2019 tarihleri arasında köylerde yetiştiriciliği yapılan farklı tür, yaş ve cinsiyetteki atlardan alınan dışkı örnekleri sedimentasyon ve flotasyon yöntemleriyle incelenmiştir.

Bulgular: Araştırmada incelenen 60'ı erkek ve 42'si dişi olmak üzere toplam 102 attan 93'ünün (%91,2) parazitler ile enfekte olduğu belirlenmiştir. Enfeksiyon oranları yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde; 0-1 yaş grubundakilerde %87 (7/8), 2-5 yaş grubundakilerde %90 (27/30), 6-10 yaş grubundakilerde %93 (41/44) ve 11 yaş üzerindekiilerde %90 (18/20) oranlarında enfeksiyon tespit edilmiştir. Dişilerin %90'ının (38/42) ve erkeklerin %91'inin (55/60) parazitler ile enfekte olduğu saptanmıştır. Mikroskopik muayeneler neticesinde *Fasciola* sp. yumurtasına 1 (%0,98), Strongylid tip yumurtaya 80 (%78,4), Trichostrongylid tip yumurtaya 68 (%66,7), *Parascaris equorum* yumurtasına 6 (%5,9), Hymenolepid tip yumurtaya 1 (%0,98) at dışkısında rastlanmıştır. Ayrıca bir parazit türü ile enfeksiyon oranı %34,3, iki veya daha fazla parazit türü ile mix enfeksiyon oranı ise %56,9 olarak belirlenmiştir. At dışkılarının mikroskopik muayenesinde herhangi bir gastro-intestinal protozoona rastlanmamıştır.

Sonuç: Bu çalışmada Kars yöresinde yetiştiriciliği yapılan atların birçok parazit türü ile enfekte olduğu tespit edilmiştir. Bu parazitlerden özellikle Strongylid nematodlara ait yumurtalara yoğun olarak rastlanmıştır. Belirlenen enfeksiyon oranlarının yüksek çıkması yetiştiricilerin atların sağlığı ile yeterince ilgilenmediğini göstermektedir. Bu nedenle yetiştiricilerin paraziter hastalıklar konusunda bilinçlendirilmesi gerekmektedir. Ayrıca atlarda görülen paraziter hastalıklar konusunda daha geniş kapsamlı araştırmaların yapılması gerektiği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Gastrointestinal Protozoon, Helmint, Kars, Prevalans, Tektırnaklı



P13.

Syphacia spp. ile Doğal Enfekte Sıçanlarda Kabak Çekirdeği Yağı ve Çörekotu Yağının Etkinliği

Betül SAYGIN, Bayram ŞENLİK

Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, BURSA

E-posta: btlsygn@gmail.com

Amaç: Bu çalışma sıçanlarda parazitlenen Oxyuridea ailesinde olan *Syphacia* türlerine karşı çörekotu yağı ve kabak çekirdeği yağının etkinliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Çalışmada kullanılacak enfekte deney hayvanlarını belirleyebilmek amacıyla Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Merkezi'nde bulunan sıçanlar üzerinde bir ön çalışma yapılmıştır. Bu amaçla 50 sıçandan selofan bant yöntemi kullanılmak suretiyle örnekler alınmıştır. Sıçanlardan alınan selofan bant örnekleri mikroskop altında incelenerek her bir hayvandaki *Syphacia* yumurta sayıları belirlenmiştir. Yumurta özelliklerine bakılarak yapılan cins ayrımlarında sadece *Syphacia*'larla enfekte hayvanlar çalışmaya alınmış, diğer türlerle enfekte olanlar ya da miks enfeksiyonlu hayvanlar çalışmaya dâhil edilmemiştir. *Syphacia* türleriyle enfekte oldukları tespit edilen sıçanlar içerisinde enfeksiyon düzeyi en yüksek olan 30 adet sıçan seçilerek çalışma grupları oluşturulmuştur. Daha sonra enfekte olduğu tespit edilen 30 adet sıçan, her bir grupta 10 hayvan bulunacak şekilde üç gruba ayrılmıştır. Birinci grupta yer alan hayvanlara kabak çekirdeği yağı, ikinci grupta yer alan hayvanlara çörekotu yağı verilmiş üçüncü grup ise kontrol olarak tutulmuştur. Tedavi gruplarında yer alan sıçanlara 5 gün arka arkaya oral yolla 100 µl etken madde verilmiş, kontrol grubundaki hayvanlara da aynı miktarda serum fizyolojik verilmiştir. Tedaviden sonraki 1, 3, 5, 7, 14 ve 21. günlerde her üç gruptaki hayvanlardan selofan bant yöntemiyle örnek alınarak enfeksiyon düzeylerindeki değişimler takip edilmiştir.

Bulgular: Yapılan sayımlar ve hesaplamalar sonucunda; kabak çekirdeği yağı uygulanan sıçanlarda tedaviden sonraki 7. günde yumurta sayısında %48,29 ve 14. günde ise %53,56 oranında bir azalma tespit edilmiştir, çörekotu yağı uygulanan grupta ise tedaviden sonraki 14. Günde %16,31 oranında bir azalma saptanmıştır.

Sonuç: Tedavi grubu yumurta sayısı ortalamalarının kontrol grubuyla kıyaslanması sonucunda 100 µl dozunda kullanılan kabak çekirdeği ve çörek otu yağının *Syphacia* yumurta sayılarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma sağlamadığı görülmüştür ($p>0,05$).

Anahtar Kelimeler: *Syphacia* spp., çörekotu yağı, kabak çekirdeği yağı, Rat



P14.

İzmir İlinin Farklı Bölgelerinden Semptomatik ve Asemptomatik Bireylerden İzole Edilen *Blastocystis* Subtiplerinin PCR Tabanlı Dağılımının Belirlenmesi

Mehmet AYKUR, Hande DAĞCI

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, Bornova, İZMİR

E-posta: mehmetaykur@gmail.com

Amaç: *Blastocystis* türleri, tüm dünyada insan ve hayvanların sindirim sisteminde yaşayan en yaygın protozoon parazitlerden biridir. *Blastocystis* insanlarda bazen gastrointestinal semptomlara neden olurken bazen de asemptomatik olarak seyretmektedir. Bu çalışmada İzmir ilinin farklı bölgelerindeki semptomatik ve asemptomatik kişilerin dışkı örneklerinden *Blastocystis* izolatları elde edilmiştir. Elde edilen izolatların PCR yöntemi ile subtiplere spesifik (STS) primerleri kullanarak subtiplerinin (ST) belirlenmesi ve gastrointestinal semptomlar ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Gastrointestinal semptomları olan 395 hasta ve asemptomatik 44 hastadan toplanan 439 dışkı örneği toplanmıştır. *Blastocystis* enfeksiyonu tespit etmek için tüm dışkı örnekleri Jones besiyerinde kültüre edilmiştir. Her dışkı örneğine QIAamp Fast DNA Stool Mini Kiti kullanılarak DNA izolasyonu yapılmıştır. *Blastocystis*'in 7 subtipine spesifik STs primer setleri kullanılarak PCR yöntemi uygulanmıştır.

Bulgular: Dışkı kültürlerinde gastrointestinal semptomları olan hastaların %17,21 (68/395)'inde ve asemptomatik hastaların %11,36 (5/44) 'sında *Blastocystis* tespit edilmiştir. İzmir ilinin 14 farklı bölgesinden subtiplerin dağılımı incelenmiştir. Gastrointestinal semptomları olan hastalarda en sık görülen subtip ST3, 18 hastada (%26,47); ST2, 12 hastada (%17,64); ST1, 5 hastada (%7,35) tespit edilmiştir. Ayrıca, 3 hastada ST1+ST3 ve 4 hastada ST2+ST3 olmak üzere miks subtip saptanmıştır. Asemptomatik olan 2 hastada ST3 ve 1 hastada ise ST2+ST3 miks ST tespit edilmiştir. Kültürde pozitif olduğu halde 28 hastada subtiplendirme yapılamamıştır. ST3 pozitif olan hastalarda en sık görülen semptomlar karın ağrısı, ishal ve kaşıntı iken ST2'de ise ishal, karın ağrısı ve kusma olarak sıralanmıştır.

Sonuç: Bu araştırmanın sonucunda gastrointestinal semptomları olan hastalarda saptanan en yaygın subtipler sırasıyla ST3, ST2 ve ST1'dir. ST3, ST2 ve ST1 subtiplerinin gastrointestinal şikayetlere ve patojenik potansiyellerinin olduğu ön görülmektedir. İzmir ilinin farklı bölgelerinde saptanan *Blastocystis* subtiplerinin dünyada ve ülkemizdeki verilere katkı sağlaması açısından önemli bir araştırmadır.

Anahtar Kelimeler: *Blastocystis*, Gastrointestinal semptomlar, PCR, STS primerler, İzmir



P15.

Lucilia sericata'nın Farklı Hayat Dönemlerinde Lucifensin ve Chymotrypsin Ekspresyonunun Araştırılması

Ahmet GÜRĞEL, Emrah ERDOĞAN, Songül ÇETİN, Serkan KARACA, Abdüssamed AKŞİT, Bora ÖZKAN, Eda SİVCAN, Fatma DOĞAN, Esra GÜRBÜZ

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-posta: burc2010ahmet@gmail.com

Amaç: İyileşmeyen kronik yaralar bütün dünyada önemli bir sağlık sorunudur. Bakteriyel kolonizasyon tedavisinde antibiyotik kullanımının artması ile birlikte ilaçlara karşı direnç sorunu ortaya çıkmaktadır. Antibiyotiğe yanıt vermeyen kronik yara tedavisinde etkili stratejilerin tanımlanıp desteklenmesine acil ihtiyaç vardır. Günümüzde bu amaçla kullanılan Maggot Debridman Tedavi başarılı uygulama etkinliği ile dikkat çekmektedir. Kurtçuklar ekstrakorporal sindirim ile proteolitik tripsin ve chymotrypsin benzeri enzimleri ile yaraları temizler. Ayrıca ilaca dirençli patojenlerin ortadan kaldırması yara tedavisi açısından önem arz etmektedir. Kurtçuk tedavisine katılan bileşikler ve mekanizmalarının belirlenmesi açısından antibakteriyel karakterizasyonun araştırılması gerekmektedir. Bu çalışmada *Lucilia sericata*'nın yumurta, larva, pupa ve erişkin hayat dönemlerinde eksprese edilen lucifensin ve chymotrypsin düzeylerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim dalındaki insektaryumda yapıldı. *L. sericata* türüne ait erişkin kolonileri üretildi. Sürekli üretim yapılacak koşullar oluşturuldu. İnsektaryumda sıcaklık, ışık, nem sağlayacak düzenekler kuruldu. *L. sericata* türüne ait yumurta, larva, pupa, erişkin sineklerin üretimi ve yaşam döngüsü takip edilerek sinek kolonileri oluşturuldu. İnsektaryumdan elde edilen yumurtalar steril hale getirilip kanlı agar besi yerinde steril larvalar elde edildi. Bu kolonilerden alınan ve steril hale getirilen yumurtalar; steril kanlı agar, karaciğer dokusu, koyun beyin dokusu, sığır eti dokusu, *Escherichia coli* eklenmiş tryptone soya agar, *Enterococcus faecalis* eklenmiş kanlı agar, *Staphylococcus aureus* eklenmiş tryptone soya agar, *Pseudomonas aeruginosa* eklenmiş tryptone soya agara eşit sayılarda bırakıldı. Deney gruplarından 6, 12, 24, 36,48 ve 72 saatlik dilimlerde örnekler alınıp RNA izolasyonu için kullanılabilecek kadar 500 µl RNA later (SIGMA, USA) içine konuldu. Total genomik DNA İzolasyonu ikinci dönem larvadan (L2), QIAmp DNA mini kit (QIAGEN, ABD) kullanılarak yapıldı. Dizayn ettiğimiz Ls luc F-R ve Ls chy F-R primerleriyle 67 bç ve 77 bç kısmi gen parçalarını hedefleyen PCR ürünleri elde edildi. *L. sericata* lucifensin ve cyhmotripsin kısmi gen parçalarının klonlanmasında CloneJET PCR Cloning Kit (ThermoScientific, ABD) kullanıldı. Deney grupları örneklerinden RNA izolasyonu için TRIGent RNA isolation Reagent kiti (Biomatik, ABD) kullanıldı. RNA later'da bekletilen örneklerden RNA izolasyonu yapıldı. Total RNA'dan cDNA için Prime Script 1st Strand cDNA Synthesis Kit (TAKARA, ABD) kullanılarak bütün örnekler için cDNA sentezleri tamamlandı. *L. sericata* lucifensin ve cyhmotripsin gen ekspresyon standartlarının oluşturulması için, miniprep ile elde edilen lucifensin ve cyhmotripsin gen parçalarını içeren rekombinant plazmitler; 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10.000, 1/100.000 olmak üzere dilüe edildi. Gen ekspresyon analizi yapılacak örneklerin cDNA'ları NanoDrop 2000c (ThermoScientific, ABD) ile ölçüldü. Aynı miktar DNA ile *L. sericata* evrelerindeki lucifensin ve cyhmotripsin gen ekspresyonunu değerlendirmek için her biri eşit miktarda DNA içerecek şekilde hesaplama yapıldı ve buna göre



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

kuyucuklara eklendi. Hesaplama yapılırken en küçük DNA değeri olan Pupa1 (45ng/μl) baz alınarak tüm örneklerin DNA miktarı 180 ng olacak şekilde hesaplama yapıldı. Çalışmada elde edilen bulguların istatistiksel analizleri için tek yönlü varyans analizi LSD kullanıldı. Tüm veriler ortalama± standart ortalama hata (mean±SEM) olarak verildi. Örneklerin durumlarına göre karşılaştırmak için Kruskal-Wals, Student-Newman-Keuls, 2 Student t testi yapıldı. P değeri <0,05 anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular: Çalışmamızda, *P. aeruginosa* eklenmiş tryptone soya agar, *E. faecalis* eklenmiş kanlı agar, *E. coli* eklenmiş tryptone soya agar ve *S. aureus* eklenmiş tryptone soya agarda yetiştirilen L1 larvalarda lucifensin ekspresyonu tespit edilmiş olup, *S. aureus* eklenmiş tryptone soya agarda yetiştirilen larvalar ile *P. aeruginosa* eklenmiş tryptone soya agar, *E. faecalis* eklenmiş kanlı agar ortamlarında yetiştirilen larvalara göre daha fazla lucifensin eksprese edildiği, en az lucifensin ekspresyonunun *E. faecalis* eklenmiş kanlı agarda yetişmiş larvalarda olduğu tespit edilmiştir. Sığır eti dokusunda gelişen pupalarda kanlı agar ortamlarında gelişen pupalara göre daha fazla lucifensin eksprese edildiği saptanmıştır. Sığır eti dokusunda gelişen pupalarda karaciğer dokusunda gelişen pupalara göre daha fazla lucifensin eksprese edildiği, en az lucifensin ekspresyonunun kanlı agarda gelişen pupalarda olduğu saptanmıştır. Kanlı agarda gelişen pupalarda karaciğer dokusu, sığır eti dokusu ortamlarında bulunan pupalara göre daha fazla chymotrypsin eksprese edildiği saptanmıştır. Karaciğer dokusundaki pupaların chymotrypsin ekspresyonunun erişkinler ve yumurtalara göre, sığır eti dokusu grubundaki pupaların chymotrypsin ekspresyonunun yumurtalara göre, koyun beyin dokusu grubundaki pupaların chymotrypsin ekspresyonunun yetişkinlere göre, kanlı agar grubundaki pupaların chymotrypsin ekspresyonunun ise erişkinlere göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Sığır eti dokusunda yetiştirilen erişkinlerde; karaciğer dokusu, koyun beyin dokusu, kanlı agar ortamlarında bulunan erişkinlere göre daha fazla chymotrypsin eksprese edildiği gösterilmiştir. Erişkinlerde en fazla chymotrypsin ekspresyonu sığır eti dokusu ve kanlı agarda tespit edilirken, en az chymotrypsin ekspresyonu karaciğer ve koyun beyin dokusunda yetiştirilenlerde tespit edilmiştir.

Sonuç: Elde edilen bulgulara göre; farklı beslenme ortamlarında yetiştirilen farklı hayat formlarının lucifensin ve chymotrypsin ekspresyon seviyelerinin farklı olabileceği görülmüştür. Sineğin yetiştirilmesinde farklı beslenme ortamlarının kullanılmasının yara tedavisinde kullanılan larvaların yara iyileşmesine olabilecek etkinliğine nasıl bir katkı sağlayacağı araştırılmıştır. Bu katkının daha sağlıklı bir şekilde değerlendirilebilmesi, hasta sağlığını uzun dönemde nasıl etkilediğinin belirlenmesi açısından daha kapsamlı ve çok merkezli klinik çalışmaların planlanmasının gerekliliği aşikârdır.

Anahtar Kelimeler: *Lucilia sericata*, lucifensin, chymotrypsin, gen ekspresyonu



P16.

Kayseri Yöresinde İzole Edilen Fakültatif Myiasis Etkeni *Eristalis tenax*'ın Mitokondrial Cytochrome C Oxidase Subunit I DNA Barkodlaması ve Filogenetik Karakterizasyonu

Mübeccel OKUR¹, Alparslan YILDIRIM¹, Gupse Kübra KARADEMİR¹, Zuhâl ÖNDER¹, Önder DÜZLÜ¹, Ömer Faruk ŞAHİN², Emrah ŞİMŞEK³, Gamze YETİŞMİŞ¹, Arif ÇİLOĞLU¹, Abdullah İNCİ¹

¹Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ; ²Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, SİVAS; ³Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, KAYSERİ

E-posta: gupsekarademir@gmail.com

Amaç: Bu çalışmada, bir sığır işletmesinde hayvanların bulunduğu ahırlar içerisinde örneklenen, myiasis'e sebep olabilecek ergin sineklerin moleküler identifikasyonu ve filogenetik karakterizasyonunu amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada *Hypoderma bovis* üzerine yürütülen bir araştırma kapsamında Kayseri yöresinde bulunan ve halk elinde yetiştiriciliği yapılan bir sığır işletmesinde ahırlar içerisinde aktif olarak uçan ve dış görüntü açısından *Hypoderma* sineklerine benzeyen ergin sinekler örneklenmiştir. Laboratuvarında ergin sineklerin stereo-mikroskop altında incelemeleri yapılmış ve görüntüleri kaydedilmiştir. Örneklenen sineklerden genomik DNA (gDNA) izolasyonu yapılmış ve mitokondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) DNA barkod bölgesi standart primerlerle amplifiye edilmiştir. Elde edilen ampliconlar saflaştırıldıktan sonra PCR primerleri ile çift yönlü olarak sekanslanmıştır. Sekans kromotogramları De Novo Assemble üzerinden işlenerek izolatlara ait konsensüs sekanslar elde edilmiştir. İlgili sekanslar GenBank veri tabanında Blastn analizlerine tabii tutularak moleküler identifikasyonları sağlanmış ve filogenetik analizler için elde edilen izolatlara ait sekansla birlikte Dünyanın farklı ülkelerinden GenBank veri tabanına kaydedilmiş izolatları içeren ve toplam 32 sekanstan oluşan mt-COI data seti oluşturulmuştur. Data set içerisinde haplotip çeşitliliği, inter ve intra spesifik nükleotid farklılıkları DNAsp ve Mega X üzerinden Kimura Two Parameter modeli ile analiz edilmiştir. Filogenetik ağaç oluşturulmasında maximum likelihood (ML) analizleri 1000 tekrarlı bootstrap kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Çalışmada örneklenen 10 adet ergin dişi sinekten elde edilen gDNA izolatlarının COI gen bölgesini amplifiye eden standart primerlerle PCR analizi sonucu 709 bp büyüklüğünde ampliconlar agaroz jel üzerinde belirlenmiştir. Jel pürüfiye ampliconların sekanslanması sonucu elde edilen kromotogramlardan PCR primerleri trimlenmiş ve DeNovo analizleri ile 658 bp barkod COI konsensüs sekansları elde edilmiştir. Tüm sineklere ait COI sekansları hizalama analizlerinde %100 identik bulunmuş ve blast analizlerinde ilgili sekansların *Eristalis tenax* türüne ait olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu haplotip EtenaxTR1 olarak adlandırılmıştır. COI data set içerisinde *E. tenax* için 5 farklı haplotipi ortaya koyan toplam 4 polimorfik bölge belirlenmiş ve bunların 3'ü parsimony informative bulunmuştur. *E. tenax* için intraspecific nükleotid farklılığı %0,2±0,1 saptanmış, *E. dimidiata*, *E. stipator*, *E. fraterculus*, *E. rupium*, *E. hirta*, *E. interrupta* ve *E. cryptarum* türleri ile interspecific farklılıklar sırasıyla %7,8±1,3, %7,8±1,3, %6,4±1,1, %6,0±1,1, %6,0±1,1, %6,9±1,3 ve %7,4±1,2 olarak belirlenmiştir. Blastn identiklik skor analizlerine göre oluşturulan COI data set içerisinde ilgili izolatların tür bazlı olarak küme oluşturduğu ve bu cluster içerisinde çalışmada belirlenen EtenaxTR1 izolatının Avustralya'dan bildirilen bir izolatla (GenBank Aksiyon: JN991985) %100 identik olduğu tespit edilmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Sonuç: Bu çalışma ile hayvan ve insanlarda fakültatif olarak intestinal myiasis sebep olan *E. tenax*'ın Türkiye'deki popülasyonları için ilk DNA barkodları sağlanmış ve filogenetik yapıları ortaya çıkarılmıştır. Türkiye'de yayılış gösteren *E. tenax* popülasyonlarının genetik çeşitliliğinin ortaya çıkarılması için farklı coğrafyalardan daha fazla örneklem üzerinde araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Eristalis tenax*, filogenetik karakterizasyon, mitokondrial DNA barkodlaması, myiasis, Türkiye



P17.

Lucilia sericata'nın Lucimycin Geninin Moleküler Karakterizasyonu

Songül ÇETİN¹, Tülay AKSOY²

¹Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ;

²İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD, MALATYA

E-posta: bylg.aksoy19@gmail.com

TAM METİN

ÖZET

Amaç: Bu çalışma, *Lucilia sericata* larvalarından moleküler yöntemler kullanılarak elde edilen lucimycin geninin moleküler karakterizasyonunu belirlemek ve literatüre katkıda bulunmak amacıyla yapılmıştır. **Yöntem:** Bu amaçla, insektaryum ünitesinde ergin sineklerden elde ettiğimiz 3. dönem larvalardan RNA izolasyonu yapılmış ve takiben revers transkripsiyon ile cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen cDNA'lar *L. sericata*'nın lucimycin geni için dizayn edilen spesifik primerler ile PCR analizine tabii tutulmuş ve elde edilen ampliconlar pJET1.2/blunt vektörüne klonlanarak plazmit pürifikasyonu yapılmıştır. Elde edilen rekombinant plazmitler vektör spesifik primerlerle sekans analizine tabii tutulmuş ve hedef gen bölgesi dizilimleri elde edilmiştir. Nükleotid dizileri saptanan izolatanın moleküler karakterizasyonu belirlendikten sonra GenBank veritabanına MF964229 aksesyon numarası ile kaydedilmiştir.

Bulgular: İnsektaryum ünitesinde üretilen *L. sericata* larvalarından elde edilen cDNA'dan lucimycin spesifik primerler kullanılarak yapılan PCR sonucunda 288 bp büyüklüğünde PCR ürünü elde edilmiştir. Jelde görüntülenen PCR ürünü saflaştırılmış ve ardından transformasyon işlemi yapılarak oluşan kolonilerin rekombinant plazmit içerip içermedikleri PCR screening ile gösterilmiştir. Elde edilen kolonilerin üç tanesinin PCR screening ile *L. sericata* lucimycin genini içeren rekombinant plazmit olduğu tespit edilmiştir. PCR screening ile pozitifliği doğrulanmış 3 koloniden miniprep yapılarak *L. sericata* lucimycin geni içeren rekombinant plazmitler pürüfiye edilmiştir. Rekombinant plazmit miniprep ürününden toplamda 20µl olacak şekilde PCR yapılarak rekombinant plazmit ürününün *L. sericata* lucimycin geni içerdiği doğrulanmıştır. Klonlama sonrası plazmitin doğrulanması amacıyla son olarak DNA dizi analizi yapılmıştır. DNA dizi analizi yapılan 288 bp uzunluğundaki *L. sericata* lucimycin dizisi doğrulanmıştır. İzole ettiğimiz lucimycin genini, spesifik pJET1.2 forward ve reverse primerleri ile çift yönlü olarak sekans analizleri sonucu Blastn algoritması kullanılarak tür ve/veya alt tür bazında konfirmasyonları sağlanmış olup ilgili izolat MF964229 aksesyon numarası ile GenBank veri tabanına kaydedilmiştir. İzole ettiğimiz örneğimize ait DNA dizisi Pubmed/ Blast programı ile GenBank'ta bulunan diğer izolatlarla karşılaştırılmıştır. KJ413251.1 GenBank nolu izolatla %99 benzer olduğu görülmüştür. İzolatımıza ait dizide 113.nükleotidin C (sitozin) olduğu görülürken, KJ413251.1 GenBank nolu izolatındaki dizide ise G (guanin) olması iki dizi arasındaki farklılığı ortaya koymuştur.

Sonuç: Bu çalışma ile Türkiye'de ilk kez *L. sericata* larvalarından elde edilen lucimycin geninin moleküler karakterizasyonu yapılmış, elde edilen ve antifungal özelliğe sahip bu moleküllerde gerçekleştirilecek olan çalışmalarda özellikle kutanöz enfeksiyonlara sebep olan mikroorganizma veya parazitlerde kullanılabilirliği düşünülmüştür. Ayrıca bu izolat Türkiye'nin biyolojik varlığı olarak GenBank'a da kaydı sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Lucilia sericata*, lucimycin, moleküler karakterizasyon



Molecular Characterization of *Lucilia sericata* Lucimycin Gene

SUMMARY

Aim: This study was conducted to determine the molecular characterization of lucimycin gene obtained from *Lucilia sericata* larvae using molecular methods and to contribute to the literature.

Methods: For this purpose, RNA was isolated from 3rd stage larvae obtained from adult flies in insectarium unit and then cDNA synthesis was performed by reverse transcription. The synthesized cDNAs were subjected to PCR analysis with specific primers designed for the lucimycin gene of *L. sericata* and the obtained amplicons were cloned into pJET1.2 / blunt vector and plasmid purified. The resulting recombinant plasmids were subjected to sequence analysis with vector-specific primers and target gene region sequences were obtained. After molecular characterization determined the nucleotide sequences determined were recorded on GenBank database MF964229 isolates accession number.

Results: The PCR product of 288 bp was obtained by PCR using lucimycin specific primers from cDNA obtained from *L. sericata* larvae produced in the insectarium unit. The PCR product imaged on the gel was purified by purification and subsequent transformation was shown by PCR screening to see if the colonies formed by transformation contained the recombinant plasmid. Three of the colonies were identified as recombinant plasmids containing *L. sericata* lucimycin gene by PCR screening. Miniprep was made from 3 colonies confirmed by PCR screening and the recombinant plasmids containing *L. sericata* lucimycin gene were purified. It was confirmed that the recombinant plasmid product contained *L. sericata* lucimycin gene by PCR for a total of 20µl of the recombinant plasmid miniprep product. DNA sequencing was finally performed to confirm the plasmid after cloning. DNA sequence analysis of 288 bp *L. sericata* lucimycin sequence was confirmed. The isolated lucimycin gene was confirmed by specific and pJET1.2 forward and reverse primers using Blastn algorithm as a result of species and / or subspecies by using Blastn algorithm and the related isolate was recorded in GenBank database with the MF964229 accessory number. The DNA sequence of our isolated sample was compared with other isolates in GenBank by Pubmed / Blast program. KJ413251.1 was found to be 99% similar to GenBank isolate. In the sequence of our isolate 113. nucleotide C (cytosine) was seen, while KJ413251.1 GenBank isolate G (guanine) in the sequence revealed the difference between the two sequences.

Conclusion: This study made molecular characterization of the first *L. sericata* larvae lucimycin gene derived from in Turkey, in studies of these molecules in the future to be performed with and antifungal property obtained are contemplated in particular can be used in microorganisms or parasites that cause cutaneous infections. In addition, these isolates are provided in the GenBank record as biological assets in Turkey.

Key Words: *Lucilia sericata*, lucimycin, molecular characterization

GİRİŞ

Calliphoridae ailesinin bir üyesi olan *L. sericata*, *Lucilia* cinsindeki en yaygın türlerden birisidir. Eskiden *Phaenicia sericata* olarak bilinen *L. sericata* yaygın olarak leş, çöp ve dışkı üzerinde bulunmaktadır (1). *L. sericata*'nın tıp açısından önemi Maggot Debridman Tedavisi'nde (MDT) kullanılmasından kaynaklanmaktadır. MDT, *L. sericata* larvalarının steril hale getirilerek iyileşmeyen yaraların tedavisinde kullanılmasına verilen isimdir (2). Tıbbi tedavi amacıyla kullanılan kurtçuklar yaralardaki enfeksiyonları ve nekrotik dokuları yok ederek yaraların iyileşmesine yardımcı olmaktadır (3). MDT'nin etki mekanizması; nekrotik dokunun çıkarılması (debridman), yara iyileşmesinin hızlanması ve yara dezenfeksiyonu olmak üzere üç şekildedir (4). Yara dezenfeksiyonunda, defensin benzeri lucifensin, chymotripsin gibi antibakteriyel aktiviteye sahip küçük moleküller ve antimikrobiyal peptidler (AMP) de rol oynamaktadırlar. Bu önemli AMP'lerden biride son zamanlarda tespit edilen, aynı zamanda antifungal aktivite gösteren lucimycindir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Bu çalışmada; ergin *L. sericata* sineklerinden elde edilen 3. dönem larvalarda lucimycin geninin moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçlar ileriki çalışmalarda kutanöz enfeksiyonlara sebep olan mikroorganizma veya parazitlerde kullanılabilceği düşünülmektedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

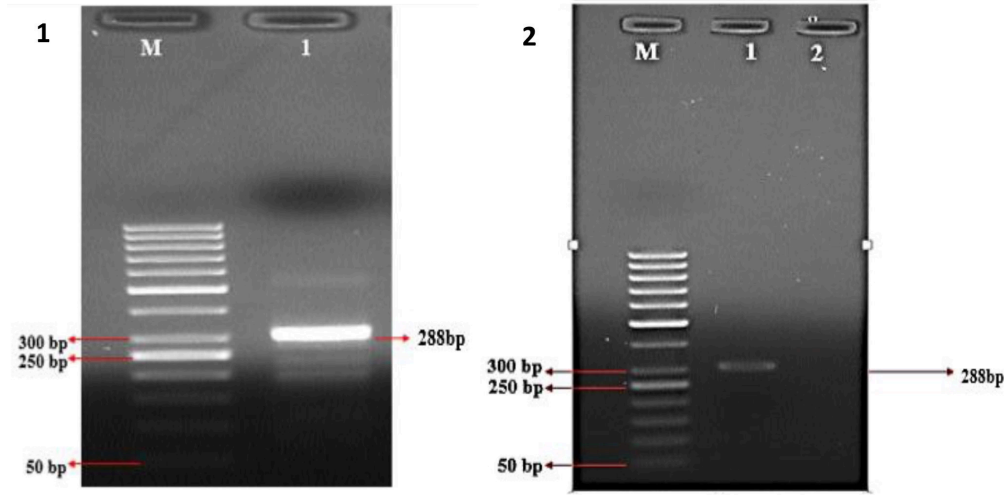
Bu çalışmada, insektaryum ünitesinde ergin sineklerden elde ettiğimiz 3. dönem larvalardan RNA izolasyonu yapılmış ve takiben revers transkripsiyon ile cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen cDNA'lar *L. sericata*'nın lucimycin geni için dizayn edilen spesifik primerler ile PCR analizine tabii tutulmuş ve elde edilen amplikonlar pJET1.2/blunt vektörüne klonlanarak plazmit pürifikasyonu yapılmıştır. Elde edilen rekombinant plazmitler vektör spesifik primerlerle sekans analizine tabii tutulmuş ve hedef gen bölgesi dizilimleri elde edilmiştir. Nükleotid dizileri saptanan izolata moleküler karakterizasyonu belirlendikten sonra GenBank veritabanına MF964229 aksesyon numarası ile kaydedilmiştir.

BULGULAR

İnsektaryum ünitesinde üretilen *L. sericata* larvalarından elde edilen cDNA'dan lucimycin spesifik primerler (Tablo 1) kullanılarak yapılan PCR sonucunda 288 bp büyüklüğünde PCR ürünü elde edilmiştir (Şekil 1). Jelde görüntülenen PCR ürünü pürüfiye edilerek saflaştırılmış ve ardından transformasyon işlemi yapılarak oluşan kolonilerin rekombinant plazmit içerip içermedikleri PCR screening ile gösterilmiştir (Şekil 2). Elde edilen kolonilerin üç tanesinin PCR screening ile *L. sericata* lucimycin genini içeren rekombinant plazmit olduğu tespit edilmiştir PCR screening ile pozitifliği doğrulanmış 3 koloniden miniprep yapılarak *L. sericata* lucimycin geni içeren rekombinant plazmitler pürüfiye edilmiştir (Şekil 3). Rekombinant plazmit miniprep ürününden toplamda 20µl olacak şekilde PCR yapılarak rekombinant plazmit ürünün *L. sericata* lucimycin geni içerdiği doğrulanmıştır (Şekil 4). Klonlama sonrası plazmitin doğrulanması amacıyla son olarak DNA dizi analizi yapılmıştır. DNA dizi analizi yapılan 288 bp uzunluğundaki *L. sericata* lucimycin dizisi doğrulanmıştır (Şekil 5). İzole ettiğimiz lucimycin genini, spesifik pJET1.2 forward ve reverse primerleri ile çift yönlü olarak sekans analizleri sonucu Blastn algoritması kullanılarak tür ve/veya alt tür bazında konfirmasyonları sağlanmış olup ilgili izolat MF964229 aksesyon numarası ile GenBank veri tabanına kaydedilmiştir. İzole ettiğimiz örneğimize ait DNA dizisi Pubmed/ Blast programı ile GenBank'ta bulunan diğer izolatlarla karşılaştırılmıştır. KJ413251.1 GenBank nolu izolatla %99 benzer olduğu görülmüştür. İzolatımıza ait dizide 113.nükleotidin C (sitozin) olduğu görülürken, KJ413251.1 GenBank nolu izolatındaki dizide ise G (guanin) olması iki dizi arasındaki farklılığı ortaya koymuştur (Tablo 2).

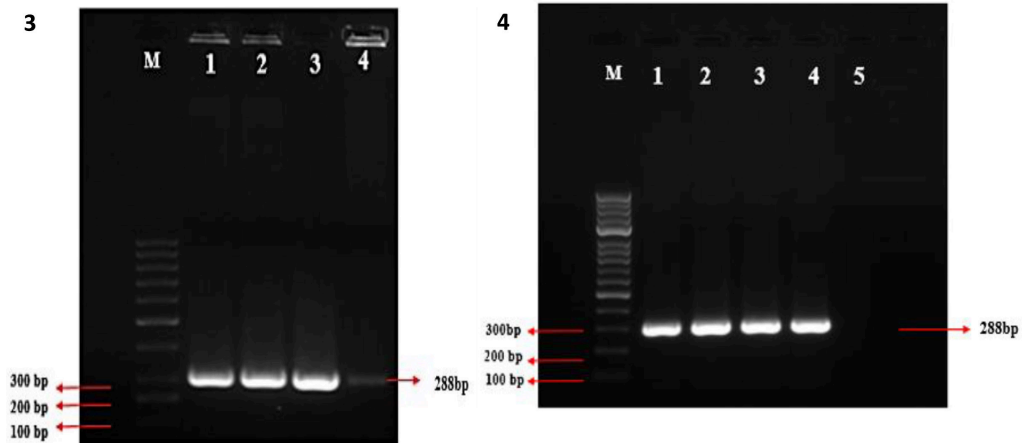
Tablo 1. Lucimycin gen bölgesinin amplifikasyonu için kullanılan primerler

Primer Adı	Primer Dizilimi	TM* (C)
Lucimycin F	5'-CACCATGGCAAATTATTTATTATTGTTCTTTTC-3'	65.7 °C
Lucimycin R	5'-TAATAACCATGACTTTTATAGCCATGACC-3'	64.8 °C



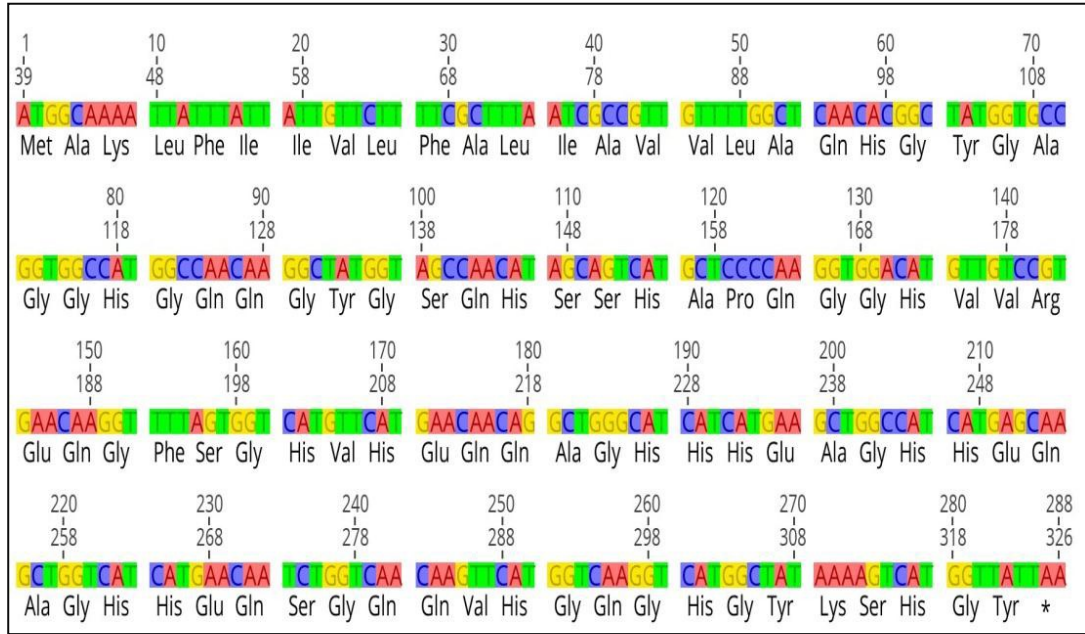
Şekil 1. PCR yöntemi ile *Lucilia sericata* Lucimycin genin çoğaltılması sonucu oluşan 288bp'lik bant ve agaroz jeldeki görüntüsü 1: *L. sericata* örneği; M: Marker (50 bp Promega, ABD).

Şekil 2. *Lucilia sericata* Lucimycin clean-up sonrası (Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System, Promega) PCR görüntüsü. M: Marker (100 bp Promega, ABD), 1: clean-up sonrası 288 bp'lik *L. sericata* Lucimycin PCR ürünü; 2: Negatif kontrol



Şekil 3. İnkübasyon sonucu çoğalan kolonilerden oluşturulan PCR yöntemi ile pozitif çıkan örneklerin agaroz jelde görüntüsü, M: Marker (100 bp Promega, ABD), 1,2,3: Pozitif koloniler, 4: Pozitif kontrol

Şekil 4. *L. sericata* lucimycin miniprep - (EZ-10 Spin Column Plasmid DNA Minipreps) PCR sonrası görüntüsü, 1; Pozitif kontrol, 2,3,4; Miniprep sonrası 288 bp'lik *L. sericata* lucimycin genini PCR ürünü, 5; Negatif kontrol M; Marker (100 bp Promega, ABD).



Şekil 5. DNA dizi analizi yapılan *L. sericata* lucimycin gen dizisi.

Tablo 2. Elde edilen Lucimycin geninin KJ413251.1 Genbank nolu izolatu ile karşılaştırılması

KJ413251.1	1	ATGGCAAAAATTATTTATTATTGTTCTTTTCGCTTTAATCGCCGTTGTTTTGGCTCAACAC	60
MF964229	1	ATGGCAAAAATTATTTATTATTGTTCTTTTCGCTTTAATCGCCGTTGTTTTGGCTCAACAC	60
KJ413251.1	61	GGCTATGGTGCCGGTGGCCATGGCCAACAAGGCTATGGTAGCCAACATAGCAGTCATGCT	120
MF964229	61	GGCTATGGTGCCGGTGGCCATGGCCAACAAGGCTATGGTAGCCAACATAGCAGTCATGCT	120
KJ413251.1	121	CCCCAAGGTGGACATGTTGTCCGTGAACAAGGTTTTAGTGGTCATGTTTCATGAACAACAG	180
MF964229	121	CCCCAAGGTGGACATGTTGTCCGTGAACAAGGTTTTAGTGGTCATGTTTCATGAACAACAG	180
KJ413251.1	181	GCTGGGCATCATCATGAAGCTGGCCATCATGAGCAAGCTGGTCATCATGAACAATCTGGT	240
MF964229	181	GCTGGGCATCATCATGAAGCTGGCCATCATGAGCAAGCTGGTCATCATGAACAATCTGGT	240
KJ413251.1	241	CAACAAGTTCATGGTCAAGGTCATGGCTATAAAAAGTCATGGTTATTAA	288
MF964229	241	CAACAAGTTCATGGTCAAGGTCATGGCTATAAAAAGTCATGGTTATTAA	288

TARTIŞMA VE SONUÇ

MDT, iyileşmeyen kronik yaralara uygulanan en eski tedavi yöntemlerinden biridir. Tedavi ile ilgili yapılan laboratuvar ve klinik çalışmalarda, yaralar üzerine konulan kurtçukların nekrotik dokuyu ortadan kaldırdığı, granülasyon dokusunun oluşumunu hızlandırdığı ve enfeksiyondan arındırıp yeni bir enfeksiyon oluşumunu engellediği gösterilmiştir (5, 6). Çok eski yıllardan beri kronik yaralara uygulanan *L. sericata* larvalarının etkin bir şekilde ölü dokuyu debride ettikleri ve yaralarda dezenfeksiyon sağladıkları kanıtlanmıştır. Bunun yanı sıra tedavide kullanılan bu kurtçukların iyileşmeyi de hızlandırdıkları bilinmektedir (7). Yapılan çalışmalarda; derbridmana yardımcı olan larva



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

sekresyonlarında; metaloproteazlar, serine proteazlar gibi bileşikler ve antibakteriyel aktiviteleri olan ve iyileşmeye yardımcı olabilen aspartil bileşikler tespit edilmiştir (8).

Terapötik etkiler; nekrotik dokunun çıkarılması (debridman), yara iyileşmesinin hızlanması ve yara dezenfeksiyonunu içermektedir (4). Yara dezenfeksiyonunda, defensin benzeri lucifensin, chymotripsin gibi anti-bakteriyel aktiviteye sahip küçük moleküller ve antimikrobiyal peptidler (AMP) de rol oynamaktadırlar. Bu önemli AMP'lerden biri de; aynı zamanda antifungal aktivite gösteren lucimycindir (9, 10).

Larval sekresyonlardaki antimikrobiyal aktiviteye sahip olan moleküller defensin benzeri bir molekül olan lucifensin ve chymotripsin'dir. Lucifensin'in *L. sericata* larvalarının salgı ürünlerinde bulunduğu ve yara patojenlerinin ortadan kaldırılmasında önemli bir rolünün olduğu düşünülmektedir. İlk defa larvaların bağırsağından izole edilen lucifensin daha sonra vücut yağlarında, tükürük bezinde ve hemolenfte de saptanmıştır (6). Bir diğer antimikrobiyal ajan olan chymotripsin larvaların debridman mekanizmasının anlaşılmasına yönelik çalışmalarda önemli bir noktayı aydınlatmaktadır. Chymotripsinin yara kabuklarını etkin bir şekilde azalttığı ve biyofilm tabakasının bozulmasında etkili olduğu görülmüştür. Biyofilm tabakasının bozulması ile birlikte, bakteriler antibiyotiklere, immun sistem faaliyetlerine ve larva eylemlerine daha duyarlı hale gelmektedir (5, 10). *L. sericata* AMP'leri sadece lucifensin, chymotripsin ve lucimycin değil; aynı zamanda attasin, cecropin, dipterisin, prolin açısından zengin peptidleri ve sarkotoksinleri de içermektedir (11). Buna karşın antifungal bir molekül olan lucimycin son yıllarda keşfedilmiş olup gelecekteki bilimsel çalışmalara da ışık tutacağı öngörülmektedir. Yapılan çalışmalarda yeni keşfedilen bu peptidin, sadece antifungal özelliğe sahip olduğu ve *Oomycete*, *Ascomycota*, *Basidiomycota* ve *Zygomycota* şubelerinin temsilcileri de dâhil olmak üzere çeşitli mantar patojenlerine karşı etkinlik gösterdiği ortaya konmuştur (12, 13).

Lucimycin'in antifungal mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber, muhtemelen bakteriyel hücre zarlarının dış kısmında bulunan negatif yüklü fosfolipitleri bağlayan defensinler ve cecropinler gibi klasik katyonik peptitlerin antibakteriyel mekanizmalarından büyük ölçüde farklıdır. Bu peptitler bir amfipatik konformasyon benimseyerek bakteri membranında gözenek açabilmekte veya membranı bozabilmektedir. Lucimycin'in hafif asidik olan pH'ı negatif yüklü olan membranlarla etkileşime girmediğini ve antibakteriyel aktivite eksikliği olduğunu açıklamaktadır (13, 14).

Pöppel ve ark. (15) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, antifungal bir peptit olan lucimycin'in transkriptinin tanımlanması, rekombinant ve sentetik üretimi, antibakteriyel ve antifungal etkinlik testleri yapılmıştır. Araştırmacılar bu çalışmalarında lucimycin'in çoğu antimikrobiyal peptidin aksine disülfid bağlarına sahip olmadığını, prolin açısından zengin ve hidrofilik olduğunu fakat katyonik olmadığını göstermişlerdir. Araştırmacılar (15), Tioredoksin ve His6 ile bir füzyon proteini olarak lucimycin üretmiş, daha sonra elde edilen rekombinant peptit saflaştırılarak *in vitro* ortamda antimikrobiyal etkinliklerini gözlemlemişlerdir. İlk olarak gram negatif (-) bakteriler olan *E. coli*, *P. aeruginosa* ve gram pozitif (+) bakteriler olan *M. luteus*, *S. aureus* ve *S. epidermis*'e karşı test etmişlerdir. Ancak lucimycin'in bu bakterilere karşı test edilen en yüksek konsantrasyonda (100 µM) bile aktivite göstermediğini gözlemlemişlerdir. Daha sonra, ekonomik açıdan önemli tarımsal patojenler olan *F. graminearum* ve *P. parasitica*'ya karşı *in vitro* ortamda 0,3-200 µM lucimycin peptidinin varlığında çimlendirilen sporların sayısını belirleyerek antifungal etkinliğini test etmişlerdir. Test sonucunda lucimycinin çimlenme oranını düşürdüğü, hatta yüksek konsantrasyonlarda çimlenmeyi tamamen ortadan kaldırdığını gözlemlemişler ve lucimycinin antibakteriyel değil antifungal bir peptit olduğunu tanımlamışlardır (15).

