22. Parazitoloji Kongresi

11 – 15 Ekim 2021, Didim / AYDIN

ÖZET KİTABI

© 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 2021

Düzenleyen

Türkiye Parazitoloji Derneği

ve

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Kongre Onursal Başkanı

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

Prof. Dr. Osman Selçuk ALDEMİR / Adnan Menderes Üniversitesi Rektörü

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. Süleyman AYPAK

Prof. Dr. Hatice ERTABAKLAR

Prof. Dr. Soykan ÖZKOÇ

KONGRE BİLİMSEL KURULLARI

ULUSLARARASI BİLİMSEL KURUL ÜYELERİ (In alphabetical order)

Barry Wilmer ALTO, USA

Eduardo BERRIATUA, Spain

G'Anluca AMICO, Romania

Husain F. HASSAN, Iraq

Kosta Y. MUMCUOĞLU, Israel

Mahmoul Hasan SOHEL, Bangladesh

Nazlı AYHAN, France

Staffan BENSCH, Sweden

Vladimir IVOVIC, Slovenia

ULUSAL BİLİMSEL KURUL ÜYELERİ (Alfabetik)

Atilla AKÇA (Kafkas Üniversitesi, KARS)
Cihangir AKDEMİR (Giresun Üniversitesi, GİRESUN)
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)
Gülay Aral AKARSU (Ankara Üniversitesi, ANKARA)
R. Engin ARAZ (Sağlık Bilimleri Üniversitesi, ANKARA)
M. Özkan ARSLAN (Kafkas Üniversitesi, KARS)
Erol AYAZ (Abant İzzet Baysal Üniversitesi, BOLU)
Özlem M. AYCAN (Mustafa Kemal Üniversitesi, HATAY)
Levent AYDIN (Uludağ Üniversitesi, BURSA)
Meral AYDENİZÖZ (Kırıkklale Üniversitesi, KIRIKKALE)
Nuran AYSUL (Adnan Menderes Üniversitesi, AYDIN)
Serkan BAKIRCI (Adnan Menderes Üniversitesi, AYDIN)
İ. Cüneyt BALCIOĞLU (Celal Bayar Üniversitesi, MANİSA)
Songül BAYRAM DELİBAŞ (Dokuz Eylül Üniversitesi, İZMİR
Y. Emre BEYHAN (Yüzüncü Yıl Üniversitesi, VAN)
Hüseyin BİLGİN BİLGİÇ (Adnan Menderes Üniversitesi, AYDIN)
Cenk Soner BÖLÜKBAŞ (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, SAMSUN)

Ayşe CANER (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Ayşe ÇAKMAK (Ankara Üniversitesi, ANKARA)
Hüseyin ÇETİN (Akdeniz Üniversitesi, ANTALYA)
Veli Yılgör ÇIRAK (Uludağ Üniversitesi, BURSA)
Hatice ÇİÇEK (Kocatepe Üniversitesi, AFYONKARAHİSAR)
Muttalip ÇİÇEK (Kırşehir Üniversitesi, KIRŞEHİR)
Arif ÇİLOĞLU (Erciyes Üniversitesi, KAYSERİ)
Gülnaz ÇULHA (Mustafa Kemal Üniversitesi, HATAY)
Hande DAĞCI (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Serdar DEĞER (Yüzüncü Yıl Üniversitesi, VAN)
Serpil DEĞERLİ (Cumhuriyet Üniversitesi, SİVAS)
Ahmet DENİZ (Kafkas Üniversitesi, KARS)
Bilal DİK (Selçuk Üniversitesi, KONYA)
Derya DİRİM ERDOĞAN (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Nihal DOĞAN (Osmangazi Üniversitesi, ESKİŞEHİR)
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)
Hatice ERTABAKLAR (Adnan Menderes Üniversitesi, AYDIN)
Sema ERTUĞ (Adnan Menderes Üniversitesi, AYDIN)
Ayşen GARGILI KELEŞ (Marmara Üniversitesi, İSTANBUL)
Nogay GİRGİNKARDEŞLER (Celal Bayar Üniversitesi, MANİSA)
Ahmet GÖDEKMERDAN (Fırat Üniversitesi, ELAZIĞ)
Bahadır GÖNENÇ (Ankara Üniversitesi, ANKARA)
Feyzullah GÜÇLÜ (Selçuk Üniversitesi, KONYA)
Aynur GÜLANBER (İstanbul Üniversitesi, İSTANBUL)
Ali Tümay GÜRLER (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, SAMSUN)
A. Yüksel GÜRÜZ (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Esin GÜVEN (Atatürk Üniversitesi, ERZURUM)
Anıl İÇA (Dumlupınar Üniversitesi, KÜTAHYA)
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 Halisademir Üniversitesi, NİĞDE)
Mustafa KARATEPE (Niğde Ömer Halisademir Üniversitesi, NİĞDE)
Ali KİLİMCİOĞLU (Celal Bayar Üniversitesi, MANİSA)
Metin KORKMAZ (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Özgür KORU (Sağlık Bilimleri Üniversitesi, ANKARA)
Esma Kozan KÜPELİ (Kocatepe Üniversitesi, AFYONKARAHİSAR)
Şükran KÖSE (Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İZMİR)