Baumann ve ark. (16) "İmmun yanıt sırasında *L. sericata* dokularındaki özgül referans genlerin seçimi ve değerlendirilmesi" başlıklı çalışmada farklı patojen sınıflarını hedefleyen (18S rRNA, 28S rRNA, actin, β-tubulin, RPS3, RPLP0, EF1α, PKA, GAPDH ve GST1) 10 aday referans geni ve üç bağışık geninin (lucimycin, defensin-1 ve attacin-2), doku spesifik ekspresyon stabilitesini araştırmışlardır. Çalışmada *P. aeruginosa* ile *L. sericata* larvaları enfekte edilerek immun yanıtın önce ve sonra farklı *L. sericata*



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

dokularında bu üç bağışıklık geninin ekspresyonunu izlemişlerdir. Gram negatif bakterileri hedefleyen attacin-2'nin larval dokularda azami düzeye ulaşan (50.000 katın üzerinde) güçlü ifadesi görülmüştür. Ayrıca gram negatif bakterilere karşı hiçbir etkiye sahip olmadığı bilinen ve antifungal bir peptit olan lucimycin'in beklenildiği gibi diferansiyel bir ifadesine rastlanılmamıştır. Gram pozitif bakterileri hedefleyen defensin-1'in ise şaşırtıcı şekilde larval dokularda yükseldiği gözlemlenmiştir (16).

DNA dizi analizi organizmalar arasındaki filogenetik ilişkileri belirlemek için kullanılan bir yöntemdir. Karşılaştırılan çok sayıda karakterin çözünürlük gücünü önemli derecede artırabileceği için filogenetik analizlerde DNA dizilerinin kullanılmasının yararlı olduğu bilinmektedir (17). Bu yöntem; dizi varyasyon şeklinin gözlemlenmesi, nükleotid sapma derecesinin ölçülebilmesi, farklı laboratuvar sonuçlarının direk karşılaştırılabilmesi, dizilerin yayınlanması ve elektronik veri tabanlarında saklanması (GenBank, EMBL ve DDBJ), sonuçların doğrulanması ve bu uygulamaların diğer taksonlara, suş ya da klon elde etmeye gerek kalmaksızın uygulanabilmesi ya da deneylerin tekrarlanabilmesine izin verecek özellikte olması yine DNA dizi analizinin önemli faydalarındandır (14). Bu çalışma dünyada GenBank'a kayıtlı ikinci DNA dizi bilgisi veren çalışma olup *L. sericata* larvalarından elde ettiğimiz izolatanın Lucimycin genine ait dizide 113. nükleotid C iken, Almanya'da *L. sericata* larvasından elde edilen ve KJ413251.1 GenBank numaralı izolattaki dizide ise aynı pozisyonadaki nükleotidin G olması iki dizi arasında yöresel farklılıkların olduğunu göstermektedir. Yapılan analizler sonucunda coğrafyamızdaki *L. sericata* izolatanın GenBank'a kayıtlı izolata %99 oranında benzer olduğu görülmüştür. Bu gen bölgesinin protein olarak ifade edilen bir bölge olması nedeniyle oluşan nokta mutasyonun fonksiyonel analizlerinin yapılması ileride yapılacak çalışmalara ön veri sağlamaktadır.

Çalışmamızda, *L. sericata* larvasından elde ettiğimiz cDNA kullanılmıştır. PCR reaksiyonu için, *L. sericata*'nın lucimycin gen bölgesini hedef alan orijinal olarak dizayn ettiğimiz, 288 bp'lik spesifik primerler kullanılmıştır. *L. sericata* lucimycin geni CloneJET PCR Kit vektörüne klonlanmış ve kompetan *E. coli* hücrelerine transformasyonu yapılarak çoğaltılmıştır. Ardından PCR screening ile pozitifliği doğrulanıp kolonilerden miniprep yapılmıştır. *L. sericata* lucimycin DNA'sını içeren rekombinant plazmitler saflaştırılmıştır. Klonlamanın doğruluğunun kesinleşmesi için *L. sericata* lucimycin geni için DNA dizi analizi yapılmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışma ile *L. sericata* genine ait rekombinant DNA dizisi elde edilmiştir. Çalışmada elde edilen ve anti-fungal özelliğe sahip bu molekül ileride gerçekleştirilecek olan çalışmalarda özellikle kutanöz enfeksiyonlara sebep olan mikroorganizma veya parazitlerde kullanılabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Whitworth T. Keys to the genera and species of blow flies (Diptera: Calliphoridae) of America north of Mexico. Proceedings of the Entomological Society of Wash. 2006;108(3):689-725.
2. Mumcuoğlu KY. Clinical applications for maggots in wound care. Am J Clin Dermatol. 2001; 2(4):219-27.
3. Purwins S, Herberger K, Debus ES, Rustenbach SJ, Pelzer P, Rabe E, Schäfer E, Stadler R, Augustin M. Cost-of-illness of chronic leg ulcers in Germany. Int Wound J. 2010; 7(2):97-102.
4. Nigam, Y., Bexfield, A., Thomas, S., Ratcliffe, N. A., Maggot Therapy: The Science and Implication for CAM Part I-History and Bacterial Resistance, Evid Based Complement Alternat Med., 3(2), 223-227, 2006
5. Bonn D. Maggot therapy: an alternative for wound infection. The Lancet, 2000; 356(9236): 1174.
6. Jaklic D, Lapanje A, Zupancic K, Smrke D, Gunde-Cimerman N. Selective antimicrobial activity of maggots against pathogenic bacteria. J Med Microbiol. 2008;57(Pt 5):617-25
7. Pöppel AK, Vogel H, Wiesner J, Vilcinskis A. Antimicrobial peptides expressed in medicinal maggots of the blow fly *Lucilia sericata* show combinatorial activity against bacteria. Antimicrob Agents Chemother. 2015; 59(5): 2508-2514.
8. Cerovsky V, Zdarek J, Fucik V, Monincova L, Voburka Z, Bem R. 2010. Lucifensin, the long-sought antimicrobial factor of medicinal maggots of the blowfly *Lucilia sericata*. Cell Mol Life Sci. 2010;67(3):455-66



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

9. Bexfield A, Nigam Y, Thomas S, Ratcliffe NA. Detection and partial characterisation of two antibacterial factors from the excretions/secretions of the medicinal maggot *Lucilia sericata* and their activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Microbes Infect.* 2004;6(14):1297-304.
10. Wiesner J, Vilcinskas A. Antimicrobial peptides: the ancient arm of the human immune system. *Virulence.* 2010;1(5):440-64.
11. Thomas S, Jones M. Wound debridement: evaluating the costs. *Nurs Stand.* 2001;14-20;15(22):59-61.4
12. Rueda LC, Ortega LG, Segura NA, Acero VM, Bello F. *Lucilia sericata* strain from Colombia: Experimental colonization, life tables and evaluation of two artificial diets of the blowfly *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae), Bogotá, Colombia strain. *Biol Res.* 2010;43(2):197-203
13. Ratcliffe NA, Mello CB, Garcia ES, Butt TM, Azambuja P. Insect natural products and processes: new treatments for human disease. *Insect Biochem Mol Biol.* 2011; 41:747-769.
14. Yıldırım A, Bardakçı F, Karataç M, Tanyolaç B. *Moleküler Biyoloji.* Ankara, Nobel Yayın Dağıtım.2010;2:482-486.
15. Pöppel AK, Koch A , Kogel KH , Vogel H, Kollewe C, Wiesner J and Vilcinskas A Lucimycin, an antifungal peptide from the therapeutic maggot of the common green bottle fly *Lucilia sericata* , DOI 10.1515/hsz-2013-0263 , *Biol. Chem.* 2014;395(6): 649–656
16. Baumann A, Lehmann R, Beckert A, Vilcinskas A, Franta Z. Selection and Evaluation of Tissue Specific Reference Genes in *Lucilia sericata* during an Immune Challenge. *PLoS One.* 2015;10-8.
17. Çebi Kılıçoğlu M., Özkoç İ., *Fungal Sistematikteki Moleküler Gelişmeler.* Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 55200-Kurupelit, Samsun



P18.

**Blefaritli Hastalarda *Demodex folliculorum* ve *Demodex brevis*
Birlikteliğinde Akar Sayısı Etkilenir mi?**

Serife AKKÜÇÜK¹, Talat ÖZDEMİR², Özlem KAYA³

¹Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji AD, HATAY; ²Türkiye Özel Osmaniye Sevgi Hastanesi, Göz Hastalıkları, OSMANİYE; ³Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, HATAY

E-posta: serifeakkucuk@hotmail.com

Giriş: *Demodex folliculorum* ve *Demodex brevis* insan cildinde yaygın görülen ektoparazitlerdir (1-3). *Demodex* türleri oküler yüzey problemleriyle ilişkili olarak blefarite sebep olabilmektedir (4). Çalışmamızda blefarit tanısı alan hastaların kirpiklerinde *Demodex* spp., yaygınlığının saptanması ve tür dağılımı ile ortalama akar sayısı arasındaki ilişkinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmaya başlamadan önce Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2018/154 numaralı çalışma onayı alınmıştır. Bu araştırmaya Göz Hastalıkları Polikliniğine çeşitli oküler şikayetler ile başvuran, blefarit tanısı almış 330 kişi dahil edilmiştir. Her bireyin alt ve üst göz kapaklarından üçer adet olmak üzere, unilateral göz rahatsızlığı olan hastaların problemleri gözlerinden, bilateral göz rahatsızlığı olan hastaların ise sağ gözlerinden kirpik epilasyonu yöntemi ile toplam altı adet kirpik alınmıştır. *Demodex* spp., varlığı ışık mikroskopunda x40 ve x100 büyütmede incelenmiştir ve türlerinin ayırımı ilgili literatürlere (5, 6) göre yapılmıştır.

Bulgular: Yaş ortalaması 49,62±15,86 yıl (19-85 yaş) olan blefaritli hastalardaki parazit yaygınlığı %75,5 olarak tespit edilmiştir. Hastalarda %73,9 (244/330) *D. folliculorum* ve %14,2 (47/330) *D. brevis* saptanmıştır. *Demodex folliculorum* ile *D. brevis* varlığı karşılaştırıldığında *D. folliculorum* görülme sıklığı anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0,05). Hastaların %61,3 (n: 202)'ünde sadece *D. folliculorum*, %1,5 (n: 5)'inde *D. brevis* ve %12,7 (n: 42)'sinde her iki tür birlikte görülmüştür. Ortalama *Demodex* sayısı tüm blefaritli hastalarda 6,03±6,75/6 kirpik (min: 0, max: 56) iken enfeste blefaritli hastalarda 8±6,6/6 kirpik (min: 2, max: 56) olarak tespit edilmiştir. Enfeste blefaritli hastalarda türlere göre ortalama *Demodex* sayısı ise sırasıyla; sadece *D. folliculorum* olanlarda 7,3±5,7 (min: 2, max: 45), sadece *D. brevis* olanlarda 3,6±0,8 (min: 2, max: 4) ve her iki türün birlikteliğinde 11,6±9,5 (min: 4, max: 56) olarak saptanmıştır. Hastalarda her iki türün birlikteliğindeki ortalama akar sayısının sadece *D. folliculorum* (p=0,0007) veya sadece *D. brevis* (p=0,04) ve toplam akar pozitif bulunanlara (p=0,005) kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: *Demodex* akarlarının blefaritte bağımsız etiyopatogenik faktör olduğu bildirilmiştir (7). Son gelinen noktada akarlar blefarit için nedensel bir faktör olarak kabul edilmektedir (8). Çalışmamızın sonuçları da *Demodex* akarlarının blefarit patogeneğinde önemli faktörlerden biri olabileceğini göstermektedir. Kirpik foliküllerinde *D. folliculorum*'un *D. brevis*'ten anlamlı olarak daha yaygın olduğu saptanmıştır ve benzer sonucu paylaşan çalışmalarla (9, 10) uyumludur. Blefaritli hastalarda her iki türün birlikte görülmesi durumunda akar sayısının arttığı tespit edilmiştir. Türlerin tek tek veya birlikte bulunması durumunda akar sayılarının nasıl değiştiğini tespit etmenin akar-hastalık arasındaki patogenezin aydınlatılmasına yardımcı olacağı düşüncesindeyiz.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Anahtar Kelimeler: Blefarit, *Demodex brevis*, *Demodex folliculorum*

Bu çalışma, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 18.D.013 nolu proje olarak desteklenen Şerife Akküçük'ün doktora tezinin bir kısmından hazırlanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Aycan-Kaya O, Atambay M, Daldal N. Sağlıklı kişilerin kirpiklerinde *Demodex folliculorum* ve *Demodex brevis* görülme sıklığı. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2012;18:57-60.
2. Yula E, Kaya ÖMA, Atambay M, Doğanay S, Daldal N, Tuzcu EA. Blefarit etiyojisinde *Demodex folliculorum* ve *D. brevis*'in önemi nedir? Türkiye Klinikleri J Med Sci 2013;33:420-24.
3. Kaya OA, Akkucuk S, İlhan G, Guneri CO, Mumcuoğlu K. The importance of *Demodex* mites (Acari: Demodicidae) in patients with sickle cell anemia. J Med Entomol 2019; 56(3):599-602.
4. Lindsley K, Matsumura S, Hatf E, Akpek EK. Interventions for chronic blepharitis. Cochrane Database Syst Rev 2012(5): doi: 10.1002/14651858.CD005556.pub2.
5. Desch C, Nutting WB. *Demodex folliculorum* (Simon) and *D. brevis* Akbulatova of man: redescription and reevaluation. The Journal of Parasitology 1972;58(1):169-77.
6. Nutting WB. Hair follicle mites (Acari: Demodicidae) of man. Int J Dermatol 1976;15(2):79-98.
7. Szkaradkiewicz A, Chudzicka-Strugala I, Karpinski TM, Goslinska-Pawlowska O, Tulecka T, Chudzicki W, et al. Bacillus oleronius and *Demodex* mite infestation in patients with chronic blepharitis. Clin Microbiol Infect 2012;18(10):1020-5.
8. Czepita D, Kuzna-Grygiel W, Czepita M, Grobelny A. *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* as a cause of chronic marginal blepharitis. Ann Acad Med Stetin 2007;53(1):63-7.
9. Lopez-Ponce D, Zuazo F, Cartes C, Salinas-Toro D, Perez-Valenzuela C, Valenzuela F, et al. High prevalence of *Demodex spp.* infestation among patients with posterior blepharitis: correlation with age and cylindrical dandruff. Arch Soc Esp Oftalmol 2017;92(9):412-8.
10. Zhu M, Cheng C, Yi H, Lin L, Wu K. Quantitative analysis of the bacteria in blepharitis with *Demodex* infestation. Front Microbiol 2018;9:1719.



P19.

***Mycoplasma* spp. ile Enfekte Kedilerde Doksisisiklin ve Oksitetrasiklinin Tedavideki Etkinliğinin Belirlenmesi, Bazı Hematolojik ve Klinik Bulguların Değerlendirilmesi**

H. Seçkin ÇETİN¹, Oğuzhan EKİCİ¹, Faruk KÜÇÜKYILDIZ², Bayram ŞENLİK³

¹Pet Address Veteriner Kliniği Bayrampaşa/İstanbul; ²Bursa Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi, BURSA; ³Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, BURSA

E-posta: bsenlik@uludag.edu.tr

Amaç: Bu çalışmada *Mycoplasma* spp. enfeksiyonu tespit edilen 50 kedide doksisisiklin ve oksitetrasiklinin tedavideki etkinliğinin belirlenmesi ayrıca bazı hematolojik ve klinik bulguların değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışma İstanbul'un Bayrampaşa ilçesindeki bir klinikte Ekim 2017-Ekim 2018 tarihleri arasında yürütülmüştür. Halsizlik, iştahsızlık ve ateş gibi şikayetlerle kliniğe getirilen kedilerin rutin klinik muayeneleri yapılmış, hayvan sahibinden anamnez alınarak bulgular not edilmiştir. Ayrıca *Mycoplasma* ile ilgili potansiyel risk faktörlerinin belirlenebilmesi amacıyla kedilere ait yaş, ırk, cinsiyet, pire enfestasyonu gibi bilgiler kayıt altına alınmıştır. Daha sonra bu kedilerin *Vena cephalica* antebraçii'lerinden EDTA'lı tüplere kan alınmıştır. Alınan kanlardan froti hazırlanarak DIFF-QUICK boyama yöntemiyle boyanmıştır. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda immersion objektivle (x1000) *Mycoplasma* spp. yönünden incelenmiş ve pozitif bulunan 50 kedi çalışmaya dahil edilmiştir. Pozitif bulunan bu kedilerin kanlarında hemogram yapılarak tedavi öncesinde enfeksiyonların kan parametreleri üzerine olası etkileri de incelenmiştir. Hematokrit değerinin (HCT) %30'un altına düştüğü kediler anemik olarak değerlendirilmiştir. Daha sonra kedilerden 16 tanesi doksisisiklin (Monodoks 100 mg kapsül-Deva), 34 tanesi de oksitetrasiklin (Pan Terramycin 30 mg/ml-Zoetis) ile tedavi edilmiştir. Tedavi protokolünde doksisisiklin 5 mg/kg dozunda günde iki defa oral yolla, oksitetrasiklin 10 mg/kg dozunda günde bir defa kas içine enjeksiyon (i.m.) şeklinde kullanılmıştır. Her iki ilaç da 21 gün süreyle uygulanmıştır. Bunun yanında hayvanlara destek tedavi amacıyla 2 mg/kg dozunda günde iki defa olmak üzere i.m. metilprednisolon (Prednol L-Mustafa Nevzat) uygulanmış, ayrıca 100 ml/gün dozunda (i.v.) izotonik sodyum klorür (Medifleks 100 ml-Koçak Farma), 50 ml/gün dozunda (i.v.) %5 dekstroz ringer laktat (Biyofleks 500-Osel İlaç) ve günde bir defa oral yolla 50 mg/kg dozunda demir ve B vitamini (Ferrosanol şurup-Adeka) verilmiştir. Tedavinin 8. gününde kedilerden tekrar kan alınarak hemogram yapılmış ve kan parametrelerindeki değişim izlenmiş, ayrıca froti hazırlanarak *Mycoplasma* spp. etkenlerinin varlığı araştırılmıştır. Tedavi sürecinin sonunda (22. günde) kendilerine ulaşılabilen hasta sahipleri kliniğe çağırılarak kediler klinik açıdan muayene edilmiş ve iyileşme durumları kontrol edilmiştir. Bu hayvanlardan tekrar kan alınarak boyalı preparatlar (DIFF-QUICK) hazırlanmış ve mikroskopta etkenler aranmıştır. Çağırıldıkları halde gelmeyen bu nedenle de klinikte takip edilme imkanı olmayan kedilerin sahiplerine ise telefonla ulaşılacak suretiyle hastalığın seyri ve kedinin durumu hakkında bilgi alınmıştır.

Bulgular: *Mycoplasma* spp. enfeksiyonu tespit edilen kedilerin tamamında (%100) pire enfestasyonu bulunduğu, kedilerin büyük çoğunluğunda düzenli (%94) antiparaziter uygulama yapılmadığı ve sadece 6'sının (%12) aşılarının tam olduğu belirlenmiştir. Bu kedilerden 16 (%32) tanesinin ev



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

ortamında bakıldığı ve dışarıya hiç çıkmadığı, 34 (%68) tanesinin ise dış ortamla bağlantılı olduğu [dış ortamda bakılan: 18 (%36), hem dış ortam hem evde bakılan: 20 (%40)] saptanmıştır. Enfekte kedilerin 27'si dişi, 23 ise erkek olup, hastalıktan en çok etkilenen yaş grubunun 1-2 yaşındaki kediler [23 (%46)], en çok etkilenen ırkın ise Tekir (%74) olduğu saptanmıştır. Kedilerde en sık rastlanan klinik bulgu halsizlik (%94) ve anoreksi (%84) olmuştur. Kedilerin vücut ısıları 33 0C ile 40.7 0C arasında (ortalama: 38.7 ± 0.275 0C) değişmiş olup, 6 (%12) kedide hipotermi, 30 kedide ise hipertermi (%60) saptanmıştır. Gözlenen diğer klinik bulgular ise solunum bozukluğu (%28), mukozalarda solgunluk (%26), dehidrasyon (%24), kusma (%24), ishal (%18) ve nörolojik belirtilerdir (%6). Hematolojik olarak en sık rastlanan bulgular ise trombositopeni (%86) ve anemi (%40) olup bunu sırasıyla lökositoz (%30), lökopeni (%18) ve pansitopeni (%10) takip etmiştir. Yirmi bir günlük antibiyotik ve destek tedavisinin farklı zamanlarında 13 kedi (%26) ölmüş, bunlardan 9'unda (%69,2) *Mycoplasma* spp. enfeksiyonlarına sekonder olarak mikrobiyal veya metabolik bir hastalığın eşlik ettiği görülmüştür. Doksisisiklin ile tedavi edilen 16 kediden 14'ü (%87,5) tedavi sürecinin sonucunda iyileşirken, oksitetrasiklin ile tedavi edilen 34 kediden ise 23'ü (%67,6) iyileşebilmiştir. Tedavinin etkili olduğu kedilerde 4. günden itibaren genel durumları, 7. günden sonra da klinik belirtiler düzelmeye başlamış, 21 günlük tedavi sonucunda da klinik olarak tamamen iyileşmişlerdir. Enfeksiyon başlangıcında oldukça yüksek olan WBC (ort. $16.47 \pm 1.82 \times 10^9/L$) değerlerinin enfeksiyonun 8. gününde normal düzeylere (ort. $11.20 \pm 1.30 \times 10^9/L$) indiği, başlangıçta oldukça düşük olan PLT (ort. $160.90 \pm 19.30 \times 10^9/L$) ve HCT (%27,17 \pm 1.62) değerlerinin ise normal düzeylere yükseldiği [PLT (ort. $217.5 \pm 90.50 \times 10^9/L$) ve HCT (%37,75 \pm 2.65)] tespit edilmiştir. Diğer taraftan tedavinin 8. gününde yapılan mikroskopik incelemelerde etkenlerin sayısının azaldığı ancak tamamen kaybolmadığı belirlenmiş, 22. gün yapılan incelemelerde ise etkenlere rastlanamamıştır.

Sonuç: Sonuç olarak anemi, trombositopeni ve lökositoz saptanan kedilerde *Mycoplasma* enfeksiyonlarının mutlaka dikkate alınması gerektiği, pire enfestasyonlarının hastalık açısından önemli bir risk faktörü olduğu, tedavide ise doksisisiklinin öncelikli olarak tercih edilebileceği ortaya konulmuştur.

Anahtar kelimeler: Kedi, *Mycoplasma* spp., Hematolojik bulgu, klinik bulgu, Doksisisiklin, oksitetrasiklin



P20.

Sivas Yöresinden Toplanmış Sülük İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu

**Canan CANER KÜLİĞ¹, Emrah ŞİMŞEK², Gamze YETİŞMİŞ¹, Zuhai ÖNDER¹, Arif ÇİLOĞLU¹,
Gökmen Zafer PEKMEZCİ³, Önder DÜZLÜ¹, Alparslan YILDIRIM¹, Abdullah İNCİ¹**

¹Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ; ²Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, KAYSERİ; ³Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, SAMSUN

E-posta: canancanerkulig@gmail.com

Amaç: Günümüzde moleküler biyolojinin gelişimine bağlı olarak diğer birçok organizmada olduğu gibi sülüklerin de taksonomisi derinlik kazanmış ve yeni türler, türler içerisinde farklı genotipler ve kriptik veya sibling türlerin varlığı gün yüzüne çıkmaya başlamıştır. Bu açıdan moleküler epidemiyolojik çalışmaların ekosistemlerde sülük popülasyon dinamiklerinin ortaya çıkarılmasında kilit role sahip olduğu vurgulanmaktadır. Günümüze kadar birçok sülük türü tanımlanmış ve tanımlanmış olmasına karşın medikal önemi ortaya konmuş olan sülük tür sayısı sınırlıdır. Bu çalışmada, Sivas yöresinde bir akarsudan alınmış iki sülük örneğinin moleküler identifikasyonu ve filogenetik karakterizasyonunu amaçlanmıştır.

Yöntem: Sülük örnekleri Sivas yöresinde bir mesire alanından geçen bir akarsudan alınan iki adet sülük örneği %70 etil alkol içerisinde alınarak laboratuvara getirilmiştir. Örneklerin stereo-mikroskop altında görüntülenmiş ve bu örneklerden alınan doku parçalarından ticari kitler ile genomik DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen gDNA izolatlarında 18S rRNA gen bölgesi genel primerlerle amplifiye edilmiş ve agaroz jel üzerinde belirlenen hedef büyüklükteki ampliconlar jelden ekstrakte edilerek pürüfiye edilmiştir. Pürüfiye ampliconlar PCR primerleri ile çift yönlü olarak sekanslanmıştır. Sekans kromotogramları De Novo Assemble üzerinden işlenerek izolatlar için konsensüs sekansları elde edilmiştir. İlgili sekanslar GenBank veri tabanında Blastn analizlerine tabii tutulmuş ve hizalama skorları temelinde ilgili izolatlarla filogenetik ilişkileri araştırılmıştır. Filogenetik ağaç oluşturulmasında maximum likelihood (ML) analizleri 1000 tekrarlı bootstrap kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Çalışmada incelenen iki sülüğe ait gDNA izolatlarının 18S rRNA PCR analizlerinde 737 bp büyüklükte amplifikasyon gösterdikleri tespit edilmiştir. İlgili ampliconların sekanslanması sonucu kalite skoru yüksek kromotogramlar temelinde 705 bp uzunluğunda konsensüs sekansları her iki izolat için de elde edilmiştir. İki izolata ait sekansların ikili hizalama analizi sonucunda birbirlerine %100 identiklik gösterdikleri tespit edilmiştir. Filogenetik ilişkilerin ortaya çıkarılması amacıyla yapılan Blastn analizleri ve ikili hizalama skorlarına göre araştırma yöresinde belirlenen izolatların *Haemopsis caeca*'ya ait Amerika Birleşik Devletleri'nden bildirilmiş bir izolatla (AY040687) %100 identik olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ilgili izolatların GenBank'ta mevcut aynı soydaki *H. terrestris*, *H. kingi*, *H. grandis* ve *H. lateromaculata* türlerinden %0,3 genetik farklılık gösterdikleri, Türkiye'de yaygın olan *Hirudo verbana* ve medikal sülük türü olarak bilinen *Hirudo medicinalis* türlerinden ise %0,6-0,8 farklı oldukları belirlenmiştir. Filogenetik analizlerde ilgili türe ait izolatların monofiletik küme oluşturdukları tespit edilmiştir.

Sonuç: Bu çalışma ile *Haemopsis* soyunda yer alan sülük türlerinin Türkiye'de varlığı ilk kez moleküler olarak belirlenmiş ve izolatların genetik karakterizasyonları yapılmıştır. *Haemopsis* soyunda ülkemizde mevcut iki çalışmada morfolojik identifikasyon sonuçlarına göre *H. sanguisuga* rapor edilmiştir. Bu çalışma ile *Haemopsis caeca* türünün Sivas yöresi akarsularında varlığı moleküler olarak ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Haemopsis caeca*, moleküler karakterizasyon, sülük, Türkiye



P21.

Encephalitozoon intestinalis Triosephosphate Isomerase Enziminin Homoloji Modellemesi Metodu İle 3D Protein Yapısının Belirlenmesi ve Moleküler Bağlanma Analizi

Nuri ERCAN¹, Önder DÜZLÜ², Alparslan YILDIRIM², Abdullah İNCİ², Zuhai ÖNDER², Arif ÇİLOĞLU², Emrah ŞİMŞEK³, Gamze YETİŞMİŞ¹

¹Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi, KIRŞEHİR; Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, ²Parazitoloji AD; ³Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, KAYSERİ

E-posta: nuri.ercan@ahievran.edu.tr

Amaç: Bu çalışmada antiparazitik potansiyel ilaç hedef proteini *Encephalitozoon intestinalis* triosephosphate isomerase (EiTPI) enziminin homoloji modellemesi yöntemi kullanılarak üç boyutlu protein yapısının belirlenmesi ile sentetik ve organik yapıdaki farklı ilaç aday moleküllerin hedef proteine bağlanma analizlerinin yapılması amaçlanmıştır.

Yöntem: *E. intestinalis* EiTPI (accession no.XP_003073872.1) amino asit sekansı NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) web adresi üzerinden temin edilmiş olup, homoloji modellemesi için şablon proteininin sekans benzerliği PDB-BLAST ve SWISS-Model programları üzerinden GMQE (Global Model Quality Estimation), Procheck ve QMEAN (Qualitative Model Energy Analysis) skorları karşılaştırılarak belirlenmiştir. Belirlenen şablon ve hedef protein sekans dizileri Clustal omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) yardımı ile de karşılaştırılmış ve benzerlik yüzdesi belirlenmiştir. Üç boyutlu protein yapısı tespit edilen *E. intestinalis* EiTPI enzimi, ilaç aday moleküller olarak değerlendirilen omeprazole (PubChem CID:4594) ve rabeprazole (PubChem CID:5029) molekülleri ile bitkisel kökenli hypericin (PubChem CID:3663), thymol (PubChem CID:6989) ve curcumin (PubChem CID:969516) moleküllerinin bağlanma analizleri AutoDock, AutoDock Vina ve Molegro Molecular Viewer programları kullanılarak belirlenmiştir.

Bulgular: Sekans dizilimi ve diğer parametreler yardımı ile şablon protein olarak *Chlamydomonas reinhardtii* triosephosphate isomerase (accession no.4MKN) enzimi belirlenmiştir. Hedef ve şablon protein sekans dizileri benzerlik oranı %43,59, GMQE ve QMEAN değerleri de sırasıyla 0,75 ve -2,35 olarak belirlenmiştir. Bağlanma analizi çalışmaları neticesi aday moleküllere ait en düşük bağlanma affinitelerinin omeprazole: -8,2 kcal/mol, rabeprazole: -8,6 kcal/mol, thymol: -6,5 kcal/mol, curcumin: -7,6 kcal/mol ve hypericin: -13,5 kcal/mol olduğu belirlenmiştir. Ayrıca hedef protein ile potansiyel ilaç aday molekülleri arasında oluşan bağ özellikleri de ortaya konulmuştur.

Sonuç: Bu çalışma ile potansiyel yeni ilaç hedef proteini olarak değerlendirilen *E. intestinalis* EiTPI enziminin üç boyutlu protein yapısı homoloji modellemesi metodu kullanılarak ilk defa belirlenmiştir. Hedef protein bölgesi ve aday moleküllerin bağlanma affiniteleri de yapılan çalışma ile belirlenmiş olup, elde edilen verilerin ileri basamak çalışmalara yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Encephalitozoon intestinalis*, homoloji modellemesi, triosephosphate isomerase



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

P22.

**Toxoplasma gondii Aşı Adayı SAG1 Geninin Moleküler Karakterizasyonu,
Protein Ekspresyonu ve Antijenik Yapısı**

**Abdüssamed AKŞİT¹, Emrah ERDOĞAN¹, Bora ÖZKAN¹,
Serkan KARACA¹, Şirin Sahra CEYLAN², Fatma DOĞAN¹, Merve YÜRÜK¹, Eda SİVCAN¹**

¹Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Ana Bilim Dalı, KAYSERİ;

²Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Ana Bilim Dalı, MANİSA

E-posta: abdussamedaksit@yahoo.com.tr

Amaç: *Toxoplasma gondii* kozmopolit dağılıma sahip bir parazit olmasının yanı sıra mortaliteye sebep olması ve transplasental yolla yavrulara geçişi nedeni ile oldukça önemli bir halk sağlığı sorunudur. Toxoplasmosisin tanısı ve hastalığa karşı aşı geliştirilmesi amacıyla geçmişten günümüze parazite ait birçok antijen araştırılmış ve etkinlikleri değerlendirilmiştir. Bu çalışmada Türkiye Halk Sağlığı Kurumundan temin edilen *T. gondii* takizoitleri kullanılarak yüzey antijenleri arasında önem arz eden SAG1 proteinini kodlayan genin moleküler karakterizasyonunun yapılması, rekombinant protein ve DNA'nın elde edilmesi, immunreaktivitenin gösterilmesi ve rekombinant SAG1 antijeninin ELISA tabanlı teşhisteki duyarlılık ve özgünlüğünün ortaya konulması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Bu çalışmada Türkiye Halk Sağlığı Kurumundan temin edilen *T. gondii* takizoitleri kullanılarak yüzey antijenleri arasında önem arz eden SAG1 proteinini kodlayan genin moleküler karakterizasyonunun yapılması, rekombinant protein ve DNA'nın elde edilmesi, immunreaktivitenin gösterilmesi ve rekombinant SAG1 antijeninin ELISA tabanlı teşhisteki duyarlılık ve özgünlüğünün ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu amaçla *T. gondii* takizoitlerden genomik DNA (gDNA) izolasyonunu takiben SAG1 gen bölgesi dizayn edilen özgün primerlerle amplifiye edilmiş ve sonrasında plazmit vektörlere klonlanmıştır. Klonlama sonrası elde edilen plazmit DNA sekanslanarak SAG1 geninin nükleotid ve amino asit sekansları elde edilmiş ve moleküler karakterizasyonları ortaya konulmuştur. Hem nükleotid hem de amino asit sekans ve filogenetik analizleri SAG1 geninin korunmuş bir gen bölgesi olduğunu göstermiştir. Moleküler karakterizasyonu takiben elde edilen TrToxSAG1 izolatına ait amplikonlar DNA aşı adayı olarak pcDNATM3.1/V5-His TOPO® ekspresyon vektörüne başarılı bir şekilde klonlanmış ve rekombinant DNA izolasyonu yapılarak uygun şartlarda muhafaza altına alınmıştır.

Bulgular: TrToxSAG1 izolatına ait gDNA optimize edilen primerlerle PCR'da çoğaltılmış ve elde edilen amplikonlar pet100 ekspresyon sisteminde klonlanarak rekombinant antijen ekspresyonu ve izolasyonu sağlanmıştır. İlgili proteini kodlayan amino asitlerin in-silico analizleri ile rekombinant antijenin SDS-PAGE ve Western Blot analizleri SAG1 proteininin yaklaşık 35 kDa büyüklüğünde olduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen rekombinant SAG1 antijeni ELISA yöntemiyle işlenmiş ve referans tanı kiti eşliğinde farklı konsantrasyonlardaki antijenlerin etkinlikleri değerlendirilmiştir. Rekombinant SAG1 ELISA'nın %84,2 duyarlılığa ve %81,0 özgünlüğe sahip olduğu belirlenmiş ve aynı zamanda kappa istatistik testi sonuçlarına göre referans ticari kit sonuçları ile arasında iyi bir korelasyonun bulunduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: Bu çalışma ile Türkiye'de ilk kez *T. gondii*'nin önemli yüzey antijenlerinden biri olan SAG1'in moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, ülkemize özgü izolatlar kullanılarak parazitinin spesifik tanısı ve hastalığa karşı aşı geliştirilmesi üzerine yeni araştırmalar için model oluşturmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Toxoplasma gondii*, SAG1 geni, Moleküler karakterizasyon, Klonlama, Rekombinant protein, DNA Aşısı, ELISA



P23.

Leishmania infantum Aşısı Adayı Lack ve KMP-11 Genlerinin Moleküler Karakterizasyonu, Füzyon Proteininin Ekspresyonu ve Antijenik Yapısı

Serkan KARACA, Emrah ERDOĞAN, Abdüssamed AKŞİT, Merve YÜRÜK, Eda SIVCAN

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-posta: serkankaraca@hotmail.com

Amaç: *Leishmania* cinsi zorunlu hücre içi protozoonların neden olduğu leishmaniasis, Dünya Sağlık Örgütü'nün önemli tropikal hastalıklar listesinde yer almaktadır. Leishmaniasis tedavisinde rutin olarak kullanılan bileşiklerin yüksek maliyetleri, toksisite ve yan etkilerinin fazla olması nedeniyle alternatif tedavi ve aşı araştırmaları devam etmektedir. Faz aşamaları devam etmekle birlikte leishmaniasise karşı insanlarda etkili bir aşı henüz geliştirilememiştir. *Leishmania infantum*, Türkiye'de ve dünyada leishmaniasis formlarından en tehlikelisi olan visseral leishmaniasis (VL) etkenleri arasındadır. *Leishmania infantum* homolog aktive edilmiş C kinaz reseptörü (LACK) ve Kinetoplastid membran proteini-11 (KMP-11) genleri üçüncü nesil aşılarda kabul edilen DNA aşı adayları arasındadır. Bu çalışmada *L. infantum*'un neden olduğu VL'e karşı aşı geliştirme çalışmalarında umut verici adaylardan olan *L. infantum* LACK ve KMP-11 genlerinin klonlanması, moleküler karakterizasyonu, insanlarda DNA aşısı olarak kullanıma uygun özellikte bir plazmide multi-antijenik olarak yerleştirilmesi, LACK ve KMP-11 proteinlerinden oluşan füzyon proteininin ekspresyonu ve antijenik yapısının analizi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmada öncelikle *L. infantum* promastigot kültüründen genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. Sonra LACK geni pJET1.2 plazmidine, KMP-11 geni ise pcDNA 3.1 plazmidine klonlama reaksiyonu ile yerleştirilmiştir. Takiben LACK geni restriksiyon enzimleri ile pcDNA3.1+KMP-11 plazmidine eklenmiş ve multi-antijenik rekombinant DNA elde edilmiştir. Rekombinant plazmid varlığı tüm basamaklarda PCR tarama ile araştırılmıştır. Pozitif kolonilerden plazmid izolasyonu yapılmış ve klonlanan genlerin varlığı PCR ve DNA dizi analiz yöntemleri ile doğrulanmıştır. LACK+KMP-11 genleri ekspresyon vektörüne sub-klonlanarak elde edilen plazmidler kompetan *E. coli* BL21 hücrelerine transforme edilmiş ve füzyon proteininin ekspresyonu sağlanmıştır. 47 kDa büyüklüğündeki füzyon proteininin varlığı SDS-PAGE ve western blot analizleri ile doğrulanmıştır. Kültüre edilen *L. infantum* nesillerinin LACK ve KMP-11 gen bölgelerine göre nükleotid ve aminoasit tabanlı moleküler karakterizasyonu yapılmıştır.

Bulgular: *Leishmania* izolatlarının LACK ve KMP-11 gen bölgesi sekans analizleri, bu gen bölgelerindeki intraspesifik nükleotid farklılıklarının interspesifik nükleotid farklılıklarla çakıştığını ve dolayısıyla filogenetik bazda tür ayırımına olanak vermediğini ortaya koymuştur. LACK proteininde 13, KMP-11 proteininde ise 3 antijenik bölgenin mevcut olduğu tespit edilmiş ve proteinlerin 3 boyutlu yapıları elde edilmiştir.

Sonuç: Bu çalışma ile *L. infantum* kaynaklı VL'e karşı umut verici DNA aşı adaylarından olan LACK ve KMP-11 genlerinin moleküler karakterizasyonu ve filogenetik analizleri yapılmıştır. Bu iki geni birlikte taşıyan multi-antijenik plazmid ve LACK+KMP-11 füzyon proteini ilk kez elde edilmiş ve antijenik yapıları incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Leishmaniasis, *Leishmania infantum*, DNA aşısı, LACK geni, KMP-11 geni, Multi-antijenik plazmid, füzyon proteini



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

P24.

Erzurum Yöresinde Tilkilerde Görülen Ektoparazitler

Sali YAYA, İbrahim BALKAYA, Rıdvan KIRMAN, Muzaffer AKYÜZ, Sezin Beyza GÖŞKER

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ERZURUM

E-posta: balkayaibrahim@hotmail.com

Amaç: Bu çalışma Erzurum merkez ve ilçelerinde ölü olarak bulunan tilkilerde ektoparazitlerin saptanması ve görülen ektoparazit türlerini soy ve tür bazında tanımlamak amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Erzurum merkez ve ilçelerine gidilerek özellikle karayollarında trafik kazası veya başka sebeplerden dolayı ölmüş tilki karkasları toplanmıştır. Tilki karkasları kalın plastik torba içerisinde laboratuvara getirilmiş ve olası zoonotik hastalık bulaşını önlemek amacıyla 7 gün süreyle -800C'de saklanmıştır. Örnekler çözdürüldükten sonra makroskopik olarak ektoparazitlerin varlığını belirlemek için tilkilerin vücutları detaylı bir şekilde incelenmiş ve ardından her bir torbadaki döküntülere de bakılmıştır. Toplanan kene ve pireler kameralı stereo mikroskop (Nikon SMZ745T) altında incelenerek morfolojik kriterlere göre soy ve tür tayinleri yapılmıştır. Sarkoptik uyuz teşhisi amacıyla şüpheli lezyonlardan deri kazıntı örneği alınmış ve ışık mikroskobu (Nikon ECLIPSE-Ci) altında incelenmiştir.

Bulgular: Erzurum il merkezi ve farklı ilçelerinde (Aşkale, Tortum, Horasan, Pasinler, Oltu, Narman, Yakutiye ve Aziziye), Ocak-Haziran 2018 tarihleri arasında, 43 tilki karkası toplanmıştır. Bu tilkilerin 16'sında (9 erkek ve 7 dişi) toplam 51 kene ve 50 pire bulunmuştur. Toplanan 51 kenenin *Haemaphysalis parva* (%16,3), *H. sulcata* (%7,0), *H. erinacei* (%2,3) ve *Dermacentor reticulatus* (%7,0) olmak üzere dört farklı kene türüne ait olduğu tespit edilmiştir. Toplanan 50 pire ise *Pulex irritans* (%14,0), *Chaetopsylla globiceps* (%11,6), *Chaetopsylla trichosa* (%4,7), *Xenopsylla cheopis* (%4,7), *Spilopsyllus cuniculi* (%2,3) ve *Ctenocephalides canis* (%2,3) olarak ayırt edilmiştir. Bu çalışmada *Sarcoptes* spp. ve bit türleri tespit edilmemiştir.

Sonuç: Erzurum yöresinden toplanan tilkilerin (16/43) %37,2'sinin kene veya pire ile enfeste olduğu görülmüştür. Bu oran Erzurum'daki tilki popülasyonlarında ektoparazitlerin yaygın olduğunu göstermektedir. Kene ve pire gibi ektoparazitler çeşitli hastalıklara vektörlük ya da arakonaklık yapmalarından ötürü hem hayvan sağlığı hem de halk sağlığı açısından önem taşırlar. Bu sebeple bu ektoparazitlerin yaygınlığına dair verilerin elde edilmesi önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Ektoparazit, Erzurum, Kırmızı tilki.

Bu çalışma Sali YAYA'nın yaptığı, aynı isimli Yüksek Lisans Tezinden özetlenmiştir.



P25.

Paraziter Enfestasyon, Myiasis: Olgu Sunumu

Tülay AKSOY, Türkan Mutlu YAR, Metin ATAMBAY

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD, MALATYA

E-posta: mutluyarr@gmail.com

TAM METİN

ÖZET

Diptera takımında yer alan bazı sinek larvalarının, insan veya hayvanların çeşitli organ ve dokularında enfeste olması şekline miyaz denilmektedir. Hemen hemen bütün ülkelerde görülmesine rağmen genellikle tropik ve subtropik iklimlerde yaşamakta olan çeşitli Diptera türleri miyaza neden olmaktadır. Miyazisi oluşturan larvalar çoğunlukla göz, burun, kulak, yara yeri, idrar yolları, barsak, anüs bölgesi ve vajinada tutulum sağlarken nadiren de sağlam deriye yerleşebilmektedir. Larvaların yerleştiği dokulara göre otomyiaz, oftalmomyiaz, nasal miyaz, ürogenital miyaz gibi farklı isimler alabilmektedir. Miyaz larvalarında tür tayini, stigmaların mikroskop altında incelenmesi ile yapılmaktadır. Preparat haline getirilen stigmalar peritremin durumu, düğme yapısının kapanması ve cephalopharyngeal iskelet gibi ayırt edici morfolojik özellikleri yönünden incelenerek tür tayini yapılmaktadır. Miyazisin mevcut tedavisi, kurtçukların mekanik olarak alınması, enfekte olmuş yara yatağının cerrahi debridmanı, antiseptik solüsyonlarla sık pansuman içermektedir. Topikal tedavide bir propilen glikol solüsyonunda %1 ivermektin ile oral olarak ise yine ivermektinin larvaları dışarı çıkarmasında başarılı olduğu bilinmektedir.

Bu çalışmada, konuya dikkat çekilmesi amacıyla yoğun bakım ünitesinde yatan bir hastada meydana gelen orofarengial miyaz ile KBB servisine başvuran kulak miyaz olguları sunulmuş ve literatür eşliğinde tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Miyaz, Kulak, Burun, Boğaz, Malatya

Parasitic Infestation, Myiasis: Case Report

SUMMARY

Some fly larvae of the Diptera order are infested in various organs and tissues of humans or animals. Although seen in almost all countries, various Diptera species that live in tropical and subtropical climates cause myiasis. Myiasis-producing larvae usually involve the eye, nose, ear, wound, urinary tract, intestine, anus, and vagina, but rarely can be localized in the intact skin. Otomyiasis, ophthalmomyiasis, nasal myiasis, urogenital myiasis may take different names according to the tissues where the larvae are located. Prepared stigmas are examined in terms of their distinctive morphological features such as peritrem status, closure of button structure and cephalopharyngeal skeleton. The current treatment of myiasis involves mechanical removal of maggots, surgical debridement of the infected wound bed, and frequent dressing with antiseptic solutions. It is known that in topical treatment, 1% ivermectin in a propylene glycol solution and orally or ivermectin are successful in removing the larvae. In this study, oropharyngeal myiasis occurring in a patient in the intensive care unit and ear miiasis presenting to the Ear-Nose-Throat service were presented and discussed in the light of the literature.

Key Words: Myiasis, Ear, Nose, Throat, Malatya



GİRİŞ

Miyaz (myiasis), insekta sınıfı bazı Diptera larvalarının omurgalı hayvan ve insan dokularına veya vücut boşluklarına girmeleri; canlı veya ölü dokular ile beslenmeleri sonucu oluşan infestasyonlardır. Larvalar (maggots) deri, deri altı, yumuşak dokular, ağız, mide, bağırsak, ürogenital sistem, burun, kulak ve gözde parazitlenebilirler (1). Miyazis tüm dünyada yaygın olmakla birlikte, özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde daha sık görülmektedir. Düşük sosyo-ekonomik seviye, ileri yaş, kötü hijyen koşulları ve damarsal bozukluklar gibi durumlar miyazis gelişimi için en önemli risk faktörleridir (2). Klinik tablo, miyazise neden olan sineğin türüne ve hangi dönemde olduğuna, larvaların sayısına, invazyon derecesine ve invazyonun bulunduğu bölgeye göre değişiklik göstermektedir.

Miyaz larvalarında tür tayini stigmaların mikroskop altında incelenmesi ile yapılmaktadır. Preparat haline getirilen stigmalar peritremin durumu, düğme yapısının kapanması ve cephalopharyngeal iskelet gibi ayırt edici morfolojik özellikleri yönünden incelenerek tür tayini yapılmaktadır (3).

Bu çalışmada, konuya dikkat çekilmesi amacıyla yoğun bakım ünitesinde yatan bir hastada meydana gelen orofarengeal miyaz ile KBB servisine başvuran kulak miyaz olguları sunulmuş ve literatür eşliğinde tartışılmıştır.

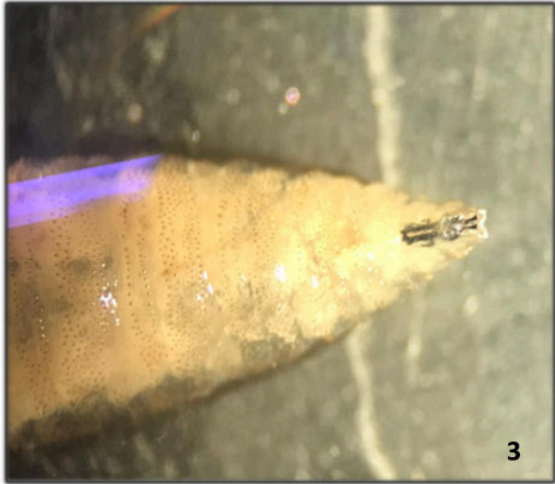
OLGU SUNUMU

Olgu 1: Dudak maligneoplazmi tanısı konulmuş 80 yaşındaki erkek hasta, çene altı doku defekti yerinde akıntı, kızarıklık ve iltihap şikayeti ile 2018 Eylül ayında KBB servisine başvurmuştur. Muayenesi yapılan hastanın histopatolojik tanısında, submental kayıtlı materyal insizyonel biyopsi; skuamöz hücreli karsinom, submandibular bölgede kitle insizyolen biyopsi; perinöral invazyon izlendi ve hasta onkoloji servisine konsülte edildi. İki yıl önce sağ alt dudak SCC (Skuamöz hücre karsinomu) olarak raporlanan hasta, son 3 aydır submental ve submandibular bölgede doku defekti, kokulu ve akıntılı lezyon nedeniyle yatırılmış. Son bir aydır da NG (nazogastrik) ile besleniyor. Çene altı doku defekti yerinde akıntı, iltihap olan hastaya pansuman yapıldı. Satürasyon, nabız ve tansiyon takibi için hasta monitorize edildi ve oksijen verildi. Hastanın yatış tarihinden dört gün sonra ağız içi aspire edilerek oral ve nazal kaviteyi dolduran çok sayıda yabancı cisim (larva?) saptandı. Larvalar %70'lik etanol içerisinde Parazitoloji laboratuvarı'na gönderildi.

Olgu 2: Sol kulakta ağrı ve kaşıntı hissi şikayeti olan 66 yaşındaki erkek hasta 2017 Temmuz ayında KBB servisine başvurmuştur. Muayene edilen hastanın, burun pasajları açık, konkalar ve septum doğal, orofarink doğal, dil ve dişler doğal, baş-boyun palpasyon ile LAP ve kitle izlenmedi, kulakta ise yabancı cisimler (larvalar?) mevcut olduğu anlaşılmıştır. Yatışı gerçekleştirilen hastanın dış kulak yolundan cerrahi olarak, mikroskop altında ve aspiratör yardımıyla canlı ve hareket eden larvalar çıkartılmış ve tanı amacıyla %70'lik etanol içerisinde Parazitoloji laboratuvarına gönderilmiştir.

Tanı: Olgu 1'in makroskobik incelemesinde larvaların 10-12 mm uzunluğunda (Şekil 1), olgu 2'deki larvaların ise 8-10 mm uzunluğunda olduğu belirlenmiştir (Şekil 2). Larvaların morfolojik incelemesinde; anterior stigmanın 12 kollu, sefalofarengeal iskeletin (cephalopharyngeal skeleton) dorsal cornuasının 2 parçalı yapı göstermesi (Şekil 3) ve posterior stigmanın (Şekil 4) çukur içinde ve peritremin açık olması gibi özelliklerine bakılarak değerlendirme yapılmış ve 3. dönem larvası olarak tiplendirilmiştir. Hastadan canlı larva toplanamadığı için erişkin formlarına geçişleri gözlenememiştir.

Tedavi: Her iki olguda ağız içi ve kulak içi aspire edildi, hastaların vitalleri alındı ve medikal tedavi reçete edilerek önerilerde bulunuldu. Ardında da poliklinik kontrol önerilerek taburcu edildi.



Şekiller: 1. Olgu 1 miyaz larvası; 2. Olgu 2 miyaz larvası;
3. Sefaloskeleton; 4: Üç dallı posterior stigma (peritrem)



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

TARTIŞMA VE SONUÇ

Miyazis, sinek larvalarının konaktaki yerleşim yerlerine göre; kütanöz; vücut boşlukları miyazisi (oral, nazal, otomiyazis, intestinal veya ürogenital) ve oküler olmak üzere üçe ayrılabilir. Ayrıca, diptera larvalarının parazitlik derecesine göre de zorunlu, istemli (fakültatif) ve rastlantısal olarak sınıflandırılmaktadır (4). Rastlantısal miyazis (psödomiyazis) gelişimi, mutlaka bir konağa gereksinim duymayan sineklerin yumurtalarının vücut boşluklarına girmesi ya da gıdalar üzerine bırakılmış yumurtaların oral yolla alınması ile olmaktadır. Genellikle kan veya dışkı ile kirlenmiş deri ve yaralar erişkin dişi sinekleri çekmekte ve dişiler yumurtaları bırakmaktadırlar (3,5).

Otomiyazis semptomlarına baktığımızda; otalji, otore, timpanik membran perforasyonları, kanama, kaşıntı, mekanik ses, tinnitus, dış kulak yolunda fronkül ve işitme kaybı gibi şikâyetlerle hastalar karşımıza gelmektedir (6). Bizim olgumuzda da hasta ağrı ve kaşıntı hissi şikâyetleriyle kliniğimize başvurmuştur. Otomiyazis olgularının tedavisinde öncelikli olarak alanın larvalardan mekanik olarak temizlenmesini takiben lezyonun %70 etanol, %10 kloroform ya da serum fizyolojik, üre, oil drops, dekstroz, kreatin, topikal ivermektin gibi maddelerle temizlenmesi önerilmektedir; ancak bu tedavilerin etkinliği kesin olarak kanıtlanmamıştır. Fronkül veya sekonder enfeksiyon şüphesinde sistemik ya da topikal antibiyotik tedavisi önerilebilir (7).

Ülkemizde miyazis en fazla yaz ve sonbahar mevsiminde görülmektedir. Miyazis etkenleri, kırsal bölgelerde ve hayvan popülasyonunun fazla olduğu yerlerde daha fazla bulunmaktadır. Ancak, kentlerde hijyen koşullarının yetersiz olduğu merkez dışı bölgeler, uzun süre toplanmayan çöpler ile çöp toplama merkezleri miyazis etkenleri için uygun yaşam alanlarını oluşturmaktadır (3, 8). Sunduğumuz her iki olguda ise Temmuz ve Eylül ayında miyazis görülmüştür.

Sonuç olarak, bazı olguların asemptomatik olması ya da şikâyetlerin kendiliğinden kaybolması nedeniyle miyazis olguları genellikle atlanmaktadır. Ülkemizin iklim şartları, zengin sinek faunası, özellikle kırsal bölgelerdeki yetersiz veya kötü hijyen koşulları, dış ortamda üstü açık yatma ve hayvanlarla yakın temas gibi faktörlerin miyazis gelişimini kolaylaştıracağı dikkate alınmalıdır. *Diptera* takımına dahil miyaz sineklerinin biyolojik döngüleri göz önüne alındığında Mayıs-Ekim ayları arasında yapılacak biyolojik mücadele ve alınacak önlemlerle miyaz olgularının azaltılabileceğini, yeterli sanitasyon ve hijyen sağlandığında bu tür miyazların önlenilebileceğini düşünmekteyiz.

Teşekkür: İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi KBB servisine teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Saygı G. Miyaz ve miyaz sinekleri. In: Paraziter Hastalıklar ve Parazitler. Es Form ofset, Sivas, 2009; s:461-467.
2. Francesconi F, Lupi O. Myiasis. Clin Microbiol Rev 2012; 25(1): 79-105.
3. Dinçer Ş. İnsan ve hayvanlarda myiasis. In: Özcel MA, Daldal N (eds). Parazitolojide Artropod Hastalıkları ve Vektörler. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 13. İzmir; 1997:169-234.
4. Yenice, MG, et al. Psychoda albipennis' in (Diptera: Nematocera) neden olduğu ürogenital miyazis olgusu. Mikrobiyol Bul, 2011, 45.3: 558-564.
5. Mumcuoglu I, Akarsu GA, Balaban N, Keles I. Eristalis tenax as a cause of urinary myiasis. Scand J Infect Dis 2005; 37(11-12): 942-3.
6. Cho JH, Kim HB, Cho CS, Huh S, Re e HI. An aural myiasis case in a 54-year old farmer in Korea. Kore an J Parasitol 1999;37(1):51-3.
7. Yuca K, Caksen H, Sakin YF, et al. Aural myiasis in children and literature review. Tohoku J Exp Med 2005;206(2):125- 30.
8. Daldal N, Atambay M. Myiasis (Miyaz), s: 867-81. Özcel MA (ed), Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. 2007, 1. Baskı. Türkiye Parazitoloji Derneği, İzmir.



P26.

Talasemi Majörlü Bir Hastada Tea Tree Oil'in Oküler Demodikozis Üzerine Etkisi: Olgu Sunumu

Serife AKKÜÇÜK¹, Talat ÖZDEMİR², Özlem KAYA³

¹Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji AD, HATAY; ²Türkiye Özel Osmaniye Sevgi Hastanesi, Göz Hastalıkları, OSMANİYE; ³Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, HATAY

E-posta: serifeakkucuk@hotmail.com

Giriş: *Demodex folliculorum* ve *Demodex brevis* Demodicidae ailesinde yer alan ve insanlarda yaşayan zorunlu ektoparazitlerdir (1-3). Bağışıklık sistemi herhangi bir nedenle baskılandığında, hastalar *D. folliculorum* ve *D. brevis* gibi zorunlu parazitlere karşı savunmasız hale gelirler (4, 5). Yetersiz hemogloblin üretimi ile karakterize genetik bir hastalığa sahip talasemi hastaları (6) immun sistemleri baskılandığı için *Demodex* spp., enfestasyonu yönünden değerlendirilmelidir. Bu olguda, talasemi majörlü bir hastada gelişen oküler *D. folliculorum* enfestasyonunun tea tree oil (TTO) ile tedavisine dikkat çekilmesi amaçlanmıştır.

Olgu Sunumu: Otuziki yaşında kadın hasta (DT), göz hastalıkları polikliniğine kaşıntı, yanma, batma, kuruluk ve kirpik diplerinde kepeklenme şikayetleri ile başvurdu. Özellikle sol gözünde batma yakınmasının daha şiddetli olduğunu ifade etti. Anamnezinde talasemi majör, kolesistektomi, splenektomi olduğu ve her ay 2 ünite transfüzyon uygulandığı belirlenen hastanın oküler şikayetleri uzun yıllardır devam ediyormuş. Muayeneye gittiği klinikler tarafından blefarit tanısı konulan hasta şimdiye kadar defalarca antibiyotik ve kortikosteroid tedavisi uygulanmış ve kullandığı ilaçlardan fayda sağlamamış. Olgumuza göz muayenesinde her iki gözde blefarit ve kuru göz tanısı konuldu. Kirpik epilasyon yöntemi ile hastanın alt ve üst göz kapaklarından üçer adet olmak üzere sağ ve sol gözünden altışar adet kirpik alındı. Işık mikroskobu incelemesinde, x40 ve x100 büyütmede sağ göz kirpiklerinde 15 adet erişkin *D. folliculorum* ve sol göz kirpiklerinde 24 adet erişkin *D. folliculorum* tespit edildi. Her iki gözün kirpik örneklerinde yumurta ve larva saptandı (Şekil 1). Enfestasyon tespit edilen hastaya suni gözyaşı damlası, %4 TTO göz çevresi jeli (Blefaritto, Jeomed, Türkiye) 2x1 ve %10 TTO göz çevresi şampuanı (Blefaritto, Jeomed, Türkiye) 2x1 tedavisi başlandı.

Dört haftalık tedavi prosedüründen sonra hastanın tüm şikayetlerinde belirgin azalma sağlandı. Ancak hasta son bir haftadır aşırı halsizlik, kan transfüzyonu gibi sağlık sorunlarından dolayı tedaviyi aksattığını belirtti. Bunun üzerine mikroskobik kirpik incelemesi tekrarlandı. Sağ göz kirpiklerinde 4 adet erişkin *D. folliculorum* ve sol göz kirpiklerinde 9 adet erişkin *D. folliculorum* tespit edildi. Tedaviye devam eden hasta sekizinci hafta tekrar kontrole geldi. Tüm şikayetlerinin tamamen ortadan kaktığını ifade eden hastanın epile edilen kirpiklerinin x40 ve x100 büyütmede ışık mikroskobu incelemesinde akarlar rastlanmadı.

Üç ay sonraki kontrolünde de epile edilen kirpiklerinin ışık mikroskobu incelemesinde akarlar rastlanmayan hasta tüm şikayetlerinin tamamen düzeldiğini belirtti.

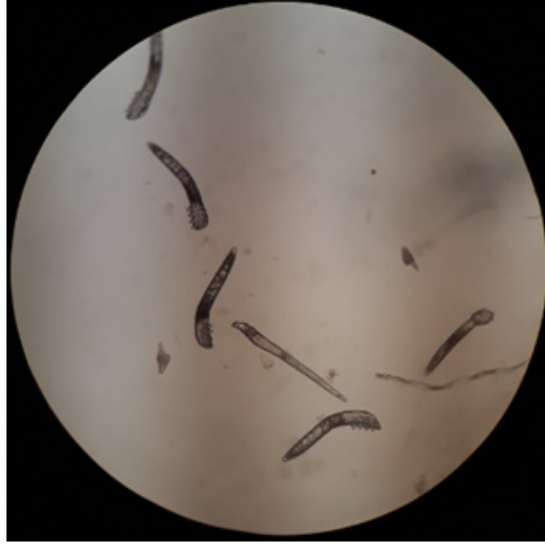
Sonuç: Çalışmalarda farklı TTO formülasyonlarının *Demodex* yoğunluğunun azaltılmasında ve oküler semptomların ortadan kaldırılmasında etkili olduğu bildirilmiştir (7, 8). Olgumuzda da TTO'nun enfestasyon tedavisinde etkili olduğu görülmüştür. Ulaşılan literatürler doğrultusunda talasemili hastalarda *Demodex* enfestasyonuna dikkat çeken bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu olgudan yola



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

çıkarak daha fazla talasemi hastasında araştırma yapmak planlanmıştır ve çalışma devam etmektedir. İmmün sistemi baskılanmış ve oküler şikayeti olan talasemili hastalar *Demodex* spp., enfestasyonu açısından risk taşımaktadır ve bu hastalarda parazit varlığı değerlendirilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Blefarit, *Demodex* spp., Talasemi, tea tree oil



Şekil 1. *Demodex folliculorum*'un yumurta, nimf ve erişkin formları (x100 büyütme, orijinal).

KAYNAKLAR

1. Aycan OM, Otlu GH, Karaman U, Daldal N, Atambay M. Çeşitli hasta ve yaş gruplarında *Demodex* sp. görülme sıklığı. Türkiye Parazit Derg 2007;31(2):115-8.
2. Ruffli T, Mumcuoğlu KY. The hair follicle mites *D. folliculorum* and *D. brevis*: biology and medical importance. Dermatology 1981;162:1-11.
3. Aycan-Kaya O, Atambay M, Daldal N. Sağlıklı kişilerin kirpiklerinde *Demodex folliculorum* ve *Demodex brevis* görülme sıklığı. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2012;18:57-60.
4. Olt S, Yalcin GG, Uysal OS, Karakece E, Ciftci IH. *Demodex* spp. infestation in a breast-cancer patient: A case report. Niger Med J 2013;54(5):349-50.
5. Kaya OA, Akkucuk S, Ilhan G, Guneri CO, Mumcuoğlu K. The importance of *Demodex* mites (Acari: Demodicidae) in patients with sickle cell anemia. J Med Entomol 2019; 56(3):599-602.
6. Taher AT, Weatherall DJ, Cappellini MD. Thalassaemia. Lancet 2018;391(10116):155-67.
7. Koo H, Kim TH, Kim KW, Wee SW, Chun YS, Kim JC. Ocular surface discomfort and Demodex: effect of tea tree oil eyelid scrub in *Demodex* blepharitis. J Korean Med Sci 2012;27(12):1574-9.
8. Karakurt Y, Zeytin E. Evaluation of the efficacy of tea tree oil on the density of *Demodex* mites (Acari: Demodicidae) and ocular symptoms in patients with demodectic blepharitis. J Parasitol 2018;104(5):473-8.



P27.

Atlarda Dışkı Muayenesi ile Anoplocephalidae Yumurtalarının Saptanmasında Farklı Yoğunlukta Solüsyonların Kullanılması

Veli Y. ÇIRAK¹, Oya GİRİŞGİN², Ahmet Onur GİRİŞGİN¹, Ender GÜLEĞEN³

Bursa Uludağ Üniversitesi, ¹Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD; ²Karacabey Meslek Yüksek Okulu, Karacabey;
³Veteriner Fakültesi, Hayvan Sağlığı ve Hayvansal Üretim Araştırma ve Uygulama Merkezi, BURSA

E-posta: onurgirisgin@gmail.com

Amaç: Anoplocephalidae (şerit) türleri atların önemli endoparazitleri arasında yer alırlar. Özellikle *Anoplocephala perfoliata* türünün ileo-sekal bölgeye yerleşmesi durumunda ileri derece yangısal reaksiyonlarla birlikte bağırsak delinmesi ve ölüm vakaları gözlenebilmektedir. Bu bağlamda enfekte atların teşhisi ve tedavisi büyük önem arz etmektedir. Bu çalışma, yoğunlukları farklı iki solüsyon kullanılarak doğal enfekte atların dışkılarında Anoplocephalidae yumurtalarını saptamak amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Yöntem: Bu amaçla 241 attan alınan dışkı örnekleri; doymuş şekerli su (d:1.30 g/ml) veya potasyum karbonat (K₂CO₃) (d:1.45 g/ml) solüsyonları kullanılarak, kombine sedimentasyon-flotasyon tekniği ile muayene edilmiş ve her iki solüsyonda saptanan şerit yumurtalarının oranları karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Potasyum karbonat solüsyonu ile toplamda 59 (%24), doymuş şekerli su solüsyonu ile 43 (%18) dışkı örneğinde şerit yumurtaları tespit edilmiştir. Doymuş şekerli su ile yumurta saptanamayan 17 dışkıda potasyum karbonat ile yumurta saptanırken, potasyum karbonat ile negatif çıkan 1 dışkı numunesi doymuş şekerli su ile pozitif bulunmuştur.

Sonuç: Atlarda Anoplocephalidae yumurtalarının teşhisinde potasyum karbonat solüsyonunun, doymuş şekerli su solüsyonuna alternatif olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: At, Anoplocephalidae, teşhis, doymuş şekerli su, potasyum karbonat



P28.

HeLa, BeWo, Caco-2, HEK-293 ve U937 Hücre Hatlarında *Toxoplasma gondii* Kültürünün Üretimi ve Devamlılığı

Merve YÜRÜK¹, Eda SİVCAN¹, Emrah ERDOĞAN¹, Arzuw CHARRYEVA²

¹Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ; ²Ostrava Üniversitesi Bilim Fakültesi, Yaşam Bilimleri Araştırma Merkezi, Ostrava, CZECH REPUBLIC

E-posta: merveyuruk@erciyes.edu.tr

TAM METİN

ÖZET

Amaç: İnsan vücudundaki tüm hayati organları enfekte edebilen zorunlu hücre içi protozoan parazit *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), kolaylıkla kültüre edilebilen, moleküler çalışmalarda model olarak kullanılan bir mikroorganizma ve genetik araçtır. Hücre kültür sistemlerinde takizoitlerin üretimi hayvan modelleri ile kıyaslandığında çoklu avantajlar sağlamaktadır. *In vitro* ortamda takizoit üretimi için şimdiye kadar çeşitli hücre hatları kullanılmıştır. Bu çalışmada, *T. gondii* takizoitleri ile yapılacak çalışmalarda kullanılan hücre hatlarının, deney boyunca parazitin üreme potansiyeline bağlı olarak canlı kalabildikleri optimal çalışma süresinde parazitin saf olarak, devamlı çoğaltılmasını sağlayacak uygun hücre hattının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada, HeLa, BeWo, Caco-2, HEK-293 ve U937 hücre hatları kullanılmıştır. %80-100 yoğunluk görülen flaklara 1:1 (takizoit/hücre) oranlarında takizoitlerin ekimi yapılarak enfeksiyon gerçekleştirilmiştir. RNA örneklerinden cDNA sentezlenerek, bu cDNA ile RT-qPCR (Real Time-Quantative PCR) yapılmıştır.

Bulgular: Takizoitlerin hücre içinde çoğalma evreleri enfeksiyondan sonraki 24. saatte maksimum düzeye ulaşmıştır. Bu sürenin sonunda takizoitler, hücreleri patlatarak sayılarını ortalama bin kat artırmışlardır. Sonuç olarak, HeLa ve BeWo hücre hatları devamlı olarak takizoit üretiminde hücre canlılık bakımından avantajlı iken U937 hücre hattının ise parazit üretme potansiyeli bakımından daha avantajlı olduğu görülmüştür.

Sonuç: *T. gondii* takizoitlerinin sürekli ve canlı olarak üretildikleri optimal sürede farklı doku tiplerine ait hücre hatları ile yapılan bu çalışmanın ileride yapılacak genetik, farmakolojik ve hücre fizyolojisini anlamaya yönelik çalışmalar için önemli metodolojik ve literatürel bilgi sağladığı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Toxoplasma gondii*, üreme potansiyeli, hücre kültürü, hücre hatları

Production and Maintenance of *Toxoplasma gondii* Cultivation in HeLa, BeWo, Caco-2, HEK-293 ve U937 Cell Lines

SUMMARY

Aim: *Toxoplasma gondii*, a mandatory intracellular protozoan parasite that can infect all vital organs in the human body, is a microorganism and genetic tool that can be easily cultured and used as a model in molecular studies. In cell culture systems, the production of tachyzoites provides multiple advantages compared to animal models. To date, various cell lines have been used for the production of tachyzoites *in vitro*. In this study, it was aimed to determine the appropriate cell lines that are able to ensure the continuous reproduction of the parasite in the optimal working time in which cells are viable during the reproductive process of the parasite during the experiments with *T. gondii* tachyzoites.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Materials and Methods: HeLa, BeWo, Caco-2, HEK-293 and U937 cell lines were used in the study. The flasks with a density of 80-100% were treated by tachyzoites in 1:1 (tachyzoites/cell) ratio. The cDNA was synthesized from RNA samples, and qPCR was performed with this cDNA.

Results: Proliferation of tachyzoites in cells reached a maximum level at 24 hours after infection. At the end of this period, the tachyzoites exploded the cells and increased their number by a thousand times. As a result, the HeLa and BeWo cell lines were advantageous in terms of cellular viability in the continuous production of tachyzoites, whereas the U937 cell line was found to be more advantageous in terms of its potential to produce a higher number of parasites.

Conclusion: It is thought that this study, which is done with cell lines belonging to different tissue types in which *T. gondii* tachyzoites are produced continuously and viable in the optimal time, provides important methodological and literature information for genetic, pharmacological and cell physiology studies.

Key Words: Cell culture, cell lines, growth potential, *Toxoplasma gondii*

GİRİŞ

Toxoplasmosis, zorunlu hücre içi protozoan parazit *Toxoplasma gondii*'nin (*T. gondii*) neden olduğu, dünya genelinde yaygın görülen zoonotik karakterli bir hastalıktır. Bu hastalık insan vücudundaki tüm organları tutabilmekte, kontrol altına alınamadığında ölümle sonuçlanabilmektedir (1). *In vitro* hücre kültür sistemleri, endüstriyel veya araştırma amaçlı çeşitli uygulamalarda vazgeçilmez araçlardır ve deneysel çeşitlilikte esneklik sağlamaktadır (2). Çalışmada, servikal karsinoma hücresi (HeLa), insan trofoblastik choriocarcinoma hücresi (BeWo), insan kolon epidermal adenokarsinom hücresi (CaCo-2), insan embriyonik böbrek epitel hücresi (HEK-293) hücre hatlarından oluşan dört monolayer ve bir süspansiyon hücre hattı olan promonositik insan miyeloid lösemi hücresi U937 olmak üzere 5 farklı hücre hattının kültürü yapılmıştır. *T. gondii* takizoitleri ile yapılacak çalışmalarda, kullanılan hücre hatlarının deney boyunca parazitin üreme potansiyeline bağlı olarak canlı kalabildikleri optimal çalışma süresinde parazitin saf olarak, devamlı çoğaltılmasını sağlayacak uygun hücre hattının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hücre Kültürü ve *In-vitro* Enfeksiyon

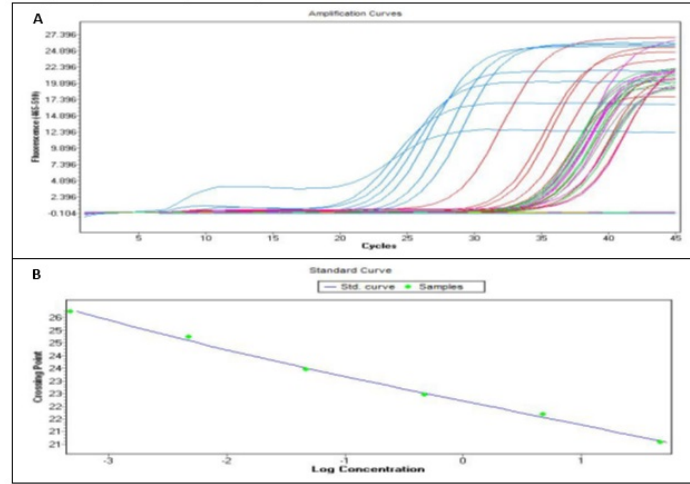
HeLa, BeWo, Caco-2, HEK-293 ve U937 hücreleri ve *T. gondii* takizoitleri, %10 inaktive edilmiş Fetal Bovin Serum (FBS), 100 µg/ml streptomycin-100 IU/ml penicillin ve %1 L-Glutamin ilave edilerek hazırlanan RPMI-1640 besiyerine ayrı ayrı ekilmiştir. Hücreler 37°C'de %5 CO₂'li inkübatörde kültüre edilmiştir. Hücreler her gün invert mikroskopta kontrol edilerek 2-3 günde bir pasaj yapılarak çoğaltılmıştır. Deney ve kontrol grupları oluşturulmuştur. Uyarılmış ve uyarılmamış U937 hücrelerinin olduğu kültürler yapılmış ve U937 hücrelerinin stimülasyonu için 10 ng/ml konsantrasyonda Phorbol-12-Myristate-13-Asetate (PMA) içeren besi yerinde inkübasyonu sağlanmıştır. Stimülasyondan 98 saat sonra olgunlaşan ve farklılaşan U937 hücreleri gözlemlenerek diğer hücrelerle beraber 1:1 (takizoit/hücre) oranında *T. gondii* takizoitleri ile enfekte edilmiştir. Enfeksiyon durumu her gün invert mikroskopta kontrol edilmiştir.

Parazit yükünün RT-QPCR ile belirlenmesi

Besi yerinin üst sıvısı toplanmış ve parazit yükü belirlenmek üzere TRI Reagent ile RNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen RNA örneklerinden cDNA sentezi yapılmıştır. B1 genini (3) hedefleyen primerler ile hazırlanan reaksiyon karışımı ile RT-qPCR yapılarak parazit yükleri belirlenmiştir.

BULGULAR

Bu çalışmada, Kullanılan hücre hatları yeterli yoğunluğa ulaştığında parazit yükleri RT-qPCR ile belirlenmiş (Şekil 1) ve bu süreçte enfekte hücreler ve ortamdaki serbest takizoitler mikroskop ile incelenmiştir. RT-qPCR ile yapılan parazit yükü hesapları mikroskopik bulgularla paralel sonuçlar vermiştir.

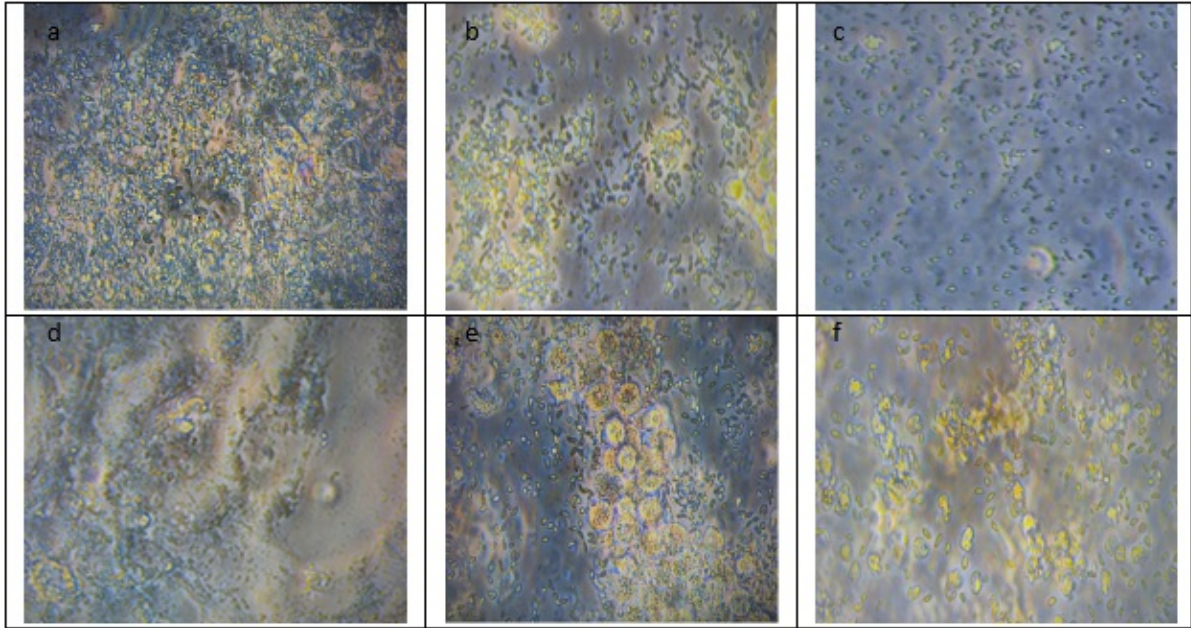


Şekil 1. *T. gondii* ile enfekte HeLa, BeWo, Caco-2, HEK-293 ve U937 hücrelerinin RT-qPCR analizleri
A. Amplifikasyon eğrileri; B. Standart eğri.

Takizoitlerin hücre içinde çoğalma evreleri enfeksiyondan sonraki 24. saatte maksimum düzeye ulaşmış ve takizoitler kültür yüzeyinde gözlemlenmiştir. Bu sürenin sonunda takizoitler, hücreleri patlatarak sayılarını ortalama bin kat artırmışlardır. Daha sonra çoğalma döngülerine kültür ortamındaki tüm hücreleri yok edene kadar devam etmişlerdir. HeLa ve BeWo hücreleri enfekte edildikten sonra 10 gün boyunca kültüre devam edilebilmiş fakat bu süre zarfında parazit yoğunluğunun kültür üst sıvısından yapılan RT-qPCR analizine göre diğer hücre hatlarına nispeten daha az olduğu tespit edilmiştir. Bununla beraber enfeksiyonun ilk 24 saatinden sonra parazit yükü en yüksek olan hücre hattı PMA ile uyarılan U937 hücreleridir. Uyarılmayan U937 hücrelerinde ise deney bitimine doğru parazit yükündeki logaritmik artış deneydeki diğer tüm hücrelerden fazladır. Ancak PMA ile indüklenmiş U937 hücreleri, Caco-2, HEK ve indüklenmemiş U937 hücrelerinde de olduğu gibi enfeksiyonun 8. gününden itibaren flask yüzeyinden ayrıldığı için deney sonlandırılmıştır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Sonuç olarak, HeLa ve BeWo hücre hatlarını devamlı olarak takizoit üretiminde hücresel canlılık bakımından avantajlı kılarken, U937 hücre hattının ise parazit üretme potansiyeli bakımından daha avantajlı olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak; *T. gondii* takizoitlerinin sürekli ve canlı olarak üretildikleri optimal sürede farklı doku tiplerine ait hücre hatları ile yapılan bu çalışmanın ileride yapılacak genetik, farmakolojik ve hücre fizyolojisini anlamaya yönelik çalışmalar için önemli metodolojik ve literatürel bilgi sağladığı düşünülmektedir.



Şekil 2. *T. gondii* ile enfekte hücrelerin 8. gündeki görüntüleri (40X);

a). BeWo hücre kültürü, **b).** CaCo hücre kültürü, **c).** HEK hücre kültürü, **d).** HeLa hücre kültürü, **e).** U937+PMA hücre kültürü, **f).** U937 hücre kültürü

KAYNAKLAR

1. Kaye A. Toksoplazmozis: Diagnosis, treatment, and prevention in congenitally exposed infants. J ped health care. 2011; 25: 355-364
2. Ravi M, Paramesh V, Kaviya SR, et al. 3D cell culture systems: advantages and applications. J cell physiol. 2015; 230: 16-26.
3. Costa JM, Cabaret O, Moukoury S, Bretagne S. Genotyping of the protozoan pathogen *Toxoplasma gondii* using high-resolution melting analysis of the repeated B1 gene. J microbiol methods. 2011; 86: 357-363.



P29.

Leishmania tropica ile Enfekte U937 Makrofaj Hücre Hattının Toll-Like Reseptörleri ve Yolaklarının PCR Array ile Araştırılması

Ebru UYSAL¹, Merve YÜRÜK¹, Arzuw CHARRYEVA²

¹Erciyes Üniversitesi Tıbbi Parazitoloji AD, KAYSERİ; ²Ostrava Üniversitesi Bilim Fakültesi, Yaşam Bilimleri Araştırma Merkezi, Ostrava, CZECH REPUBLIC

E-posta: colyosrose@gmail.com

TAM METİN

ÖZET

Amaç: Leishmaniasis ait zorunlu hücre içi protozoon parazitin sebep olduğu vektör kaynaklı bir hastalık olup Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre yüksek mortaliteye ve morbiditeye sebep olan en önemli tropikal hastalıklardan biridir. Hastalık tedavi edilmediği takdirde ölümcül olabilmektedir ve henüz insan kullanımı için etkili bir aşı mevcut değildir. Bu çalışmada, *Leishmania tropica* ile enfekte U937 makrofaj hücre hattında Toll-like reseptörlerinin ekspresyon seviyelerinin PCR array ile araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada kutanöz leishmaniasis (KL) etkeni *L. tropica* türüne ait promastigotlar kullanılmıştır. Stimüle edilen U937 makrofaj hücre hattı, kültürde üretilen promastigotlar ile enfekte edilmiştir. Hücre hatlarından RNA izolasyonu ve cDNA sentezi yapılmıştır. Enfekte U937 hücrelerindeki Toll-Like reseptörleri yolağında görev alan genlerin ekspresyon seviyeleri PCR Array ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Çalışmada enfekte hücre hatlarında Toll-like reseptör genlerinden AKT3, CHUK, IFNR5, IKBK, MAK2K5, MAPK9, MAPK13, MAPK14, MYD88, NKBIB, TLR4, TLR5, TIRAF4, TLR6, TLR3, TBK1, SPP1, PIK3R1, PIK3CD, MAPK3 genlerinin ekspresyon seviyelerinde anlamlı seviyede artış belirlenmiştir.

Sonuç: Bu çalışmada *L. tropica*'ya karşı gelişen spesifik immün yanıtta rol alan TLR'ler ve yolakla ilişkili moleküller hakkında elde edilen veriler, bu moleküllerin parazitle mücadelesinde immunoterapi amaçlı kullanılması noktasında önemli bilimsel katkı sağlamıştır.

Anahtar Kelimeler: Leishmaniasis, *Leishmania tropica*, U937, Toll-Like reseptör.

Analysis of the Effect of Toll-like Receptors on *Leishmania tropica* and U937 Macrophage Cell Line by PCR Array

SUMMARY

Aim: Leishmaniasis is one of the most important tropical diseases that cause a high mortality and morbidity according to the World Health Organization data, which is the obligatory intracellular protozoan parasite. The disease can be fatal if it is not treated and there is no effective vaccine for human use yet. In this study, it was aimed to investigate the expression levels of Toll-like receptors in the U937 macrophage cell line infected with *Leishmania tropica* by PCR array.

Methods: In the study, *L. tropica* promastigotes causative agent of cutaneous leishmaniasis (CL) were used. The stimulated U937 macrophage cell line was infected with promastigotes produced in culture.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

RNA isolation and cDNA synthesis were performed from the cell lines. Expression levels of genes involved in the Toll-Like receptors pathway in infected U937 cells were analyzed by PCR Array.

Results: An increase in the levels of expression of Toll-like receptor genes as AKT3, CHUK, IFNR5, IKBK, MAK2K5, MAPK9, MAPK14, MYD88, NKBIB, TLR4, TLR5, TIRAF4, TLR6, TLR3, TBK1, SPP1, PIK3R1, PIK3CD, MAPK3 was determined in infected cell lines.

Conclusion: In this study, TLRs and pathway-related molecules that play a role in the specific immune response against *L. tropica* have provided important scientific contribution to the use of these molecules for immunotherapy in the parasite challenge.

Key Words: Leishmaniasis, *Leishmania tropica*, Toll-Like receptor, U937

GİRİŞ

Leishmaniasis ait zorunlu hücre içi protozoon parazitin sebep olduğu vektör kaynaklı bir hastalık olup Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre yüksek mortaliteye ve morbiditeye sebep olan en önemli tropikal hastalıklardan biridir (1, 2). TLR aktivasyonunun immünoterapide terapötik etkileri, yüksek düzeylerde indükledikleri IFN- γ gibi sitokinler ile ilişkilidir. Özellikle, leishmaniasis tedavisinde immün adjuvan olarak TLR agonistlerinin kullanımı ümit verici sonuçlar göstermiştir. Hastalık tedavi edilmediği takdirde ölümcül olabilmektedir ve henüz insan kullanımı için etkili bir aşı mevcut değildir. TLR7 agonisti Aldara™, deneysel modellerde ve geleneksel tedavi ile kombinasyon halinde kutanöz leishmaniasis'in klinik çalışmalarında anti-leishmanial aktivite gösterdiği bildirilmiştir (3). Bu tez çalışmasında, *Leishmania tropica* ile U937 makrofaj hücre hattının TLR'lerine etkisinin PCR Array ile analizi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hücre Kültürü ve *in-vitro* Enfeksiyon

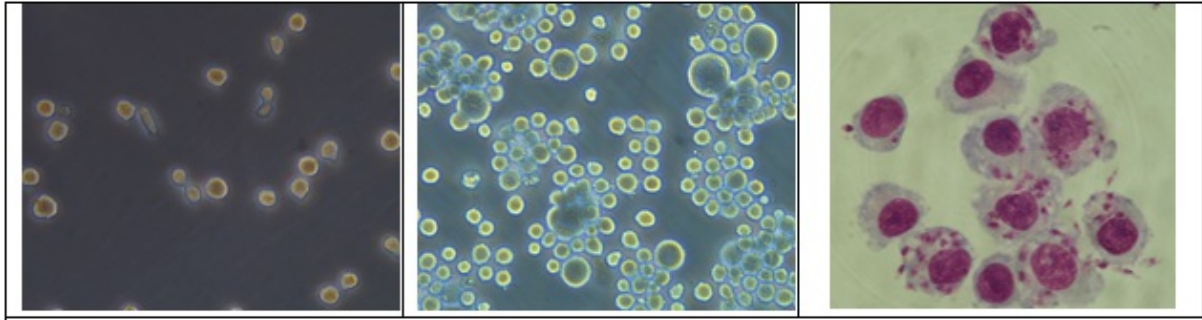
İnsan histiositik lenfoma kökenli U937 hücreleri ve *Leishmania tropica* promastigotları, %10 inaktive edilmiş Fetal Bovin Serum (FBS), 100 μ g/ml streptomycin-100 IU/ml penicillin ve L-Glutamin ilave edilerek hazırlanan RPMI-1640 besiyerine ayrı ayrı ekilmiştir. U937 hücreleri 37°C'de %5 CO₂'li inkübatörde ve promastigotlar 27°C'de kültüre edilmiştir. Hücreler her gün invert mikroskopta kontrol edilerek 2-3 günde bir pasaj yapılmıştır. Deney ve kontrol grupları oluşturulmuştur. Pleytlere alınan U937 hücrelerinin stimülasyonu 10 ng/ml konsantrasyonda Phorbol-12-Myristate-13-Asetate (PMA) içeren besiyerinde inkübe edilerek sağlanmıştır. Stimülasyondan 98 saat sonra olgunlaşan ve farklılaşan U937 hücrelerinin bulunduğu her kuyucuğa 3×10^8 *L.tropica* promastigotları eklenerek 37°C'de %5 CO₂'li ortamda inkübe edilmiştir ve parazitin hücre içine invazyonu sağlanmıştır. Enfeksiyon durumu görüntülenmek üzere hücrelerin bir kısmı Giemsa boyası ile boyanmıştır.

Human PCR Array Toll-Like Panel

Kültür pleytlere tutunmuş hücrelerden TRI Reagent ile RNA izolasyonu için kullanılmıştır. Elde edilen RNA örneklerinden cDNA sentezi yapılmıştır. cDNA elde edildikten sonra en son aşama olan ticari olarak elde edilen Toll-Like reseptör paneli ile PCR Array analizi yapılmıştır.

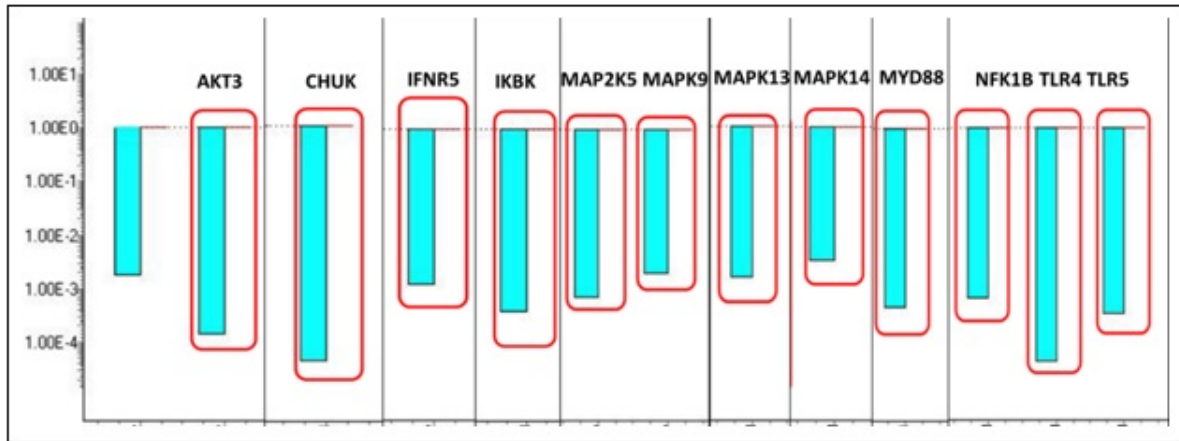
BULGULAR

Çalışmada immatür hücreler hücreler süspanse haldeyken stimüle edilerek olgun makrofajlara dönüşerek kümeleşmeye başladığı, daha büyük hale geldikleri, kültür pleytlere tutunduğu ve ataç hücrelere dönüştüğü gözlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. a). RPMI-1640 besiyerinde üreyen U937 hücrelerinin invert mikroskobu görüntüsü; **b).** Uyarılmış U937 hücrelerinin invert mikroskop görüntüsü; **c).** Giemsa ile boyanmış enfekte U937 makrofaj hücrelerinin görüntüsü.

Deney grubunu oluşturan promastigot ile enfekte edilen U937 hücrelerinin ve kontrol grubunu oluşturan U937 hücrelerine ait relatif kantifikasyon analizi Roche Light Cycler480 II cihazı ile yapılmıştır. Buna göre ekspresyon seviyesi artan genlerin grafikleri elde edilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Promastigotlar ile enfekte edilen U937 hücrelerinin relatif kantifikasyon analizi; AKT3, CHUK, IFNR5, IKBK, MAP2K5, MAPK9, MAPK14, MYD88, NFK1B, TLR4, TLR5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Leishmaniasis önemli derecede morbidite ve mortaliteye sahiptir. Leishmaniasisde görülen farklı klinik formlar, konağın adaptif immüncavabı ile özellikle de hücresel ve humoral bağışıklık arasındaki denge ile yakından ilgilidir (4). Bu çalışmada, İnsan U937 hücre kültürü yapılmış, belirlenen sayıda promastigotlar ile U937 hücreleri enfekte edilmiştir. Enfeksiyon sonrası hücreden kültüründen alınan örneklerin RNA izolasyonu yapılarak cDNA sentezlenmiştir. qPCR analiz yapılmış kontrol ve enfekte grup arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, *In vitro* şartlarda gerçekleştirilen bu çalışmada qPCR ile 84 gen çalışılarak PCR array yapılmış ve Toll like reseptörlerin sinyal iletim yolağı incelenmiştir. AKT3, CHUK, IFNR5, IKBK, MAP2K5, MAPK9, MAPK13, MAPK14, MYD88, NFK1B, TLR4, TLR5, TIRAF4, TLR6, TLR3, TBK1, SPP1, PIK3R1, PIK3CD, MAPK3 genlerinin ekspresyon seviyelerinin artmış olduğu gözlemlenmiştir. Parazite karşı gelişen spesifik immün yanıtta rol alan TLR'ler ve yolakla ilişkili moleküller hakkında elde edilen bilgiler, bu moleküllerin parazitle mücadelesinde immunoterapi amaçlı kullanılmasına olanak sağlayacaktır.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. Global report for research on infectious diseases of poverty 2012. UNICEF/UNDP/World Bank/WHO. Geneva, 2012.
2. World Health Organization. "First WHO report on neglected tropical diseases: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases", WHO 1, France, 2010, 1-184.
3. Huang L, Hinchman M, Mendez S. Coinjection with TLR2 agonist Pam3CSK4 reduces the pathology of leishmanization in mice. PLoS Negl Trop Dis 2015; 4; 9(3): e0003546.
4. Desjeux P. Leishmaniasis. Nat rev Microbiol 2004; 2(9): 692.



P30.