Özgür KURT (Acıbadem Üniversitesi, İSTANBUL)
M. Emin LİMONCU (Celal Bayar Üniversitesi, MANİSA)
Özlem MİMAN (Dokuz Eylül Üniversitesi, İZMİR)
Neriman MOR (Kafkas Üniversitesi, KARS)
Mustafa N. MUZ (Namık Kemal Üniversitesi, TEKİRDAĞ)
Serpil NALBANTOĞLU (Ankara Üniversitesi, ANKARA)
Ülgen Zeki OK (Celal Bayar Üniversitesi, MANİSA)
Ömer ORKUN (Ankara Üniversitesi, ANKARA)
Hatice ÖGE (Ankara Üniversitesi, ANKARA)
Semih ÖGE (Ankara Üniversitesi, ANKARA)
M. Kirami ÖLGEN (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Yusuf ÖZBEL (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Zuhal ÖNDER (Erciyes Üniversitesi, KAYSERİ)
Ahmet ÖZBİLGİN (Celal Bayar Üniversitesi, MANİSA)
Semra ÖZÇELİK (Bezmialem Üniversitesi, İSTANBUL)
Soykan ÖZKOÇ (Dokuz Eylül Üniversitesi, İZMİR)
Erdal POLAT (İstanbul Cerrahpaşa Üniversitesi, İSTANBUL)
Barış SARI (Kafkas Üniversitesi, KARS)
Oğuz SARIMEHMETOĞLU (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)
Fatih M. ŞİÖŞEK (Adnan Menderes Üniversitesi, AYDIN)
Zeynep TAŞ CENGİZ (Yüzüncü Yıl Üniversitesi, VAN)
Ayşegül TAYLAN ÖZKAN (Hitit Üniversitesi, ÇORUM)
Seray TÖZ (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Nevin TURGAY (Ege Üniversitesi, İZMİR)
Şinasi UMUR (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, SAMSUN)
Uğur USLU (Selçuk Üniversitesi, KONYA)
Ayşegül ÜNVER (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)
Bayram Ali YUKARI (Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, BURDUR)

ÖNSÖZ

Değerli Üyelerimiz, Sevgili Meslekdaşlarımız,

Türkiye Parazitoloji Derneği Yönetim Kurulu'nun 11.06.2021 tarihli ve 2021/3 nolu toplantısında, alınan karar gereği sizleri, **Aydın Adnan Menderes Üniversitesi ev sahipliğinde, Üniversite'nin Didim Sosyal Tesisleri Kültür ve Kongre Merkezi'nde yüz yüze katılımla 11-15 Ekim 2021 tarihleri** arasında düzenlenecek olan **Uluslararası 22. Parazitoloji Kongresi**'ne davet etmekten mutluluk duymaktayız.

Kongre yeri ve tarihleri konusunda gecikme, hepimizin bildiği üzere pandemi koşulları ve kısıtlamaları nedeniyle olmuştur. Yönetim Kurulu toplantılarımızda tam olarak önümüzü göremediğimiz için uzun zamandır bu konu tartışılmaktaydı. Pandeminin ülkemizdeki seyrinin iyileşmesi, yaptığımız anket sonuçlarının bizim düşüncelerimizle paralel olması ve Rektör Hocamız **Sayın Prof. Dr. Osman Selçuk ALDEMİR** oldukça önemli desteğini bizzat belirtmesi ve diğer birçok camiada olduğu gibi bilim alanımızdaki insanların bir araya gelme isteğinin sıkça dillendirilmesi nedenleriyle yüz yüze yapılmasına karar verilmiştir.

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 bilimsel 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, 22. Kongremizin programını hazırlarken de pandemi önlemleri gereği oturumlar mümkün olduğunca kısa tutulmuş ve sıklıkla ara verilmiştir. Sizlerden gelen konferans, yuvarlak masa ve sözlü sunumlar yanı sıra yurtdışından 9 konuşmacının da katkısı ile programımız zenginleştirilmiştir.

Bu kongremiz sırasında ayrıca, 12 Ekim 2021 saat 17:30'da seçimli "**Dernek Genel Kurulu**" nun da gerçekleştirileceğini belirtmek isteriz.