**The Study Anti-Leishmanial Activities of Green Silver Nanoparticles
on *L. tropica* Infected Macrophage Cells *in vitro***

**Melahat BAĞIROVA, Sahar DİNPARVAR, Adil M. ALLAHVERDİYEV, Kübra ÜNAL,
Emrah Şefik ABAMOR**

Yıldız Technical University, Department of Bioengineering, Esenler, İSTANBUL

E-mail: adilmoglu@gmail.com

Leishmaniasis is considered as one of the most important neglected diseases. The disease has widely distributed to five continents, and it is estimated that it is endemic in 98 countries. It is also predicted that every year, 500,000 new cases of visceral leishmaniasis (VL) and 1,500,000 new cases of cutaneous leishmaniasis (CL). Nowadays 350 million people are living under the threat of leishmaniasis. Since there is no available effective, treatment options are the only way to combat the disease. However, none of the current antileishmanial drugs are considered ideal medications because of their identified disadvantages, including high toxicity, expensiveness, long therapy duration, and severe side effects. On the other hand, recently evolved resistance of the *Leishmania* parasites to pentavalent antimonials are used as the gold standard in chemotherapy on the infection reveals that there is an immediate need, even a necessity, to develop new an effective antileishmanial formulations to cope with the infection. Since the last day, a new approach based on nanotechnology has been developed. Nanoparticles, which are the products of nanotechnology, are becoming more important because of the antimicrobial properties they show at high levels. Green nanoparticles, which are products of green nanotechnology, are gaining more value because they are more stable than nontoxic and they show antioxidant properties. Although there are many studies based on green nanoparticles against *Leishmania* parasites in the literature, we have not found any research to study the antileishmanial effect of Cuminum cyminum AgNPs. In this study for the first time antileishmanial effect of chemical and biosynthesized silver nanoparticles (Bio-AgNPs) using Cuminum cyminum (Cuminum) seed extract were examined *in vitro* on Macrophage (J774) infected with *Leishmania tropica*. We evaluated cell viability, infectivity of macrophages and NO amount in experiments. The obtained result shows that cuminum extract had not any inhibitory effect in all tested concentration at both noninfected and *L. tropica* infected macrophage cells. In contrast, the inhibitory effect of AgNPs on both macrophage and infected macrophage cells were at high concentrations (1.75-25 µg/ml). Different from cumin extract and AgNPs the antileishmanial effect of Bio-AgNPs were at low and non-toxic concentrations (0.75,1.25µg/ml). The high amount of NO in non-infected and *L. tropica* infected macrophage cells which was treated with cuminum extract was at high concentrations (1.56-12.5 µg/ml). The high amount of NO in macrophage cells which were treated with AgNPs in non-infected and *L. tropica* infected infected macrophage cells was at (1.5-12.5 µg/ml) concentrations. The production of NO in *L. tropica* infected macrophages that were treated with green-AgNPs in all concentrations was more than both cuminum and AgNPs especially in high concentrations. These results showed that Bio-AgNPs have great potency in the development of new drugs based on nanotechnology against leishmaniasis.

Key Words: *Leishmania tropica*, green nanotechnology, metallic nanoparticles, treatment



P31.

Acanthamoeba sp.'nin Neden Olduğu Bir Menenjit Olgusu, Kayseri

Merve YÜRÜK¹, Emrah ERDOĞAN¹, Eda SİVCAN¹, Fatma Mutlu SARIGÜZEL²

Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, ¹Tıbbi Parazitoloji AD; ²Tıbbi Mikrobiyoloji AD, KAYSERİ

E-posta: yuruk_merve@hotmail.com

Amaç: Serbest yaşayan amipler biyosferin her yerinde bulunan protozoonlardır. Diğer amiplerin oluşturdukları enfeksiyonların aksine, *Acanthamoeba* spp. dokuda kist oluşturabilir. *Acanthamoeba* türleri kanser kemoterapisi alan immüno-kompromise veya organ transplantlı hastalarda, kutanöz, nazofarengeal, pulmoner ve böbrek lezyonlarından granülatöz ensefalite kadar değişen çeşitli kliniklerle seyreden hastalıklara neden olur. Tek bir ilaç hem kistik hem de trofozoit formlarını elimine edememektedir. Etkili tedavideki mevcut zorluk *Acanthamoeba* spp'nin dirençli kist formundan kaynaklanmaktadır. Bu çalışmada, öz geçmişinde bilinen bir hastalığı olmayan baş ağrısı ve baş dönmesi öyküsü ile Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi acil servisine başvuran 28 yaşındaki erkek olgunun sunumu amaçlanmıştır.

Yöntem: Hastadan elde edilen örneğin native-lugol ve giemsa boyalı preparatlarının mikroskopisinde *Acanthamoeba* sp. benzeri kist yapıları görülmesi üzerine Genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. Daha sonra, Real Time PCR (RT-qPCR), *Acanthamoeba* spesifik primer çiftleri, SYBR Green (Roche, Almanya), kullanılarak hazırlanmıştır. RT-qPCR programı Roche LightCycler 480 II (Roche, ABD) ile gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, örneğe ait Cq (Quantification Cycle) değeri pozitif (27Cq) olarak saptanmıştır. İlaveten, 425 bp'lik bir DNA parçası JDP1 ve JDP2 primerleriyle amplifiye edilerek PCR protokolü uygulanmıştır. PCR ürünü jel elektroforezinden sonra görüntülenmiştir.

Bulgular: Çekilen kranial BT sonuçlarında mikro apse odakları görülmüş ve BOS incelemesi sonucunda bazal menenjit tanısı konulmuştur. Tedavi altına alınan hastanın antibiyoterapisi tamamlandıktan sonra klinik durumun devam etmesi üzerine tbc menenjiti şüphesiyle anti tbc tedavisi uygulanmıştır. Sonra durumunun iyileşmemesi üzerine BOS materyali ile detaylı tetkikleri yapılmış; HERPES, micobakteri PCR sonuçları, *Nocardia*, *Actinomyces*, *Aspergillus* ARB ve giemsa boyamaları negatif olarak tespit edilmiştir. Bunun üzerine Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarları'na BOS gönderilen olgunun *Acanthamoeba* sp. bakımından PCR ve RT-qPCR sonucu pozitif olarak tespit edilmiştir. Bu sırada tedavisi başlanan hastanın şuuru kötüleşmiş ve kapanmıştır. Solunum yollarını koruyamayacağı için entube edilen hastada ağız bakımının kötüleşmesine bağlı olarak laboratuvarımıza gönderilen örnek incelenmiş ve miyazis olduğu görülmüştür. Ağız bakımı sağlanarak *Acanthamoeba* menenjitinin tedavisine (MERONEM+VANCO+AMBISONE+FLAGYL) devam edilmiştir. Tedaviye rağmen hipotansifleşen hasta, kardiyak arrest gelişmesi sonucunda exitus olmuştur.

Sonuç: Menenjit etkenleri arasında *Acanthamoeba*'nın da dikkate alınmasının ve kişilerin bulaş kaynakları konusunda bilinçlendirilmesi, yaşamı tehdit eden enfeksiyonlardan korunmaları açısından önemli olduğu vurgulanmıştır. Sonuç olarak, hastalığın erken teşhisinin hayat kurtarıcı olduğu kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: *Acanthamoeba* sp., *Acanthamoeba* menenjiti, olgu



P32.

At Serumunun *Trichomonas vaginalis* Kriyoprezervasyonuna Etkisi

Vildan TURAN FARAŞAT, İbrahim ÇAVUŞ, Ahmet ÖZBİLGİN

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, MANİSA

E-posta: vildanturan45@gmail.com

TAM METİN

ÖZET

Amaç: *Trichomonas vaginalis* tek hücreli, kamçılı, mikroaerofilik vajinit etkeni bir protozoon parazittir. Bu protozoanın oluşturduğu hastalık olan Trichomoniasis cinsel yolla bulaşan nonviral etkenler arasında ilk sırayı almaktadır. Kriyoprezervasyon ile bu parazit ilk günkü gibi orijinal (virülansı korunmuş halde) haliyle saklanabilmektedir. Biz çalışmamızda *Trichomonas vaginalis* kriyoprezervasyonunda at serumunun etkisini saptamayı amaçladık.

Yöntem: Manisa CBÜ Tıp Fakültesi Parazit Bankasında bulunan ATCC 30188 kodlu *Trichomonas vaginalis* izolatu kullanılmıştır. Planlanan kriyoprezervasyon işlemleri 3 ml parazit içeren besiyeri içerisine son konsantrasyonu %15 olacak şekilde farklı oranlarda DMSO + At serumu eklenmiş ve homojen bir şekilde karıştırılmıştır. Steril kriyotüplerin içerisine konulup azot tankına aktarılarak kriyoprezervasyon işlemi yapılmıştır.

Bulgular ve Sonuç: *Trichomonas vaginalis*'in kriyoprezervasyonunda at serumunun artan konsantrasyonlarda eklenmesi ile canlılığa olumlu katkı yaptığı ve kriyoprezervasyon çalışmalarında at serumunun kullanılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Trichomonas vaginalis*, kriyoprezervasyon, at serumu

Effect of Horse Serum on Cryopreservation of *Trichomonas vaginalis*

SUMMARY

Aim: *Trichomonas vaginalis* is a unicellular flagellate protozoon which is a microaerophilic agent of vaginitis. Trichomoniasis a disease caused by this protozoon, ranks the first among the sexually transmitted non-viral agents. The parasite can be preserved in its original form (with preserved virulence) through cryopreservation. In this study, we aimed to identify the effect of horse serum on cryopreservation of *Trichomonas vaginalis*.

Method: We used the *Trichomonas vaginalis* isolate ATCC 30188 obtained from the Parasite Bank of the Faculty of Medicine at Manisa Celal Bayar University. For the planned cryopreservation procedures, varying amounts of DMSO + horse serum were added into a 3 ml parasite medium with the final concentration of 15% and the mixture was homogeneously mixed. It was then placed into sterile cryotubes and taken to a nitrogen tank for cryopreservation.

Result and Conclusion: It has been concluded that adding horse serum in increasing concentrations in cryopreservation of *Trichomonas vaginalis* positively contributes to viability and the use of horse serum in cryopreservation studies is useful.

Key Words: *Trichomonas vaginalis*, horse serum, cryopreservation



GİRİŞ

Trichomonas vaginalis tek hücreli, kamçılı, mikroaerofilik vajinit etkeni bir protozoon parazittir. Bu protozoonun oluşturduğu hastalık olan trichomoniasis cinsel yolla bulaşan nonviral etkenler arasında ilk sırayı almaktadır. Her yıl 276,4 milyon yeni olgunun olduğu ve yıllık 194.000 iş gücü kaybına neden olduğu düşünülmektedir (1, 2). Laboratuvarda uygulanan tanı testleri ve araştırmalar için canlı parazitlere gereksinim duyulmaktadır. Parazitlerin kültür ortamlarının yenilenmesi sırasında yapılabilecek hatalar parazitin ölmesine ve araştırma esnasında geri dönüşsüz kayıplara neden olur. Kriyoprezervasyon ile parazit ilk günkü gibi orijinal (virülansı korunmuş halde) haliyle saklanabilmektedir. Kriyoprezervasyon yapılırken her parazit türü için en ideal yöntemin bulunması yararlı olacaktır. Biz çalışmamızda *Trichomonas vaginalis* kriyoprezervasyonunda at serumunun etkisini saptamayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Manisa CBÜ Tıp fakültesi Parazit Bankasında bulunan ATCC 30188 kodlu *Trichomonas vaginalis* izolatu kullanılmıştır. Planlanan kriyoprezervasyon işlemleri 3 ml parazit içeren besiyeri içerisine son konsantrasyonu %15 olacak şekilde farklı oranlarda DMSO + At serumu eklenmiş ve homojen bir şekilde karıştırılmıştır (Tablo 1). Daha sonra steril kriyotüplerin içerisine 1 ml olacak şekilde aktarılmıştır. Cryo tüpleri Cool Cell kutularına konarak -86°C'lik derin dondurucuya aktarılmış ve burada bir gece bekletilmiştir. Ertesi gün Cool Cell kutuları içerisindeki kriyotüpleri sıvı azot tanklarına aktararak kriyoprezervasyon işlemi tamamlanmıştır (3, 4).

Tablo 1. Ortamdaki at serumu miktarları

At Serumü	Besiyeri	At Serumü	DMSO
%20	2550 µl besiyeri	90 µl at serumu	360 µl DMSO
%50	2550 µl besiyeri	225 µL at serumu	225 µl DMSO
%70	2550 µl besiyeri	315 µL at serumu	135 µl DMSO
%90	2550 µl besiyeri	405 µL at serumu	45 µl DMSO

İzolot çalışma yapılacağı zaman canlandırılarak kullanıldı. TYM (Trypticase-yeast extract-maltose) besiyerine ekilen bu izolatlar 37 °C'de inkübe edilirken günlük olarak üremeleri kontrol edildi.

BULGULAR VE SONUÇ

Yaptığımız çalışma sonucunda günlere göre *Trichomonas vaginalis* kültürünün üreme yoğunlukları Tablo 2'de verilmiştir. Sonuç olarak *Trichomonas vaginalis*'in kriyoprezervasyonunda at serumunun artan konsantrasyonlarda eklenmesi ile canlılığa olumlu katkı yaptığı kanısına varılmış olup bundan sonraki kriyoprezervasyon çalışmalarında at serumunun kullanılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Tablo 2. *Trichomonas vaginalis*'lerin üreme oranları

At Serumü	Canlandırılma günü	2. gün	3. gün
%20	%50 canlı	3x10 ⁵	3x10 ⁶
%50	%60 canlı	4x10 ⁵	4x10 ⁶
%70	%70 canlı	4x10 ⁵	4x10 ⁶
%90	%75 canlı	5x10 ⁵	5x10 ⁶



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections—2008. Geneva: World Health Organization (WHO); c2012. Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75181/1/9789241503839_eng.pdf.
2. Vos t, Allen C, Meghan A, Barber RM, Zulfiqar AB, Brown A, et al. Global, regional, and national incidence prevalence, and years lived with disability for 310 disease and injuries. 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2016; 388:1545-602.
3. Üner A, Özbel Y. Cryopreservation Prensipleri ve Parazitolojideki Uygulamaları. *Turkiye Parazitol Derg* 1990; 14(2): 91-110.
4. 4.Üstün Ş, Taşçı S, Dağcı H, M Atambay M, Özbilgin A, Alkan MZ. *Trichomonas vaginalis*'in gliserin ve dimetilsülfoksit ile kriyoprezervasyonu. *Turkiye Parazitol Derg* 1994;18(4):431-433.



P33.

Hypericum scabrum Methanol Ekstraktının Metronidazole Duyarlı ve Dirençli Trichomonas vaginalis'ler Üzerine Etkisi

Necati ÖZPINAR, Hülya ÖZPINAR², Nuraniye ERUYGUR³

Cumhuriyet Üniversitesi, ¹Veteriner Fakültesi, Hayvan Hastanesi; ²Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik AD, SİVAS; ³Selçuk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognози AD, KONYA

E-posta: necatiozpinar@gmail.com

Amaç: Son yıllarda bitkisel kökenli drogların kullanımı her geçen gün artmaktadır. Birçok bitki çeşitli hastalıklarda tedavi aracı olarak kullanılmakta ve sentetik ilaçları aratmayacak etkiler görülmektedir. Hypericum L. (St. John's Wort, Hypericaceae) genusu 46 taksonomik bölüme ayrılmış ve 469'dan fazla türe sahiptir. Bitki ekstraktlarının hafif ve orta şiddette depresyon, anksiyete, yara ve ülserle karşı etkileri ile bilinir. *Trichomonas vaginalis* (TV)'in sebep olduğu Trichomonal enfeksiyon kozmopolit bir dağılıma sahiptir ve tüm ırksal gruplar ve sosyoekonomik katmanlarda tespit edilmiştir. Trichomoniosis tedavisinde sıklıkla metronidazol kullanılmaktadır. Ancak son zamanlarda metronidazole dirençli *Trichomonas vaginalis* olgularına sık rastlanmaktadır. Bu çalışmadaki amacımız, tıbbi etkileri oldukça fazla olan *Hypericum scabrum* (*H. scabrum*)'un metronidazole dirençli ve duyarlı TV suşları üzerindeki etkilerini de test etmektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada metronidazole dirençli TV ATCC50143 ve metronidazole duyarlı TV ATCC50148 suşları kullanıldı. Toplanan bitki materyali kurutulmuş ve öğütüldü. Toz haline getirilen materyalden 10 gr tarılarak üzerine 250 ml metanol eklendi ve çalkalayıcıda 24 saat çalkalandı. Ekstraksiyon işlemi 4 kez tekrarlandı. Toplanan metanollü çözeltiler birleştirilerek bir filter kağıdından süzülme ve 40 °C'de evaporatörde sıvı kısım uçuruldu. *Trichomonas* Broth (TB, liofilchem, 610061) besiyeri hazırlandıktan sonra deney tüplerine dağıtılarak 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı, sonra besiyerine %10 oranında inaktif at serumu, 100U/ml penisilin, 100 µg/ml streptomisin eklendi. Satın alınan TV suşları hazırlanan TB besiyerine ekilerek 37 °C'de anaerobik şartlarda inkübe edildi. Logaritmik büyüme fazında TV suşları thoma lamında sayılarak eşit miktarda (50 µl) 96 kuyucuklu plaklara dağıtıldı. Üzerlerine 150 µl TB besiyeri eklenerek her bir kuyucuğa 50 µl farklı konsantrasyonlarda (5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1,25 mg/ml, 0,6 mg/ml, 0,3 mg/ml, 0,15 mg/ml) bitki ekstraktları eklendi ve 37 °C'de anaerobik şartlarda inkübe edildi. Negatif kontrol grubu olacak olan kuyucuğa bitki ekstresi eklenmedi. Pozitif kontrol grubu olacak kuyucuğa herhangi bir bitki ekstresi eklenmezken farklı konsantrasyonlarda (400 µM, 200 µM, 100 µM, 50 µM, 25 µM, 1,25 µM, 0,6 µM ve 0,3 µM) metronidazol eklendi. Her bir dozdaki protozoonlar 1., 4., 12., 24. saatlerde thoma lamında mikroskopik olarak sayıldı ve olası bir inhibisyonun varlığı kontrol grubu ile karşılaştırılarak tespit edildi. Protozoonların canlılık durumları tripan blue kullanılarak yapıldı. Hiç canlı parazitin bulunmadığı doz mikroskopik olarak tespit edildi ve Minimum Letal Doz (MLD) olarak değerlendirildi. Doğrulama amaçlı bu parazitler tekrar kültüre alınarak 2 gün süre ile inkübe edildi ve canlı parazitin olmadığı mikroskopik olarak doğrulandı.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Bulgular: *H. scabrum* metanol ekstraktı ile 2 saat mumele edilen metronidazol dirençli ve duyarlı TV suşları MLD değeri 2,5 mg/ml olarak tespit edilirken bu değerin 24 saat sonunda metronidazole dirençli TV suşunda 0.6 mg/ml, metronidazole duyarlı TV suşunda ise <0.15 mg/ml olduğu görüldü.

Sonuç: Çalışmamız, oranı gittikçe artan ve önemli bir tedavi ve halk sağlığı problemi oluşturan metronidazole dirençli TV parazitleri üzerine *H. scabrum*'un etkisini göstermiştir. İleriki çalışmalarda *H. scabrum* bitki özütleri hedef alınarak metronidazole dirençli TV parazitleri üzerine yeni terapötikler geliştirilebileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Hypericum scabrum*, *Trichomonas vaginalis*, Antiprotozoal etki



P34.

**Rutin Mikrobiyoloji Laboratuvarında Bulunabilecek Temel Besiyerlerinde
Leishmania tropica Promastigotlarının Üretilmesi**

Yener ÖZEL¹, İbrahim ÇAVUŞ², Gülhan VARDAR ÜNLÜ¹, Mehmet ÜNLÜ¹, Ahmet ÖZBİLGİN²

¹Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, BALIKESİR;

²Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA

E-posta: yener_ozel@hotmail.com

TAM METİN

ÖZET

Amaç: Standart uygulamada *Leishmania* türlerinin hasta örneklerinden primer izolasyonu için NNN besiyeri kullanılmaktadır. Bu besiyeri yüksek maliyeti ve hazırlama zorluğu nedeni ile rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında sıklıkla bulunmamaktadır. Bu çalışmada rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında bulunabilecek besiyerlerinin *Leishmania tropica* promastigotlarının üretilmesindeki etkinliğinin test edilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Besiyerlerinin denenmesinde *Leishmania tropica* MHOM/TR/2012/CBCL-LT suşu kullanılmıştır. Denenecek besiyerlerinin katı fazı olarak rutin mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılan yeast extract agar, triptik soy broth, saboroud dextroz agar, brucella agar ve columbia agar denenmiştir. Bu temel besiyerleri kullanılarak BY1 – BY8 olmak üzere sekiz adet kansız, KBY1 – KBY8 olmak üzere sekiz adet kanlı besiyeri oluşturulmuştur. RPMI 1640 besiyerinde logaritmik faza getirilen *L. tropica* promastigotları 10^5 promastigot/ml konsantrasyonda hazırlanarak tüm besiyerlerine inoküle edilmiş ve 27 C'de 12 gün boyunca inkübe edilmiştir. Denenen besiyerlerindeki promastigot sayısı, ışık mikroskobu ile 40X büyütmede sayma kamerası kullanılarak sayılmış ve NNN besiyeri ile karşılaştırılmıştır.

Bulgular: NNN besiyeri ile karşılaştırıldığında, *L. tropica* promastigotlarının üremesinde en iyi performansı BY7, BY8 ve KBY7 ve KBY8 besiyerleri göstermiştir. BY7 ve BY8 besiyerlerinde 1. gün promastigot sayısı 10^3 promastigot/ml iken 5. günde 10^4 promastigot/ml'ye ulaşmıştır. BY7 besiyerinde 8. günde 10^7 promastigot sayılmış ve 12. güne kadar bu şekilde devam etmiştir. BY8 besiyerinde ise 8. günde 10^5 promastigot sayılırken sonraki günlerde azalarak 12. günde 10^3 promastigot/ml'ye düşmüştür. KBY7 ve KBY8 besiyerlerinin her ikisinde de 1. günde promastigot sayısı 10^3 promastigot/ml iken 8. günde 10^7 promastigot/ml'ye çıkmış ve 12. güne kadar bu şekilde devam etmiştir. Kontrol olarak kullanılan NNN besiyerinde ise promastigot sayısı 1. günde 10^3 promastigot/ml iken 7. günde 10^7 promastigot/ml'ye çıkmış ve azalarak 12. günde 10^5 promastigot/ml'ye düşmüştür.

Sonuç: *L. tropica*'nın üretilmesinde en iyi performansı BY7, BY8 ve KBY7, KBY8 besiyerleri göstermiştir. Bu besiyerinin katı fazı columbia agar kullanılarak hazırlanmıştır. Columbia agar rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında sıklıkla kullanılan, kolay temin edilebilen ve ucuz bir besiyeri ortamıdır. NNN besiyerinin aksine denenen besiyerlerinde FCS ve RPMI 1640 bulunmamaktadır. Bu nedenle KBY8 besiyeri, *L. tropica* promastigotlarının üretilmesi için NNN ortamına göre daha ucuz ve kolayca elde edilebilir bir alternatif sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Leishmania tropica*, Columbia agar, NNN, Promastigot



Growth of *Leishmania tropica* Promastigotes on Basic Media Used in Routine Microbiology Laboratories

SUMMARY

Aim: NNN medium is used for primary isolation of *Leishmania* species from clinical specimens in standard practice. This medium is often not available in routine microbiology laboratories due to its high cost and difficulty in preparation. In this study, it was aimed to test the efficacy of the media used in routine microbiology laboratories in the production of *Leishmania tropica* promastigotes.

Method: *Leishmania tropica* MHOM/TR/2012/CBCL-LT strain was used to test the media. The yeast extract agar, tryptic soja broth, saboroud dextrose agar, brucella agar and columbia agar used in the routine microbiology laboratory were tested as solid phase of the media to be tested. Eight media with human blood, KBY1-KBY8, and eight media without blood, BY1-BY8 were prepared by using these basic media. *L. tropica* promastigotes produced in logarithmic phase in RPMI 1640 medium, were prepared at a concentration of 10^5 promastigotes/ml and inoculated on all media and incubated at 27 °C for 12 days. The quantity of promastigote in the tested media was counted using a light microscope at 40X magnification with a counting camera and compared with the NNN medium.

Results: When compared with the NNN medium, BY7, BY8 and KBY7, KBY8 media showed best performance in promastigote growth. The quantity of promastigotes in the BY7 and BY8 media, which was 10^3 promastigotes/ml on the 1st day, gradually increased to 10^4 on the 5th day. 10^7 promastigote/ml were counted on day 8 in the BY7 medium and remained at the same level until day 12. In the BY8 medium, 10^5 promastigotes were counted on the 8th day and decreased to 10^3 promastigotes on 12th day. In both KBY7 and KBY8 media, the quantity of promastigotes was 10^3 promastigotes/ml on day 1, gradually increased to 10^7 promastigote on day 8 and remained at the same level until day 12. On the other hand, in the NNN medium used as a control, the quantity of promastigotes was 10^3 per milliliter on day 1, gradually increased to 10^7 promastigotes on day 7 and decreased to 10^5 promastigotes on day 12.

Conclusion: BY7, BY8 and KBY7, KBY8 media showed the best performance in the growth of *L. tropica* promastigotes. The solid phase of these media were prepared using Columbia agar. Columbia agar is an easy-to-obtain and inexpensive medium for in routine microbiology laboratories. In contrast to NNN medium, these tested media with Columbia agar lack of FCS and RPMI 1640. Therefore KBY8 medium present cheaper and easily obtainable alternative media to NNN medium for the growth of *L. tropica* promastigotes.

Key Words: *Leishmania tropica*, Columbia agar, NNN, Promastigote

GİRİŞ

Leishmaniasis, protozoon parazit olan *Leishmania* türlerinin neden olduğu bir hastalıktır (1). Dünya Sağlık Örgütü tarafından önemli tropikal hastalıklardan biri olarak kabul edilen Leishmaniasis, dünyada 20 milyon insanın enfekte eden, yıllık olgu sayısı 400 bin olan ve yaklaşık 350 milyon insanı tehdit eden paraziter bir enfeksiyondur (2, 3). Hastalığın kutanöz leishmaniasis (KL), visseral leishmaniasis (VL) ve mukokutanöz leishmaniasis olmak üzere 3 farklı klinik formu vardır. Kutanöz leishmaniasis en sık görülen formudur (4). Hastalığın tanısında klinik tanı önemlidir ancak kesin tanı, klinik örneklerde parazitin gösterilmesi ve/veya kültür yöntemleri kullanılarak promastigotların üretilmesi ile konmaktadır. Bu yöntemler leishmaniasis tanısında Altın Standart olarak kabul edilmekte ve sonuç olarak besiyerleri leishmaniasis tanısında önemli bir yer tutmaktadırlar. Besiyerlerinde promastigotların çoğaltılarak gösterilmesi çabuk ve kolay bir yöntemdir. İlk olarak 1904 yılında Novy-McNeal-Nicolle NNN adını verdikleri bifazik besiyerinde parazitin promastigot formunu üretmiş ve göstermişlerdir. NNN besiyeri hala günümüzde başarıyla kullanılmaktadır (5). Bu besiyerinin katı fazında temel besin maddelerine ek olarak tavşankanı ve FCS kullanılırken, sıvı fazında ise RPMI 1640 besiyeri kullanılmaktadır. Bu maddeler yüksek maliyetleri ile rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında sıklıkla bulunmamaktadır. Bu nedenle leishmaniasis şüphesi taşıyan hastalar ileri merkezlere



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

yönlendirilmek zorunda kalınmaktadır. Bu çalışmada rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında temel olarak bulunabilecek besiyerlerinde *Leishmania tropica* promastigotlarının en kısa sürede en iyi şekilde üretilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hazırlanan besiyerlerinin denenmesinde Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda bulunan Parazit Bankası'ndan temin edilen *Leishmania tropica* MHOM/TR/2012/CBCL-LT suşu kullanılmıştır. Denenecek besiyerlerinin katı fazı olarak rutin mikrobiyoloji laboratuvarında sıklıkla bulunabilen yeast extract agar (6), triptik soy broth (7), saboroud dextroz agar (8), brucella agar (9) ve columbia agar (10) denenmiştir. Bu temel besiyerleri kullanılarak BY1, BY2, BY3, BY4, BY5, BY6, BY7 ve BY8 olarak adlandırılan sekiz adet kansız, KBY1, KBY2, KBY3, KBY4, KBY5, KBY6, KBY7 ve KBY8 olarak adlandırılan sekiz adet kanlı besiyeri hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyerlerin içerikleri **tablo 1**'de verilmiştir. Bu besiyerleri kanlı ve kansız olarak hazırlanmıştır. Besiyerlerinde kullanılan eritrosit süspansiyonu, hastanemiz kan merkezinden temin edilmiştir. Ayrıca her bir besiyerinin sıvı fazında hem serum fizyolojik hem de RPMI olacak şekilde toplamda onaltı besiyeri hazırlanmıştır. Besiyerlerinin hiçbirinde FCS (fetal calf serum) kullanılmamıştır. Bakteriyel kontaminasyonu engellemek için penisilin/streptomisin ve gentamisin süspansiyonu eklenmiştir. RPMI 1640 besiyerinde logaritmik faza getirilen *L. tropica* promastigotları 10^5 promastigot/ml konsantrasyonda hazırlanarak tüm besiyerlerine inoküle edilmiş ve 27°C 'de 12 gün boyunca inkübe edilmiştir. Denenen besiyerlerindeki promastigot sayısı, ışık mikroskobu ile 40X büyütmede sayma kamerası kullanılarak sayılmış ve NNN besiyeri ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 1. Besiyeri içerikleri

Besiyeri	Katı faz	Sıvı faz
BY1/KBY1	Yeast extrat agar+Saboroud dextroz+Triptik soy broth	RPMI 1640
BY2/KBY2	Yeast extrat agar+Saboroud dextroz+Triptik soy broth	Serum fizyolojik
BY3/KBY3	Saboroud Dextroz agar %2 glukoz	RPMI 1640
BY4/KBY4	Saboroud Dextroz agar %2 glukoz	Serum fizyolojik
BY5/KBY5	Brucella agar	RPMI 1640
BY6/KBY6	Brucella agar	Serum fizyolojik
BY7/KBY7	Columbia agar	RPMI 1640
BY8/KBY8	Columbia agar	Serum fizyolojik
BY1-BY8: Kansız besiyerleri, KBY1-KBY8: Kanlı besiyerleri		

BULGULAR

BY1, BY2 ile KBY1 ve KBY2 besiyerlerinde promastigot üremesi olmamış, ikinci günden itibaren bu besiyerlerinde ölü promastigot dahi görülmemiştir. BY4 besiyerinde promastigot üremesi olmazken BY3 besiyerinde 4. günde mililitrede 10^2 , 5. günde 10^3 promastigot sayılmıştır. 5. Günden sonra promastigot sayısı azalarak 12. günde hiç canlı promastigot görülmemiştir. KBY3 ve KBY4 besiyerinde ise, 1. gün mililitrede 10^2 olan promastigot sayısı 7. günde pik yaparak 10^5 'e çıkmış ve giderek azalarak 12. günde sırasıyla 10^3 ve 10^1 promastigota düşmüştür. BY5 besiyerinde 1. gün mililitrede 10^2 olan promastigot sayısı 6. günde 10^5 'e ulaşmış ve 12. güne kadar bu şekilde devam etmiştir. BY6 besiyerinde ise, 1. günde mililitrede 10^2 olan promastigot sayısı 2. günde 10^3 promastigota çıkmış sonrasında giderek azalarak 9. günde hiç promastigot görülmemiştir. KBY5 ve KBY6 besiyerlerinde 1. günde mililitrede

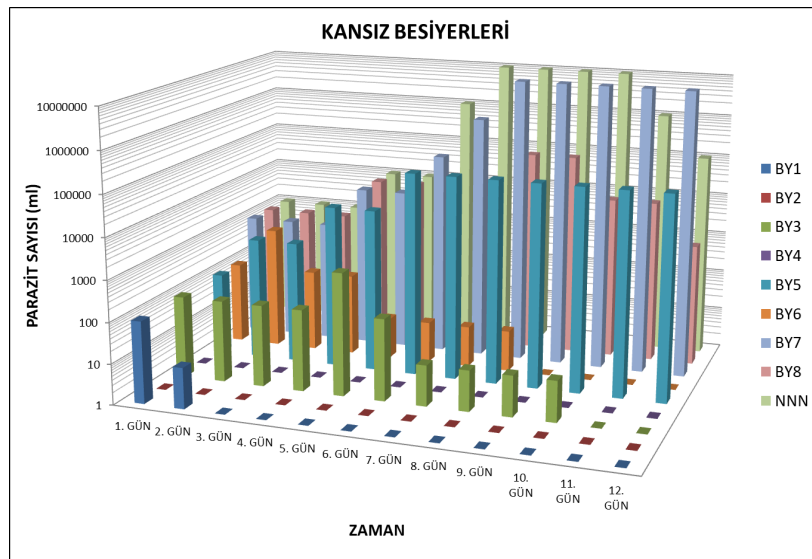


21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

10^3 olan promastigot sayısı 8. günde sırasıyla 10^7 ve 10^5 promastigota ulaşmış, sonrasında azalarak 12. günde KBY5 besiyerinde 10^4 'e, KBY6 besiyerinde ise 10^2 promastigota düşmüştür. BY7 ve BY8 besiyerlerinde 1. gün mililitrede 10^3 olan promastigot sayısı aynı şekilde artarak 5. günde 10^4 promastigota ulaşmıştır. BY7 besiyerinde 8. günde 10^7 promastigot sayılmış ve 12. güne kadar bu şekilde devam etmiştir. BY8 besiyerinde ise 8. günde 10^5 promastigot sayılırken sonraki günlerde azalarak 12. günde 10^3 promastigota düşmüştür. KBY7 ve KBY8 besiyerlerinin her ikisinde de 1. günde mililitrede 10^3 olan promastigot sayısı 8. günde 10^7 promastigota çıkmış ve 12. güne kadar bu şekilde devam etmiştir. Kontrol olarak kullanılan NNN besiyerinde ise 1. günde mililitrede 10^3 olan promastigot sayısı 7. günde 10^7 promastigota çıkmış ve azalarak 12. günde 10^5 promastigota düşmüştür. Günlere göre kanlı ve kansız besiyerlerinde üreyen promastigot sayıları [tablo 2](#) ve [tablo 3](#)'te, grafik gösterimleri ise [şekil 1](#) ve [şekil 2](#)'de verilmiştir.

Tablo 2. Günlere göre kansız besiyerlerinde üreyen promastigot sayıları (promastigot/ml)

Günler	BY1	BY2	BY3	BY4	BY5	BY6	BY7	BY8	NNN
1.	10^2	0	10^2	0	10^2	10^2	10^3	10^3	10^3
2.	10^1	0	10^2	0	10^3	10^3	10^3	10^3	10^3
3.	0	0	10^2	0	10^3	10^2	10^3	10^3	10^3
4.	0	0	10^2	0	10^4	10^2	10^4	10^4	10^4
5.	0	0	10^3	0	10^4	10^1	10^4	10^4	10^4
6.	0	0	10^2	0	10^5	10^1	10^5	10^4	10^5
7.	0	0	10^1	0	10^5	10^1	10^6	10^4	10^6
8.	0	0	10^1	0	10^5	10^1	10^7	10^5	10^7
9.	0	0	10^1	0	10^5	0	10^7	10^5	10^7
10.	0	0	10^1	0	10^5	0	10^7	10^4	10^7
11.	0	0	0	0	10^5	0	10^7	10^4	10^6
12.	0	0	0	0	10^5	0	10^7	10^3	10^5



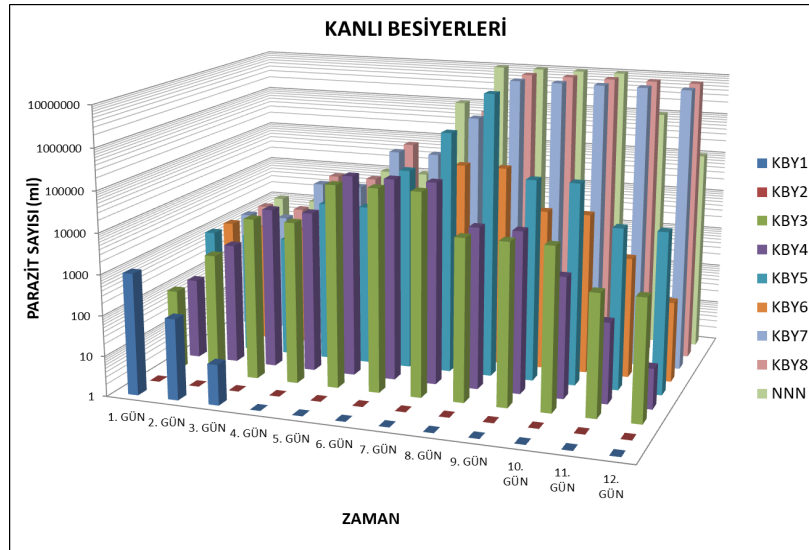
Şekil 1. Günlere göre kansız besiyeri performansının grafik gösterimi



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Tablo 3. Günlere göre kanlı besiyerlerinde üreyen promastigot sayıları (promastigot/ml)

Günler	KBY1	KBY2	KBY3	KBY4	KBY5	KBY6	KBY7	KBY8	NNN
1.	10 ³	0	10 ²	10 ²	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³
2.	10 ²	0	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³
3.	10 ¹	0	10 ⁴	10 ⁴	10 ³	10 ³	10 ⁴	10 ⁴	10 ³
4.	0	0	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
5.	0	0	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁴
6.	0	0	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵
7.	0	0	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
8.	0	0	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁷	10 ⁵	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
9.	0	0	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁴	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
10.	0	0	10 ⁴	10 ³	10 ⁵	10 ⁴	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
11.	0	0	10 ³	10 ²	10 ⁴	10 ³	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁶
12.	0	0	10 ³	10 ¹	10 ⁴	10 ²	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁵



Şekil 2. Günlere göre kanlı besiyeri performansının grafik gösterimi

TARTIŞMA

Leishmaniasis'te kesin tanı parazitin çeşitli boylarla gösterilmesi ya da kültürde promastigot formlarının üretilmesi ile konmaktadır. Kültürde promastigot formların üretilmesi, klinik tanıyı desteklemesinin yanında bilimsel çalışmalar içinde bol miktarda parazit elde edilmesine imkân tanımaktadır. Böylece hayvan modellerinin oluşturulmasında, aşı geliştirme çalışmalarında, hastalığın patogenezinin anlaşılmasında, parazite karşı vücut savunma mekanizmalarının saptanmasında, tanı testi ve tanı kitlerinin geliştirilmesinde, ilaç aday molekülerin taranmasında ve tedavi etkinliğinin belirlenmesinde gereksinim duyulan promastigot formlar üretilmektedir. *Leishmania* türlerinin tanısında veya promastigotların elde edilmesinde en sık tercih edilen besiyeri NNN besiyeridir. NNN



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

besiyeri nispeten kolay hazırlanmasına rağmen içeriğinde tavşankanı bulunması ve maliyeti yüksek bir ürün olan FCS içermesi sebebiyle araştırma laboratuvarları dışındaki rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılmamaktadır. Ancak kontaminasyonu azaltmak, daha basit hazırlanabilen ve ucuz besiyerleri elde etmek için son yıllarda serumsuz ve otoklavlanabilir besiyeri çalışmaları önem kazanmıştır (11-13). Özellikle rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında bulunabilecek besiyerlerinde promastigot formların üretilmesi, endemik olmayan bölgelerdeki nadir görülen leishmaniasis vakaların atlanmasına engel olabilir. Bu nedenle birçok araştırmacı bifazik ve sıvı besiyerlerinde çeşitli maddeler kullanarak *Leishmania* türlerinin kültürlerini yapmışlardır. Limoncu ve arkadaşları, 1997 yılında yaptıkları bir çalışmada, içeriğinde pepton ve maya ekstresi bulunan %10 FSS ilave edilmiş P-Y adı verilen sıvı besiyerinde *L. tropica* ve *L. infantum* promastigotlarının çoğalması NNN ve RPMI 1640+%10 FSS besiyerleri ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiş ve P-Y ile RPMI besiyerlerinin birbirlerine yakın sonuçlar verdiği saptanmıştır (14).

Nutrient broth promastigotların üremesinde kullanılabilir. Kaddu ve Nyamori nutrient broth besiyerinde *L. donovani*, *L. major*, *L. adleri* ve bir kemirgen *Leishmania* türünün promastigotlarını üretmişlerdir (15). Özbilgin ve arkadaşları tarafından nutrient broth üzerine yapılan başka bir çalışmada, biri VL, diğeri KL düşünülen 2 hastadan alınan kemik iliği örneği NNN besiyerine ve %20 FCS içeren nutrient broth besiyerine ekilmiş, nutrient broth besiyerinde 1. günden itibaren promastigotlar görülürken, NNN besiyerinde 2. günden sonra saptanabilmiştir (16).

Yereli ve arkadaşları tarafından yapılan diğeri bir çalışmada, *L. infantum* ve *L. tropica* promastigotları, mikrobiyoloji ve parazitoloji laboratuvarlarında kolaylıkla bulunabilecek pepton A, sığır ekstresi gibi maddeler içeren %10 FCS+nutrient broth sıvı besiyerinde üretilmiştir. Araştırmacılar 5. günün sonunda 3×10^6 parazit/ml oranında promastigot saptamışlardır. Ucuz, kolay hazırlanır ve kolay bulunur besiyerinin NNN bifazik besiyerine alternatif olabileceği bildirilmiştir (17). Ancak yine de içeriğinde FCS bulunması besiyerinin maliyet avantajını düşürmektedir.

Sadigursky ve Brodskyn tarafından yapılan ve serum kullanılmayan bir çalışmada, karaciğer infüzyon broth + triptoz (LIT) besiyerine %1 oranında RPMI+medium 199 karışımı olan R9 ilave edilmiş, *L. mexicana* ve *L. donovani* promastigotları ekilerek LIT+R9, NNN, Warren besiyeri ve LIT+%5 FCS karşılaştırılmıştır. Parazitin üremesinin tüm besiyerlerinde birbirlerine yakın bulunduğu bildirilmiştir (18).

Ali ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, FCS, kan veya kan ürünü içermeyen basit, ekonomik, temelinde yumurta olan bifazik besiyeri geliştirilmiştir. Sığır ekstresi ve pepton ağırlıklı zenginleştirilmiş broth ile glukoz ve L-prolin içeren tuz solüsyonu hazırlanmıştır. Bunlara taze ve tüm yumurta ilave edilmiştir. Besiyeri bifazik modifiye Tobie besiyeri + FSS, sıvı medium 199+ FSS ile karşılaştırılmış, üç besiyerinden benzer sonuçlar almışlardır (19).

Bizim çalışmamızda rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında genellikle bulunabilen besiyerlerinden birkaçı *L. tropica* promastigotlarının üretilmesi açısından denenmiştir. NNN ile karşılaştırıldığında, en kısa sürede ve en fazla promastigot üremesi Columbia agar ile hazırlanan BY7/BY8 ve bu besiyerinin kan ilave edilmiş formları olan KBY7/KBY8 içeren besiyerinde saptanmıştır. BY7/BY8 besiyerleri kan ve FCS içermemektedir ve promastigot üremesinin NNN besiyeri ile kıyaslanabilir ölçüde olduğu tespit edilmiştir. Buda besiyerine maliyet ve hazırlama kolaylığı açısından avantaj sağlamaktadır. KBY7/KBY8 besiyerinde, FCS'nin kullanılmaması ve kan merkezinden temin edilebilen insan eritrositinin kullanılabilmesi de bu besiyerine önemli bir avantaj sağlamaktadır. Ayrıca bu besiyerlerinde üreyen promastigotların fusiform yapıda ve diğeri besiyerlerinde üreyen promastigotlara kıyasla çok daha hızlı hareket ettiği de tespit edilmiştir. Bu durum söz konusu besiyerinde promastigot formların enfektif özelliklerini kaybetmeden üreyebildiğini düşündürmüştür.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

SONUÇ

L. tropica'nın üretilmesinde en iyi performansı BY7 ve BY8 ile bu besiyerlerinin kanlı formları olan KBY7 ve KBY8 besiyerleri göstermiştir. Bu besiyerinin katı fazı columbia agar (7) kullanılarak hazırlanmıştır. Columbia agar rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında sıklıkla kullanılan, kolay temin edilebilen ve ucuz bir besiyeri ortamıdır. Bu çalışma ile rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında bulunabilen columbia agar besiyerinin NNN besiyerine alternatif olarak *L. tropica* promastigotlarının üretilmesinde kullanılabileceği gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

1. <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>
2. Kuman H.A., Altıntaş N. Protozoon Hastalıkları. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi. 1996. p.79-100.
3. Merdivenci A. Medikal Protozooloji. İstanbul: İ.Ü. Cerr. Tıp Fak. Yay 1981; 80: 137-167.
4. World Health Organization. Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010. WHO Technical Report Series; No:949.
5. Marston AT. The examination of parasitic protozoa. 3rd ed. In: Belding DL (ed), Textbook of Parasitology. Appleton Century Crofts, New York; 1965.p.1153-4.
6. Windle Taylor E. 'The Examination of Waters and Water Supplies', 7th ed., Churchill Ltd., London; 1958.p.394-398 and 778.
7. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th edition. Vanderzant C. and Splittstoesser D.F. (eds). APHA. Washington DC.
8. Sabouraud R. 'Les Teignes', Masson, Paris.1910.
9. MacFaddin, J. D. Media for isolation-cultivation-identification- maintenance of medical bacteria, Williams & Wilkins, Baltimore, MD 1985; 1(1): 110-114.
10. Ellner PD, Stoessel CJ, Drakeford E, Vasi F. A new culture medium for medical bacteriology. Am J Clin Pathol 1966; 45(4): 502-4.
11. Merlen T., Sereno D., Brajon N., Rostand F., Lemesre J.L. Leishmania spp: Completely defined medium without serum and macromolecules (CDM/LP) for the continuous in vitro cultivation of infective promastigote forms. Am J Trop Med Hyg 1999; 60(1): 41-50.
12. Sadigursky M., Brodskyn C. A new liquid medium without blood and serum for culture of hemoflagellates. Am J Trop Med Hyg 1986; 35(5): 942-944.
13. Bodgan C., Röllinghoff M., Solbach W. Evasion strategies of Leishmania parasites. Parasitol Today 1990; 6(6): 183-187.
14. Limoncu M.E., Balcıoğlu İ.C., Yereli K., Özbek Y., Özbilgin A. A New Experimental *in vitro* Culture Medium for Cultivation of Leishmania Species. J Clin Microbiol 1997; 2430-2431.
15. Kaddu J.B., Nyamori M.P. Nutrient broth for the cultivation of Leishmania. J Parasitol 1990; 76(2): 265-266.
16. Özbilgin A., Özbek Y., Alkan M.Z., Atambay M., Özcel M.A. Cultivation of Leishmania sp. in nutrient broth. J Egypt Soc Parasitol 1995; 25(2): 437-441.
17. Yereli K., Girginkardeşler N., Değerli K., Özbilgin A. A simple method for the cultivation of Leishmania infantum and Leishmania tropica strains in nutrient broth. T Parazitol Derg 1997; 25(1): 111-113.
18. Sadigursky M., Brodskyn C. A new liquid medium without blood and serum for culture of hemoflagellates. Am J Trop Med Hyg 1986; 35(5): 942-944.
19. Ali S.A., Khalil N.Y., Iqbal J., Yasinzai M.M. In vitro maintenance of Leishmania promastigote in an egg based biphasic culture medium. Methods in Cell Science 1997; 19: 107-110.