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

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

İÇİNDEKİLER

BÖLÜM 1. PROGRAM **1**

BÖLÜM 2. KONFERANSLAR **21**

BÖLÜM 3. YUVARLAK MASA OTURUMLARI **51**

BÖLÜM 4. SÖZLÜ BİLDİRİLER **122**

BÖLÜM 5. POSTER BİLDİRİLER **281**

	10 Ekim 2021 Pazar	11 Ekim 2021 Pazartesi	12 Ekim 2021 Salı		13 Ekim 2021 Çarşamba		14 Ekim 2021 Perşembe		15 Ekim 2021 Cuma
			KONFERANS SALONU	SALON A	KONFERANS SALONU	SALON A	KONFERANS SALONU	SALON A	
09:00 09:30			**KONFERANS OTURUMU** **Yöneten: G. Zafer PEKMEZCİ** **KONFERANS 02** **M. Kirami ÖLGEN** Vektör Kaynaklı Hastalıklarda Risk Haritalaması		**KONFERANS OTURUMU** **Yöneten: Ayşegül TAYLAN ÖZKAN** **KONFERANS 06** **Banuçiçek YÜCESAN** Parazitoloji Laboratuvarlarında Atık Yönetimi		**KONFERANS OTURUMU** **Yöneten: Seray TÖZ** **KONFERANS 11** **Ayşegül TAYLAN ÖZKAN** Adli Parazitoloji		**KONFERANS OTURUMU** **Yöneten: Yusuf ÖZBEL** **KONFERANS 16** **Suha K. ARSERİM** Kum Sinekleri ve İnsektisitler
09:30 10:00					ARA ve POSTER TARTIŞMASI		ARA ve POSTER TARTIŞMASI		ARA
10:00 10:30			**YUVARLAK MASA 01** Eksozomların Mediyatör ve Biyobelirteç Olarak Paraziter Hastalıklardaki Önemi **Düzenleyen:** **Abdullah İNCİ**		**KONFERANS 07** **Dilek GÜLDEMİR** Parazitolojiye Moleküler Yaklaşım: Tanı, Tiplendirme ve Genomik Sekanslama		**KONFERANS 12** **Eduardo BERRIATUA** A Review of the Epidemiology and Control of Leishmaniasis in Azerbaijan and Georgia		**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 10** **(SB71 – SB76)** **Başkanlar: Serkan BAKIRCI / Zuhal ÖNDER**
10:30 11:00					**KONFERANS 08** **Ayşegül TAYLAN ÖZKAN** Atık sularda/çevresel Örneklerde Parazit Araştırılması ve Önemi		**KONFERANS 13** **Gianluca D'AMICO** Ixodid Ticks Parasitizing Wild Carnivores in Romania		
11:00 11:30			ARA ve POSTER TARTIŞMASI		ARA ve POSTER TARTIŞMASI		ARA ve POSTER TARTIŞMASI		ARA
11:30 12:00		**KAYIT**	**KONFERANS OTURUMU** **Yöneten: Yusuf ÖZBEL** **KONFERANS 03** **Nazlı AYHAN** Toskana virüs özelinde Phlebovirüsler ve Türkiye'deki Toskana virüs Enfeksiyonlarına Genel Bakış		**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 04** **(SB27 – SB32)** **Başkanlar: Hasan EREN / Hatice ERTABAKLAR**	**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05** **(SB33 – SB38)** **Başkanlar: Zati VATANSEVER / Erdener BALIKÇI**	**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08** **(SB57 – SB63)** **Başkanlar: Meral AYDENİZÖZ / İ. Cüneyt BALCIOĞLU**	**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09** **(SB64 – SB70)** **Başkanlar: Tülin KARAGENÇ / Ahmet DENİZ**	**KAPANIŞ KONFERANSI** **Yöneten: Yusuf ÖZBEL** **Muttalip ÇİÇEK** Tıp Eğitiminde Parazitoloji Müfredatlarına Genel Bakış ve COVİD-19 Pandemisinde Uzaktan Parazitoloji Eğitimi
12:00 12:30	**KAYIT**		**KONFERANS 04** **Husain F. HASSAN** Purine Metabolism as Target for Antiprotozoal Chemotherapy						**KAPANIŞ**