P35.

***Acanthamoeba castellanii* ve *Entamoeba histolytica*'ya Karşı Yeni Anti-Amibik Ajanlar: *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* Sekonder Metabolitleri**

**Evren TİLEKLİOĞLU¹, Şebnem GÜLŞEN², Hatice ERTABAKLAR¹, Harun ÇİMEN²,
Sema ERTUĞ¹, Derya ULUĞ², Duygu KAYA BİLECENOĞLU³,
Canan HAZIR⁴, Helge BODE⁵, Selçuk HAZIR²**

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, ¹Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD; ²Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü;
³Sağlık Bilimleri Fakültesi, ⁴Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, AYDIN; ⁵Goethe Üniversitesi Biyolojik
Bilimler Fakültesi, Moleküler Biyoteknoloji, FRANKFURT, ALMANYA

E-posta: etileklioglu@gmail.com

Amaç: Patojen amipler, dünya genelinde önemli halk sağlığı sorunlarına yol açmaktadır. Doğada serbest halde yaşayan amiplerden *Acanthamoeba* türleri başta immün sistemi baskılanmış insanlarda olmak üzere granülomatöz amibik ensefalit (GAE) ve *Acanthamoeba* keratitine neden olmaktadır. Parazit daha çok tatlı ve tuzlu sular, havuzlar ve kontakt lens solüsyonu gibi kaynaklardan bulaşmaktadır. Amebiasis, *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*)'nın neden olduğu paraziter bir hastalıktır ve Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) verilerine göre her yıl 40.000-100.000 kişinin amebiasis nedeni ile öldüğü tahmin edilmektedir. Enfeksiyon, dışkı ile kontamine olmuş su ve gıdaların alınması ile bulaşmaktadır. Klinik olarak asemptomatik olabileceği gibi kolitten kanlı dizanteriye, vücutta yerleşim yerine göre ise karaciğer, akciğer ve beyin gibi organlara yerleşerek abseler oluşturmaktadır. Bu nedenle patojen amiplerin oluşturduğu hastalıkların tedavisi oldukça önemlidir. Ancak, hem amebiasis tedavisinde kullanılan (metronidazole, tinidazole ve chloroquine) hem de *Acanthamoeba* türlerinin tedavisinde kullanılan (amphotericin B, trimethoprim-sulfamethoxazole, ketoconazole, fluconazole ve klorheksidin gibi) mevcut ilaçlar yetersiz kalmaktadır. Bunun sebepleri, ilaçların uzun süreli kullanılmasıyla meydana gelen sitotoksik etki ve zamanla gelişen dirençtir. Bu problemler nedeniyle etkili ve yeni alternatif ilaçlara gereksinim duyulmaktadır. Yeni biyoaktif maddelerin keşfi için en uygun kaynaklar, bitkiler ve mikroorganizmalardır. Son yıllarda üzerinde en fazla çalışma yapılan gruplardan birisi bakteri sekonder metabolitleridir. Bakteriler kendi büyüme ve gelişmeleri için ihtiyaç duymadıkları bu maddeleri ekolojik ortamlarında bulunan diğer rekabetçi organizmaları ortadan kaldırmak için üretirler. Yaşadıkları ortam şartları nedeniyle, *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* cinslerine ait bakteriler çok sayıda antibakteriyel, antifungal ve antiprotozoal etki gösteren sekonder metabolitler üretmektedir. Bu nedenle gerçekleştirilen çalışmada farklı *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* bakterilerine ait, içerisinde sekonder metabolitlerin bulunduğu supernatantlar *A. castellanii* ve *E. histolytica* trofozoitlerine karşı *in vitro* olarak test edilerek yüksek etki gösteren supernatantlar içerisindeki etken biyoaktif maddenin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: *Acanthamoeba castellanii* suşları PYG (proteoz pepton, maya özütü ve glukoz) besiyerinde 30°C'de, *Entamoeba histolytica* ise TYI-S 33 besiyerinde 37°C'de inkübe edilerek çoğaltılmıştır. *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* supernatantlarını elde etmek için bakteriler Tyriptic Soy Broth (TSB) besiyerinde 150 rpm ve 28 °C'de 5 gün boyunca inkübe edilmiştir. Elde edilen bakteri kültürleri 10,000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edildikten sonra supernatantlar toplanıp 0.22 µm'lik filtreden geçirilmiştir. Böylece içerisinde sekonder metabolitlerin bulunduğu hücrelerinden arındırılmış supernatantlar elde edilmiştir. Etkinlik deneyleri mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak yapılmış ve denemeler 96'lık hücre kültürü plaklarında yürütülmüştür. Çalışmada supernatantların farklı



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

konsantrasyonları (%10, %5, %2,5 ve %1,25) test edilmiştir. *Acanthamoeba castellanii* çalışmasında negatif kontrol grubu olarak steril PYG, TSB ve pozitif kontrol olarak klorheksidin kullanılmıştır. *Entamoeba histolytica* deneylerinde ise kontrol grubu olarak steril TYI-S 33 ve TSB besi ortamları, pozitif kontrol olarak da metranidazole kullanılmıştır. Hazırlanan deney düzenekleri *E. histolytica* için 37°C'de, *A. castellanii* için ise 30°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra hücreler Trypan blue kullanılarak boyanmış ve canlı-ölü oranları hesaplanmıştır. Etkili olan bakteri supernatantları belirlendikten sonra anti-amibik etkiden sorumlu biyoaktif maddeyi tespit etmek için HPLC, MALDI-MS² ve promotor bölgesi değiştirilmiş mutant bakteri suşları gibi son derece ileri teknikler kullanılmıştır.

Bulgular: Amipler üzerinde *in vitro* olarak test edilen bakteri supernatantlarının bazıları oldukça yüksek etki gösterirken bazılarında ise hiçbir anti-amibik etki gözlenmemiştir. *Acanthamoeba castellanii* üzerinde en etkili türler (%90'ın üzerinde mortalite meydana getiren) *Xenorhabdus budapestensis*, *X. cabanillasii*, *X. doucetiae*, *X. griffinae*, *X. innexii*, *X. stockiae*, *X. szentirmaii* ve *X. vietnamensis* olurken; hiçbir *Photorhabdus* supernatantı etkinlik göstermemiştir. *Entamoeba histolytica* için ise sadece *Photorhabdus namnaoensis* türüne ait supernatantların kullanıldığı kuyucuklarda %55 oranında ölüm meydana geldiği tespit edilmiştir. Negatif kontrol gruplarındaki ölüm oranları oldukça düşük bulunmuştur. *Acanthamoeba castellanii*'ye karşı etkili olan *Xenorhabdus* türlerinin ürettiği etken sekonder metabolitler ve bunların kimyasal konfigürasyonları belirlenmiştir. *Entamoeba histolytica*'ya karşı etkili olan *P. namnaoensis* türünde ise etken maddenin tanımlanması işlemleri devam etmektedir.

Sonuç: *Acanthamoeba castellanii* ve *E. histolytica* gibi iki önemli parazite karşı kullanılabilecek yeni ve etkili moleküller keşfedilmiştir. Bundan sonraki adımda bu moleküllerin etkin en düşük dozlarının belirlenmesi ve hücre kültürü ortamlarında toksisite testlerinin yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Acanthamoeba castellanii*, Anti-amibik, *Entamoeba histolytica*



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

P36.

Bursa Uludağ Üniversitesi Hastanesinde 2017 ve 2018 Yıllarında Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı

Oktay ALVER, Nazmiye Ülkü TÜZEMEN

Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, BURSA

E-posta: oktayalver@uludag.edu.tr

Amaç: İntestinal parazitler özellikle az gelişmiş ülkelerde olmak üzere önemli morbidite ve mortalite nedeni olan önemli bir halk sağlığı sorunudur. Çalışmada Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesinin kliniklerine gastrointestinal yakınmalarla başvuran hastalarda saptanan bağırsak parazitlerinin geriye dönük olarak irdelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesinin kliniklerine 2017 ve 2018 yıllarında çeşitli gastrointestinal yakınmalarla başvuran hastalar bağırsak parazitleri yönünden irdelenmiştir. Toplam 2438 dışkı ve 211 selofan bant, *Cryptosporium* spp. saptanması için 450 dışkı ve *Entamoeba histolytica* adezin antijeni saptamak için 951 dışkı örneği parazitolojik olarak değerlendirilmiştir. Tüm dışkı örnekleri helmint yumurtaları ve protozoon kistlerinin saptanması amacıyla formol etil asetat yoğunlaştırma metodu sonrası lugol inceleme (x10 ve x40) yöntemiyle incelenmiştir. Protozoon varlığı için tüm örnekler direkt boyasız olarak ışık mikroskopunda 40X büyütmede ve trikrom boyama yöntemi, *Cryptosporium* spp. için modifiye kinyoun asit fast boyama yöntemi sonrası immersiyon objektifiyle (x100) değerlendirilmiştir. *Enterobius vermicularis* yumurtası açısından örnekler selofan band yöntemi ile ışık mikroskopunda (x10 ve x40) değerlendirilmiştir. Dışkıda *E. histolytica* adezin antijenini saptamaya yönelik ticari ELISA kiti (Wampole® *E. histolytica* II Test Kit; TechLab, USA) kullanılmıştır. Kategorik verilerin analizinde ki-kare trend analizi ve pearson ki-kare testi kullanılmıştır. İstatistiksel analizler için Epi Info™ v.7.2 (current website on CDC.gov: www.cdc.gov/epiinfo) kullanılmıştır. Tüm istatistiksel analizlerde p<0.05 varlığı anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular: Çalışmada incelenen 2438 dışkı örneğinin 50 (%2,05)'sinde bir veya birden fazla bağırsak paraziti saptanmıştır. İncelenen 211 selofan bant örneğinin 15 (%7,1)'inde *E. vermicularis* yumurtası saptanmıştır. Parazit saptanan olguların 27 (%54)'si erkek, 23 (%46)'ü kadın olup aralarında istatistiksel olarak fark saptanmamıştır (p=0,312) (Tablo 1). Protozoon parazitlerden en fazla saptanan *Giardia intestinalis* (%0,57), helmintlerden ise *E. vermicularis* (%7,1) olarak belirlenmiştir (Tablo 2). Bu süre içinde yedi amip şüpheli örneğin antijen testi sonuçlarında sadece bir örnekte *E. histolytica* antijeni pozitif sonuç vermiştir. En fazla yaz aylarında (%28) parazit saptanmıştır.

Sonuç: Çalışmamızda on iki yılda hem incelenen örnek sayısında hem de tespit edilen etkenlerin sayılarında azalma gözlenmiştir. Bu durum ilimizin geneli hakkında bilgi vermese de halk sağlığı açısından sevindirici bulunmuştur. Günümüzde bağırsak parazitlerinin ülkemizde ve ilimizde göz ardı edilmemesi gereken önemli bir halk sağlığı sorunu olarak önemini koruduğu kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Bağırsak parazitleri, Bursa, Türkiye



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Tablo 1. Pozitiflik saptanan parazitlerin yıllara ve cinsiyete göre dağılımı

Yıllar	Sayı	n (%)	Erkek, n (%)	Kadın, n (%)
2016	861	21 (2,5)	13 (61,9)	8 (38,1)
2017	826	16 (1,9)	7 (43,8)	9 (56,2)
2018	751	13 (1,7)	7 (53,8)	6 (46,2)
Toplam	2438	50 (2,05)	27 (54)	23 (46)

Tablo 2. Parazitlerin tek başına ve diğer parazitlerle görülme oranları

Parazit	N	% ^A	% ^B	% ^{C, D, E}
Protozoonlar				
<i>Giardia intestinalis</i>	14	0,57	28	-
<i>Entamoeba coli</i>	13	0,53	26	-
<i>Entamoeba histolytica/ dispar/ moskovski</i>	5	0,2	10	-
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	2	0,08	4	-
<i>Endolimax nana</i>	2	0,08	4	-
<i>E. histolytica/ dispar/ moskovski + Iodamoeba bütschlii</i>	1	0,04	2	-
<i>E. histolytica/ dispar/ moskovski + E. coli</i>	1	0,04	2	-
<i>E. histolytica</i> adezin antijen ^C	2	-	-	0,2 ^C
<i>Cryptosporidium</i> sp. ^D	2	-	-	0,4 ^D
Helmintler				
<i>Taenia</i> spp.	5	0,2	10	
<i>Strongyloides stercoralis</i>	3		6	
Çengelli solucan (<i>N. americanus/ A. duodenale</i>)	2	0,08	4	
<i>Hymenolepis nana</i>	1	0,04	2	
<i>Dicrocoelium dentriticum</i>	1	0,04	2	
<i>Enterobius vermicularis</i> ^E	15	-	-	7,1 ^E

^A İncelenen tüm dışkı (n= 2438) örneklerine göre oranı. ^B Pozitiflik (n= 50) saptanan dışkı örneklerine göre oranı;
^C Değerlendirme toplam 951 dışkı örneği üzerinden yapılmıştır; ^D Değerlendirme toplam 450 dışkı örneği üzerinden yapılmıştır;
^E Değerlendirme toplam 211 selofan bant örneği üzerinden yapılmıştır. N: Pozitif saptanan örneklerin sayısı.



P37.

**Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesinde 2017 ve 2018 Yıllarında
Toxoplasma gondii Seroprevalansı**

Oktay ALVER, Ayşe Melda PAYASLIOĞLU, İmran SAĞLIK

Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, BURSA

E-posta: oktayalver@uludag.edu.tr

Amaç: Toksoplazmoz, zorunlu hücre içi yerleşim gösteren protozoon parazit *Toxoplasma gondii* tarafından oluşturulan ve dünyada yaygın görülen zoonotik bir enfeksiyondur. Toksoplazmoz şüphelenilen hastalarda tanı yaklaşımı hastanın bağışık durumuna ve klinik bulgulara göre değişmektedir. Bağışıklığı baskılanmış hastalar hariç genellikle ateş ve adenopati ile seyreden akut *T. gondii* enfeksiyonlarının tanısı serolojik olarak konulmaktadır. Seroprevalans oranları coğrafik bölgeye göre değişiklik göstermektedir. Çalışmada hastanemize toksoplazmoz ön tanısı ile başvuran hastalarda anti-*T. gondii* IgG ve anti-*T. gondii* IgM antikorlarının dağılımının geriye dönük olarak irdelenmesi ve ileride yapılacak çalışmalara katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bursa Uludağ Üniv. Tıp Fak. Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkez Laboratuvar Başkanlığı Seroloji laboratuvarına 2017 ve 2018 tarihlerinde toksoplazmoz ön tanısı ile başvuran hastalara ait örneklerde anti-*T. gondii* IgG ve anti-*T. gondii* IgM antikorları Enzyme-Linked Fluorescent Assay (ELFA, Vidas Toxo IgG and Vidas Toxo IgM, bioMérieux, France) tekniği, anti-*T. gondii* IgG-avidite değerleri VIDAS (BioMérieux, France) IgG-avidite testi ile çalışılmıştır. Toplam 3044 örnekte anti-*T. gondii* IgG, 6108 örnekte anti-*T. gondii* IgM ve doğurganlık çağındaki kadınlara ait 194 örnekte IgG avidite değerleri araştırılmıştır. Kategorik verilerin analizinde ki-kare trend analizi yapılmıştır. Anlamlılık seviyesi $p < 0.05$ olarak belirlenmiştir.

Bulgular: Çalışmamızda, 3044 örneğin 952 (%31,3)'sinde anti-*T. gondii* IgG, 6108 örneğin 103 (%6,1)'ünde anti-*T. gondii* IgM seropozitifliği saptanmıştır. Doğurganlık çağındaki kadınlarda anti-*T. gondii* IgG seropozitifliği %31,5 olarak belirlenmiştir. Kadınlarda hem anti-*T. gondii* IgG ($p < 0.001$) hem de anti-*T. gondii* IgM seropozitifliği ($p < 0.001$) ile yaş grupları arasında erkeklerde ise sadece anti-*T. gondii* IgM seropozitifliği ile yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Doğurganlık çağındaki olup anti-*T. gondii* IgG avidite testi çalışılan toplam 194 olgunun 137 (%70,6)'sinde yüksek, 29 (%14,5)'ünde düşük avidite saptanmıştır. Doğurganlık çağındaki düşük avidite saptanan 29 olgunun 16 (%55,1)'sinde hem anti-*T. gondii* IgG hem de anti-*T. gondii* IgM testi birlikte pozitif pozitif olarak belirlenmiştir.

Sonuç: Ülkemizdeki oranlar dikkate alındığında, doğurganlık çağındaki gebelik planlayan kadınlar, gebelerin ve bağışıklığı baskılanmış hastaların akut toksoplazmoz açısından değerlendirilmesi önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Toksoplazmoz, seroprevalans, ELFA, Bursa



P38.

Kistik Ekinokokkozis Ön Tanılı Hastalarda 2017 ve 2018 Yıllarında İndirekt Hemaglütinasyon (İHA) Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Oktay ALVER, Ayşe Melda PAYASLIOĞLU, Cüneyt ÖZAKIN

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD., BURSA

E-posta: oktayalver@uludag.edu.tr

Amaç: Kistik Ekinokokkozis (KE) *Echinococcus granulosus*'un larval formlarınca oluşturulan sestod enfeksiyonudur. KE dünyanın her yerinde özellikle tarım ve hayvancılığın yaygın olduğu toplumlarda daha sık görülen önemli bir halk sağlığı sorunudur. Köpek ve köpekgillerin kesin konak olduğu bu parazit için, insanlar tesadüfi ara konak durumundadır. İndirekt hemaglütinasyon testi (İHA) KE'un gerek tanı gerekse tedavisinin izlenmesinde önemli bir yere sahiptir. Çalışmada Güney Marmara'da Bursa ilinde üçüncü basamak hastane olarak hizmet veren Uludağ Univ. Tıp Fak. hastanesine KE şüphesiyle başvuran hastalarda KE yaygınlığını tespit etmeye yönelik hastaların serumlarında çalışılan İHA test sonuçlarının geriye yönelik olarak irdelenmesi ve literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmaya, 2017 ve 2018 Uludağ Univ. Tıp Fak. hastanesine başvuran KE şüpheli 1072 hastaya (478 erkek, 594 kadın) ait serum örnekleri dahil edilmiştir. Serum örnekleri seroloji laboratuvarında ticari Cellognost® Echinococcosis İHA (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germany) testi ile üretici firmanın önerdiği prosedüre göre çalışılmıştır. İHA testinde $\geq 1:64$ serum titreleri pozitif olarak kabul edilmiştir. Bağımlı değişken olarak İHA serum titresinin $1:64$ 'ün üzerinde olma durumu, bağımsız değişken olarak; cinsiyet durumu, kadın ve erkek olarak ele alınmıştır. Bağımsız değişkenlerin bağımlı değişkenlere göre farklı olup olmaması ki-kare trend ve Mantel Haenszel testi ile analiz edilmiştir. $p < 0.05$ anlamlılık değeri olarak kabul edilmiştir.

Bulgular: Çalışmada KE şüpheli 1072 hastanın 213 (%19,9)'ünde İHA yöntemi ile seropozitiflik saptanmıştır. Seropozitiflik saptanan hastaların 120 (%56,3)'si kadın, 93 (%43,7)'ü erkek olarak belirlenmiştir. İHA test istemi yapılan 594 kadın hastanın 120 (%20,2)'sinde, 478 erkek hastanın 93 (%19,5)'ünde pozitiflik saptanmıştır. Yaş aralıkları pozitiflikleri bakımından kadın ve erkekler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p = 0.523$). Her iki cinstede en fazla pozitiflik oranı 20-29 yaş grubunda (kadınlarda %22,5, erkeklerde %14,1) grubunda elde edilmiştir. Genel Cerrahi kliniği en fazla test istemi yapılan ($n = 226$, %21,1) ve en fazla pozitiflik saptanan ($n = 102$, %45,1) klinik olarak belirlenmiştir.

Sonuç: KE şüpheli 1072 olguya ait İHA test sonuçlarını geriye dönük olarak değerlendirdiğimiz bu çalışmada KE prevalansının %19,9 gibi bir oranda saptanması Bursa ilinde KE'in günümüzde önemli bir halk sağlığı sorunu olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kistik Ekinokokkozis, İHA, Bursa



P39.

Granulomatöz Hastalık ve Basal Hücreli Karsinom Tanılı Hastaların Biyopsi Örneklerinde Kutanöz Leishmaniasis Birlikteliğinin Moleküler Yöntem Kullanılarak Araştırılması

Gülnaz ÇULHA¹, Asena DOĞRAMACI², Sibel HAKVERDİ³, İlke Evrim SEÇİNTİ³, Özkan ASLANTAŞ⁴, Ebru ÇELİK², Tuğba KAYA¹

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, ¹Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD; ²Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıkları AD; ³Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji AD; ⁴Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji AD, HATAY

E-posta: tugbakaya42@yahoo.com

Amaç: Klinik olarak Kutanöz Leishmaniasis (KL); granülomatöz hastalıklar (parakoksidioidomikoz, sporotrikoz, kromomikoz, kutanöz tüberküloz, Lupus vulgaris vb), bazal hücreli karsinom (BCC) ve skuamöz hücreli karsinom (SCC) gibi cilt kanserleri ile karışabilmekte; tanı ve tedavide yanılıya neden olabilmektedir. Özellikle kronik KL olgularında parazit sayısının düşük olması nedeniyle mikroskopta ve doku biyopsi örneklerinde tanı koymak güçleşebilmektedir. Granulomatöz hastalıklar ve bazal hücreli karsinomlarda, özellikle KL'nin endemik olarak görüldüğü bölgelerde, ayırıcı tanıda KL'nin düşünülmesi gerektiğini vurgulamak amacıyla bu çalışma planlanmıştır.

Yöntem: Klinik olarak KL, sarkoidoz, deri tüberkülozu, SCC, BCC, derin mantar enfeksiyonu vb ön tanısı alan ve granülomatöz dermatit olarak rapor edilen 107 parafilm gömülü doku biyopsi örneği arşivden seçilmiş ve DNA izolasyonu yapılmıştır. Doku örnekleri, Leishmania türlerinde ortak olarak bulunan kinetoplastid DNA'sına (kDNA) spesifik 13A ve 13B primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile araştırılmıştır. Pozitif olduğu belirlenen örneklerin tür düzeyinde identifikasyonu ise internal transcribed spacer (ITS-1) bölgesini hedefleyen LITSR ve L 5.8S primerleri ile amplifiye edilen PZR ürünlerinin HaeIII (BsuRI) restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesilmesi (PZR-RFLP) ile yapılmıştır.

Bulgular: İncelenen 107 doku örneğinden 10'u kDNA-PZR ile pozitif olarak bulunmuştur. Pozitif saptanan 10 örneğin 9'sinin klinik ön tanısında Lupus vulgaris, sarkoidoz, Bowen Tinea inkokliata, diskoid lezyon, eritematöz, deri lenfoması, Leishmania kutis yer almıştır. Olgulardan biri yanakta kitle şikayeti ile başvurmuş ve hemojiom klinik ön tanısı almış ancak ön tanısında Leishmaniasis yer almamıştır. Toplam 10 örnek Granülomatöz Dermatit tanısı almıştır. Lezyon süreleri en az 10 ay en fazla 15 yıl arasında değişmektedir. Lezyon tipleri nodüler, ülser, plak, eritemli, krutlu ülser ve bir tanesi kitle şeklinde tanımlanmıştır. Lezyon yerleri çoğunlukla baş ve üst ekstremitelerde bulunmaktadır. Histopatolojik incelemede altı örnekte hiperkeratoz gösteren çok katlı yassı epitel altında çok sayıda değişik büyüklükte epitelooid histiyositlerden oluşan granülom ve aralarında yoğun lenfosit ve plazma hücrelerinden oluşan iltihabi hücre infiltrasyonu gözlenmiştir. kDNA-PZR ile pozitif olduğu saptanan 10 örneğin 2'sinde ITS-1- PZR analizi sonucunda bant elde edilmiş ve RFLP yöntemi ile L. infantum / donovani olarak tiplendirilmiştir.

Sonuç: Önemli bir halk sağlığı sorunu olan KL'nin granülomatöz hastalıklar ve deri kanserlerinden ayırıcı tanısında moleküler yöntemlerin kullanılması gerektiği sonucuna varılmıştır.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Etik kurul onayı: Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan çalışma için onay alınmıştır (Araştırmanın Protokol Kodu: 2018/59).

Teşekkür: Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankası'na referans suşların temin edilmesinde sağladıkları katkılardan dolayı teşekkür ederiz.

Anahtar Kelimeler: Granulamatöz hastalıklar, Hatay, Kutanöz leishmaniasis.

Bu çalışma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü Birimi (Proje numarası: 18.M.065) tarafından desteklenmiştir.



P40.

Crohn Hastasında Hymenolepis nana Enfeksiyonu ve Tanısı

Emrah ERDOĞAN, Merve YÜRÜK, Eda SİVCAN

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-posta: emrah@erciyes.edu.tr

Amaç: *Hymenolepis nana*, insanın ince bağırsağında yaşayan en küçük sestodur. Kontamine gıdalar veya el-ağız yolu ile direkt bulaşır. Bazen pireler ara konak görevi görebilirler. *H. nana* çekmen ve çengelleriyle yapıştığı bağırsak çeperine travmatik hasar verir. Bu bölgelerde şişme, kanlanma, infiltrasyon ve kanamalar görülebilir. Çocuklarda alerji oluşabilir. Özellikle çocuklarda karın ağrısı, ishal, anemi, baş dönmesi, uykusuzluk ve istemsiz hareketler görülür. Hymenolepiosis tanısında inceleme materyali dışkıdır. Dışkıda parazitin tipik yumurtaları görülerek tanı konur. Crohn hastalığı; nedeni bilinmeyen tamamıyla iyileşme göstermeyen ağızdan anüse kadar olan bölgede etkili olabilen bir hastalıktır. Bazı hasta gruplarında ciddi komplikasyonlara sebep olmaktadır. Bu çalışmada, uzun zamandır Crohn hastası olan ve örneği laboratuvarımıza gönderilen hastanın dışkı örneğinin incelenmesi; ayrıca B12 vitamin eksikliği olan hastanın rahatsızlığının altında yatan sebebin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Polikliniği'nde yatmakta olan hastanın dışkı örneği, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı rutin tanı laboratuvarlarında nativ-lugol yöntemi ile direk ışık mikroskobu altında incelendi.

Bulgular: Crohn hastalığı, eklem ağrıları ve vitamin B12 eksikliği anemisi olan hastanın nativ-lugol yöntemi ile direk ışık mikroskobu bakısında dışkısında *H. nana* tipik yumurtaları tespit edilmiştir.

Sonuç: Hymenolepiosis nana enfeksiyonunda parazitin özellikle bağırsak çeperine tutunması sonucunda travmatik hasar ortaya çıkmaktadır. Crohn hastalığı gibi diğer hastalıklarında eşlik etmesi sonucunda daha komplike durumların ortaya çıkmasının kaçınılmaz olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Crohn, *Hymenolepis nana*, enfeksiyon, vitamin B12 eksikliği anemisi



P41.

Trypanosoma cruzi Üzerine Ex vivo Çalışmalar: Pilot Çalışma

Ahmet YILDIRIM, İbrahim ÇAVUŞ, Kor YERELİ, Ahmet ÖZBİLGİN

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA

E-posta: ahmet.yildirim@cbu.edu.tr

TAM METİN

ÖZET

Amaç: Çalışmamız, başta aşı ve tanı kitlerinin geliştirilmesi, ilaç direnç testleri ve etken madde taramalarında olmak üzere yapılacak birçok araştırmada kullanılmak üzere *ex vivo* chagas hastalığı modeli oluşturulması amacıyla planlanmıştır.

Yöntem: Manisa Celal Bayar Üniversitesi Parazit Bankası'nda sıvı azot tankında saklanan American Type Culture Collection (ATCC) 50825 *T. cruzi* suşunun epimastigot formu sıvı azot tankından uygun koşullar altında çıkarılmıştır, konik tabanlı santrifüj tüpüne aktararak RPMI 1640 besiyeri ile santrifüj edilerek yıkanmış ve dipte kalan *T. cruzi* suşunun epimastigotlarından oluşan pelletin RPMI 1640 besiyeri içeren hücre kültürü flasklarında üretilen J-774 seri makrofajlar içerisine ekimi yapılmıştır. İçerisine lamel yerleştirilen 6 kuyucuklu hücre kültürü platerine ekimi yapılan J-774 seri makrofaj hücreleri *T. cruzi* suşu ile enfekte edilmiştir. %5 CO₂'li etüvde 72 saat inkübasyon sonunda plate içerisindeki lameller Giemsa ile boyanarak ışık mikroskopunda (X1000 büyütmede) makrofajlar içerisindeki amastigot varlığı değerlendirilmiştir. Enfekte 100 makrofaj hücrelerinin içerisindeki *T. cruzi* amastigotları sayılarak enfeksiyon oranı niceliksel olarak hesaplanmıştır.

Bulgular: RPMI 1640 besiyeri içeren J-774 seri makrofaj hücre kültürü flaskları içerisine ekimi yapılan *T. cruzi* epimastigotları ile makrofajlar enfekte edilmiştir. Oluşan enfeksiyon Giemsa boyama ile gösterilmiştir. J-774 seri makrofaj hücrelerinin, American Type Culture Collection (ATCC) 50825 *T. cruzi* suşu ile 150 amastigot/100 makrofaj oranında enfekte olduğu gözlenmiştir.

Sonuç: Bu çalışmada, *T. cruzi* izolatu ile ülkemizde ilk kez *ex vivo* model oluşturulmuştur. Bu konuda çalışmalar planlayan genç araştırmacılara rehber olacak şekilde *ex vivo* Chagas hastalığı modeli oluşturulmasıyla aşı ve tanı kitlerinin geliştirilmesi ve oluşturulan enfeksiyonun nitelik ve nicelik olarak saptanması ile yapılacak ilaç direnç testlerine ve etken madde taramalarına ve temel ve kaynak oluşturacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Trypanosoma cruzi*, *ex vivo*, J-774 makrofaj, Manisa, Türkiye

The Ex vivo Studies on Trypanosoma cruzi: Pilot Study

SUMMARY

Objective: The aim of this study was to develop *ex vivo* chagas disease model to be used in many studies, especially in the development of vaccine and diagnostic kits, drug resistance tests and active substance screening.

Method: Epimastigote form of American Type Culture Collection (ATCC) 50825 *Trypanosoma cruzi* strain stored in liquid nitrogen tank at Manisa Celal Bayar University Parasite Bank was removed from liquid nitrogen tank under appropriate conditions, transferred to conical bottom centrifuge tube,



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

washed and centrifuged with RPMI 1640 medium. The pellet consisting of *T. cruzi* epimastigotes were cultured in J-774 serial macrophages produced in cell culture flasks containing RPMI 1640 medium. J-774 serial macrophage cells were seeded into 6-well cell culture plates placed in a coverslip and infected with *T. cruzi* strain. After 72 hours incubation in the incubator containing 5% CO₂, coverslips in the plate were stained with Giemsa and the presence of amastigote in macrophages under light microscope (X1000 magnification) was evaluated. The infection rate was quantitatively calculated by counting *T. cruzi* amastigotes in 100 infected macrophage cells.

Results: *T. cruzi* epimastigotes cultivated into J-774 serial macrophage cell culture flasks containing RPMI 1640 medium were infected with macrophages. The results of infection was demonstrated by Giemsa staining. J-774 serial macrophage cells were infected with the American Type Culture Collection (ATCC) 50825 *T. cruzi* strain at a rate of 150 amastigotes / 100 macrophages.

Conclusion: In this study, the first *ex vivo* model using *T. cruzi* isolate in Turkey was created. This study will provide a basis and resource for drug resistance tests and active substance screening determining the quality and quantity of the infection and developing vaccine and diagnostic kits by establishing *ex vivo* Chagas disease model as a guide to the young researchers planning the studies on this subject.

Key words: *Trypanosoma cruzi*, *ex vivo*, J-774 macrophage, Manisa, Turkey

GİRİŞ

Amerikan Trypanosomiosis'i olarak da bilinen Chagas hastalığı (CH), protozoon parazit *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*)'nin neden olduğu zoonotik bir hastalıktır. *T. cruzi*'nin dünya çapında altı milyon ile yedi milyon kişiye bulaştığı tahmin edilmektedir. Hastalık 21 Latin Amerika ülkesinde endemiktir ve önemli bir halk sağlığı problemidir (1). *T. cruzi* enfeksiyonu zoonoz olduğundan hastalığın devamı için insan zorunlu bir ara konak değildir. İnsan rastlantısal olarak enfekte olmaktadır. Vektörü olan *Triatoma* cinsi Reduviid böcekler Amerika kıtasının güney yarısında ve Güney Arjantin'de bulunmaktadır. Vektör özellikle hayvan barınaklarında yaşamakta ve hayvanları enfekte etmektedir. İnsan enfeksiyonu, vektörün insandan kan emmesi sırasında etkeni dışkı ve vücut sıvılarıyla insana bulaştırması sırasında gerçekleşir. *T. cruzi*, 150 tür evcil ve vahşi memeliden izole edilmiştir (2, 3). CH, her ne kadar vektör kaynaklı bir hastalık olarak görülse de özellikle triatomalarla yakın temasta olan kırsal kesimlerde oral bulaşmanın gittikçe arttığı görülmektedir. Gıda kaynaklı bulaş, hastalığın yayılmasında önemli bir unsurdur ve sadece rezervuar barınaklarında değil vektör tarafından ısırılma ihtimali düşük olan bölgelerde bile insanlar için bir tehdit oluşturmaktadır. Bu durum hastalık prevalansının yüksek olmasının nedenlerindedir (4).

Çalışmamız, başta aşı ve tanı kitlerinin geliştirilmesi, ilaç direnç testleri ve etken madde taramalarında olmak üzere yapılacak birçok araştırmada kullanılmak üzere *ex vivo* chagas hastalığı modeli oluşturulması amacıyla planlanmıştır.

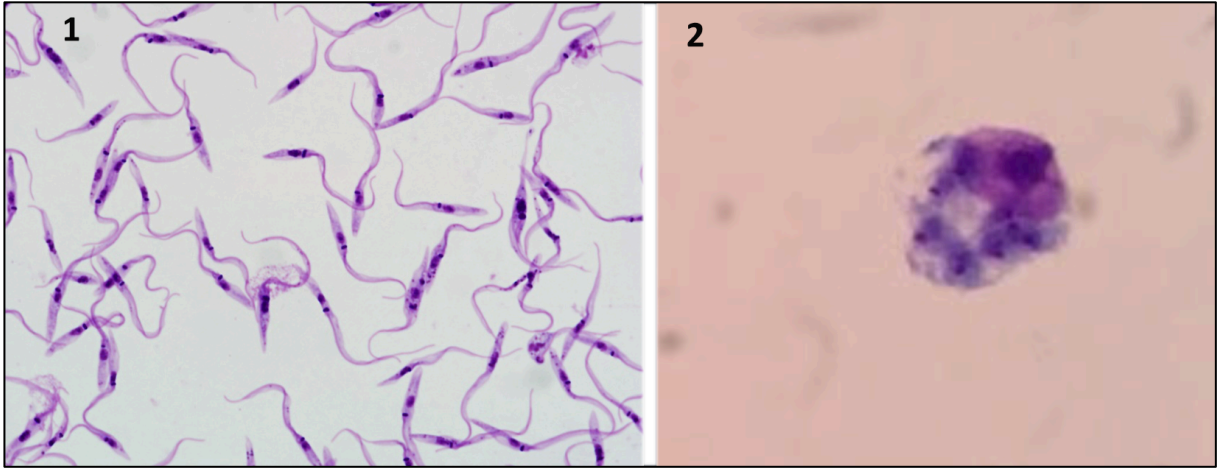
YÖNTEM

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Parazit Bankası'nda sıvı azot tankında saklanan American Type Culture Collection (ATCC) 50825 *T. cruzi* suşunun epimastigot formu (Şekil 1) sıvı azot tankından uygun koşullar altında çıkarılmıştır. Çıkarılan kriyovialler hızlı bir şekilde 25 °C'lik su banyosunda tamamen çözülene kadar bekletilmiştir. Tüp içeriği konik tüplere aktarıldıktan sonra ürün hacminin üç katı oranında aynı ısıdaki PBS ile karıştırılmıştır. 800 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir ve süpernatant atılmıştır. Dipte kalan *T. cruzi* suşu epimastigotlarından oluşan pelletin, RPMI 1640 besiyeri içeren hücre kültürü flasklarında üretilen J-774 seri makrofajlar içerisine ekimi yapılmıştır. İçerisine lamel yerleştirilen 6 kuyucuklu hücre kültürü platelerine ekimi yapılan J-774 seri makrofaj hücreleri *T. cruzi*

suşu ile enfekte edilmiştir. %5 CO₂'li etüvde 72 saat inkübasyon sonunda plate içerisindeki lameller Giemsa ile boyanarak ışık mikroskopunda (X1000 büyütmede) makrofajlar içerisindeki amastigot varlığı değerlendirilmiştir. Enfekte 100 makrofaj hücrelerinin içerisindeki *T. cruzi* amastigotları sayılarak enfeksiyon oranı niceliksel olarak hesaplanmıştır.

BULGULAR

RPMI 1640 besiyeri içeren J-774 seri makrofaj hücre kültürü flakları içerisine ekimi yapılan *T. cruzi* epimastigotları ile makrofajlar enfekte edilmiştir (Şekil 2). Oluşan enfeksiyon Giemsa boyama ile gösterilmiştir. J-774 seri makrofaj hücrelerinin, American Type Culture Collection (ATCC) 50825 *T. cruzi* suşu ile 150 amastigot/100 makrofaj oranında enfekte olduğu gözlenmiştir.



Şekiller 1. Giemsa boyalı preparatta *T. cruzi* epimastigotları; 2. Giemsa boyalı preparatta J-774 seri makrofaj hücresi içerisinde *T. cruzi* amastigotları

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, *T. cruzi* izolatu ile Türkiye’de ilk *ex vivo* model oluşturulmuştur. Bu konuda çalışmalar planlayan genç araştırmacılara rehber olacak şekilde *ex vivo* Chagas hastalığı modeli oluşturulmasıyla aşı ve tanı kitlerinin geliştirilmesi ve oluşturulan enfeksiyonun nitelik ve nicelik olarak saptanması ile yapılacak ilaç direnç testlerine ve etken madde taramalarına temel ve kaynak oluşturacaktır.

Teşekkür: Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankası’na sağladıkları katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. WHO. Chagas Disease (American Trypanosomiasis): World Health Organization; 2017. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>.
2. Dario MA, Rodrigues MS, Barros JH, Xavier SC, D’Andrea PS, Roque AL, et al. Ecological scenario and Trypanosoma cruzi DTU characterization of a fatal acute Chagas disease case transmitted orally (Espírito Santo state, Brazil). Parasit Vectors 2016; 9: 477.
3. Töz SÖ, Ertabaklar H, Özbel Y. Özcel’in tıbbi parazit hastalıkları, Trypanosomiasis. Özcel MA, Özbel Y, Ak M, editörler: Meta Basım, İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği; 2007.
4. de Noya BA, Gonzalez ON, Robertson LJ. Trypanosoma cruzi as a foodborne pathogen: Springer, Cham; 2015. ISBN: 978-3-319-23409-0.



P42.

cDNA Sentezinde Modifikasyon ile *Leishmania* RNA Virüs Saptanma Hassasiyetinin Artırılması; *Leishmania major* ve *Leishmania tropica* Suşlarında Virüs Yükünün Belirlenmesi

Muhammed NALÇACI¹, Mehmet KARAKUŞ², Yusuf ÖZBEL³, Ahmet ÖZBİLGİN⁴, Seray TÖZ³

¹Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Zooloji AD, Bornova, İZMİR; ²Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Üsküdar, İSTANBUL; ³Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD, Bornova, İZMİR; ⁴Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD, Yunussemre, MANİSA

E-posta: muhammednalcaci@gmail.com

Amaç: *Leishmaniovirus* cinsi (*Leishmania* RNA virüs; LRV), Totiviridae familyasında yer alan çift sarmallı RNA (dsRNA) virüsüdür. Virüs, kapsid proteini (CP), RNA-bağımlı RNA polimeraz (RdRp) ve 5.3 kb (dsRNA) büyüklüğündeki genomdan oluşur. Virüs ilk kez yeni dünya *Leishmania* türlerinde tespit edilmiş ve daha sonraki çalışmalarda eski dünya *Leishmania* türlerinde de varlığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda leishmaniasisin virülans ve metastazının bu virüse bağlı olabileceği belirtilmiştir. Bu virüsü belirlemede farklı moleküler ve serolojik yöntemler kullanılmakta ancak kullanılan yöntemlerin hassasiyetlerinde farklılıklar bulunmaktadır. Ayrıca şimdiye kadar yapılan çalışmalarda virüs yükü belirleme ve türler arasındaki virüs yükü farklılıklarına ait çalışmalar sadece yeni dünya türlerinde yapılmıştır. *Leishmania* RNA virüs pozitif olan eski dünya türlerinde bu yönde bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, Türkiye’de kutanöz leishmaniasis etkeni olan ve daha önce *Leishmaniovirus* varlığını tespit ettiğimiz *L. major* ve *L. tropica* suşları kullanılarak cDNA sentezinde modifikasyonun virüs yüklerinin belirlenmesindeki hassasiyete etkisi qRT-PCR Sybr Green yöntemi ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Method: Bu çalışmada, LRV pozitif 3 *L. major*, 2 *L. tropica* ve 1 kontrol suşu (MHOM / SU / 73/5-ASKH, *L. major*) kullanılmıştır.

RNA izolasyonu ve komplementer DNA (cDNA) sentezi prosedürü: Total RNA ekstraksiyonu Tripure Isolation Reagent Kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İlk olarak tüplere 1 ml tripure eklenmiştir ve tüpler MAGNA Lyser Homojenizatörde 45 saniye 4500 rpm’de döndürülmüştür. Homojenizatörden çıkarılan tüpler cihazla birlikte gelen cooling block’a alınarak 2 dakika bekletilmiştir. Tüplere 200 ul kloroform eklenip 5 dk bekletilmiştir. Daha sonra santrifüj edilmiş ve santrifüj sonunda 3 faz oluşmuştur. RNA içeren sulu faz alınarak üzerine izopropanol eklenmiş ve tekrar santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılmış ve %75 ethanol ile yıkanmıştır. Etanol uçurularak kalan pellete “DNase-RNase free” su eklenerek yeniden süspansiyon edilmiştir. Ekstre edilen RNA’ların miktarı, NanoDrop spektrometresi kullanılarak reaksiyon başına 100 ng olarak düzenlenmiştir. cDNA eldesi, EvoScript Universal cDNA Master kit ile üretici talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir (42°C’de 15 dakika; 85°C’de 5 dakika; 65°C’de 15 dakika; +4 °C). Modifiye örnekler ise aynı protokol ile cDNA sentezi öncesi 95°C’de 2 dakika denatürasyon aşaması eklenerek hazırlanmıştır.

Kantitatif gerçek zamanlı PZR (qRT-PCR): qRT-PCR, SYBR Green Master Mix ile 0,5 mM primerin dahil olduğu reaksiyon çözeltisinde yapılmıştır. Reaksiyon, 95°C’de 5 dakika başlangıç denatürasyonundan ardından 40 devir amplifikasyondan oluşur: 95°C’de 10 s; 60°C’de 10 s; 72°C’de 10 s; 78°C’de floresans saptama aşaması (her devirden sonra DNA’yı ölçmek için). LRV 2-1’e ait RNA’ya bağlı RNA Polimeraz (RdRp) genini hedefleyen LRV F-HR: 5’-4304 TGT AAC CCA CAT AAA CAG TGT GC-3 3; LRV R-HR: 5’-4809 ATT TCA TCC AGC TTG ACT GGG-3 DNA oligonükleotitleri kullanılmıştır.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Bulgular: cDNA yı elde etme aşamasında uygulanan modifikasyon ile klasik cDNA eldesi sonrası elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında virüs yüklerine ait sayısal farklılıklar gözlenmiştir. cDNA aşamasından önce eklenen 95°C'deki ön denatürasyon modifikasyonu sonrasında aynı suş ile daha düşük Cycle Treshold (Ct) değerleri elde edilmiştir.

Tüm örnekler aynı zamanda farklı dilüsyonlarda (1×10^8 , 1×10^5 ve 1×10^3) çalışılarak LRV'yi daha düşük parazit sayılarında virüs saptama limitinin modifiye yöntem ile klasik yöntemle göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Özellikle modifiye yöntem ile hazırlanan örnekler 1×10^8 ve 1×10^5 parazit sayılarında belli düzeyde pozitivite gösterirken klasik yöntemle hazırlanan bazı örneklerde virüs yükü belirlenememiş veya Ct değerlerinde artma olmuştur. İncelememizi 1×10^3 parazit dilüsyonu ile yaptığımızda klasik protokol ile Ct değerlerinin farklı suşlarda 37., 38. ve 39. döngü sayılarında olduğu gözlenmiştir. Bu değerler zayıf reaksiyon kabul edilebilecek değerler olup kesin sonuç vermek için yetersizdir. Çalışmamızda erime eğrisi analizi eklenerek düşük pozitif sonuçların primer dimer gibi nonspesifik durumlara bağlı olup olmayacağı değerlendirilmiştir.

Tartışma ve Sonuç: Bu çalışmada, Türkiye'de daha önceden *Leishmania* RNA virüs pozitif bulunan *L. major* ve *L. tropica* suşlarında cDNA eldesinde bir modifikasyon uygulayarak virüs yüklerindeki farklılıkların belirlenmesi amaçlanmıştır. Modifikasyon olarak eklenen 95°C deki ön denatürasyon aşaması sonrası aynı suş ile hassasiyetin yükseldiği anlamına gelen daha düşük Ct değerleri elde edilmiştir. *Leishmania* RNA virüs üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında cDNA elde etmede kullanılan yöntemlerde sentez öncesi bir ön denatürasyon prosedürüne rastlanmamıştır. Kullanılan kitlerde de yapılan işleme benzer bir basamak bulunmamaktadır. Yapılan modifikasyonun temeli, *Leishmania* RNA virüsünün çift zincirli yapıya sahip bir virüs olmasıdır. Bu yöntem farklı dilüsyonlarda da denenmiş ve benzer sonuçlar alınmıştır. Ayrıca farklı parazit sayılarında virüs yükünü belirlemeye yönelik incelemede özellikle 1×10^3 dilüsyondan sonra döngüye giriş sayısında artma, daha düşük dilüsyon değerlerinde virüsü belirlemenin zorlaşacağını göstermiştir. İleride hastalardan direkt olarak alınan örneklerde daha az parazit olabileceği için virüsü belirlemede daha zor olacağı için hassasiyetin artırılması önem taşımaktadır. Özellikle klinik örnekler ile yapılacak çalışmalarda virüs varlığı ve yükünün gösterilmesi klinik bulgular ile parazitin patojenitesi arasındaki ilişkinin anlaşılmasında yardımcı olacağı ve bu durumun tedavi kürlerinde de değişikliklere yol açabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Leishmania*, *Leishmania* RNA virüs, cDNA

Bu çalışma Ege Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (Proje No: 17-FEN-045) ve TÜBİTAK 114S999 kodlu 1003 projesi ile desteklenmiştir.