12:30 13:30			ÖĞLE ARASI		ÖĞLE ARASI	ÖĞLE ARASI	ÖĞLE ARASI	ÖĞLE ARASI	ÖĞLE ARASI
13:30 14:00			**YUVARLAK MASA 02** Parazitolojide *in vitro*, *ex vivo* ve *in vivo* İlaç Direnç Testleri ve Etken Madde Taramaları **Düzenleyen:** **Ahmet ÖZBİLGİN**		**YUVARLAK MASA 03** Microsporidia'larda Tanı ve Kültür Yöntemlerine Genel Bir Bakış **Düzenleyen:** **Ülkü KARAMAN**		**KONFERANS OTURUMU** **Yöneten: Arif ÇİLOĞLU** **KONFERANS 14** **Patricia A. NUTTALL** Ticks, Disease and Climate Change		
14:00 14:30							**KONFERANS 15** **Vladimir IVOVIC** Detection, Identification and Genotyping of *Borrelia* spp. in Slovenia		
14:30 15:00					ARA ve POSTER TARTIŞMASI		ARA ve POSTER TARTIŞMASI		
15:00 15:30		**AÇILIŞ**	ARA ve POSTER TARTIŞMASI		**KONFERANS OTURUMU** **Yöneten: Cihangir AKDEMİR** **KONFERANS 09** **Erdal POLAT** Psoriasis Hastalığının Doktor Balıklar ve *Lucilia sericata* Larvalarının Salgısı ile Tedavisi		**YUVARLAK MASA 05** Aşı Geliştirme Süreci, Parazitoloji ve *Toxoplasma gondii* 01 **Düzenleyen:** **A. Yüksel GÜRÜZ**		
15:30 16:00		**AÇILIŞ KONFERANSI** **Kosta MUMCUOĞLU** Toz Akarı Allerjileri: Akarolojik Bakımdan Hastaya Nasıl Yardım Edilebilir	**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02** **(SB13 – SB019)** **Başkanlar: M. Özkan ARSLAN / Süleyman AYPAK**	**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03** **(SB20 – SB26)** **Başkanlar: Ahmet ÖZBİLGİN / Muttalip ÇİÇEK**	ARA ve POSTER TARTIŞMASI				
16:00 16:30		ARA			**YUVARLAK MASA 04** Paraziter Enfeksiyonların Tanısında İnvaziv Olmayan Likit Biyopsi Yaklaşımı **Düzenleyen:** **Ayşe CANER**				
16:30 17:00		**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01A** **(SB01 – SB06)** **Başkanlar: Derya DİRİM ERDOĞAN / Önder DÜZLÜ**					ARA ve POSTER TARTIŞMASI		
17:00 17:30			ARA ve POSTER TARTIŞMASI		ARA ve POSTER TARTIŞMASI				
17:30 18:00		ARA	**KONFERANS OTURUMU** **Yöneten: Alparslan YILDIRIM** **KONFERANS 05** **Staffan BENSCH** A Bird Perspective of Malaria – From The Microscope To Genomics		**KONFERANS OTURUMU** **Yöneten: Alparslan YILDIRIM** **KONFERANS 10** **Barry Wilmer ALTO** Mosquito Ecology; Arbovirus Infection and Transmission		**YUVARLAK MASA 06** Aşı Geliştirme Süreci, Parazitoloji ve *Toxoplasma gondii* 02 **Düzenleyen:** **A. Yüksel GÜRÜZ**		
18:00 18:30		**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01B** **(SB07 – SB12)** **Başkanlar: Derya DİRİM ERDOĞAN / Önder DÜZLÜ**	ARA ve POSTER TARTIŞMASI		**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06** **(SB39 – SB47)** **Başkanlar: Münir AKTAŞ / Yusuf ÖZBEL**	**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07** **(SB48 – SB56)** **Başkanlar: Nermin ŞAKRU / Soykan ÖZKOÇ**			
18:30 19:00			**TÜRKİYE PARAZİTOLOJİ DERNEĞİ** **24. OLAĞAN GENEL KURULU**						
19:00 19:30		AKŞAM YEMEĞİ							
20:00-					AKŞAM YEMEĞİ		**GALA YEMEĞİ** **(İLKSAN Didim DEHA Tesisi)**		
21:00 22:30			AKŞAM YEMEĞİ						
			POSTER BİLDİRİLER						