P43.

İstilacı Vektör Türlerden *Aedes albopictus* ve *Aedes aegypti*'nin Türkiye'deki Son Durumu ve Yayılım Alanları

Fatih M. ŞİMŞEK¹, Berna DEMİRCİ², Hilal BEDİR³, Muhammed AKINER¹, Murat ÖZTÜRK⁴, Ahmet DOĞAN⁴, Zati VATANSEVER⁵

¹Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, AYDIN; ²Kafkas Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, KARS; ³Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD, KARS; ⁴Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, RİZE; ⁵Kafkas Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi, Parazitoloji Ana Bilim Dalı, KARS

E-posta: fsimsek@adu.edu.tr

Amaç: Dengue, Sarı Humma, Zika, Chikungunya vektörü *Aedes albopictus* ve Dengue, Batı Nil Virüsü vektörü *Aedes aegypti* sivrisinek türlerinin doğal yolların dışında, deniz, kara veya hava ulaşım araçları aracılığıyla pek çok ülkeye yayılış yaptığı belirlenmiştir. İstilacı/yayılmacı bu iki türden *Ae. albopictus*'un ülkemizde ilk tespiti 2011 yılında Trakya bölgesinde ovitrap örnekleme metodu ile yapılmış ancak yerleşik populasyonlar bölgede bulunmamıştır. Doğu Karadeniz bölgesinde 2015 yılında yapılan öncül araştırmalarda, Artvin, Rize, Trabzon ve Giresun illerinde hem *Ae. aegypti* hem de *Ae. albopictus* türlerinin yerleşik populasyonları tespit edilmiştir. Kırklareli ve Kocaeli illerinde yapılan çalışmalarda yalnızca *Ae. albopictus*'un yerleşik populasyonları 2016 ve 2017 yıllarında bulunmuştur. Böylece elde edilen ilk veriler *Ae. albopictus*'un hem Batı Trakya hem de Doğu Karadeniz bölgelerinden, *Ae. aegypti*'nin ise sadece Doğu Karadeniz bölgesinden Türkiye'ye giriş yaptıkları ve üreyen populasyonlar oluşturdukları tespit edilmiştir. Bu araştırmada, *Ae. albopictus* ve *Ae. aegypti* türlerinin Türkiye içerisindeki yayılım durumunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu amaç doğrultusunda, 2018 yılından itibaren kapsamlı sörveyans çalışmaları yapılarak türlerin larva ve ergin örnekleri toplanmıştır. Larva örnekleme çeşitli üreme alanlarında larva kepeçeleri kullanarak, ergin örnekleme ovitrap, insan tuzağı ve CDC ışık tuzakları kullanarak yapılmıştır. Elde edilen örneklerin tür teşhisleri yapılarak türlerin dağılım alanları belirlenmiştir. Araştırma süresince, Karadeniz bölgesinin tamamında, İç Anadolu, Doğu ve Batı Akdeniz, Ege, Marmara ve Trakya bölgelerinin önemli bir kısmında örnekleme yapılmıştır. Örnekleme yılda iki defa olacak şekilde (Doğu Akdeniz Hariç) gerçekleştirilmiş ve türlerin populasyon dağılım haritaları oluşturulmuştur.

Bulgular: Elde edilen veriler, *Ae. aegypti* türünün Doğu Karadeniz bölgesinde üç ilde yerleşik halde populasyonlarını sürdürdüğünü ancak yayılımının devam etmediğini göstermiştir. *Aedes albopictus* türünün ise Artvin, Rize Trabzon ve Giresun illerinde olası tüm alanlara yayıldığı ortaya koymuştur. Kırklareli ve Kocaeli illerinde ise yine yerleşik populasyonların devamlılıklarını korudukları ve Kocaeli'de tüm alanlara yayılarak çok yoğun populasyonlar oluşturduğu belirlenmiştir. Bu alanların haricinde İstanbul'un Avrupa ve Anadolu yakası ve Adalar dâhil *Ae. albopictus*'un hızla yayılışını sürdürdüğü belirlenmiş olup, Kocaeli ilindeki duruma benzer bir şekilde populasyon yoğunluklarının arttığı tespit edilmiştir. Sakarya ilindeki çalışmalar türün Sapanca ve Arifiye bölgelerindeki varlıkları doğrulanmıştır. Doğu ve Batı Akdeniz ile İç Anadolu bölgelerinde olası olarak taranan alanlarda her iki türe de rastlanmamıştır. Ege Bölgesinde ise ülkemizin en büyük limanlarından biri olan Aliağa Limanı etrafında *Ae. albopictus* türüne rastlanmıştır fakat yerleşik populasyon oluşturup oluşturmadığı henüz doğrulanmamıştır.

Sonuç: Elde edilen veriler Batı Nil, Zika ve Chikungunya virüsleri açısından ülkemizin ileriki yıllarda ciddi risklerle karşı karşıya olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti*, dağılım, Türkiye.

Bu çalışma TÜBİTAK-KBAG 117Z116 No'lu proje tarafından desteklenmiştir.



P44.

Türkiye’de Yayılım Gösteren *Aedes albopictus* Populasyonlarında Gözlenen İnsektisit Direnci

Berna DEMİRCİ¹, Hilal BEDİR², Fatih M. ŞİMŞEK³, M. Mustafa AKINER⁴, Murat ÖZTÜRK⁴, Ahmet Ferhat DOĞAN⁴, Zati VATANSEVER⁵

¹Kafkas Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, KARS; ²Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Ana Bilim Dalı, KARS; ³Aydın Adnan Menderesi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, AYDIN; ⁴Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, RİZE; ⁵Kafkas Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi, Parazitoloji AD, KARS

E-posta: fsimsek@adu.edu.tr

Amaç: İstilacı/yayılcı vektör türlerden *Aedes albopictus*’un yapılan öncül çalışmalarda ülkemize giriş yaptığı ve yerleşik popülasyonlar oluşturduğu belirlenmiştir. Ayrıca her yıl artan bir hızla yayılmaya devam ettiği ve popülasyon seviyelerini yüksek yoğunluklara ulaştırdığı saptanmıştır. Özellikle ülkemizin kuzeybatı ve kuzeydoğundaki alanlarda iki farklı istikametten ülkemize giren *Ae. albopictus* halk sağlığı açısından ciddi riskler barındırmaktadır. Popülasyon yoğunluklarının artmasına bağlı olarak ileriki dönemlerde insektisit uygulayıcıları açısından önemli maliyetler ortaya çıkaracak boyutlarda sorunlara yol açacağı öngörülmektedir. Bu araştırmada, ülkemizde yerleşik popülasyonlar oluşturduğu belirlenen *Ae. albopictus* türünde muhtemel insektisit direncinin araştırılması hedeflenmiştir.

Yöntem: Bu amaç doğrultusunda 2018 yılında alanlardan toplanarak getirilen ve insektaryum laboratuvarlarda kolonize edilen Artvin, Rize, Trabzon, Kırklareli, İstanbul, Kocaeli ve İzmir illerine ait 10 popülasyon erginlerinde diagnostik dozlar ile denemeler yapılmıştır. Diagnostik doz denemeleri Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterlerine göre DSÖ’den temin edilen test kağıtları ve deney setleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, DSÖ’nün belirttiği değer aralığına göre duyarlı (ölüm oranı %98’den fazla), dirençli (ölüm oranı %80’den az) ya da muhtemel dirençli araştırılması gereken (ölüm oranı %98-%80 arası) olmak üzere üç kategoriye ayrılmıştır.

Bulgular: Elde edilen sonuçlara göre popülasyonların Pyretroid grubundan insektisitlerden Deltamethrin, Cyfluthrin ve Etofenprox’a karşı yüksek oranda hassasiyet gösterdikleri belirlenmiştir. Ancak Cyluthrin ve Etofenprox’a karşı şüpheli durum olarak nitelendirilen kategoride direncin varlığı gözlenmiştir. Karbamat grubundan Bendiocarb ve Organofosfat grubundan Fenitrothion’a karşı değişen oranlarda direnç ve muhtemel direnç varlığı saptanmıştır. Ülkemizde kullanımı yasak olan DDT’ye karşı ise İğneada (Kırklareli) ve Aliağa (İzmir) popülasyonlarında dirençlilik, diğer alanlarda ise muhtemel dirençlilik durumu gözlenmiştir. Pyrethroid grubundan insektisitlere karşı en yüksek dirençlilik Sarıyer popülasyonunda Cyfluthrin’e karşı gözlenirken, en yüksek hassasiyet ise tüm popülasyonlarda Deltamethrin’e karşı gözlenmiştir. Bendiocarb, Fenitrothion ve DDT’ye karşı en yüksek dirençlilik İğneada popülasyonunda gözlenirken, en yüksek hassasiyet oranları Pazar, Rize, Trabzon ve Vakfıkebir popülasyonlarında gözlenmiştir.

Sonuç: Elde edilen sonuçlar rotasyonlu adultisit kullanımı ve etkin bir larva mücadelesinin popülasyon seviyelerini düşürebileceğini göstermektedir. Etkif vektör kontrolü aynı zamanda olası epidemilerin önlenmesi anlamında katkılar sağlayabilecektir.

Anahtar Kelimeler: *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti*, insektisit direnci, Türkiye.

Bu çalışma TÜBİTAK-KBAG 117Z116 No’lu proje tarafından desteklenmiştir.



P45.

Türkiye’de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Scuse, 1894)’un Populasyon Genetiği

Serpil TUNA TÜRKOZAN, Fatih M. ŞİMŞEK

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, AYDIN

E-posta: fsimsek@adu.edu.tr

Amaç: Bu çalışmada, *Aedes albopictus*’un Türkiye populasyonlarında genetik çeşitliliğin ve populasyonlar arası genetik farklılıkların belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu amaçlar doğrultusunda *Aedes albopictus* populasyonları için Trakya ve Karadeniz bölgelerinde örnekleme çalışmaları yapılmıştır. Tespit edilen Artvin, Hopa, Rize, Trabzon, Beğendik ve İğneada populasyondan elde edilen örnekler kullanılarak populasyon düzeyinde türün genetik çeşitliliği ve populasyonlar arasındaki farklılıklar analiz edilmiştir. Genetik çeşitliliğin ya da populasyonlar arası farklılıkların ortaya çıkarılmasında mitokondriyal DNA’ya ait *ND5* ve *COI* gen bölgelerinin dizi verilerinden yararlanılmıştır. mtDNA *ND5* gen bölgelerinin her biri için haplotip ve nükleotid çeşitliliği, bireyler arasındaki nükleotit farklılıklarının ortalaması, tüm populasyonlar için polimorfik bölge sayısı ile lokalite çiftleri arasındaki genetik farklılaşma düzeyinin göstergesi olan gamma_{ST} değerleri DNAsp ver 6.00 kullanılarak hesaplanmıştır.

Bulgular: mt*ND5* için populasyonlarda 5 haplotip tespit edilmişken, mtDNA *COI* dizileri tek bir haplotip vermiştir. mtDNA *COI* verileri MEGA 5.05 programı ile analiz edilmiş ve populasyonların filogenetik ilişkisi belirlenmiştir.

Sonuç: *Aedes albopictus* türünün örneklendiği 6 lokaliteden elde edilen mtDNA *ND5* geni verilerine göre oluşturulan UPGMA uzaklık ağacında 4 grup ortaya çıkmıştır. Bu gruptandırmaya göre Grup 1: Artvin ve Hopa, Grup 2: Rize ve Trabzon, Grup 3: Beğendik; Grup 4 ise İğneada populasyonlarından oluşmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Aedes albopictus*, Populasyon Genetiği, *ND5*, *COI*, Türkiye.

Bu çalışma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Rektörlüğü, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BAP-FEF 17028 no’lu proje ile desteklenmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

P46.

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2011-2018 Yılları Arasında Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı

Ceren ERGÜDEN GÜRBÜZ¹, Abdurrahman GÜLMEZ², Soykan ÖZKOÇ¹, Tonay İNCEBOZ¹, Özlem MİMAN¹, Ümit AKSOY¹, Songül BAYRAM DELİBAŞ¹

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Tıbbi Parazitoloji AD; ²Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İZMİR

E-posta: cerenerguden@hotmail.com

Amaç: Bağırsak parazitlerinin neden olduğu hastalıklar dünya genelinde olduğu gibi ülkemizde de önemli bir halk sağlığı problemidir. Bu çalışmada çeşitli gastrointestinal sistem yakınmaları ile Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi (DEÜH)'ne başvuran hastalardaki bağırsak parazitleri araştırıldı.

Yöntem: Çalışmaya Ocak 2011-Aralık 2018 tarihleri arasında DEÜH Merkez Parazitoloji Laboratuvarı'na gönderilen 18.460 hasta dahil edildi. Hastalara ait dışkı örnekleri nativ-lugol yöntemiyle incelendikten sonra formol etil-asetat çöktürme yöntemi uygulandı. Gerekli görülen örnekler trikrom ve kinyoun acid-fast boyama yapıldı. Hastalara ait demografik verilere ise hastane ve laboratuvar bilgi işletim sistemi üzerinden ulaşıldı.

Bulgular: Çalışma süresi içerisinde incelenen toplam 18.460 hastanın %6'sında (n=1119) bir veya birden fazla parazit saptandı. Parazit saptanan olguların yaş ortalaması 39,7 (± 23,1) olmakla birlikte bunların %53,3 ü erkek, %47,6'sı kadındı. Pozitiflik oranının parazitlere göre dağılımı incelendiğinde ise; %4,8'i (n=879) *Blastocystis hominis*, %0,7'si (n=135) *Entamoeba histolytica/dispar* harici diğer amipler, %0,4'ü (n=70) *Giardia intestinalis*, %0,3'ü (n=49) *Enterobius vermicularis*, %0,1'i (n=21) *Entamoeba histolytica/dispar* ve %0,01'i (n=10) nadir görülen diğer parazitler şeklinde idi. Çalışmanın başlangıç tarihinden itibaren parazit sayılarına bakıldığında yıllar arasında anlamlı oranda düşüş olduğu gözlenmiş olup; 2011-2012 ve 2013-2014 yılları arasındaki düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.05).

Sonuç: Çalışmamız, bağırsak parazit enfeksiyonlarının bölgemizde halen önemli bir halk sağlığı sorunu olarak devam ettiğini göstermekle birlikte; görülme sıklıklarındaki düşüşü ortaya koyması açısından da önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Bağırsak parazitleri, İzmir, Mikroskopik inceleme



P47.

Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Merkez Parazitoloji Laboratuvarı'na 2013-2018 Yılları Arasında Başvuran Hastaların Seroloji Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi

Ceren ERGÜDEN GÜRBÜZ, Soykan ÖZKOÇ, Songül BAYRAM DELİBAŞ

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, İZMİR

E-posta: cerenerguden@hotmail.com

Amaç: Bu çalışmada Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi (DEÜH) Merkez Parazitoloji Laboratuvarına 2013-2018 yılları arasında başvuran hastaların serolojik test sonuçları değerlendirildi.

Yöntem: Retrospektif olarak taranan yıllar arasında Kistik Ekinokokkosiz (KE) şüphesi ile gönderilen serum örnekleri in-house IgG ELISA ve IHA (Echinococcosis Fumouze kit) testleri ile, visseral leishmaniasis (VL) ön tanısıyla gönderilen örnekler ise in-house IgG ELISA ve in-house IgG IFAT yöntemleri ile parazite spesifik antikorlar yönünden incelendi. Fascioliasis ve trichinellosis şüpheli serum örneklerine in-house IgG ELISA yöntemi uygulanırken, toxocariasis tanısında yalnızca ticari IgG ELISA kiti (NovaLisa-Toxocara canis IgG kit) kullanıldı.

Bulgular: Toplam 4944 hasta serumu serolojik olarak incelendi. Bunların 4435 (%89,7)'i KE, 257 (%5,2)'si leishmaniasis, 97 (%2)'si fascioliasis, 91 (%1,8)'i toxocariasis ve 64 (%1,3)'ü trichinellosis şüphesi ile başvurmuştu. Yaşları 0 ile 98 (ortalama 40) arasında değişen hastaların 2331 (%47,1)'i erkek iken 2613 (%52,9)'si kadındı. KE şüpheli hastaların 1243 (%25,1)'ünde ELISA ve 1223 (%24,7)'ünde IHA ile olmak üzere toplam 1476 (%33,3)'sında değişik titrasyonlarda pozitiflik saptandı. Her iki testle de pozitif bulunan hasta sayısı 990 (%20) iken, sadece bir testle pozitif saptanan hasta sayısı ise 486 (%9,8) olarak belirlendi. Visseral leishmaniasis şüphesi ile değerlendirilen hastaların ise 28 (%10,9)'ünde ELISA ve 27 (%10,5)'sinde IFAT olmak üzere toplam 33 (%12,8)'inde pozitiflik saptandı. Fascioliasis açısından incelenen hastaların 25 (%25,8)'inde ve toxocariasis açısından incelenen hastaların 14 (%15,4)'ünde hastalığa özgül antikorlar saptanırken, trichinellosis açısından ELISA yöntemi ile incelenen hastaların hiçbirisinde anti-*Trichinella* IgG antikorları saptanamadı.

Sonuç: Laboratuvarımızda yapılan serolojik testlere ait sonuçların retrospektif olarak ortaya konulmasının, bu hastalıkların yaygınlıklarının belirlenmesi, önemine dikkat çekilmesi ve gerekli önlemlerin alınmasının sağlanması açısından değerli olduğu kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Fascioliasis, Kistik Ekinokokkosiz, Leishmaniasis, Seroloji, Toxocariasis, Trichinellosis



P48.

Taze Dışkı Örneklerinde Direkt Bakıda Alternatif Yaklaşımlar

Koray ÖNCEL

Mehmet Akif İnan Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, ŞANLIURFA

E-posta: korayoncel@gmail.com

Amaç: Taze dışkı örneklerinde, ıslak preparat (nativ-lugol) incelemesinde tanımlamada zorlandığımız protozoonların farklı fiksatifler kullanılarak modifiye edilmiş Trikróm boyası ile yaklaşık beş dakika içinde tanımlanması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Alternatif yaklaşımda kullanılmak üzere iki farklı fiksatif hazırlanmıştır. Mordan [bazı boyalar ile koordinasyon kompleksleri oluşturan polivalens (en az +2 değerlikli) metaller] olarak bakır sülfat hidrat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) kullanılarak hazırlanmış olan fiksatiflerden bir tanesi (fiksatif-1) etil alkol, formalin, asetik asit, distile su bazlı olup, diğeri (fiksatif-2) ise etil alkol, formalin, sitrik asit, distile su bazlı olarak hazırlanmıştır. İki ayrı fiksatif ile de tespit edilmiş preparatlar Gomori'nin trikróm boyasının tarafımızca modifiye edilmiş şekli ile boyanmıştır. Kontrol ve kıyaslama amacıyla altın standart olarak; cıva klorür içeren Schaudinn fiksatifi ile fikse edilen örnekler Gomori'nin trikróm boyasının Wheatley modifikasyonu ile boyanmıştır. Taze dışkı örneklerinde nativ-lugol inceleme yapıldıktan sonra, insan bağırsak protozoonu içerdiği düşünülen 50 adet dışkı örneği üzerinde çalışılmıştır.

Bulgular: Yöntemler kıyaslandığında, sitrik asit içeren yöntem ile hazırlanan preparatlar (*Entamoeba coli* kistleri içerenler dışında) klasik yöntem kullanılarak hazırlanan preparatlara hemen hemen yakın sonuçlar verirken, asetik asit içeren metod ile hazırlanan preparatlar klasik yöntem göre *E. coli* kistleri içerenlerde çok net olmak üzere *Blastocystis* spp., *Endolimax nana*, *Iodamoeba bütschlii* ve *Entamoeba hartmanni* içeren preparatlarda daha düşük bir performans sergilemiştir. Klasik yöntemle kıyasla her iki yeni fiksatifte *Dientamoeba fragilis* içeren preparatlarda daha üstün bir performans sergilerken, süreç açısından da yaklaşık on katlık bir zaman avantajı sağlamıştır. Her iki alternatif yöntem kendi aralarında kıyaslandığında ise, fiksatif-2 ile hazırlanan preparatlar *Blastocystis* spp., *E. nana*, *I. bütschlii* ve *E. hartmanni* açısından kıstas alınan kriterler bazında daha iyi performans sergilerken, fiksatif-1 *D. fragilis* içeren preparatlarda minimal bir üstünlük sergilemiştir.

Sonuç: Çalışmamızda kullanmış olduğumuz fiksatif-2 ve modifiye edilmiş boyama yöntemi parazitoloji ve mikrobiyoloji laboratuvarlarında yapılmakta olan insan dışkılarına ait parazitolojik tetkiklerde boya ile tanımlama sürecinde *E. coli* kistleri içerenler dışında klasik yöntemle kıyasla on kat daha hızlı teşhise gitmemize olanak sağlamaktadır. Rutin kullanımda klasik yöntemle iyi bir alternatif olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Dışkı, fiksatif, protozoon, Trikróm



P49.

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 2017-2019 Yılları Arasında İncelenen Dışkı Örneklerinde Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı

Funda SANKUR

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, MUĞLA

E-posta: fundasankur@yahoo.com.tr

Amaç: Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 2017-2019 arasındaki iki yıllık periyotta incelenen 2641 dışkı örneğinde saptanan bağırsak parazitlerinin sıklığını belirlemektir.

Yöntem: Laboratuvara gelen dışkıları, doğrudan bakı (nativ lügol) ve istem yapılan hastalarda selofan bant yöntemleri ile incelenmiştir.

Bulgular: Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na iki yıllık süreçte gelen 2641 dışkının 9'unda (%0,34) *Giardia intestinalis* kisti, 30'unda *Blastocystis* spp. (%1,13), 16'sında *Entamoeba histolytica/dispar* (%0,60) ve 2'sinde (%0,07) *Taenia saginata* yumurtası saptanmıştır. Ayrıca 220 selofan bant örneğinin 9'unda (%4) *Enterobius vermicularis* yumurtası saptanmıştır.

Sonuç: Bağırsak parazitleri gelişmekte olan ülkelerde önemli bir halk sağlığı problemidir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar hastanemizdeki bağırsak parazitolojilerinin profilini yansıtmakla beraber, bu konuda Muğla ili için daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Bağırsak parazitleri, Muğla



P50.

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi'ne Gelen Hastalardan Alınan Dışkı Örneklerinde *Cryptosporidium* spp. Varlığının Mikroskopik Bakı ve ELISA ile Araştırılması

Ceren DEVECİ¹, Asude Gülçe GÜLER¹, Nural EROL², Nuran AYSUL¹

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, ¹Parazitoloji AD; ²Viroloji AD, AYDIN

E-posta: asude.guler@adu.edu.tr

Amaç: *Cryptosporidium* türleri zoonoz özellikli önemli protozoer enfeksiyon etkenlerinden olup sindirim ve solunum kanalına yerleşirler. Son yıllarda önem kazanan Cryptosporidiosis enfeksiyonları özellikle immun sistemi baskılanmış kişilerde veya çocuklarda ağır ishallerine neden olabilirler. Bu çalışmada, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarına gelen dışkılarda *Cryptosporidium* ookistlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Eylül 2012 ile Eylül 2013 tarihleri arasında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına ağırlıklı olarak gastrointestinal sistem şikayeti ile gelen hastalar değerlendirilmeye alınmıştır. Toplam 184 ishalleri dışkı örneği Kinyoun asit-fast boyası ile boyanmış ve mikroskopta incelenmiştir. Ayrıca örnekler ELISA yöntemi (IDEXX *Cryptosporidium parvum* antijen test kit) ile incelenmiştir.

Bulgular: Toplam 184 dışkı örneğinin birinde (%0.54) modifiye asit-fast boyama yöntemi ile *Cryptosporidium* ookistleri, 10'unda (%18,4) ise ELISA yöntemi ile *C. parvum* antijenleri tespit edilmiştir.

Sonuç: Sonuç olarak, *C. parvum* semptomatik ishal olgularında önemli bir etken olduğundan, risk gruplarının bu parazit yönünden dikkatle incelenmesi gerektiği ve ELISA yönteminin kolay ve hızlı uygulanabilmesi ile mikroskopik yöntemlere göre daha duyarlı ve spesifik olduğu ve iyi bir alternatif olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Aydın, *Cryptosporidium*, Cryptosporidiosis, ELISA

Bu çalışma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü tarafından VTF-13033 no'lu proje ile desteklenmiştir.



P51.

**Prevalence of *Ehrlichia* spp. in Ticks Collected from Dogs
in Province of Van in Turkey**

Adnan AYAN¹, Özlem ORUNÇ KILINÇ², Ali Bilgin YILMAZ³, Ali Rıza BABAOĞLU⁴

Van Yüzüncü Yıl University, ¹Department of Genetics Faculty of Veterinary Medicine; ²Özalp Vocational School,
³School of Health, ⁴Department of Virology, Faculty of Veterinary Medicine, VAN, TURKEY

E-mail: ozlemkilinc@yyu.edu.tr

Aim: The present study was aimed identify the tick species and molecularly investigate the *Ehrlichia canis*, *E. ewingii* and *E. chaffeensis* detection in ticks from infested dogs in Van region of Turkey.

Method: Tick samples were isolated from the dogs kept under Van Municipality Dog Shelter. A total of 220 ticks were collected from 55 infested dogs. The tick taxonomy was carried out through microscopically. Additionally, DNA extraction from ticks was conducted and nested PCR was performed to differentiate the *Ehrlichia* spp.

Results: The results of the present study indicate that all the collected ticks from infested dogs were identified as *R. sanguineus* strain of Ixodidae family. The Nested PCR for *Ehrlichia* spp. identification showed that *E. canis* was more commonly present (50 positive out of 220 samples) in ticks isolated from dogs. The second prevalent species was *E. ewingii* (3 out of 220 samples). None of the other species were identified from the submitted samples. The obtained specific fragments were 389 bp and 396 bp for *E. canis* and *E. ewingii* respectively.

Conclusion: In conclusion, *E. canis* was firstly detected in *R. sanguineus* tick in dogs in the Province of Van in Turkey. *E. ewingii* was firstly detected in *R. sanguineus* tick in dogs in Turkey. Its presence in dogs indicates the potential factor for public health hazard in Turkey.

Key Words: Dog, *Ehrlichia* spp, Nested PCR, *Rhipicephalus sanguineus*



P52.

Giardia intestinalis Kistlerinin Saflaştırılması ve Kalıcı Preparat Hazırlanması

Sirin Sahra CEYLAN, Tülay AKSOY, Nogay GİRGİNKARDEŞLER, Ahmet ÖZBİLGİN

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA

E-posta: sahra-sirin@hotmail.com

TAM METİN

ÖZET

Amaç: Tüm dünyada yaygın olarak bulunan *Giardia intestinalis*, insan ve diğer memelileri enfekte eden, fekal-oral yolla bulaşan, ince bağırsak yerleşimli kamçıli bir protozoon parazittir. İnfektif form olan kistler, gaita ile dış ortama atılırlar. Bu kistlerin; ellerle, besinlerle veya sularla ağızdan sindirim yoluna girmesi ile enfeksiyon başlamaktadır. Enfeksiyon için 10–25 canlı kist bile yeterli olmaktadır. Kozmopolit bir dağılım gösteren *G. intestinalis*, gelişmekte olan ülkelerde daha yaygın görülmekte ve bu ülkelerde önemli bir çocukluk çağı ishal etkeni olarak bildirilmektedir (1). Çalışmamızda gerek *G. intestinalis*'in kültürü gerekse trofozoit ve kistleri ile yapılacak çalışmalara yardımcı olması düşünülmektedir.

Yöntem: Manisa Celal Bayar Üniversitesi Parazitoloji laboratuvarına gastrointestinal sistem (GİS) şikayeti ile başvuran hastaların dışkıları nativ-lügol ve trikrom boyama yöntemi ile incelendikten sonra *G. intestinalis* kist ve trofozoit görülen pozitif hastalar, Sheffield ve Bjorvatn'ın (2) 1M sakkaroz çözeltisinin yoğunluğundan yararlanarak geliştirdikleri yöntem ile *G. intestinalis* kistleri enfekte insan dışkısından kolay bir şekilde saflaştırılmış ve ardından %0,1'lik eozin ile boyanarak kalıcı preparat haline getirilmiştir. Yöntemi uygularken bitkisel besin ile beslenmiş hastaların dışkılarındaki bitkisel besin atıklarının kistlerden ayrıştırılmasının güç olduğu ve elde edilen kist süspansiyonlarını kirlettikleri gözlemlendiğinden, dışkı seçiminde genellikle bu özelliğe dikkat edilmiştir. Elde edilen kist solüsyonlarından kalıcı preparat hazırlanmış ve bu kalıcı preparatlar altı ay boyunca ayda bir kere mikroskop altında incelenerek morfolojileri değerlendirilmiştir.

Bulgular: Parazitoloji laboratuvarına gelen giardiasisli hastaların dışkılarındaki *G. intestinalis* kistleri, 1M sakkaroz ile saflaştırılmıştır. Kistlerden hazırlanan kalıcı preparatlar altı ay boyunca ayda bir incelendiğinde şekillerinin bozulmadığı, morfolojisinin değişmediği, eğitim ve tanı için bu kistlerin kullanılabileceği saptanmıştır. Elde edilen saf kistler %0,1'lik eozin kullanılarak boyanmış ve bu şekilde kist canlılığını kontrol etme yöntemi, bize olgunlaşan kistlerin bir canlı tarafından alınmaz ise bir süre sonra canlılıklarını yitirdiklerini göstermiştir. Ayrıca kalıcı preparat hazırlanmasına da yardımcı olmuştur.

Sonuç: Sosyo-ekonomik ve çevre sağlığı koşulları ile ilişkili olarak en sık görülen bağırsak parazitlerinden olan *G. intestinalis*, genellikle su kaynaklı salgınlara neden olmaktadır. Parazitin kist formu klora dayanıklı olduğundan, kişisel hijyen yetersizliklerinde, şebeke suyunun kullanılmasında ve şehirde yaşanmasına rağmen sık rastlanmaktadır (3). Çalışmamızda enfekte insan dışkısından elde edilen saflaştırılmış *G. intestinalis* kistleri gerek kültür gerekse trofozoit ve kistleri ile yapılacak çalışmalara yardımcı olması düşünülmektedir. Ayrıca tanı laboratuvarında uzman, asistan, teknisyen ve başta tıp olmak üzere sağlık bilimleri öğrencilerine eğitim-öğretim için referans preparatlarının hazırlanması, moleküler tabanlı çalışmalarda yardımcı olması düşüncesi ile enfekte insan dışkısından alınan *G. intestinalis* kistlerin saflaştırılması ve kalıcı preparat haline getirilmesi düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Giardia intestinalis*, kist, saflaştırma, kalıcı preparat



Purification of *Giardia intestinalis* Cysts and Preparation of Permanent Prepareate

SUMMARY

Aim: *Giardia intestinalis*, which is common all over the world, is a protozoan parasitic infection of the small intestine, which is transmitted by the faecal oral route, which infects human and other mammals. Cysts, which are infective forms, are excreted in the feces. These cysts; infection begins when it enters the digestive tract with hands, food or water. Even 10-25 live cysts are sufficient for infection. *G. intestinalis*, which has a cosmopolitan distribution, is more common in developing countries and is reported to be an important childhood diarrhea agent in these countries. In our study, it is thought that it will help the studies with *G. intestinalis* culture and trophozoite and cysts.

Method: After the examination of the feces of the patients with gastrointestinal system by using native lugol and trichrome staining method, positive patients with *G. intestinalis* cyst and trophozoite were developed by using the density of 1M sucrose solution by Sheffield and Bjorvatn. It was stained with 0.1% eosin and made into a permanent preparation. While applying the method, it was observed that it is difficult to separate the plant nutrient wastes from the cysts in the feces of the patients fed with herbal nutrients and they pollute the obtained cyst suspensions, so this feature has been taken into consideration in the selection of faeces. Permanent preparations were prepared from the obtained cyst solutions and these permanent preparations were examined under a microscope once a month for six months and their morphology was evaluated.

Results: *Giardia intestinalis* cysts in feces of giardiasis patients who came to parasitology laboratory were purified with 1M sucrose. Permanent preparations prepared from cysts were examined once a month for six months and it was determined that their shape were not deteriorated, that their morphology were not changed, and that these cysts could be used for training and diagnosis. The resulting pure cysts were painted using 0.1% eosin, and the method of controlling cyst vitality in this way showed us that maturing cysts lose their vitality after a while if they are not taken by a living organism. It has also helped to prepare permanent preparations.

Conclusion: *Giardia intestinalis*, one of the most common intestinal parasites associated with socio-economic and environmental health conditions, often causes waterborne outbreaks. Since the cyst form of the parasite is resistant to chlorine, it is common in personal hygiene deficiencies, use of mains water and despite the occurrence of water in the city. In our study, purified *G. intestinalis* cysts obtained from infected human feces is thought to help the studies to be done with culture or trophozoite and cysts. In addition, it was planned to prepare reference preparations for education and training for medical science students, specialists, assistants, technicians and especially medical students in the diagnostic laboratory and to purify the *G. intestinalis* cysts taken from the infected human feces with the thought of assisting in molecular based studies and to make them into permanent preparations.

Key Words: *Giardia intestinalis*, cyst, purification, permanent preparation

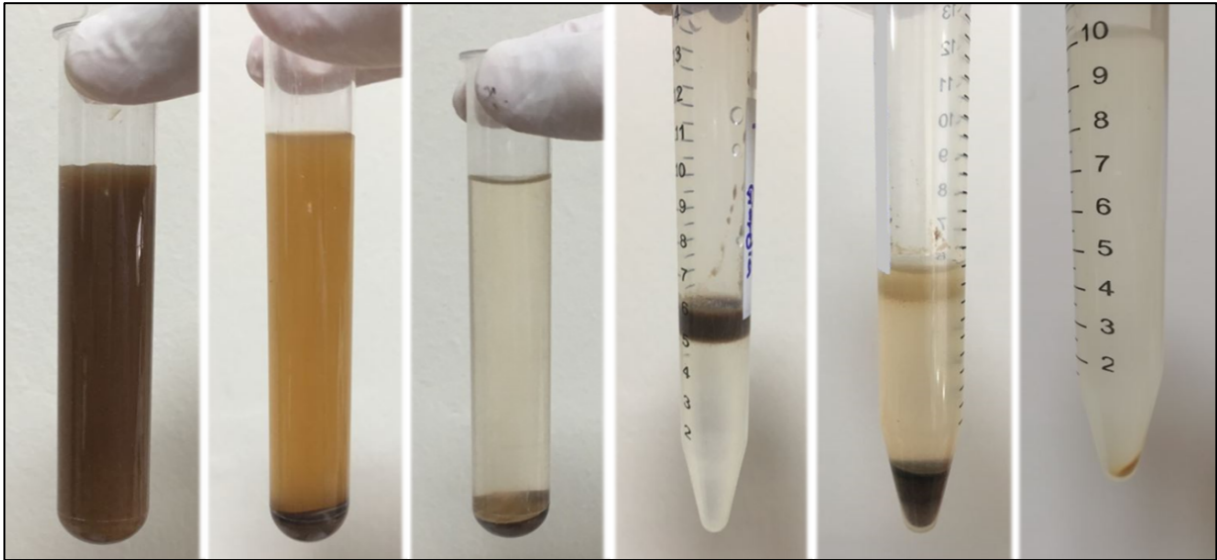
GİRİŞ

Giardia intestinalis kuşlar, sürüngenler, memeliler ve insanlarda görülebilen fekal-oral bulaşan gastrointestinal yerleşimli kamçılı bir protozoon parazittir. İnsanda enfeksiyona neden olan tek tür *G. intestinalis* (*G. duodenalis* / *G. lamblia*) olup zoonotik geçişin de mümkün olduğu bildirilmiştir. Kozmopolit bir dağılım gösteren *G. intestinalis*, gelişmekte olan ülkelerde daha yaygın görülmekte ve bu ülkelerde önemli bir çocukluk çağı ishal etkeni olarak bildirilmektedir (4). Bulaşma *G. intestinalis* kistleri ile kontamine olmuş su ve gıdaların alınması, kişiden kişiye direkt temas ile olabilmektedir. Enfeksiyon asemptomatik olabildiği gibi ishal, kilo kaybı, karın krampları, büyümede gerileme gibi belirtilerle seyredebilir. Yüksek risk altında olan gruplar çocuklar, yolcular ve bağışıklık sistemi zayıf olan kişilerdir. Ülkemizde enfeksiyonun insanlardaki yaygınlığı %4-25 arasında değişmektedir (5). Giardiasisin laboratuvar tanısı; dışkıının veya duodenum aspirasyonu ile alınan örneklerin incelenmesi

sonucunda *G. intestinalis* kist ya da trofozoitlerinin görülmesi ile konur. Çalışmamızda gerek *G. intestinalis*'in kültürü gerekse trofozoit ve kistleri ile yapılacak çalışmalara yardımcı olması, tanı laboratuvarında uzman, asistan, teknisyen ve başta tıp olmak üzere sağlık bilimleri öğrencilerine eğitim-öğretim için referans preparatlarının hazırlanması, moleküler tabanlı çalışmalarda yardımcı olması düşüncesi ile enfekte insan dışkılarından alınan *G. intestinalis* kistlerin saflaştırılması ve kalıcı preparat haline getirilmesi düşünülmüştür.

GEREÇ VE YÖNTEM

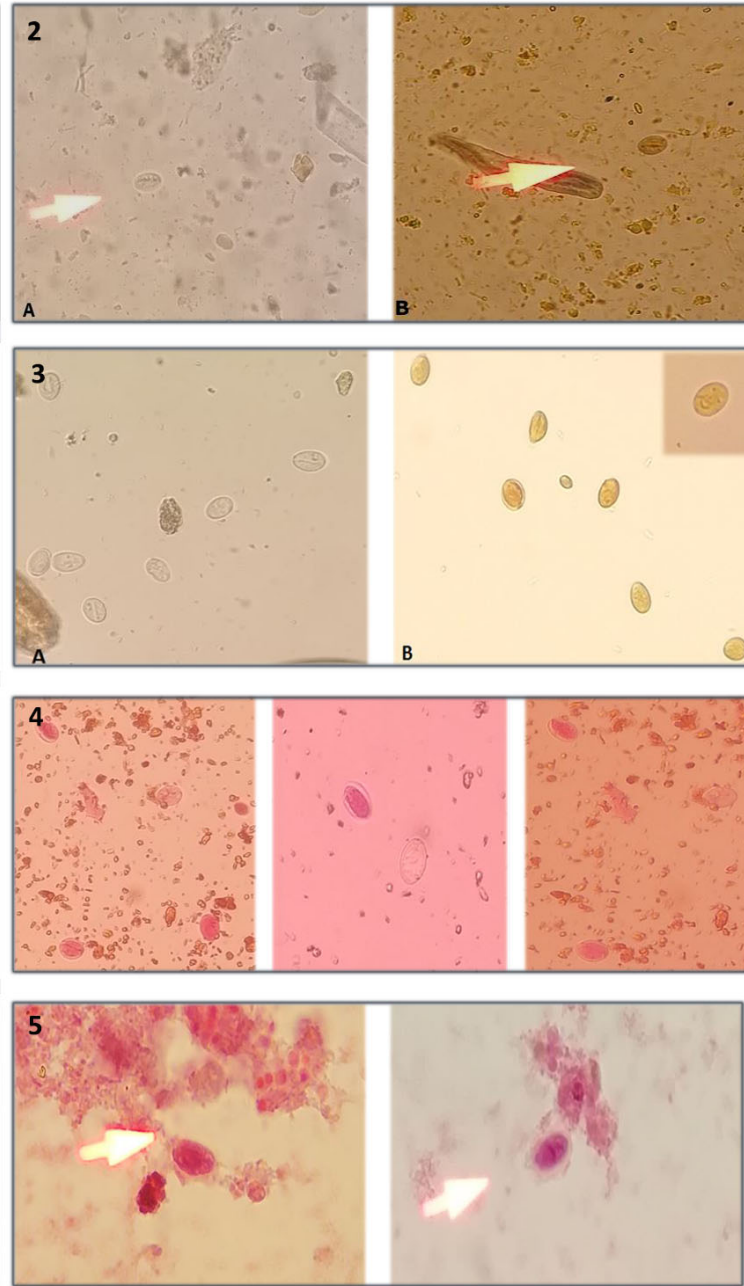
Manisa Celal Bayar Üniversitesi Parazitoloji laboratuvarına gastrointestinal sistem (GİS) şikayeti ile başvuran hastaların dışkıları nativ-lügol ve trikrom boyama yöntemi ile incelendikten sonra *G. intestinalis* kist ve trofozoit görülen pozitif hastalar, Sheffield ve Bjorvatn'ın (2) 1M sakkaroz çözeltisinin yoğunluğundan yararlanarak geliştirdikleri yöntem ile kistler enfekte insan dışkılarından saflaştırılmıştır. Saflaştırma için; *G. intestinalis* kistleri görülen dışkı çeşme suyu eklenerek homojen hale getirilir ve gaitadan besin artıklarının uzaklaştırılması için gazlı bezden süzülerek 15ml'lik falkona aktarılır. 2500 rpm de 2 dakika santrifüj edilerek üst kısım uzaklaştırılır. Pellet üzerine distile su eklenerek süspansiyon edilir ve tekrar 2500 rpm de 2 dakika santrifüj edilir. Bu işlem süpernatant kısmı berrak oluncaya dek devam edilir. Üst kısım berraklaşınca süpernatant uzaklaştırılır ve pellet pipetaj yapılarak homojen hale getirilir. Pellet dikkatli bir şekilde 1 M sakkaroz çözeltisi bulunan 15ml'lik falkona aktarılarak, 1500 rpmde 15 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonrası gözlenen 3 fazdan, kistlerin bulunduğu orta faz kısmı dikkatli bir şekilde temiz bir falkona aktarılır. *G. intestinalis* kistlerinin bulunduğu bu süspansiyon üzerine distile su eklenerek 2500 rpm de 2 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonrası süpernatant kısmı uzaklaştırılarak pellet kısmı temiz bir ependorfa alınarak kalıcı preparat hazırlamak ve öğrenci pratiklerinde kullanılmak üzere +4°C'de saklanır (Şekil 1). Elde edilen kist süspansiyonu altı ay boyunca ayda bir incelenerek kistlerin morfolojisi ve canlılığı değerlendirilir. Kist süspansiyonuna gliserin jel yöntemi uygulanır ardından %0,1'lik eozin ile boyanarak kalıcı preparat haline getirilir.



Şekil 1. *G. intestinalis* kist saflaştırma basamakları

BULGULAR

Direkt incelemede *G. intestinalis* kist ve/veya trofozoit tespit edilen örnekler (Şekil 2) 1M sakkaroz ile saflaştırılmıştır (Şekil 3). Elde edilen saf kistler %0,1'lik eozin kullanılarak boyanmış ve bu şekilde kist canlılığını kontrol etme yöntemi, bize olgunlaşan kistlerin bir canlı tarafından alınmaz ise bir süre sonra canlılıklarını yitirdiklerini göstermiştir (Şekil 4). Kistlerden kalıcı preparatlar hazırlanmış olup altı ay boyunca ayda bir incelendiğinde kistlerin bu 6 ay sürede şekillerinin bozulmadığı, morfolojisinin değişmediği, eğitim ve tanı için bu kistlerin kullanılabilirliği düşünülmektedir (Şekil 5).



Şekiller 2. Direkt bakı (A. Nativ, B. Lugol); 3. Saflaştırma sonrası *G. intestinalis* kistleri (A. Nativ, B. Lugol); 4. Eozin boyalı *G. intestinalis* kistleri; 5. Trikróm boyalı *G. intestinalis* kistleri



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

TARTIŞMA VE SONUÇ

G. intestinalis, dünyanın her tarafında yaygın olarak bulunan, özellikle çocuklarda sık rastlanılan bir barsak protozoonudur. Asemptomatik veya şiddetli seyredabilen ishal, malabsorbsiyon ve kilo kaybı gibi farklı hastalık spektrumuna neden olur. Giardiasis teşhisi, çoğunlukla dışkıda parazitin kist veya trofozoit evrelerinin mikroskopik olarak incelenmesiyle yapılır. Son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde yurdumuzda giardiasis görülme sıklığının %5-33 arasında değiştiği görülmektedir (6, 7). Çalışmamızda *G. intestinalis*'in doğru tanı ve tedavisi için gerek öğrencilerin gerekse teknisyenlerin eğitiminde kullanılacak olan kalıcı preparat hazırlanması amaçlanmıştır. Son yıllarda yapılan hemen hemen tüm çalışmalarda enfekte insan dışkısında *G. intestinalis* kistlerini saflaştırırken 1M sakkaroz kullanıldığı gözlenmiştir (8). Çalışmamızda enfekte insan dışkısından *G. intestinalis* kistlerini 1M sakkaroz ile saflaştırdık. Bugün kistler ile yapılan birçok çalışmada bu yöntemin kullanılması ve çalışmamızda da iyi sonuç vermesi kist saflaştırmada bu yöntemden yararlanılabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda enfekte insan dışkısından elde edilen saflaştırılmış *G. intestinalis* kistleri ile gerek kültür gerekse kist ve trofozoitleri ile yapılacak çalışmalara yardımcı olması, tanı laboratuvarında uzman eğitimleri, asistan ve teknisyen eğitimleri için elde edilen referans preparatlar hazırlanması, başta tıp ve sağlık bilimleri öğrencilerine eğitim-öğretim preparatları hazırlanması, moleküler tabanlı çalışmalarda yardımcı olması amacıyla yukarıda tarif edilen Sheffield ve Bjorvatn'ın 1M sakkaroz çözeltisi üzerinden *G. intestinalis* kistlerinin yoğunlaştırılarak elde edilmesinin kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Üstün, Ş., Oruç, N., İltar, T. Giardia intestinalis ve gaitada total yağ tayini. Akademik gastroenteroloji dergisi, 2012, 11.1: 7-10.
2. Sheffield, H.G., Bjorvatn, B. Ultrastructure of the cyst of Giardia lamblia. The American journal of tropical medicine and hygiene, 1977, 26.1: 23-30.
3. Bayram, Y., Parlak, M., Çıkman, A. Van Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde Giardia intestinalis ve Entamoeba histolytica/dispar prevalansı: Dört yıllık izlem. Dicle Tıp Dergisi, 2013, 40.1: 40-44.
4. Muhsen K., Levine MM. A systematic review and meta-analysis of the association between Giardia lamblia and endemic pediatric diarrhea in developing countries. Clin Infect Dis 2012; 55(4): 271-93.
5. Seidel JS. Giardiasis. In: Ralph D. Feigin, James D. Cherry, Gail J. eds. Textbook of Pediatric Infectious Disease, 5th ed. Philadelphia, Pa, Saunders, 2004: p:2672-2676.
6. Elkadi A., Smith DH., Hommel M. Early diagnosis of giardiasis by faecal antigens detection using capture EIA in cohort of children in the United Arab Emirates. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1992; 186: 520-21.
7. Garcia LS., Bruckner DA. Giardia lamblia Diagnostic Medical Parasitology, Second edition. Washington DC: American Society for Microbiology 1993: p.31-39.
8. Bingham AK., Jarroll EL., Jr, Meyer EA., Radulescu S. Giardia sp.: physical factors of excystation in vitro, and excystation vs eosin exclusion as determinants of viability. Exp Parasitol. 1979 Apr; 47(2):284-291.