22. Parazitoloji Kongresi

11 – 15 Ekim 2021, Didim / AYDIN

Düzenleyen

Türkiye Parazitoloji Derneği

ve

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Kongre Onursal Başkanı

M. Ali ÖZCEL / TPD Onursal Başkanı

Osman Selçuk ALDEMİR /Adnan Menderes Üniversitesi Rektörü

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

Süleyman AYPAK Hatice ERTABAKLAR Soykan ÖZKOÇ

BİLİMSEL PROGRAM

---

1. GÜN

11 Ekim 2021, Pazartesi	
	KONFERANS SALONU
15:00 **15:30**	**KONGRE AÇILIŞI** **Yusuf ÖZBEL,** Kongre Başkanı **M. Ali ÖZCEL,** Kongre Onursal Başkanı **Osman Selçuk ALDEMİR,** Kongre Onursal Başkanı / Adnan Menderes Üniversitesi Rektörü
15:30 **16:00**	**AÇILIŞ KONFERANSI** **Toz Akarı Alerjileri: Akarolojik Bakımdan Hastaya Nasıl Yardım Edilebilir?** Konuşmacı**: Kosta Y. MUMCUOĞLU**
16:00 **16:30**	**ÇAY / KAHVE ARASI**
16:30 **17:30**	**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01A** Oturum Başkanları: **Önder DÜZLÜ / Derya DİRİM ERDOĞAN** **SB01.** Rutin Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında Bulunan Temel Besiyerlerinde *Trichomonas vaginalis*'in Üretilmesi **Yener ÖZEL,** Umut YILMAZ, Gülhan VARDAR ÜNLÜ, Ahmet ÖZBİLGİN, Mehmet ÜNLÜ **SB02.** *Trichomonas vaginalis*'in Tanısında Konvansiyonel Yöntemlerin Moleküler Yöntemlerle Karşılaştırılması ve Metronidazol Direncinin Araştırılması **Yener ÖZEL,** İbrahim ÇAVUŞ, Akın USTA, Gülhan VARDAR ÜNLÜ, Mehmet ÜNLÜ **SB03.** Yoğun Bakım Hastalarında *Pneumocystis jirovecii* ve Atipik Pnömoni Etkeni *Chlamydia pneumoniae* ve *Mycoplasma pneumoniae* Tanısında PCR Yönteminin Konvansiyonel Yöntemlerle Karşılaştırılması **Yener ÖZEL,** Nurhan GENCER SARIOĞLU, Gülhan VARDAR ÜNLÜ, Fuat EREL, Fatih UGÜN, Mehmet ÜNLÜ **SB04.** *Ichtyophtirus multifiliis*'de Endosimbiyotik Riketsiya, *Candidatus megaira*'nın Moleküler ve Filogenetik Karakterizasyonu Abdullah İNCİ**, Mübeccel ATELGE,** Gökmen Zafer PEKMEZCİ, Fikri BALTA, Emrah ŞİMŞEK, Önder DÜZLÜ, Arif ÇİLOĞLU, Ertan Emek ONUK, Banu YARDIMCI, Osman İBİŞ, Zuhal ÖNDER, Gamze YETİŞMİŞ, Alparslan YILDIRIM **SB05.** Güvercinlerde (*Columba livia*) Haemosporidian Parazitlerin Yaygınlığı ve Moleküler Karakterizasyonu Arif ÇİLOĞLU**, Sümeyye AYGÜN,** Alparslan YILDIRIM, Didem PEKMEZCİ, Gamze YETİŞMİŞ, Nesrin DELİBAŞI KÖKÇÜ, Emrah ŞİMŞEK, Neslihan SÜRSAL ŞİMŞEK, Gökmen Zafer PEKMEZCİ, Önder DÜZLÜ, Zuhal ÖNDER, Abdullah İNCİ **SB06.** Koyun ve Keçilerde *Anaplasma phagocytophilum* ve Varyantlarının Belirlenmesi Münir AKTAŞ, Sezayi ÖZÜBEK**, Mehmet Can ULUÇEŞME**

17:30 18:00	**ÇAY / KAHVE ARASI**
18:00 19:00	**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01B** Oturum Başkanları: **Önder DÜZLÜ / Derya DİRİM ERDOĞAN** **SB07.** Türkiye'de Reptillerde Trombikül (*Acariformes: Trombiculidae*) Akarların Konak Çeşitliliğine Katkı ve Konaklarda Akar Faunasının Değerlendirilmesi **Gökhan EREN**, Şinasi UMUR, Ali Tümay GÜRLER, Cenk Soner BÖLÜKBAŞ, Özlem KOÇ, Mehmet ÖZTÜRK, Mustafa AÇICI **SB08.** Türkiye'nin Farklı Karasularından Avlanmış Deniz Balıklarında Anisakid ve Raphidascaridid Nematodların Yaygınlığının Araştırılması Neslihan SÜRSAL ŞİMŞEK, **Emrah ŞİMŞEK** **SB09.** FAO 27 Balıkçılık Alanından Türkiye'ye İthal Edilen Uskumrularda *(Scomber scombrus*) Bulunan *A. pegreffii* X A. simplex (s.s) Hybrid Genotiplerin (Nematoda: Anisakidae) Mitokondriyal rrnS Geninin Moleküler Karakterizasyonu **Neslihan SÜRSAL ŞİMŞEK**, Alparslan YILDIRIM, Gökmen PEKMEZCİ, Abdullah İNCİ, Emrah ŞİMŞEK **SB10.** İşgalci *Aedes* Sivrisinek Türlerinin Türkiye'deki Güncel Durumları **Berna DEMİRCİ** **SB11.** At Çiftliklerinden Toplanan Sivrisinek (*Diptera: Culicidae*) Türleri Üzerine Araştırmalar Hilal BEDİR, **Ahmet DENİZ**, Çağla KORKMAZ, Mesut YİĞİT, Neriman MOR, Mükremin Özkan ARSLAN, Zati VATANSEVER **SB12.** Artropod Koruyucu Antijeni Akirin'in *Anopheles sacharovi* Nesillerinde Moleküler Karakterizasyonu ve Ekspresyon Analizleri **Önder DÜZLÜ**, Alparslan YILDIRIM, Fatih Mehmet ŞİMŞEK, Arif ÇİLOGLU, Osman İBİŞ, Sadullah USLUĞ, Sümeyye AYGÜN, Nesrin DELİBAŞI KÖKÇÜ, Abdullah İNCİ
19:00 -	**AKŞAM YEMEĞİ**