P53.

Farklı Oranlarda Deniz Suyu İçeren Ortamların *Culex pipiens* ve *Aedes aegypti* Sivrisinek Larvaları Üzerindeki Etkisi

Ayşegül CENGİZ, Burak POLAT, Mehmet ÇİVRİL, Hüseyin ÇETİN

Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ANTALYA

E-posta: aycen07@gmail.com

Amaç: Küresel iklim değişikliklerinin neden olduğu sıcaklık artışıyla beraber, kalıcı buz tabakaları erimekte ve bunun sonucu olarak okyanus ve deniz suyu seviyelerinde yükselmeler meydana gelmektedir. Yükselen tuzlu sular tatlı su ekosistemleriyle buluştukları noktalarda, tuzluluk değerini değiştirerek bu alanlarda yaşayan canlıların hayatlarını etkileyebilmektedir. Sucul habitat değişikliklerinden etkilenebilecek canlı gruplarından biri de Zika ve Batı Nil Ateşi gibi hastalıkların vektörlüğünü yapan sivrisineklerdir. Bu çalışmanın amacı, farklı oranlarda deniz suyu içeren ortamlarda yaşayabilecek sivrisinek türlerinin larva gelişimlerinin tuzluluk değişiminden etkilenip etkilenmediğinin belirlenmesidir.

Yöntem: Bu çalışmada Akdeniz Üniversitesi, Medikal Entomoloji ve Vektör Kontrol Laboratuvarı'nda bulunan *Culex pipiens* L. ve *Aedes aegypti* L. sivrisineklerinin 2.-3. evre larvaları kullanılmıştır. Testlerde her bir tekrarda 10 adet larva kullanılmış ve tüm denemeler 4 tekrarlı olarak yapılmıştır. İçerisinde %5-50 arasında değişen oranlarda deniz suyu bulunan ortamlara bırakılan larvaların 120 saat sonundaki ölüm oranları kayıt edilmiştir. Elde edilen ölüm oranlarının yüzde ortalama değerleri Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile $p \leq 0,05$ düzeyinde karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Elde ettiğimiz bulgulara göre 120. saatin sonunda *Cx. pipiens* larvalarının %40 ve altındaki deniz suyu içeren ortamlarda hayatta kalma oranları %47,5-97,5 arasında değişirken, *Ae. aegypti* larvalarının %30 ve altındaki deniz suyu içeren ortamlarda hayatta kalma oranlarının %30-87,5 arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Deniz suyu karışım oranları açısından iki türün hayatta kalma olasılıkları karşılaştırıldığında %15, %30 ve %40 oranlarında deniz suyu içeren ortamlarda *Cx. pipiens* larvalarının hayatta kalma olasılığının daha fazla olduğu tespit edilmiştir ($p \leq 0,05$). *Ae. aegypti* larvaları %40 ve %50 oranlarında deniz suyu içeren ortamlarda, *Cx. pipiens* larvaları ise %50 deniz suyu içeren ortamda hayatta kalamamışlardır.

Sonuç: Küresel iklim değişikliği deniz ve okyanus seviyelerinin artışına neden olarak tuzlu suların tatlı sularla karışma olasılığını arttıracaktır. Tatlı su ekosistemlerinde artmaya başlayan tuzluluk değerlerinin birçok canlı grubu üzerinde olumlu/olumsuz etkileri olması beklenmektedir. Elde ettiğimiz sonuçlar artan tuz konsantrasyonlarının *Cx. pipiens* ve *Ae. aegypti* sivrisinek türleri için değişen oranlarda olumsuz etkileri olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Aedes*, *Culex*, İklim değişikliği, Larva, Tuzluluk



P54.

Presence of *Toxocara* spp. and Other Zoonotic Parasites Ova in Children's Playground in Karaman, Turkey

Mehmet Fatih AYDIN

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, KARAMAN

E-mail: veterinermfa@gmail.com

Aim: Human toxocariosis (HT) is a widespread and neglected parasitic disease around the world and it is caused by *Toxocara canis* and *Toxocara cati*, a common nematode found in dogs and cats. Children catch to HT after ingestion of embryonated *Toxocara* spp. eggs via contaminated materials such as soil, hair and etc. The aim of this study is to investigate *Toxocara* spp. and other zoonotic parasites in children's playgrounds in Karaman province of Turkey.

Methods: In total, 103 samples (68 sand soil, 26 soil and 9 stool) were taken from 20 randomly selected children's playgrounds in May 2018 in the province. Samples were examined by flotation in saturated NaCl solution and parasite ova were diagnosed under the light microscope morphologically.

Results: Of the 20 screened playgrounds, 11 (55%, CI 33.6-75.2) and 27 analyzed sample (26.2%, CI 18.4-35.2) were positive one or more parasite species. While *Toxocara* spp. eggs were the most common species in total (19.4%, CI 12.6-27.8), taeniid (*Taenia* spp., *Echinococcus* spp.) eggs and *Ancylostoma* spp. eggs were found in seven (6.8%, CI 2.97-12.7) and one (0.97%, CI 0.05-4.21) samples respectively. Also, one soil sample was found to be contaminated with both *Toxocara* and taeniid eggs.

Conclusion: These results demonstrate that children's playgrounds in Karaman may be a source for HT and other zoonotic infections. We advise to be fenced children's playgrounds in order to prevent pet animal's accessibility.

Key Words: Karaman, playground, soil, *Toxocara*, Turkey



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

P55.

İnsanlarda Kene ile Bulaşan Hastalık Etkenleri ve Türkiye'deki Mevcut Durumu

Mehmet Fatih AYDIN, Ayşe COŞKUN

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, ¹Sağlık Bilimleri Fakültesi; ²Fen Bilimleri Enstitüsü, KARAMAN

E-posta: veterinermfa@gmail.com

Vektörler ve vektörler ile bulaşan hastalık etkenleri önemli problemlere neden olurlar. Keneler memeli, kuş ve sürüngenler gibi pek çok canlının kanıyla beslenen vektörlerdir. Keneler kan emmeleri esnasında 200 kadar virüs, bakteri, riketsiya, spiroket, protozoon ve helmint türlerini nakledebilirler. Kenelerin insanlara naklettiği başlıca hastalık etkenleri; Kırım-Kongo kanamalı ateşi virusu, kene kaynaklı ensefalit virusu, Powassan ensefalit virusu, Kıyasanur orman hastalık virusu, Colorado kene ateşi virusu, *Babesia* spp., *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Francisella tularensis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis* ve *Rickettsia rickettsii*'dir. İnsanlara kenelerle bulaşan mikrobiyal hastalık etkenleri; oluşturduğu hastalık, vektör, epidemiyoloji, belirtiler, tanı ve tedavi bakımından özetlenmiş ve Türkiye'deki mevcut durumu sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Kene, kene ile bulaşan hastalık etkenleri, mevcut durum, Türkiye



P56.

Ev Tozu Akarlarının Saptanmasında Kullanılan Yöntemlerin Etkinliklerinin Araştırılması

Cihangir AKDEMİR¹, Nejla CEBECİ GÜLER¹, Emei UZUNOĞLU KARAGÖZ¹, Şahin DİREKEL¹, Ükü KARAMAN²

¹Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, GİRESUN;

²Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, ORDU

E-posta: cihangirakdemir@yahoo.com

Amaç: Bu çalışma ev tozu akarlarının tespitinde kullanılan farklı yöntemlerin etkinliklerini, avantaj ve dezavantajlarını belirlemek amacıyla yürütülmüştür.

Yöntem: Giresun il merkezinden rastgele seçilmiş 40 eve ait toz örneği tuzlu su flotasyon, laktik asit flotasyon, laktik asit sıcak preparasyon, kaba eleme ile laktik asit soğuk preparasyon ve ELISA yöntemi ile Der p1 antijeni araştırılmasıyla incelenmiştir. Toz örnekleri üst üste konulan 0,4 ve 0,075 mm gözenekli eleklerle yaklaşık 125 rpm hızla dairesel hareket ettirilerek katmanlara ayrılmış ve tartılarak porsiyonlanmıştır. Kaba eleme için ise 0,5 mm gözenekli plastik bir elekten istifade edilmiştir. Doymuş tuzlu su veya laktik asit kullanılarak filtratların süzüldüğü ilk üç yöntemde örnekler stereo mikroskop altında incelenmiş ve tespit edilen akarlar ppd enjektör iğnesi yardımıyla toplanarak sayılmış, preparasyonlarında Hoyer medyumundan istifade edilmiştir. Kaba eleme ile laktik asit preparasyon yönteminde lam lamel arası geçici preparat haline getirilenlerin sayım ve teşhisleri mikroskop altında (10x, 40x) gerçekleştirilmiştir. Tozun antijenik analizi için gerekli olan örnekler ikili elekten elde edilmiş ve test üreticinin talimatları doğrultusunda çalışılmıştır.

Bulgular: Dört ev tozu örneğinde (%10) hem mikroskopik hem de antijenik yöntemle akar tespit edilmemiştir. Herhangi bir mikroskopik yöntemle pozitif değerlendirilmiş 36 örneğin 4'ünde (%11,1) laktik asitle flotasyonla, 2'ser tanesinde (%5,6) laktik asit kaynatma ve laktik asit sıcak preparasyonla ve 1'inde (%2,8) ise kaba eleme laktik asit preparasyon ile akar tespit edilememiştir. Elde edilen filtrat ve prepatların mikroskopik incelenmesinde *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *E. maynei*, *Dermatophagoides* spp. protonimfi ve tritonimfi, *A. siro*, *G. domesticus*, *L. destructor*, *T. putrescentiae*, *C. arcuatus* ve *Cheyletus* spp. tespit edilmiştir. Toz örneklerinin %10'u mikroskopik olarak negatif bulunmuşken bu oran Der p1 için %12,5 olarak belirlenmiştir.

Sonuç: Mikroskopik teşhis yöntemlerinde her bir numunenin hazırlanması ve mikroskopta incelenmesi için 2-4 saatlik süreler gerekmesine karşın Elisa yönteminde antijen hazırlanması ve testin çalışılması için 8 saat yeterli olmaktadır. Bütün örnekler aynı anda beraber çalışıldığı için süre açısından en avantajlı yöntem olarak gözlenmiştir. En fazla akar tuzlu su flotasyon yöntemiyle tespit edilmiş, bunu sırasıyla laktik asit lam lamel incelemesi, laktik asit flotasyon ve laktik asit kaynatma yöntemi izlemiştir. Gr toz / akar sayısı ile yapılan değerlendirmede ise en etkin yöntem kaba eleme ile laktik asit preparasyon olarak tespit edilmiş, bunu sırasıyla laktik asit sıcak preparasyon, laktik asit flotasyon ve tuzlu su flotasyon yöntemleri takip etmiştir. Ev tozunun mikroskopik yönden incelenmesinde ideal yöntemin, hem pratik ve daha kısa sürede gerçekleştirilmesi, hem de gözlenen akar sayısının ve gelişim formlarının fazla bulunmuş olması nedeniyle, iri elenmiş tozun laktik asit ile lam lamel preparasyonu olduğu değerlendirilmiştir. Ancak bu yöntemle akarlar sadece tespit ve teşhis edilmekte daimi



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

preparasyonları mümkün olmamaktadır. Yöntemin diğer bir dezavantajı ise toza ait diğer bileşenlerin tür teşhislerini zorlaştırabilmesidir. Bu yöntemde yapılan preparatlar bir yıldan daha fazla saklanabilmekle beraber süre uzadıkça teşhiste önem arz eden detaylı yapılarının görülebilmesi güçleşebilmektedir. Tuzlu su flotasyon, laktik asit flotasyon veya laktik asit süzme yönteminde filtratlardan akarların tespiti ve toplanmasının güç ve zaman alıcı olmasına karşın bundan yapılan daimi preparatların teşhis ve görüntülenmeleri çok daha iyi olmaktadır. Sonuç olarak yöntemlere göre elde edilen akar sayıları arasındaki fark anlamlı bulunmamış ($p<0,05$) olmasına karşın bunun uygulayıcıdan veya porsiyonlanmış örneklerdeki akar dağılımından da kaynaklanmış olabileceği düşünülebilir. Ev tozu akar araştırılması için yapılacak çalışmalarda, daimi preparasyona ihtiyaç duyulmaması durumunda, kaba eleme laktik asit lam lamel yönteminin en pratik ev tozu akar teşhis yöntemi olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *D. pteronyssinus*, ev tozu akarı, gıda akarı, Der p1.

Bu çalışma Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından SAĞ-BAP-A-140316-83 no'lu proje ile desteklenmiştir.



P57.

**Alerjik Rinit ve Bronşiyal Astımlı Hastalarda Ev Tozu Akar Epidemiyolojisi
(Ordu İli Örneği)**

**Üikü KARAMAN¹, Mukadder KORKMAZ², Hakan KORKMAZ², Yasemin KAYA³,
Cihangir AKDEMİR⁴, Gamze KAÇMAZ⁵, Şermin TOP⁵, Merve BİNGÖL⁵**

Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Tıbbi Parazitoloji AD; ²Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları AD; ³İç Hastalıkları AD, ORDU; ⁴Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, GİRESUN; ⁵Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğrencisi, ORDU

E-posta: cihangirakdemir@yahoo.com

Amaç: Çalışmada, Ordu ilindeki alerjik rinit ve bronşiyal astım tanılı hastaların ev ve çalışma ortamlarında akarların insidansının belirlenmesi ile birlikte, evde kullanılan eşyalar, temizlik uygulama farklılıkları ve meslekler gibi yaşam tarzına etki eden faktörler ile akarların varlıkları arasındaki ilişkilerin incelenmesiyle, tanı ve mücadele için pratik, etkili yöntemlerin saptanması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmanın evrenini Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kulak Burun Boğaz ve Dahiliye Polikliniğine astım ve diğer alerjik şikayetlerle gelen kişiler oluşturmuştur. Çalışma Ordu ili ve çevresinden gelen hastalarla sınırlı olmuştur. Hastalara uygulanan ankette her soruya hastanın dürüst ve içtenlikle cevap verdiği kabul edilmiştir. Laboratuvarında ev tozları elenerek laktik asit çöktürme tanı yöntemleri uygulanarak preparatlar hazırlanmıştır.

Bulgular: Çalışmada 160 örnek incelenmiş ve 55'i negatif olarak saptanmıştır. Yoğunluk sırasına göre en çok saptanan tür *Dermatophagoides pteronyssinus*, *D. farinae*, *Euroglyphus maynei*, *Dermatophagoides nimfi*, *Acarus siro*, *Glycyphagus domesticus*, *Chortoglyphus arcuatus*, *Cheyletus spp.*, *Tyrophagus putrescentiae*, *Lepidoglyphus destructor*, *Oribatida spp.* ve teşhis edilemeyenler olarak belirlenmiştir.

Sonuç: Tespit edilen ev tozu akarlarından *D. pteronyssinus* baskın tür olarak görülmüş olup, az miktarda olmakla beraber *D. farinae* ve *E. maynei*'nin de bulunduğu anlaşılmıştır. Gıda akarı olarak kabul edilen türlerin de popülasyonda bulunduğu ve diğer akar türleri gibi ev ortamında hızlı bir şekilde üreyebilmeleri nedeniyle önemli olabileceği düşünülmektedir. Ev tozu akarlarının özellikle duyarlı kişiler açısından önemli bir sağlık problemi oluşturabilmesi nedeniyle ilgili branş hekimleriyle temasa geçilerek bu kişilerin tedavilerinin yanı sıra, ev ortamındaki mücadele ile ilgili eğitimlerin de verilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Dermatophagoides pteronyssinus*, astım, alerji, ev tozu akarı



P58.

Leishmania tropica İzolatlarında Farklı Kriyoprezervasyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Nami Ege PERK, İbrahim ÇAVUŞ, Ahmet ÖZBİLGİN

Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA

E-posta: egeprk@gmail.com

Amaç: Parazitlerin geleneksel yöntemlerle *in vitro* veya *in vivo* üretimi ve saklanması, kültürasyonda meydana gelebilecek hatalar, pasajlar sırasında ortaya çıkabilecek olası mutasyonlar ile organizmanın biyolojik ve metabolik özelliklerinde değişimler, bakteri ve mantar kontaminasyonları, yüksek maliyet ve bulaş riski gibi durumlarla kısıtlanmaktadır. Günümüzde kriyoprezervasyon adı verilen teknik ile bu dezavantajların önemli ölçüde önüne geçilebilmektedir (1, 2, 3). Kriyoprezervasyon, hücre veya dokuların özel koruyucu maddeler ile çok düşük sıcaklıklarda saklanmasıdır ve farklı bilim dallarında sıklıkla uygulanmaktadır. Temel amaç, dondurma ve çözme işlemlerinde muhtemel buz kristallerinin oluşumunu en aza indirerek saklanan hücrelerin zarar görmesinin önüne geçmektir. Kriyoprezervasyon tekniğinde hücre ve doku materyallerini dondurmak için çeşitli yöntemler ve kriyoprotektan maddeler kullanılmaktadır. Dondurma ve çözme işlemi sırasında DMSO, etilen glikol, gliserol, sorbitol gibi koruyucu maddelerin yanı sıra materyale uygun bir prosedür izlemesi de gerekmektedir (4, 5). Bu sebeple çözme işlemi esnasında su banyosunun 35-40 °C'de kullanılması önerilmektedir (6, 7, 8). Çalışmamızda *Leishmania tropica* izolatları kullanılarak kademeli dondurma, hücre dondurma konteynırı (CoolCell® Cell Freezing Container) ile dondurma ve vitrifikasyon olmak üzere üç farklı kriyoprezervasyon yöntemi uygulanmıştır. Kriyoprotektan maddesi olarak hücre içi etilen glikol ve hücre dışı glukoz kullanılmıştır. Çalışmanın amacı farklı yöntemlerle dondurulmuş örneklerde, çözme işlemi sonrası, en yüksek canlılık yüzdesinin belirlenmesi ve laboratuvar çalışmalarına en uygun yöntemin saptanmasıdır.

Yöntem: Çalışmamızda Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Parazit Bankası bünyesinde bulunan ve NNN besiyerlerinde ardışık parasajlarla devam ettirilen *Leishmania tropica* suşları kullanılmıştır. NNN besiyerinde üretilen promastigotlar RPMI 1640 +%10 Fetal Bovine Serum +%1 Gentamisin solüsyonu ve %1 Penicillin/Streptomycin solüsyonu içeren sıvı besiyerlerine alınarak 26°C'deki etüv içerisinde 10 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Logaritmik faza giren promastigotlar steril falcon tüplerine aktarılmış, 4400 rpm 10 dakika +4°C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda süpernatant dökülerek pellet üzerine 10 ml fosfat tampon solüsyonu (PBS) eklenmiştir. Santrifüj işlemi tekrarlanmış ve süpernatant santrifüj sonunda dökülmüştür. Bu yıkama işlemi 3 defa uygulanmıştır. Yıkama işleminin ardından pellet üzerine PBS eklenmiş ve promastigot sayısı mikroskopta Thoma lamı ile sayılarak 10⁷ ml/promastigot olacak ayarlanmıştır. Hazırlanan promastigot süspansiyonlarının üzerine %23 etilen glikol, %21,8 etilen glikol + %1,2 glukoz, %20,5 etilen glikol + %2,5 glukoz, %19,2 etilen glikol + %3,8 glukoz, %17,9 etilen glikol + %5,1 glukoz, %16,6 etilen glikol + %6,4 glukoz olmak üzere 6 farklı konsantrasyonda kriyoprotektanlar eklenmiş ve steril pastör pipeti yardımıyla homojen bir şekilde karıştırılması sağlanmıştır. Ardından karışımlar, steril internal kapaklı kriyo tüplerine 1 ml olacak şekilde aktarılmıştır. Her farklı kriyoprotektan konsantrasyonlu karışım, her yöntem için ikişer tane olacak şekilde 12 kriyo tüpü ve kontrol amaçlı kriyoprotekansız 6 promastigot süspansiyonu ile toplamda 42 kriyo tüpü hazırlanmıştır. Kademeli dondurma yöntemi için 14 kriyo tüpü sırasıyla +4 °C'de 30 dakika, -20 °C'de 90 dakika, -86 °C'de 24 saat bekletilerek sıvı azot tankına aktarılmıştır. 14 kriyo tüpü CoolCell kutularına yerleştirilerek bir gece -86 °C'de bekletilmiş ve



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

ardından sıvı azot tankına aktarılmıştır. Vitrifikasyon yöntemi için hazırlanmış örnekler beklenmeksizin hızlıca sıvı azot tankına aktarılmıştır. Bir yıl boyunca birer ay ara ile her farklı konsantrasyondan kriyo tüpü, sıvı azot tankından çıkarılarak 37 °C sıcak su banyosunda çözündürülmüştür. Promastigotlar mikroskop altında hareketliliklerine ve Eozin boyası testine göre değerlendirilmeleri için Thoma lamı ile canlılık yüzdelere bakılmıştır. Her bir örnek NNN besiyerine ekilmiş ve 26 °C'lik etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Ekim sonrası örnekler 3., 5., 7., ve 9.günlerde üremeleri açısından değerlendirilmiştir.

Bulgular: Mikroskopik incelemede, kontrol grubu kriyoprotektansız promastigotların morfolojik yapılarının bozulduğu ve canlılıklarını kaybettiği gözlemlenirken, her yöntem ve konsantrasyonda tüplerde değişen oranlarda canlılığın korunduğu görülmüştür (Tablo 1).

Tablo 1. Konsantrasyonlara ve Kriyoprezervasyon yöntemine göre canlılık yüzdeleri, morfolojik değişimler ve NNN besiyerinde üreme durumu

Konsantrasyon	Kriyoprezervasyon yöntemi	Canlılık yüzdesi	Morfolojik değişim	NNN besiyerinde üreme
%23 etilen glikol (900µl etilen glikol)	Kademeli dondurma	%70	-	+
	CoolCell ile dondurma	%50	-	+
	Vitrifikasyon	%10	Vakuol mevcut	-
%21,8 etilen glikol + %1,2 glukoz (850 µl etilen glikol + 50 µl glukoz)	Kademeli dondurma	%75	-	+
	CoolCell ile dondurma	%60	-	+
	Vitrifikasyon	%15	Vakuol mevcut	-
%20,5 etilen glikol + %2,5 glukoz (800 µl etilen glikol + 100 µl glukoz)	Kademeli dondurma	%80	-	+
	CoolCell ile dondurma	%80	-	+
	Vitrifikasyon	%15	Vakuol mevcut	-
%19,2 etilen glikol + %3,8 glukoz (750 µl etilen glikol + 150 µl glukoz)	Kademeli dondurma	%85	-	+
	CoolCell ile dondurma	%90	-	+
	Vitrifikasyon	%50	-	-
%17,9 etilen glikol + %5,1 glukoz (700 µl etilen glikol + 200 µl glukoz)	Kademeli dondurma	%80	-	+
	CoolCell ile dondurma	%75	-	+
	Vitrifikasyon	%45	Vakuol mevcut	-
%16,6 etilen glikol + %6,4 (650 µl etilen glikol + 250 µl glukoz)	Kademeli dondurma	%75	-	+
	CoolCell ile dondurma	%70	-	+
	Vitrifikasyon	%30	Vakuol mevcut	-

Sonuç: Çalışmamızda *Leishmania tropica* izolatında farklı konsantrasyonlarda kriyoprotektan maddeleri ile üç farklı kriyoprezervasyon yöntemi karşılaştırılmış ve canlandırma sonucu üreme süreleri farklılık göstermiştir. Çözdürme işlemi sonrası %90 olarak belirlenen en yüksek canlılık yüzdesi, CoolCell dondurma konteynırı ile yapılan yöntemde, %19,2 etilen glikol + %3,8 glukoz kriyoprotektan konsantrasyonunda tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kriyoprezervasyon, parazit, *Leishmania tropica*, vitrifikasyon, etilen glikol



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Kaynaklar

1. J.H. Gill, J.M. Redwin, Cryopreservation of the first-stage larvae of trichostrongylid nematode parasites, *Int. J. Parasitol.* 25 (1995) 1421–1426.
2. S.M. Mutetwa, E.R. James, Cryopreservation of *Plasmodium chabaudi*, II cooling and warming rates, *Cryobiology* 21 (1984) 552–558.
3. S. Uga, T. Matsumura, Studies on the cryopreservation of *Trichomonas vaginalis*, effects of cryoprotective agent and “seeding” of ice, *Jpn. J. Parasitol.* 28 (1979) 421–426 (In Japanese with English summary).
4. Doyle A, Griffiths JB, Newell DG. Cell and tissue culture. Laboratory procedures. England: John Wiley and Sons Ltd, 1995; 3A: 1.1 - 3C: 1.1.
5. McGann LE. Optimal temperature ranges for control of coding rate. *Cryobiology* 1991; 28: 467-73.
6. Ollero M, Blanco TM, Lopez Perez MJ, Cebrian Perez JA. Surface changes associated with ram sperm cryopreservation revealed by counter-current distribution in an aqueous two-phase system. Effect of different cryoprotectants. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1996; 680 (1-2): 154-64.
7. Diggs CL, Joseph K, Flemmings B, Snodgrass R, Hines F. Protein synthesis in vitro by cryopreserved *P. falciparum*. *Am J Trop Med Hyg.* 1975; 760-3.
8. Wolfe J, Yan Z, Pope J. Hydration forces and membrane stresses. cryobiological implication and a new technique for measurement. *Biophys Chem* 1994; 49: 51-8



P59.

***Leishmania tropica* Promastigot ve Amastigotlarının Farklı Sıcaklıklardaki Yaşam Süreleri**

Cankut KARABULUT, İbrahim ÇAVUŞ, Ahmet ÖZBİLGİN

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD, MANİSA

E-posta: ckbulut@windowslive.com

Amaç: Dünyanın birçok yerinde ve ülkemizde de görülen leishmaniasis, insanlarda ve bazı hayvanlarda (özellikle köpeklerde) önemli parazitozudur. Yapılan bu çalışmanın amacı *Leishmania tropica*'nın amastigot ve promastigot formlarının çeşitli sıcaklıklardaki canlılıklarını gözlemlemektir.

Yöntem: Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankası'nda sıvı azotta muhafaza edilen *Leishmania tropica* promastigot ve amastigot formlarını içeren cryo tüpleri sıvı azot tankından çıkarılarak uygun koşullarda çözdürülmüştür. Daha sonra 5 ml %10 Fetal Bovine Serum içeren RPMI 1640 besiyerine aktarıldı. 4400 rpm 10 dk +4°C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda üst kısım atılarak pellet elde edildi. Pellet üzerine 5 ml besiyeri eklenmiş ve pellet pipet yardımıyla homojen hale getirilerek santrifüj işlemi yapılmıştır. Bu yıkama işlemi 2 kez daha tekrarlanmıştır. Yıkama işleminden sonra promastigot ve amastigot içeren tüplerin içerisine 5 ml besiyeri eklenerek pellet homojen hale getirilmiştir. Daha sonra tüpler +4°C ve 37°C sıcaklığındaki ortamlara konulmuştur. Amastigot formların bulunduğu tüplerden 24 saat sonra alınan örnekler NNN besiyerine ekilmiştir. Ekimden 24 saat sonra örneklerin canlılıkları mikroskop altında incelenmiştir. Bu işlem düzenli olarak her 24 saatte bir tekrar edilmiştir. Promastigot formların bulunduğu tüplerdeki örnekler hem besiyerine ekilerek hem de direkt lam-lamel arası yapılarak mikroskop altında canlılıkları incelenmiştir. Bu işlem düzenli olarak her 24 saatte bir tekrar edilmiştir.

Bulgular: Amastigot formu için, +4°C'de muhafaza edilen örnekler 1,2,3,4,5,6 ve 7. günlerde NNN besiyerine yapılan ekimlerinde promastigot üremesi görülmüştür. Daha sonraki günlerde NNN besiyerine yapılan ekimlerinde promastigot üremesi olmamıştır. 37°C'de amastigot formda muhafaza edilen örneklerde ise 1. ve 2. günde yapılan ekimlerde promastigot üremesi görülürken, 3. günden itibaren yapılan ekimlerde promastigot üremesi olmamıştır. Promastigot formu için, +4°C'de ve 37°C'de muhafaza edilen örnekler 1,2,3,4,5,6 ve 7. günlerde NNN besiyerine yapılan ekimlerinde üreme görülürken, 8. günden itibaren üreme olmamıştır.

Tartışma ve Sonuç: Christophers ve arkadaşları 1925 yılında yaptıkları bir çalışmada 37°C'de birkaç gün içinde organizmaların öldüğünü ancak 34°C'de promastigotların 3 günden uzun süre yaşayabildiğini fakat çoğalamadıklarını bildirmişlerdir. Chang ve Negherbon'un 1947 yılında yaptıkları bir çalışmada 37°C'deki canlılığın 1 gün olduğunu bildirmişlerdir. Trager'ın 1953 yılında yapmış olduğu bir çalışmada 37°C'de amastigotların ve promastigotların 1-2 gün arası yaşadığını bildirmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada 37°C'de promastigotların 7 gün ve amastigotların 2 gün yaşadığı, +4°C'de ise promastigotların ve amastigotların 7 gün yaşadığı gözlenmiştir.

Çalışmamız sonucunda *Leishmania tropica*'nın *in vitro* ortamda +4°C ve 37°C'de amastigot ve promastigot formlarının yaşam süreleri tespit edilmiştir. Amastigot ve promastigot formlarının kriyoprotektan maddesi kullanılmadan saklanması için gerekli olan sıcaklık ve süreler belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Leishmania tropica*, amastigot, promastigot



P60.

Hamam Böceklerinin Doğal Düşmanları; Parazitoitler

Emre ÖZ, Hüseyin ÇETİN, Atila YANIKOĞLU

Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ANTALYA

E-posta: emreoz2013@gmail.com

Amaç: Hamam böcekleri depolanmış gıda ürünlerine zarar vermelerinin yanı sıra; bakteri, parazit ve mantar gibi patojenik organizmalarında vektörlüğünü yapmaktadırlar. Doğada hamam böcekleri üzerinde etkin olan patojen bakteri, mantar ve parazitoit canlılar bulunmakta ve bu canlıların biyolojik mücadele ajanı olarak farklı çalışmalarda kullanıldığı görülmektedir. Parazitoit canlılar hamam böceklerinin farklı yaşam dönemlerine (yumurta paketi, nimf veya ergin) yumurta bırakarak hamam böceklerin ölümüne sebep olurlar. Bu çalışmada dünya literatüründeki hamam böceği parazitoitleri hakkında yapılan çalışmaların genel olarak sunulması amaçlanmıştır.

Yöntem: Web of Science ve Google Akademik arama motorları kullanılarak hamam böceği parazitoitleri hakkında literatür taraması yapılmıştır.

Bulgular: Elde edilen literatür sonuçlarına göre hamam böcekleri üzerinde etkili olan parazitoitlerin en önemli grubunu Hymenoptera takımının içerisinde yer alan *Evaniidae*, *Pteromalidae*, *Eulophidae*, *Eupelmidae* ve *Encyrtidae* familyaları oluşturmaktadır. Parazitoitlerin hamam böcekleriyle mücadeledeki başarısı hususunda, *Periplaneta* ve *Blatta* cinslerinin türlerine karşı *Aprostocetus hagenowii* (Ratzeburg) ile *Evania appendigaster*, *Supella longipalpa* (F.) türüne karşı ise *Comperia merceti* (Compere) parazitoit türleri ön plana çıkmaktadır. Ülkemizde özellikle tarımsal alandaki zararlılar üzerinde bulunan parazitoitler hakkında taksonomik araştırmalar ve biyolojik mücadele çalışmaları bulunurken, hamam böceklerinin parazitoitleri ile ilgili sadece bir çalışmada *Periplaneta americana* L. (Amerikan hamam böceği) türünün yumurta paketlerinde *Evania* sp. parazitoitleri tespit edilmiştir.

Sonuç: Doğada biyolojik mücadele açısından önemli olan parazitoitlerin korunması, çoğaltılması ve hamam böceği mücadelesinde diğer kontrol yöntemleri ile entegre olarak kullanılması yönünde daha çok araştırma yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyolojik mücadele, Hamam böceği, Parazitoit



P61.

Antalya, Kayseri ve KKTC'nin Leishmaniasisin Endemik Olduğu Bazı Alanlarında Kum Sineği (Diptera: Psychodidae), Faunasının Belirlenmesi

Kardelen YETİŞMİŞ¹, Suha K. ARSERİM², Hüseyin ÇETİN³, Zeph Nelson OMONDI⁴, Yusuf ÖZBEL⁵

¹Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Parazitoloji AD, İZMİR; ²Manisa Celal Bayar Üniversitesi SHMYO, MANİSA; ³Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ANTALYA; ⁴Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji AD, İZMİR; ⁵Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, İZMİR

E-posta: kardelenyeticismis@gmail.com

Amaç: Phlebotomine kum sinekleri (*Diptera: Psychodidae*), leishmaniasis ve bartonellosis hastalıklarının etkenleri ve çeşitli virüslerin vektörüdürler. Türkiye ve Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde (KKTC) insan ve kanin leishmaniasisine sıkça rastlanmaktadır. Bu çalışmanın amacı, Türkiye'nin Antalya ve Kayseri illeri ile KKTC'de leishmaniasisin endemik olarak görüldüğü bazı alanlarda kum sineği faunasının belirlenmesidir.

Yöntem: Ergin kum sinekleri 2018 yılının Temmuz ve Ağustos aylarında yapılan arazi çalışmalarında CDC ışık tuzakları kullanılarak toplanmıştır. Çalışmaların yapıldığı lokaliteler, bölgedeki leishmaniasis vakaları dikkate alınarak seçilmiştir. Belirlenen lokalitelerde (Yaylalı-Antalya, Büyükkünye-Kayseri, Hamitköy-KKTC) gecelik aktivite çalışması yapılmış ve toplanan kum sinekleri %96'lık alkole alınıp laboratuvara götürülmüştür. Diseksiyonları yapılan erkek kum sinekleri Swan solüsyonu kullanılarak, dişiler ise şeffaflaştırma işlemi için ilk olarak Marc-Andre solüsyonu daha sonra Swan solüsyonu kullanılarak kalıcı preparat haline getirilmiştir. Morfolojik tür teşhisleri standart tayin anahtarları kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular: Antalya ilinden 458, Kayseri ilinden 571 ve KKTC'den ise toplam 208 kum sineği örneği toplanmıştır. Antalya örneklerinde *Phlebotomus* cinsinden 5 alt cinse ait 8 tür, *Sergentomyia* cinsine ait ise 3 tür bulunmuştur. Antalya için %55,1 oranla *P. neglectus/syriacus* baskın tür olarak belirlenmiştir. Kayseri ilinden toplanan örneklerde *Phlebotomus* cinsinden 3 alt cinse ait 4 tür, *Sergentomyia* cinsine ait ise 1 tür bulunmuştur. Örneklerin %91'i dişi kum sineğidir. Kayseri için baskın türler (%61,5) morfolojik olarak ayrımının zor olduğu *Adlerius* altcinsine ait *P. simici* ve *P. halepensis*'tir. KKTC'de ise *Phlebotomus* cinsinden 3 alt cinse ait 4 tür, *Sergentomyia* cinsine ait ise 3 tür bulunmuştur. Dişiler burada da %66 oranla erkeklere göre daha fazla bulunmuştur. Kıbrıs adası için baskın tür %95 oranla *P. papatasi*'dir. Toplama ve preparasyon sırasında zarar görüp identifikasyonu tür düzeyinde yapılamayan örnekler sayısal değerlerinden dolayı hesaplamalara dahil edilmişlerdir.

Sonuç: Kum sineği faunasının belirlenmesi, o alanlarda kum sineklerine yönelik kontrol stratejilerinin belirlenmesinde en önemli unsurdur. Çalışmamızda, belirlenen alanlarda vektör türlerin bulunduğu gösterilmiştir. Endemik bölgelerde yapılan çalışmalarda bulunun kum sineği türleri vektör türlerde daha ileri çalışmalar yapıp *Leishmania* parazitleri ve diğer phlebovirüsleri taşıyıp taşımadıklarının araştırılması gereklidir. Parazit veya virüs varlığının saptanması da bu hastalıklara karşı alınacak önlemlerin derecesini belirleyecektir.

Anahtar Kelimeler: Kum sineği, fauna, Antalya, Kayseri, KKTC



P62.

Prevalance and Molecular Characterization of *Giardia duodenalis* in Livestock in Van, Turkey

**Adnan AYAN¹, Deniz ALIC URAL², Hasan ERDOGAN³, Ozlem ORUNC KILINC⁴,
Mehmet GULTEKIN³, Kerem URAL³**

¹Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Veterinary Medicine Department of Genetics, VAN, TURKEY;

²Adnan Menderes University Faculty of Veterinary Medicine Faculty Farm, AYDIN, TURKEY;

³Adnan Menderes University Faculty of Veterinary Medicine Department of Internal Medicine, AYDIN, TURKEY;

⁴Van Yüzüncü Yıl University, Özalp Vocational School, VAN, TURKEY

E-mail: adnanayan@yyu.edu.tr

Aim: The present study was conducted to determine giardiasis prevalence in farm animals grown in Van province, Turkey using different methods and to identify the *Giardia* agent genotypes in these animals and the importance of the infection in public health.

Method: In the present study, 71 calf 50 lamb, and 66 goat fecal stool samples were obtained from the animal rectum using a disposable latex glove and the samples were transferred to the laboratory. Then, the presence of cysts was examined with a microscope using of saturated zinc sulfate flotation method (ZnSO₄; 33%). Afterwards, the samples were scanned with ELISA-based rapid diagnostic test kits for diagnosis. Then, DNA was extracted with QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Germany). Nested PCR was then conducted with the corresponding primers. DNA sequence analysis was conducted on beta-giardin gene region of each PCR positive samples. Then, sequence analyses were blasted and compared with the access numbers in the gene bank (M36728 for sub-genotype A1, AY072723 for sub-genotype A2, for AY072724 sub-genotype A3, AY072725 for sub-genotype B1, AY072726 for sub-genotype B2, AY072727 for sub-genotype B3, AY072728 for sub-genotype B4).

Results: In the microscopic examination, *Giardia* cysts were identified in 41 calves, 18 lambs, and 23 goats. Positivity was determined with rapid test kits in 38 calves, 16 lambs, and 20 goats. In nested PCR results, specific bands (511 bp) were obtained in 46 calves, 21 lambs and 24 goats. Sequencing findings demonstrated Assemblage A and subgenotype A3 presence in all animal samples.

Conclusion: In the present study, high *Giardia* infection rates such as 64.7% in calves, 42% in lambs, and 36.3% in goats were determined. The sequence analysis demonstrated the presence of *Giardia intestinalis* assemblage A3. In Turkey, studies reported *G. intestinalis* assemblage A (A1, A2 and A3) and B (B1, B2, B3 and B4) genotypes. Based on the present study findings, it could be suggested that farm animals have significant transmission and spread potential for *Giardia* infection, especially in public health.

Key Words: *Giardia duodenalis*, Nested PCR, Assemblage, Farm animals



P63.

Examination of Some Endoparasites Prevalence in Romanov Sheep Imported from Ukraine

Adnan AYAN¹, Turan YAMAN², Ömer Faruk KELEŞ², Hidayet TUTUN³

¹Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Veterinary Medicine Department of Genetics, VAN, TURKEY;

²Van Yuzuncu Yil University Faculty of Veterinary Medicine Department of Pathology, VAN, TURKEY;

³Burdur Mehmet Akif Ersoy University Faculty of Veterinary Medicine Department of Pharmacology and Toxicology, BURDUR, TURKEY

E-mail: adnanayan@yyu.edu.tr

Aim: The aim of the present study was to investigate the prevalence of some endoparasites in the Romanov sheep imported from Ukraine to Turkey.

Method: Stool samples of the sheep (n=156) were examined using flotation, sedimentation and Baerman-Wetzel techniques for parasitological analysis. Furthermore, macroscopic and microscopic examination of the visceral organ were performed in dead sheep.

Results: Among fecal samples examined, 69 (44.23%) were found parasitically positive, *Dicrocoelium dendriticum* was found in 42.3% (n= 66) of samples, *Nematodirus* spp. and *Eimeria* spp, were detected in 3 samples (1.92%) while *Giardia* spp. was not detected. In the examination of the internal organs, adult *D. dendriticum* forms were observed in the liver of eight animals.

Conclusion: The parasitological and pathological findings of the present study showed a high incidence of *D. dendriticum* that causes economic losses due to cases of death, in the Romanov sheep, which has been imported to Turkey in large numbers in recent years.

Key Words: *Dicrocoelium dendriticum*, Helminth, Protozoan, Romanov sheep



P64.

Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na *Echinococcus* IHA İçin Başvuran Hastaların Retrospektif Olarak İncelenmesi

Ahmet ÖZKEKLİKÇİ¹, Fatma AVCIOĞLU², Osman Sezer CİRİT¹, Yelda DEMİR¹

¹Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, GAZİANTEP;

² Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji AD, BOLU

E-posta: ozkeklikci@hotmail.com

Amaç: Kistik ekinokokkozis *Echinococcus sp.* yumurtalarının oral yolla bulaşması sonrasında başta karaciğer olmak üzere iç organlarda kistik oluşuma neden olan bir hastalıktır. Hayvanların enfeksiyon zincirinde önemli yeri olması bu hastalığı ülkemizde ve bölgemizde ciddi bir halk sağlığı sorunu haline getirmektedir. Bu soruna ışık tutması açısından 01.01.2015 - 31.12.2018 tarihleri arasında Dr. Ersin Arslan Gaziantep Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı *Echinococcus* IHA testi hasta kayıtlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: *Echinococcus* IHA testi için 01.01.2015 - 31.12.2018 tarihleri arasında Dr. Ersin Arslan Gaziantep Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı *Echinococcus* IHA testi kayıtları yaş, cinsiyet ve test sonucu açısından retrospektif olarak incelenmiştir.

Bulgular: Toplam 936 hasta başvuru yapmış, 231 hastada (%26) titre 1/320 ve üzerinde çıkmış ve bu sonuçlar pozitif olarak değerlendirilmiştir. Hastaların 100'ü erkek (% 43), 131'i (%57) kadın olup en fazla pozitiflik 64 hasta (%28) ile 30-40 yaş grubunda olmuştur (Tablo 1). Pozitiflik oranının ve sayısının en yüksek olduğu yıl 68 vaka ile (%8) 2016 olmuştur (Tablo 2).

Sonuç: *Echinococcus* IHA testi kistik ekinokokkozis tam olarak değerlendirilmesinde yeterli değildir. Bununla birlikte hastalarımızın kistik ekinokokkozis klinik ön tanısı almış olmaları ve radyolojik bulgularının bulunmasının yanında titre yüksekliği hastalık hakkında fikir vermektedir. Başka laboratuvar testleri ile desteklenerek kistik ekinokokkozisin bölgemizde tanı ve takibinin yapılmasında yarar olduğu kanaatindeyiz.

Tablo 1. Pozitif hastaların yaş ve cinsiyete göre dağılımı

Yaş Grubu	Erkek	%	Kadın	%	Toplam	%
10-20	3	1	5	2	8	3
20-30	14	6	24	10	38	16
30-40	31	13	33	14	64	28
40-50	20	9	17	7	37	16
50-60	15	6	29	13	44	19
60 +	17	7	23	10	40	17
Toplam	100	43	131	57	231	100

Tablo 2. Hastaların yıllara göre dağılımı

Yıllar	NEG	%	POZ	%	Toplam	%
2015	165	19	41	5	206	23
2016	134	15	68	8	202	23
2017	147	17	56	6	203	23
2018	212	24	66	7	278	31
Toplam	658	74	231	26	889	100

Anahtar Kelimeler: Kistik ekinokokkozis, Gaziantep, *Echinococcus* IHA



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

P65.

**Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi 3 Yıllık Gaita İnceleme
Sonuçları ve Analizi**

Ahmet ÖZKEKLİKÇİ¹, Osman Sezer CİRİT¹, Fatma AVCIOĞLU², Yelda DEMİR¹

¹Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, GAZİANTEP; ²Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD., BOLU

E-posta: ozkeklikci@hotmail.com

Amaç: Bağırsak parazitozu halk sağlığı sorunu olarak ülkemizde ve bölgemizde önemini korumaktadır. Bu çalışmada 01.01.2016 - 31.12.2018 tarihleri arasında Dr. Ersin Arslan Gaziantep Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda incelenmiş olan 14.411 dışkı örneğinin geriye yönelik olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Tüm örnekler serum fizyolojik - lugol - tuzlu su flotasyon yöntemi ile hazırlanmış, şüpheli protozoon içeren örneklerde ise trikrom boyama ile boyanmıştır.

Bulgular: Örneklerin 1.448'inde (%11,5) bağırsak parazitine rastlanmış olup; 639'unda (%4,4) *Blastocystis hominis*, 156'sında (%1,07) *Giardia intestinalis*, 319'unda (%2,18) *Entamoeba histolytica/dispar*, 448'inde (%3,11) apatojen protozoon, 30'unda (%0,21) *Hymenolepis nana*, 40'ında (%0,28) *Taenia sp.*, 14'ünde (%0,01) *Enterobius vermicularis*, 7'sinde (%0,05) *Dicrocoelium dendriticum*, 1'inde (%0,01) *Strongyloides stercoralis*, 1'inde (%0,01) *Trichuris trichiura* saptanmıştır. Parazit görülen hastaların 720'si erkek (%53,7), 521'i kadındır (%46,3).

Sonuç: Bölgemizde gerek direkt temas gerek se gıda kökenli bulaşan bağırsak parazitizmaları sağlık sorunu olmaya devam etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bağırsak parazitleri, Gaziantep, protozoon, helmint



P66.

Türkiye Orjinli *Toxoplasma gondii* ve Toksoplazmosis Araştırmalarındaki Tematik Değişim: Bibliyometrik Değerlendirme

Özlem MİMAN, Burcu AĞACIKOĞULLARI, Ceren ERGÜDEN

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, İZMİR

E-posta: ozlmiman@yahoo.com

Amaç: Oldukça ciddi bir halk sağlığı sorunu olan toxoplazmosis ve etkeni *Toxoplasma gondii* keşfedildiğinden bu yana üzerinde hayli çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmada Türk bilim insanlarının son 15 yıldaki konuya ilgisi tematik yönden özetlemeye çalışılmıştır. Ulusal ve uluslararası paylaşımlardaki benzerlik ve farklılıkların gösterilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: PubMed biyomedikal veri tabanı kullanılarak, son 15 yıldaki, Türk bilim insanlarına ait yayınlar, "Toxoplasma gondii, Toxoplazmosis, Turkey" anahtar kelimeleri ile, konu özelinde yaşanan tematik değişimi ortaya çıkarmak üzere bir bibliyometrik değerlendirme yapılmıştır. Analiz konusu yayınlar, 2004-2018 yılları arasında (15 yıl) yayınlanan *Toxoplasma gondii* ve toksoplazmosis ile ilgili özgün araştırma ve diğer (derleme, olgu, teknik not vb) kategoriden paylaşımlardır.