2. GÜN

12 Ekim 2021, Salı	
	KONFERANS SALONU
09:00 **09:30**	**KONFERANS 02** **VEKTÖR KAYNAKLI HASTALIKLARDA RİSK HARİTALAMASI** Oturum Başkanı: **G. Zafer PEKMEZCİ** Konuşmacı: **M. Kirami ÖLGEN**
09:30 **11:00**	**YUVARLAK MASA OTURUMU 01** **EKSOZOMLARIN MEDİYATÖR VE BİYOBELİRTEÇ OLARAK PARAZİTER HASTALIKLARDAKİ ÖNEMİ** Düzenleyen: **Abdullah İNCİ** **1.** Exosomes (Extracellular vesicles) Structure and Functions **(ONLINE)** **Mahmoul Hasan SOHEL** **2.** Eksozomların İzolasyonu, Kantitasyonu ve Karakterizasyonunda Kullanılan Yöntemler **Gupse Kübra KARADEMİR** **3.** Eksozom Türevli Non-coding RNA'ların Karakterizasyonunda Biyoinformatik Yaklaşımlar **Gökmen ZARARSIZ** **4.** Metazoon Parazitlerde Eksozom Bazlı Çalışmalara Genel Bakış **Alparslan YILDIRIM** **5.** Protozoon Parazitlerde Eksozom Bazlı Çalışmalara Genel Bakış **Arif ÇİLOĞLU**
11:00 **11:30**	**ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI**
11:30 **12:30**	**KONFERANS 03 (ONLINE)** **TOSKANA VİRÜS ÖZELİNDE PHLEBOVİRÜSLER VE TÜRKİYE'DEKİ TOSKANA VİRÜS ENFEKSİYONLARINA GENEL BAKIŞ** Oturum Başkanı: **Yusuf ÖZBEL** Konuşmacı: **Nazlı AYHAN (France)** **KONFERANS 04 (ONLINE)** **PURINE METABOLISM AS TARGET FOR ANTIPROTOZOAL CHEMOTHERAPY** Oturum Başkanı: **Yusuf ÖZBEL** Konuşmacı: **Husain F. HASSAN (Iraq)**
12:30 **13:30**	**ÖĞLE ARASI**

13:30 **15:00**	**YUVARLAK MASA OTURUMU 02** **PARAZİTOLOJİDE *in vitro*, *ex vivo* ve *in vivo* İLAÇ DİRENÇ TESTLERİ VE ETKEN MADDE TARAMALARI** Düzenleyen: **Ahmet ÖZBİLGİN** **1.** Parazitolojide İlaç Direncinde *in vitro* Aktivite Testleri **Tülay AKSOY** **2.** Leishmaniasis: *in vitro* ve *in vivo* Etken Madde Taramaları **Nami Ege PERK** **3.** Hücre içi Parazitlerde İlaç Direnç Testleri ve Etken Madde Taramaları: *ex vivo* Deneyimi **Ahmet YILDIRIM** **4.** Sıtmada *in vitro* ve *in vivo* Etken Madde Taramaları **İbrahim ÇAVUŞ** **5.** *Trichomonas vaginalis*, Helmintler ve Artropodlarda Etken Madde Taramaları ve İlaç Direnç Testleri **Yener ÖZEL**
15:00 **15:30**	**ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI**

	KONFERANS SALONU	SALON A
15:30 **17:00**	**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02** Oturum Başkanları: **M. Özkan ARSLAN / Süleyman AYPAK** **SB13.** Alveolar Echinococcosis Riski Kırsalda mı Yoksa Şehirde mi Daha Fazla? Hamza AVCIOĞLU, **Muzaffer AKYÜZ**, Rıdvan KİRMAN, İbrahim BALKAYA, Esin GÜVEN **SB14.** İnsan ve Hayvan Kaynaklı *Echinococcus granulosus sensu lato* Dizilerinin Filogenetik Analizi **Ceylan POLAT**, Serra ÖRSTEN **SB15.** *Fasciola hepatica* Seropozitif Hastalarda Bazı Antioksidan Enzim ve Oksidatif Stres Markırlarının Değerlendirilmesi Zeynep CENGİZ, Hasan YILMAZ, Yunus Emre BEYHAN, Abdurrahman EKİCİ, **Ahmed HALİDİ**, Mutalip ÇİÇEK	**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03** Oturum Başkanları: **Ahmet ÖZBİLGİN / Muttalip ÇİÇEK** **SB20.** Oküler Toxoplasmosis Ön Tanılı Hastalarda Gözyaşı ve Serumda *Toxoplasma gondii* Antijen ve Antikorlarının Araştırılması **Ozan YAMAN** **SB21.** *Toxoplasma gondii* ile Enfekte BeWo Hücre Hattında Timokinonun Antiparazitik Etkisinin Araştırılması **Merve YÜRÜK**, Eda SİVCAN, Ozan YAMAN, Emrah ERDOĞAN **SB22.** *Toxoplasma gondii* ile Deneysel Enfekte BeWo Hücre Hattında Eksozomların Karakterizasyonu Abdullah İNCİ, **Merve YÜRÜK**, Alparslan YILDIRIM, Mahmodul Hasan SOHEL, Eda SİVCAN, Gupse Kübra KARADEMİR