Bulgular: 51'i Türkiye Parazitoloji Dergisi (TPD)'nde olmak üzere toplamda 179 makale aşağıdaki bilgilerle endekslenmiştir: (A) İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan seroprevalans çalışmaları ulusal paylaşımların %76,47'sini (39), PubMed'te taranan diğer dergilerin ise %59,35'ini (76) oluşturmaktadır. TPD'deki seroprevalans çalışmalarının yıllar içinde giderek arttığı ve büyük bir çoğunluğunun laboratuvar enformasyonu şeklinde olduğu; diğerlerinin ise yıllara düzenli dağıldığı izlenmiştir. (B) Parazitin diğer hastalıklarla (nöropsikiyatrik hastalıklar, reaktif artritler ve lenfadenopatiler) olası ilişkisini araştıran çalışmalar yıllar içinde artarak PubMed ortamında yerini bulduğu izlenmiştir (%26,25). (C) Parazitin genetik karakterizasyonuna, suşların antijenik varyasyonuna yönelik moleküler çalışmaların son 5-7 yıla dengeli yayıldığı izlenmiştir. Hastalığındaki biyokimyasal parametrelerdeki değişiklikler, sitokin profilleri, gen ekspresyonuna yönelik analizler, biyosensör arayışı çalışmaları vb gibi pataogenetik mekanizmaları açıklamaya yönelik temada araştırmaların daha çok son 10 yıla yoğunlaştığını ve bu tür çalışmaların paylaşımında SCI-SCIE-SSCI kategorisinden dergilerin seçildiği gözlenmiştir (%20,11). (D) PubMed ortamındaki toplam paylaşımların %8'e varan olgu paylaşımlarında daha çok oküler toxoplazmosis üzerine yoğunlaştığı, yıllar içinde artarak ise HIV tabanında ensefalit olgularının paylaşıldığı dikkati çekmiştir (ayrıca alışılmadık lokalizasyonlu olgular, maligniteyi andıran lenfadenitler vs). (E) Yine her geçen yıl artan paylaşımlar şeklinde rekombinant proteinler veya DNA aşısı formunda çokça aşı geliştirme temalı makaleler göze çarpmaktadır (%6,14). (F) Derleme türü çalışmaların ise daha çok TPD'de yer aldığını ve yıllara düzenli yayıldı gözlemlendi. Derleme içeriği ise yıllar içindeki tematik değişime uygun bir değişim göstermekteydi. (G) TPD dışında dergi seçiminde yazarların dergi seçiminde, %85,16 oranda SCI-SCIE-SSCI dergi kategorisinden seçtikleri gözlenmiştir.

Sonuç: Türk bilim insanları olarak PubMed'teki indeksli dergilerde seçili konulu makale üretimindeki tematik değişimin, daha önceleri seroprevalansa sıkışmış iken giderek parazitin değişik hastalıklardaki etyopatogenetik rolleri ve bunların açıklanmasına; korunma için aşı geliştirme yolundaki çalışmalara; tanılma süreçlerinde fayda sağlayabilecek biyosensörlere doğru kaymakta olduğu izlenmiştir. Bu sunum ile, araştırmacılara ve kurumlara, yakın gelecekte konu parazit ve hastalık için oluşturulacak stratejik yol haritası için fayda sağlanması umulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Toxoplasma gondii*, Toksoplazmosis, Türkiye, Bibliyometri



P67.

**Depresyon veya Bipolar Bozukluğu Bulunan Hastalarda
Toxoplasma gondii Seropozitifliğinin Araştırılması**

**Özlem AYCAN KAYA¹, Gülay ARAL AKARSU², Oktay ALVER³, Mehmet KOKAÇYA⁴,
Şerife AKKÜÇÜK⁵**

¹Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD, HATAY; ²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji BD, ANKARA; ³Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, BURSA; ⁴Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ruh Sağlığı ve Hastalıkları AD, HATAY; ⁵Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji AD, HATAY

E-posta: gakarsu@yahoo.com

Amaç: Dünya nüfusunun yaklaşık üçte birini enfekte eden *Toxoplasma gondii*, insanda latent enfeksiyonlara yol açan nörotrop bir protozoan parazittir. Literatürde şizofreni hastalarında *T. gondii* seroprevalansının sağlıklı kişilere göre daha yüksek oranda bulunduğu ve şizofreni ile toksoplazmoz arasında pozitif bir ilişki olduğu dair pek çok çalışma mevcuttur. Hem depresyon hem de bipolar bozukluk (BB) multifaktoriyel etiyolojiye sahip klinik durumlardır. Hem genetik hem de enfeksiyon etkenleri gibi çevresel faktörlerin bu hastalıklardan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı, literatürde şizofreniye göre daha kısıtlı olan depresyon ve BB'nin *Toxoplasma* enfeksiyonu ile ilişkisine ait çalışmalara katkıda bulunmaktır.

Yöntem: Bu vaka-kontrol çalışmasına, Ruh Sağlığı ve Hastalıkları AD'na Nisan 2015 ve Kasım 2016 tarihleri arasında başvuran ve depresyon tanısı almış 66 hasta, BB tanısı almış 25 hasta ve 30 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Alınan kan örneklerinin serumlarındaki anti-*Toxoplasma* antikorları duyarlılık ve özgüllüğü oldukça yüksek bir test olan Sabin-Feldman testi ile araştırılmıştır.

Bulgular: BB hastalarının %40'ı seropozitif iken, depresif hastalarda bu oran %60,6 ve kontrol grubunda 33.3% olarak bulunmuştur. Anti-*Toxoplasma* antikor pozitifliği; depresyon tanısı almış olan hastalarda sağlıklı kontrollere göre önemli düzeyde daha fazla saptanırken, BB hastaları ile sağlıklı kontroller arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Sonuç: Hasta sayılarının azlığı çalışmanın zayıf yönünü oluşturmaktadır. Bulgularımız depresyon ile *Toxoplasma* enfeksiyonu arasında muhtemel bir ilişkiyi düşündürürken, BD ile *Toxoplasma* enfeksiyonu arasında böyle bir ilişkiyi düşündürecek birliktelik saptanamamıştır. Daha fazla örnekle yapılacak daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Bipolar bozukluk, Depresyon, Sabin-feldman testi, *Toxoplasma gondii*



P68.

Ülkemizde *Rhipicephalus* Cinsi Keneler Üzerinde Yapılacak Direnç Testlerinde Kullanılacak Bazı Akarisitler İçin Diskriminant Doz Belirleme Çalışmaları

Samed KOÇ¹, Levent AYDIN², Hüseyin ÇETİN¹

¹Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ANTALYA;

²Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, BURSA

E-posta: samedkoc@akdeniz.edu.tr

Amaç: Önemli halk sağlığı zararlılarından birisi olan keneler (Acari: Ixodida) farklı omurgalı canlılar üzerinden kan emme davranışı sergilemektedirler. Beslenme davranışları sırasında çok sayıda hastalığa neden olan viral, bakteriyel vb. patojenin vektörlüğünü yapmaktadırlar. Özellikle kedi ve köpek gibi canlıları konak olarak kullanabilen *Rhipicephalus sanguineus* Latreille türü kent merkezlerinde sıklıkla karşılaşılan kenelerden biridir. Kenelere karşı akarisit kullanımı mücadele amacıyla en çok kullanılan yöntemdir ve çok sayıda çalışmada kenelerin farklı akarisitlere karşı direnç geliştirdiği gösterilmiştir. Direnç gelişiminden şüphelenilen kene popülasyonlarında direnç durumunu tespit etmek için akarisitlerin diskriminant dozlarının etkinliği test edilerek direnç durumu belirlenebilmektedir. Ülkemizde daha önce kene mücadelesinde kullanılan akarisitlerle ilgili herhangi bir diskriminant doz belirlenmediği için bu çalışmada farklı etki mekanizmalarına sahip fipronil, permethrin ve chlorpyrifos-methyl aktif maddeleri için *R. sanguineus* türünde diskriminant dozların tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada Antalya'nın 13 farklı lokalitesinden toplanan *R. sanguineus* türü dişi kan emmiş kenelerin bıraktıkları yumurtalardan çıkan larvalar üzerinde permethrin, fipronil ve chlorpyrifos-methyl aktif maddelerinin farklı dozları Larva Paket Testi (LPT) ile test edilmiştir. Dozlardan elde edilen veriler probit analiz programı ile değerlendirilmiş ve LD₉₉ değerleri hesaplanmıştır. Testlerden elde edilen sonuçlar her bir aktif madde bakımından değerlendirildiğinde en hassas 3 popülasyonun LD₉₉ değerinin 2 katı alınarak ortalamaları diskriminant doz olarak hesaplanmıştır.

Bulgular: Elde ettiğimiz veriler ışığında *R. sanguineus* türünde permethrin aktif maddesi için 0,01 gr ai/m², fipronil için 0,03 gr ai/m² ve chlorpyrifos-methyl için 0,02 gr ai/m² dozunun diskriminant doz olarak kullanılabileceği ön görülmüştür.

Sonuç: Ülkemizdeki kapalı barınak ve benzeri alanlarda kullanılacak akarisitlerin kenelerle yapılacak direnç testlerinde kullanılması için diskriminant dozlarının belirlenmesine yönelik ilk kez yapılan bu çalışmanın gelecekte yapılacak direnç çalışmalarının daha kolay ve kısa sürede yapılabilmesine fayda sağlayacağı düşünülmektedir. Elde edilen diskriminant dozlar ve yakın dozların LD₅₀-LD₉₉ değerleri ve direnç katsayılarını hesaplamada kullanılması sonuçlara daha kısa sürede ulaşılmasına katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Akarisit, Direnç, Diskriminant doz, Keneler, *Rhipicephalus*



P69.

İzmir Yöresinde *Culicoides* Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu ve *Haemosporidia* Enfeksiyonları Yönünden Vektörlük Potansiyellerinin Araştırılması

Hakan YEŞİLÖZ¹, Alparslan YILDIRIM²

¹T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı İzmir Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü, İZMİR;

²Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-posta: hakanyesiloz@hotmail.com

Amaç: Bu çalışmada İzmir ilinin farklı ilçelerindeki bazı odaklarda yaygınlık gösteren *Culicoides* türlerinin konvansiyonel morfolojik ve moleküler yöntemlerle belirlenmesi, izolatların filogenetik karakterizasyonlarının yapılması ve kanatlı Haemosporidian parazitlerin nakli açısından vektör potansiyellerinin moleküler olarak ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada, 2016 yılının Mayıs-Ağustos ayları arasında Bergama, Ödemiş, Kemalpaşa ve Foça ilçelerinde belirlenen istasyonlardan ışık tuzakları ile *Culicoides* örnekleme yapılmıştır. Toplanan örneklerin kanat morfolojilerine göre identifikasyonları yapıldıktan sonra her türden belirlenen örneklerden genomik DNA (gDNA) izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen gDNA izolatlarının barkod mt-COI gen bölgesi amplifiye edilmiş ve sonraki basamakta amplifikasyon ürünlerinin klonlama, plazmid pürifikasyonu ve sekans analizleri gerçekleştirilerek moleküler karakterizasyonları sağlanmıştır. GenBank'a kaydedilen izolatların Türkiye ve Dünyadaki homolog izolatlarla filogenetik yapılanmaları belirlenmiştir. Toplanan örneklerde Haemosporidian parazitlerin araştırılması amacıyla her türe ait dişi *Culicoides* örneklerinin baş/toraks (BTH) ve abdomen (AH) kısımları diseke edilerek tür ve toplama merkezi bazında ayrı ayrı havuzlar oluşturulmuştur. Havuzlardan gDNA ekstraksiyonundan sonra elde edilen izolatların Haemosporidian mt-cytb gen bölgesini amplifiye eden spesifik primerlerle nested PCR analizleri gerçekleştirilmiştir. BTH'da belirlenen pozitiflikler muhtemel potansiyel vektörlük göstergesi olarak kabul edilmiş ve minimum enfeksiyon oranları (MIRs) hesaplanmıştır. BTH ve AH'de belirlenen Haemosporidian nesillerinin sekans analizleri ile karakterizasyonları yapılmıştır.

Bulgular: Araştırmada toplanan 800 dişi *Culicoides* örneğinin morfolojik identifikasyon sonuçlarına göre *C. circumscriptus*, *C. nubeculosus* kompleks, *C. newsteadi*, *C. imicola*, *C. gejjelensis*, *C. obsoletus*, *C. punctatus* ve *Culicoides* sp. (*C. truncorum*'a yakın) türlerine ait oldukları belirlenmiştir. En yaygın türler %39,4 ile *C. circumscriptus* ve %33,8 ile *C. imicola* belirlenirken en düşük yayılışı gösteren türler ise %1,9 ile *C. punctatus* ve %1,8 ile *C. newsteadi* bulunmuştur. Araştırma yöresinde belirlenen türlere ait mt-COI sekansları arasında 18 farklı haplotipi ortaya koyan 175 polimorfik bölge saptanmıştır. Filogenetik analizler *C. newsteadi* dışında tüm türlere ait nesillerin monofiletik karakterde olduğunu göstermiştir. Karakterize edilen türlere ait haplotipler arasında ortalama genetik heterojenite %25,3±2,4 saptanmıştır. Çalışmada belirlenen haplotiplerin Türkiye ve Dünya'dan bildirilmiş homolog izolatlarla filogenetik yapılanmaları ortaya çıkarılmıştır. Çalışmada incelenen AH'dan *C. circumscriptus*, *C. imicola*, *C. obsoletus* ve *C. gejjelensis*'de Haemosporidian mt-cytb DNA'sı belirlenirken (%10,22), BTH pozitiflikleri (%7,95) yalnızca *C. circumscriptus*'ta tespit edilmiştir. *C. circumscriptus* için *Haemoproteus* nesilleriyle MIRs %22,2 olarak hesaplanmıştır. İlgili *Culicoides* türlerinde belirlenen Haemosporidian parazitlerin sekans analizleri sonucunda *C. circumscriptus* BTH izolatlarında *Haemoproteus* sp. GAGLA05 ve *H. minutus* TURDUS2 nesilleri karakterize edilmiş ve bu türün araştırma yöresinde ilgili nesillere muhtemelen



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

potansiyel vektörlük yaptığı ortaya çıkarılmıştır. Çalışmada ayrıca *C. circumscriptus* AH'da *Plasmodium* sp. CXPIP10, *C. obsoletus* AH'da *Plasmodium* sp. CXPIP23 ve SYCON02, *C. imicola*, *C. obsoletus* ve *C. gejjelensis* AH'da *P. relictum* SGS1 ve *C. imicola* ve *C. gejjelensis* AH'da da *Plasmodium* sp. YWT4 nesilleri identifiye edilmiştir.

Sonuç: Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TDK-2016-6397 kod numarasıyla desteklenen bu doktora tez çalışması ile İzmir yöresinde yaygınlık gösteren *Culicoides* türleri morfolojik ve moleküler identifikasyonlarla belirlenerek moleküler epidemiyoloji açısından Türkiye için özgün veriler sağlanmıştır. Ayrıca çalışma sonuçları kanatlı Haemosporidian parazitlerin İzmir yöresinde yaygın olduğunu ortaya çıkarmış ve *C. circumscriptus*'un *Haemoproteus* nesillerinin nakli açısından potansiyel bir öneme sahip olduğuna dair kanıtlar sağlamıştır.

Anahtar Kelimeler: *Culicoides*, Moleküler karakterizasyon, Kanatlı Haemosporidianları, Vektör potansiyeli, İzmir



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

P70.

Afyonkarahisar İlinde Bir Muhabbet Kuşu Sürüsünde Koksidiyosis Olgusu

Hatice ÇİÇEK, Ahmet GÖKSU, Mahmut Sinan EREZ

Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, AFYONKARAHİSAR

E-posta: hatice-cicek1@hotmail.com

Amaç: Bu araştırma Mayıs 2018 tarihinde Afyonkarahisar ilinde muhabbet kuşu yetiştiriciliğinin yapıldığı bir işletmede şiddetli ishal, iştahsızlık, ölümün olduğu ve yavru bakımının gerçekleşmediği muhabbet kuşu sürüsünde teşhis amacıyla yapıldı.

Yöntem: Her birinde ortalama 5 kuşun bulunduğu 60 adet kafesin içindeki altlıklar ile yemlik ve suluk etrafındaki taze dışkı numuneleri protokol bilgileri bulunan dışkı kaplarına alındı. Her bir kafese ait dışkı numunesi nativ ve Fulleborn'un doymuş tuzlu su metodu ile incelendi. Pozitif çıkan dışkı numunelerinde *Eimeria* ookistlerinin kantitatif olarak saptanması amacıyla Modifiye McMaster yöntemi kullanıldı. Pozitif numuneler %2,5 Potasyum dikromat ilave edildikten sonra laboratuvarında sporlanmaya bırakıldı. Sporlanmış ookistlerin ölçümü, Nikon Eclipse i-Series 80i trinokular araştırma mikroskopunun x100'lük büyütmesinde DS-5M-L1 dijital kamera sistemi ile mikrometrik olarak yapılarak, ilgili kaynaklara göre tür teşhisleri yapıldı.

Bulgular ve Sonuç: Koksidiyosis yönünden muayene edilen 60 kafesin 23 (%38,33)'ü pozitif bulundu. Gram dışkıdaki ookist miktarı (OPG) 100-122.200 arasında saptandı. Sporlanmış ookistlerin *Eimeria dunsingi* ve *E. haematodi* olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Muhabbet kuşu, koksidiyosis



P71.

Kuzey Kıbrıs Bitkilerinden Elde Edilen Uçucu Yağlarda *Plasmodium berghei*'ye Karşı *in vivo* Antimalaryal Etkinlik Araştırılması: Pilot Çalışma

Emrah GÜLER¹, Ahmet ÖZBİLGİN², Eda BECER³, Azmi HANOĞLU⁴, Tamer ŞANLIDAĞ^{5,6}

¹Yakın Doğu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD., LEFKOŞA, KKTC; ²Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD., MANİSA, TÜRKİYE; ³Yakın Doğu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya AD., LEFKOŞA, KKTC; ⁴Yakın Doğu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik-Farmakoknozi AD., LEFKOŞA, KKTC; ⁵Yakın Doğu Üniversitesi, Deneysel Sağlık Bilimleri Araştırma Merkezi, LEFKOŞA, KKTC; ⁶Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., MANİSA, TÜRKİYE

E-posta: emrah.guler@neu.edu.tr

Amaç: *Plasmodium* türleri parazitlerin oluşturduğu sıtma, en eski insan enfeksiyonlarından biri olup, son yıllarda Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün üzerinde durduğu asıl problemlerden sayılmaktadır (1). İlk antimalaryal ilaç olan kininin keşfinden bugüne kadar geçen zamanda, parazitin tüm antimalaryal ajanlara karşı direnç geliştirdiği rapor edilmiştir (2). Günümüzde dirençli *Plasmodium* türleri ile enfekte hastaların tedavisinde *Artemisia annua* bitkisinden elde edilen "Artemisinin" isimli ilaç kullanılmaktadır. Fakat 2009 yılında bu antimalaryal ilaca dirençli *Plasmodium* suşlarının tespit edildiği bildirilmiştir. DSÖ son yıllarda bitkisel kaynaklı yeni ve güvenilir antimalaryal ajanlara önem vermektedir. Bu sebeple sıtma tedavisinde yeni ve güvenilir ilaç ve/veya ilaç kombinasyonlarının geliştirilmesine son derece ihtiyaç duyulmaktadır (3).

Kıbrıs, Akdeniz'in birçok bölgesinde olduğu gibi, yüzyıllarca sıtmadan en çok etkilenen bölgelerdendi (4). Günümüzde Kuzey Kıbrıs'ta yerli sıtma olgusu görülmemekte olup, olguların tümü ithal kaynaklıdır. Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti (K.K.T.C.) Sağlık Bakanlığı verilerine göre adada 2014-2018 yılları arasında toplam 39 ithal sıtma vakası tespit edilmiştir (5).

Dünya nüfusunun %75'ten fazlası çeşitli enfeksiyonların tedavisinde tıbbi bitkileri kullanmakta ve bildiği gibi yüzlerce ilaç bu bitkilerden elde edilmektedir. Sıtma tedavisinde de geleneksel ilaçların kullanımı özellikle sıtmanın endemik olduğu bölgelerde yaygındır. Fakat *Plasmodium* türlerinin geliştirdiği direnç sorunundan dolayı son yıllarda yeni ve alternatif maddelerin elde edilebilmesi için bitki ekstrakt ve/veya yağları araştırılmaya başlanmıştır. Bitkilerden elde edilen maddelerin, ileride yapılacak olan antimalaryal ilaç çalışmalarında yüksek potansiyelli bir kaynak oluşturabileceği öngörülmektedir (6,7).

Bu projede, Kuzey Kıbrıs'ta yetişen 4 farklı bitkiden elde edilen uçucu yağların, *Plasmodium berghei*'ye karşı *in vivo* antimalaryal etkinliklerini araştırmak ve sıtma tedavisinde kullanılabilecek yeni, güvenilir ve etkili doğal ürün/ürünlerin geliştirilmesine katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmamızda, Kuzey Kıbrıs'ta yetişen 4 farklı bitkiden (*Origanum dubium*, *Origanum majorana*, *Salvia fruticosa*, *Laurus nobilis*) elde edilen uçucu yağlar kullanılmıştır. Bitkiler uygun mevsimde toplanıp, uygun ortamlarda kurutulup, distilasyon yöntemi ile uçucu yağları elde edilmiştir.

Elde edilen uçucu yağların sitotoksik aktivitelerini saptamak amacıyla L929 fare fibroblast hücre hattı kullanılmıştır. Uygun besiyerinde çoğaltılan hücreler, uçucu yağlar ile muamele edildi ve MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide) kiti kullanılarak sitotoksik aktiviteleri belirlenmiştir.



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

In vivo çalışmamız için 8-12 haftalık (20-25 gram) dişi balb/c fareler kullanılmıştır. *Plasmodium berghei* suşu ile enfekte, %30 parazitemi olan eritrosit süspansiyonundan 0.2 mL (2×10^7 parazit) alınarak fareler enfekte edilmiştir. Enfeksiyondan 3 saat sonra ilk tedavi dozu (0.2 mL) oral olarak uygulanmıştır. Daha sonra aynı doz 24, 48 ve 72. saatlerde tekrarlanmıştır. Son verilen dozdan 24 saat sonra kuyruk ucundan kan alınarak Giemsa ile boyanmış ince yayma kan preparatları hazırlanmıştır. Işık mikroskobu ile enfekte eritrositler incelenmiştir.

Çalışmamızda, sıtma referans grubu olan klorokin grubu (KG) (50 mg/kg), tedavi almamış kontrol grubu (TAKG), *Origanum dubium* (OD) (20 mg/kg), *Origanum majorana* (OM) (20 mg/kg), *Salvia fruticosa* (SF) (20 mg/kg), *Laurus nobilis* (LN) (20 mg/kg) olmak üzere 6 grup oluşturulmuştur. Her grupta 2'şer fare bulunacak şekilde fareler kafeslere ayrılmış ve etiketlenmiştir.

Farelerdeki parazitemi hesaplanmasında; her bir alanda 100 enfekte eritrosit sayılıp yüzdeleri hesaplanmıştır. Elde edilen değer 10 sahanın ortalamasını almak için 10'a bölünüp, farelerdeki ortalama parazitemi yüzdeleri belirlenmiştir.

Bulgular: Farelerin 4. gün yapılan kontrolleri değerlendirildiğinde, OD grubunda %2, OM grubunda %3, klorokin kontrol grubunda %0.25, tedavisiz kontrol grubunda %6 ve diğer bitki yağlarının verildiği gruplarda ise %5 parazitemi saptanmıştır. Klorokin alan fareler 6. gün paraziteminin ortadan kalkmasıyla yaşamlarına devam ederken, tedavi almayan grupta yer alan fareler 9. günde ex olmuştur. Parazitemi oranı, OD grubundaki farelerde 24. gün, OM grubundaki farelerde 21. gün diğer gruplardaki farelerde ise 13. günde %35'e çıkarak, fareler ex olmuştur. TAKG'na göre, OD ve OM grubunda bulunan farelerin yaşam sürelerinde sırasıyla 15 ve 12 gün artış olduğu görülmüştür. Elde edilen uçucu yağların 100 ug/mL dilüsyonda 24 saatlik sitotoksik aktivite sonuçlarına bakıldığı zaman, OM (1.17375 ug/mL), SF (1.20975 ug/mL) ve LN (1.3325 ug/mL)'nin düşük, OD (0.0695 ug/mL)'nin ise yüksek sitotoksik aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Antimalaryal etki gösteren, parazitemi düşürerek farelerin yaşam süresini 2 katından fazla artıran, Kıbrıs endemik bitkilerinden *Origanum majorana*, ve yine aynı cinsten *Origanum dubium*'un, antimalaryal moleküllerin elde edilmesine kaynaklık edebileceği görülmüştür. Aktivite gözlenen bitkilerin profilaktik amaçlı kullanılması olasılığı da yüksektir. İleri çalışmalar ile antimalaryal etkisi saptanacak Kuzey Kıbrıs bitkilerinin kültüre alınması, aktiviteden sorumlu maddelerin hücre süspansiyonunun yapılması, doku kültürü teknikleri ile laboratuvar şartlarında daha yüksek miktarlarda üretilmesi, aktivite mekanizmalarının belirlendiği takdirde enzimlerle selektif olarak etkileşime girebilecek olan moleküllerin tasarlanması yapılabilecektir.

Elde edilecek bu aktif bileşenler ilaç sanayinde de kullanılarak yeni ilaç molekül modellerinin keşfinde rol oynayabilecektir. Ayrıca hem ülke ekonomisine hem de dünya sağlığına katkı sağlayabileceği kanısındayız. Bu veriler ön çalışmamızın sonuçları olup, bu konudaki araştırmalarımız devam etmektedir.

Kaynaklar

- 1- Toma A., Deyno S., Fikru A., Eyado A., Beale A. *In vivo* antiplasmodial and toxicological effect of crude ethanol extract *Echinopskebericho* traditionally used in treatment of malaria in Ethiopia. *Malaria Journal* 2015; 14: 196.
- 2- Salman Ö., Erbaydar T. İlaç dirençli sıtma. *TAF Preventive Medicine Bulletin* 2016; 15(4): 368-375
- 3- Özbilgin A., Çavuş İ., Nuraydın A., Tuğba K. Sıtma Etkin Madde Taramalarında *in vivo* ve *in vitro* Modeller: Pilot Çalışma. *Türkiye Parazit Derg* 2017; 41: 156-163.
- 4- An A. Kıbrıs'ın Yetiştirdiği Değerler (1782-1899). Akçağ Yayınları, Ankara. 2002; s.416-420.
- 5- K.K.T.C. Sağlık Bakanlığı, Bildirimi Zorunlu Hastalıklar. [Erişim: 03 Eylül 2019]. Accesible at: <http://saglik.gov.ct.tr/ISTATISTIKI-BILGILER/BILDIRIMI-ZORUNLU-HASTALIKLAR>
- 6- Dame Z.T., Petros B., Mekonnen Y. Evaluation of anti-*Plasmodium berghei* activity of crude and column fractions of extracts from *Withania somnifera*. *Turkish Journal of Biology* 2013; 37: 147-150.
- 7- Mulisa E., Girma B., Tesema S., Yohannes M., Zemene E., Amelo W. Evaluation of *In vivo* Antimalarial Activities of Leaves of *Moringa oleifera* against *Plasmodium berghei* in Mice. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 2018; 13(1): e60426.



P72.

Kendiliğinden İyileşen ve İyileşmeyen Kutanöz Leishmaniasis Fare Modelinde Gen Ekspresyonlarının ve Metabolik Yolakların Tanımlanması

Ayşe CANER

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, Bornova, İZMİR; Kanserle Savaş Uygulama ve Araştırma Merkezi, Biyoinformatik AD, İZMİR

E-posta: ayse.caner@ege.edu.tr

Giriş: Leishmaniasis dünya çapında milyonlarca insanı etkileyen önemli bir küresel sağlık sorunudur. Hastalığın kliniği hem parazitin türlerine hem de konağın immün tepkisi bağlı olarak değişmektedir. *Leishmania major* enfeksiyonu, hastalarda lokalize bir kutanöz lezyona neden olmakta birlikte *Leishmania* enfeksiyonuna karşı gelişen T hücre yanıtlarını incelemek için *in vivo* çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Çeşitli çalışmalar ile *L. major* ile enfekte C57BL/6 farelerde, Th1 yanıtlarının gelişmesi nedeniyle enfeksiyona direnç gösterirken, BALB /c farelerde hastalığa duyarlılık ve parazit replikasyonunu kontrol etmede başarısızlık ile sonuçlanan bir Th2 yanıtı geliştirmekte olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda, *in vivo* olarak hastalığa duyarlılığının ve direncin altında yatan moleküler mekanizmayı anlamak ve yeni tedavi hedefi olabilecek molekülerin tanımlanması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmamızda, *in vivo* olarak hastalığa duyarlılığının altında yatan genetik mekanizmayı anlamak için *L. major* enfekte farelerin deri lezyonlarında yapılan transkripsiyonel analizler araştırılmıştır. GSE56029 numara ile GEO-data bankasında sunulan (19 Şubat 2019) veriler çalışmamızda kullanılmıştır. Bu gen ekspresyon verilerinin unsupervised ve supervised analizleri yapılarak (FDR < 0.01 ve P-value < 0.01) ile *L. major*'a dirençli ve duyarlı farelerde etkili olan genler ve moleküler sinyal yolakları araştırılmıştır. Bütün analizler R programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (www.r-project.org). Bu verilerin deneysel çalışmasında; *L. major* ile intradermal olarak enfekte edilmiş BALB /c (n=5) ve C57BL / 6 fareler (n=4) ve kontrol olarak enfekte olmamış fareler (n=3) kullanılmış ve 4 hafta boyunca kulak deri lezyonlarından transkripsiyonel analizleri yapılmıştır.

Bulgular: Elde edilen analiz sonuçlarına göre; *L. major* ile enfekte olan BALB/c fareler ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, CCL4, IL-1B, FCGR4 ve Arg1 genlerinin ekspresyon seviyelerinde belirgin bir artış saptanmıştır. Enfekte olan C57BL/6 fareler ile kontrol grubu karşılaştırıldığında ise, FCGR4 ile CXCL9, CXCL10 ve CCL5 kemokin genlerinde bir artış bulunmuştur. *L. major* ile enfekte BALB/c ve C57BL/6 fareler karşılaştırıldığında ise Fcgr1g ve Adh7 genlerinin ekspresyon seviyelerinde belirgin bir artış saptanmıştır. Her iki faredeki enfeksiyonun, dendritik hücre maturasyonu, NF-kB, Tec kinaz ve TREM1 yolağında aktivasyon, STAT3 yolağında inhibisyon etkisi gösterdiği bulunmuştur. BALB/c farelerde IL-8, Th1/Th2 ve iNOS yolaklarında aktivasyon saptanırken, C57BL/6 fareler de Th1 ve iNOS sinyal yolaklarında aktivasyon artışı ve IL-10 sinyalinde aktivasyon olmadığı saptanmıştır. İlginç olarak ağ analizleri sonucunda BALB/c farelerde lipid metabolizmasında, C57BL/6 farelerde ise aminoasit metabolizması ile ilişkili bir fonksiyon gerçekleştirildiği tespit edilmiştir.

Tartışma: *L. major* hem duyarlı hem de dirençli konakta Fcgr4 ekspresyonunu uyarmaktadır. Fcgr4 geni, makrofajlar, NK hücreleri ve bir monosit alt grubu dahil olmak üzere çeşitli lökosit hücre tipleri tarafından yaygın şekilde eksprese edilmekte ve inflamatuvar mikroortamlar ile ekspresyonunu tetiklendiği bildirilmiştir (1). Buna karşılık Arg1 genin *Leishmania*'nın makrofaj içinde yaşamını sürdürmesi gerekli olan temel protein ekspresyonu ve IL-4 stimülasyonu sağladığı bilinmektedir (2).



21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

Bu bilgilerle uyumlu olarak BALB/c fareler de Arg1 geninin yüksek seviyedeki indüksiyonun enfeksiyona duyarlılıkla yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle, Arg1 gen ekspresyonunun *L. major* enfeksiyonunun prognozunda bir biyomarker adayı olabileceği kanaatindeyiz. Ayrıca duyarlı farelerde ekspresyon seviyelerinde artış saptanan FcγR1 ve Adh7 genler ile Lipid metabolizması içinde yer alan moleküller tedavi için yeni hedef adayları olarak gösterilebilir. BALB/c farelerde Th1 ve Th2 sinyal yolunun aktif olmasına karşın, C57BL/6 farelerde sadece Th1 sinyal yolunda aktivasyon ve IL-10 sinyal yolağının aktive olamaması *L. major* enfeksiyonu karşı dirençte etkili bir mekanizmadır. Sonuçta, BALB/c farelerde Arg1 genin yüksek seviyede eksprese edilmesinin ve belirgin bir şekilde Th2 sinyal yolağının aktive etmesi hastalığın daha ağır seyirli olmasının bir nedeni olabileceği öngörülmektedir.

Kaynaklar

1. Soares G, (2005). CD16+ monocytes in human cutaneous leishmaniasis: increased ex vivo levels and correlation with clinical data. J Leukoc Biol.
2. Iniesta V (2005) . Arginase I induction during Leishmania major infection mediates the development of disease. Infect Immun.



21. Parazitoloji Kongresi
28 Eylül – 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir

P73.

Bir Köpekte *Dirofilaria immitis* Olgusu

Aycan GAZYAĞCI¹, Zeynep PEKCAN², Esin GÜVEN³, Alkan KUŞÇU⁴

¹Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, KIRIKKALE; ²Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi AD, KIRIKKALE; ³Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, KIRIKKALE; ⁴Yeni Havra Sokak No:21, ÇANAĞKALE

E-posta: naycani1980@yahoo.com

Bu çalışmanın materyalini 4 yaşlı, steril, dişi Belçika Kurdu melezi bir köpek oluşturdu. Köpek solunum güçlüğü ve bayılma şikayeti ile özel bir kliniğe getirildi. Yapılan fiziksel muayenesinde dispne, öksürük, iştahsızlık ve çevreye ilgisizlik tespit edildi. Hematolojik testlerin sonucunda eozinofil sayısının normal değerlerinden fazla olduğu tespit edildi. Klinik muayene ve test sonuçları doğrultusunda ELISA yöntemi ile çalışan dört ayrı hastalığın tespitine yönelik hızlı test kiti kullanılarak *Dirofilaria* spp. olduğu tespit edildi. Ekokardiografi muayenesinde sağ kalpte parazitin varlığı tespit edildi. Erişkin paraziti dışarı çıkarmak için girişimsel olarak invaziv yöntemle *vena jugularis*'ten kateterle kalbin atriumuna girildi. Ancak erişkin parazit bu yöntem ile dışarı çıkarılamadı. Hayvanın tedavisi için solunum sistemini rahatlatmak amacıyla kullanılan ilaçların yanısıra mikrofilere etkili Macrocytic antihelmentic olan milbemycin-isoquinolon praziquantelin kombine olduğu preparat kullanıldı. Sekonder enfeksiyonlar için sentetik ve non sistemik antibiyotik Rifaximin kullanıldı. Tedavi başlangıcından 20 gün sonra hayvanın öksürüğünde erişkin parazit bulundu. Polimeraz zincir reaksiyonu ile erişkin parazitin *Dirofilaria immitis* olduğu saptandı. Tedavi sonrasında hayvanda fiziksel olarak düzelme görüldüğü tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Köpek, solunum güçlüğü, ekokardiografi, *Dirofilaria immitis*, PCR



P74.

**Biosafety and Biosecurity Education and Practice in Reducing Biorisks;
Role of A Training Laboratory**

Ayşen GARGILI KELES

Biosafety and Biosecurity MSc Program Director; Marmara University, Health Sciences Faculty, İSTANBUL

E-mail: agargili@yahoo.com

Aim: The purpose of this poster presentation is to draw attention to the current situation and possible risks arise from the inadequate trainings and education of the staff working with the biological materials in laboratories and to increase the awareness on importance of biosafety and biosecurity.

Method: Studies conducted on biosafety training situation, compliance with the procedures of related biosafety level, accidents, injuries and lab-borne infections were evaluated to bring out the results for biosafety and biosecurity awareness.

Results: Although there is a rise in the numbers of high containment laboratories in the last decade, Biosafety and Biosecurity education, has not been specifically settled in Turkey. Diagnostic laboratories, research laboratories in public and private sector, research and educational laboratories in universities employ mainly biosafety level 2 (BSL2) laboratories. There are at least 9 biosafety level 3 (BSL3) laboratories are operational in the countrywide and more in construction phase, in each public and private sector. Research, operational and technical staff working in overall BSL2 and BSL3 laboratories generally learn the practices from senior colleges and as a result, inaccurate, improper working styles establish themselves occasionally. Only some institutions develop and implement in-house prepared trainings and regulations based on international manuals. Numbers of educated and trained people specifically for high containment laboratories are also insufficient. According to the evaluation of related reports and manuscripts, there are important risk factors for biological contaminations such as; eating-drinking in laboratory, mechanical pipetting and non-compliance with Good Laboratory Practices. Majority of the laboratory workers or people who are in charge of the laboratories have inadequate education about biosafety and biosecurity. Rate of the laboratory staff who were subjected to a microorganism, especially the ones which were been studied in that lab, in their last 6 months, should be a warning for the immediate need for extensive biosafety and biosecurity education. Compliance with the biosafety rules in laboratories will not only provide a safer environment but also improve the quality of the work as well.

In Marmara University Institute of Health Sciences, we have recently established the Biosafety and Biosecurity MSc. Program as the first post-graduate program in Turkey on this subject. Purpose of the program is to give post graduate education to the professionals in health/health related areas, to contribute the career developments of professionals towards biosafety expertise. Syllabuses of the MSc program have been prepared as an international one and we have the first example of an international post-graduate program in our region. By this program, we also aim to establish uniform protocols in concordance with international guides. In addition, within the M.U. Health Sciences Faculty, we formed Biosafety and Biosecurity Training Programs in cooperation with University of Texas Medical Branch, Environmental Health Service, for the professionals especially who are in touch with the infectious agents and working in the laboratories within a wide range, from hospital diagnostic laboratories to the national control laboratories. We will repeat training courses for related professionals annually. We would like to collaborate with the experts in our area, to promote Biosafety and Biosecurity and create a network in Turkey and be part of the Biosafety community in our region in the near future.



P75.

***Pneumocystis jirovecii* Laboratuvar Tanısında Real-time PCR, Konvansiyonel PCR ve Mikroskopik Yöntemlerin Değerlendirilmesi**

Soykan ÖZKOÇ, Ceren ERGÜDEN, Songül BAYRAM DELİBAŞ

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, İnciraltı, İZMİR

E-posta: soykan.ozkoc@deu.edu.tr

Amaç: Özellikle HIV dışı immunsuprese hastalarda gözlenen düşük organizma yoğunluğu mikroskopinin duyarlılığını düşürdüğünden *P. jirovecii* tanısında daha çok moleküler yöntemler tercih edilmektedir. Bu çalışmada *P. jirovecii* tanısında kullandığımız yöntemlerin tanusal değerini karşılaştırmayı amaçladık.

Yöntem: Çalışmamıza Haziran 2016-Temmuz 2019 tarihleri arasında farklı pulmoner semptomları nedeniyle bronkoskopi yapılan ve *P. jirovecii* tanısı için DEÜH Merkez Parazitoloji Laboratuvarı'na gönderilen 250 hasta dahil edildi. Hastaların bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısı örnekleri *P. jirovecii* mtLSUrRNA gen bölgesine yönelik Real time PCR kiti (Fast-tract Diagnostics Pneumocystis FTD)) ve konvansiyonel PCR yöntemleri ile değerlendirildi. Ayrıca tüm örnekler giemsa ve Gomori'nin metenamin gümüş (GMG) boyaları uygulandı.

Bulgular: Çalışmamızda Real time PCR kiti ile hastaların %19,3 ünde (48/250); $18,17 \leq CT \leq 36,39$ (CT =cycle threshold) arası pozitiflik saptandı. Bu hastalardaki *P. jirovecii* yükü $8,3 \times 10^1 - 6,15 \times 10^7$ kopya/ml olarak hesaplandı. Konvansiyonel PCR yöntemi ise Real-time PCR ile pozitif saptanan 48 hastanın %91,6 (44/48)'sında pozitif sonuç verdi. Diğer taraftan; mikroskopik bakı sonucunda sadece beş hasta örneğinde *P. jirovecii* kist ve trofozoitleri saptanabildi.

Sonuç: Real time PCR yönteminin *P. jirovecii* laboratuvar tanısında diğer yöntemlerden daha duyarlı olduğu görülmüştür. Klinik tanılar netleşmiş hasta örnekleri üzerinden yapılacak çalışmalar ile testlerin cut-off değerlerini belirlemenin önemli olduğunu düşünüyoruz. Bu şekilde *P. jirovecii* tanısı koymanın yanısıra klinisyenlere PCP/kolonizasyon ayırımında yol gösterici olunabilir.

Anahtar Kelimeler: *Pneumocystis jirovecii*, Real time PCR, tanı



P76.

Biyosensörük Sistemler ve Kutanöz Leishmaniasisin Tanısında Kullanımı

Tuğçe ATICI¹, Seray TÖZ¹, Ebru GÜRsoy², Kevser Kuşat Ol², Yusuf ÖZBEL¹, Sinan AKGÖL²

Ege Üniversitesi, ¹Tıp Fakültesi Parazitoloji AD; ²Fen Fakültesi Biyokimya AD, İZMİR

E-posta: tugceatici3@gmail.com

Günümüzde biyosensörler, özellikle sağlık alanı başta olmak üzere; çevresel analizlerde, askeri sahada, gıda, farmasötik ve kimya endüstrilerinde kullanılmaktadır. Biyosensörler temel olarak; analiz edilecek maddenin biyosensör yüzeyindeki biyolojik tanıma bölgesi ile etkileşime girmesi sonucu dönüştürücü yüzeyinde analit miktarıyla orantılı bir sinyalin oluşumu ve bu sinyalin ölçüm cihazına iletilmesi ilkesine dayanır. *Leishmania* spp. parazitlerinin tanısında, mikroskopik tanının hassasiyetinin düşük olması ve altın standart olarak kabul edilen kültür yönteminin süresinin bir aya kadar uzayabilmesi nedeniyle, kısa sürede yüksek duyarlılıkla tanı imkanı sağlayan bir yöntemin bulunması büyük kolaylık sağlayacaktır. Bu çalışmadaki hedefimiz Kutanöz Leishmaniasis'e kısa sürede tanı koyan, yüksek duyarlılığa sahip bir immünosensör geliştirmektir.

Çalışma kapsamında yapılan *Leishmania* spp. tanısı için geliştirilmesi hedeflenen biyosensörün aktif tabakasını oluşturmak üzere p(HEMA-MAH) nanopartikülleri sentezlenmiştir. Sentezlenen nanopartiküller, *Leishmania* spp. Tanıyıcı yüzey için kullanılmak amacıyla çinko ile şelatlanıp IgG ile türevlendirilmiştir.

Sensör çalışmaları için ön denemeler gerçekleştirilmiş olup *Leishmania* spp. Tanısında yapılacak ileri çalışmalar için umut vadettiği ortaya konmuştur.



P77.

Development A Rapid Diagnostic Test to Detect *Cryptosporidium* RNA Isolated from Stool Samples

Aygül SADIQOVA¹, Arthur WHITE¹, Ayşe CANER², Alejandro CASTELLANOS-GONZALEZ¹

¹Infectious Disease Division, Department of Internal Medicine, University of Texas Medical Branch, Galveston Texas, USA; ²Ege University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Izmir, TURKEY

E-mail: aygulsadiqova1991@gmail.com

Cryptosporidium is an extra cytoplasmic, intracellular parasite causing an infection in gastrointestinal and respiratory system both in human and another vertebrate. *Cryptosporidium* is a leading cause of diarrheal disease and an important contributor to early childhood mortality, malnutrition and growth faltering. It is initially recognized as an opportunistic infection associated with advanced HIV-AIDS and in immunocompetent individuals. Cryptosporidiosis is the second leading cause of diarrhea after rotavirus in 7 countries of Africa and Asia. As a main public health problem, it is very important to detect and diagnose parasite at time. *Cryptosporidium* can be diagnosed by a number of techniques including microscopic examination either by the wet mount preparation or staining the smears with modified acid-fast stain or by fluorescent stains. Current methods for molecular detection of Cryptosporidiosis are sensitive and specific, however these methods only are conducted in full equipped laboratories. Isothermal detection of nucleic acids by Recombinase Polymerase Amplification (RPA) does not require thermocyclers, therefore this method is ideal for molecular diagnostic of Cryptosporidiosis in remote areas. In this work, we developed a reverse transcriptase (RT)-RPA lateral flow assay to detect *Cryptosporidium* RNA from stool samples (in paper strips). Our results demonstrate that RNA can be amplified under isothermal conditions using nucleic acids extracted directly from stool samples. Our results showed that RT-RPA amplification has a limit of detection superior than DNA-RPA and RT-RPA showed 100% of specificity. Our work demonstrates the feasibility to detect *Cryptosporidium* nucleic acids under field conditions, therefore we anticipate that the methodology described here would be useful to conduct molecular diagnosis of other intestinal pathogens at low-resource settings (LRS).



P78.

**Nucleoside-diphosphate Kinase (NDK) a New Target for Drug Development
Against *Cryptosporidium***

Aygül SADIQOVA, Griselle TRAVERSO, Arthur WHITE, Alejandro CASTELLANOS-GONZALEZ

Infectious Disease Division, Department of Internal Medicine, University of Texas Medical Branch, Galveston
Texas, USA

E-mail: aygulsadiqova1991@gmail.com

The World Health Organization reports diarrhea kills around 760,000 children under five every year. *Cryptosporidium* is a leading cause of diarrhea morbidity and mortality. Therefore novel treatments against this pathogen are urgently needed. In preliminary studies we used genetic tools to identify novel targets for therapy of cryptosporidiosis. We identified Nucleoside-diphosphate kinase (NDK) as a potential target for drug development. Since NDK is an essential enzyme for nucleotide synthesis then we hypothesized that NDK inhibitors may have anticryptosporidial effect. The ellagic acid (EA) is a potent inhibitor of NDKs, however its effect on *Cryptosporidium* has never been studied, thus here we investigated for first time the effect of EA during *Cryptosporidium* infection.

Our results indicate that silencing of *Cryptosporidium*-NDK (Crypto-NKD) blocks parasite proliferation. In addition, by using an Invitro model we demonstrated that EA has anticryptosporidial activity, since treatment (at micro molar concentrations) reduce dramatically parasite burden on infected cells. Recently we expressed and purified Crypto-NDK and confirmed that EA blocks activity of Crypto-NDK. The EA is commonly found in a number of foods and has been widely used as a nutritional supplement. Interestingly the micro molar concentrations tested here are under the biological concentration of EA commonly used in humans. Since EA is already FDA approved, then we anticipate that EA could be implemented in a very near future in the treatment of Cryptosporidiosis.

Key Words: *Cryptosporidium*, NDK, treatment