	SB16. *Toxocara canis*'in İnorganik Pyrophosphatase Antijeninin Moleküler Karakterizasyonu ve *in-vivo* Fare Modelinde Ön Aşı Çalışmaları **Gamze YETİŞMİŞ**, Alparslan YILDIRIM **SB17.** Çiğ Sütlerde *Toxocara vitulorum*'un Tanısında SyberGreen Tabanlı Real Time PCR Metodolojisinin Geliştirilmesi ve Etkinliği **Nesrin DELİBAŞI KÖKÇÜ**, Alparslan YILDIRIM, Sümeyye AYGÜN, Gamze YETİŞMİŞ, Önder DÜZLÜ, Arif ÇİLOGLU, Zuhal ÖNDER, Abdullah İNCİ **SB18.** Detection of Protozoan Parasites in Wastewater by Molecular Methods in Corum Province **Sabiha AYDOGDU**, Djursun KARASARTOVA, Gönül ARSLAN AKVERAN, Nezahat KOŞAR, Lihua XIAO, Aysegül TAYLAN ÖZKAN **SB19.** Investigation of Parasite Contamination in Raw Vegetables Consumed in Çorum by Microscopic and Molecular Methods **Sabiha AYDOGDU**, Djursun KARASARTOVA, Gönül ARSLAN AKVERAN, Nezahat KOŞAR, Ayşe Semra GÜRESER, Meral AYDENİZÖZ, Aysegül TAYLAN ÖZKAN	**SB23.** Giardiasis Tanılı Hastalardan İzole Edilen *Giardia intestinalis* Suşlarının Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) Yöntemi İle Genotiplerinin Araştırılması **Nurdan GÜNGÖR**, Erdener BALIKÇI **SB24.** Parazitler İnflamatuvar Bağırsak Hastalıklarını Tetikler mi? **Tuğba ERTOP**, Orçun ZORBOZAN, Nalan GÜLŞEN ÜNAL, Nevin TURGAY **SB25.** Molecular Determination of *Toxoplasma gondii* in milk of livestock in Çorum, Turkay **Gonul ARSLAN-AKVERAN**, Djursun KARASARTOVA, Sabiha AYDOGDU, Nezahat KOSAR, Arzu COMBA, Ayse Semra GURESER, Aysegul TAYLAN-OZKAN **SB26.** Mt-CO1 Gen Markerleri Kullanılarak *Ligula intestinalis*'in Filogenetik Analizi ve Haplotip Çeşitliliğinin in-silico Olarak Belirlenmesi **Muhammed Ahmed SELÇUK**, Figen ÇELİK, Sami ŞİMŞEK, Haroon AHMED, Harun Kaya KESİK, Şeyma GÜNYAKTI KILINÇ
17:00 17:30	**ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI**	
17:30 18:00	**KONFERANS 05 (ONLINE)** **A BIRD PERSPECTIVE OF MALARIA – FROM THE MICROSCOPE TO GENOMICS** Oturum Başkanı: **ALPARSLAN YILDIRIM** Konuşmacı: **Staffan BENSCH (USA)**	
18:00 18:30	**ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI**	
18:30 20:00	**TÜRKİYE PARAZİTOLOJİ DERNEĞİ 24. OLAĞAN GENEL KURULU**	
20:00-	**AKŞAM YEMEĞİ**	

3. GÜN

13 Ekim 2021, Çarşamba

	KONFERANS SALONU	
09:00 09:30	**KONFERANS 06** **PARAZİTOLOJİ LABORATUVARLARINDA ATIK YÖNETİMİ** Oturum Başkanı: **Ayşegül TAYLAN ÖZKAN** Konuşmacı: **Banuçiçek YÜCESAN**	
09:30 10:00	**ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI**	
10:00 11:00	**KONFERANS 07** **PARAZİTOLOJİYE MOLEKÜLER YAKLAŞIM: TANI, TİPLENDİRME ve GENOMİK SEKANSLAMA** Oturum Başkanı: **Ayşegül TAYLAN ÖZKAN** Konuşmacı: **Dilek GÜLDEMİR** **KONFERANS 08** **ATIK SULARDA/ÇEVRESEL ÖRNEKLERDE PARAZİT ARAŞTIRILMASI ve ÖNEMİ** Oturum Başkanı: **Ayşegül TAYLAN ÖZKAN** Konuşmacı: **Ayşegül TAYLAN ÖZKAN**	
	KONFERANS SALONU	**SALON A**
11:00 12:30	**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 04** Oturum Başkanları: **Hasan EREN / Hatice ERTABAKLAR** **SB27.** Trends in Pediculicide Usage in Turkey **Sabiha AYDOĞDU**, Emrah BİLGENER, Kosta Y. MUMCUOĞLU, Aysegül TAYLAN ÖZKAN **SB28.** Kırşehir Yöresinde Hayvan Barınaklarından Toplanan Pulex irritans'ın mt-COI DNA Barkodlaması ile Filogenetik karakterizasyonu **Nuri ERCAN**, Abdullah İNCİ, Zuhal ÖNDER, Gamze YETİŞMİŞ, Önder DÜZLÜ, Arif ÇİLOĞLU, Mübeccel ATELGE, Alparslan YILDIRIM **SB29.** Türkiye'de Bir Kobay (*Cavia porcellus*)'da *Chirodiscoides caviae* Enfestasyonu ve Fipronil ile Tedavisi Meral AYDENİZÖZ, Sami GÖKPINAR	**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05** Oturum Başkanları: **Zati VATANSEVER / Erdener BALIKÇI** **SB33.** Deri Lezyonunda *Enterobius vermicularis* Saptanan Bir Olgu **Ahmet ÖZKEKLİKÇİ** **SB34.** *Echinococcus granulosus* Metacestodlarında Diagnostik Antijen P29'un Moleküler Karakterizasyonu, Gen Ekspresyonu ve İmmun Reaktivitesi **Gözde ŞAHİNGÖZ DEMİRPOLAT**, Alparslan YILDIRIM **SB35.** İzmir Yöresindeki İthal Sığırlarda *Neospora caninum* Enfeksiyonunun Seroprevalansı **Halil LİMONCU**, Metin PEKAĞIRBAŞ, Hakan KANLIOĞLU, Heycan AYDIN, Beril KOÇ, Tülin KARAGENÇ, Hüseyin Bilgin BİLGİÇ

	SB30. Pediatrik Hidatik Kist İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu, Haplotiplerinin Belirlenmesi ve Türkiye'de Pediatrik Vakalarda *Echinococcus canadensis*'in (G6/G7) İlk Bildirimi Ünal BAKAL, **Figen ÇELİK**, Sami ŞİMŞEK, Harun Kaya KESİK, Şeyma GÜNYAKTI KILINÇ **SB31.** Morgellons hastalığı ve *Borrelia burgdorferi* ilişkisi: Olgu Sunumu Murat HÖKELEK, **Erdener BALIKÇI**, Gamze ALÇİ, Nurdan GÜNGÖR, Eda YAZICI ÖZÇELİK, Fetiye KOLAYLI **SB32.** Blefarit Etkeni Olarak *Demodex folliculorum*: Olgu Sunumu Handan GENEZ, Elif OKUMUŞ, **Erdener BALIKÇI,** Fetiye KOLAYLI, Murat HÖKELEK	**SB36.** *Cryptosporidium*'un LAMP ile Tanısında Floresan ve Kolorimetrik LAMP Kitlerinin Karşılaştırılması **Muhammet KARAKAVUK** **SB37.** Türkiye'de Farklı Kemirgen Türlerinde Kapillarial Hepatitis Varlığının Araştırılması Ali Tümay GÜRLER, Cenk BÖLÜKBAŞ, Sadık DEMİRTAŞ, Öykü BARILI, **Mehmet ÖZTÜRK**, Sinem İNAL, Mustafa AÇICI, Şinasi UMUR **SB38.** *Silybum marianum* Çekirdeği Yağının *in vitro* Antileishmanial Etkisi **İbrahim YILDIZ**
12:30 **13:30**	**ÖĞLE ARASI**	
13:30 **14:30**	**YUVARLAK MASA OTURUMU 03** **MICROSPORIDIA'LARDA TANI ve KÜLTÜR YÖNTEMLERİNE GENEL BİR BAKIŞ** Düzenleyen: **Ülkü KARAMAN** **1.** Microsporidialarda Konvansiyonel Tanı Yöntemleri **Ülkü KARAMAN** **2.** Microsporidialarda Moleküler Yöntemler **Berna HAMAMCI** **3.** Microsporidialarda Kültür Yöntemleri **Ülfet ÇETİNKAYA**	
14:30 **15:00**	**ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI**	
15:00 **15:30**	**KONFERANS 09** **PSORİASİS HASTALIĞININ DOKTOR BALIKLAR VE *Lucilia serricata* LARVALARININ SALGISI İLE TEDAVİSİ** Oturum Başkanı: **Cihangir AKDEMİR** Konuşmacı: **Erdal POLAT**	
15:30 **16:00**	**ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI**	

16:00 **17:00**	**YUVARLAK MASA OTURUMU 04** **PARAZİTER ENFEKSİYONLARIN TANISINDA İNVAZİV OLMAYAN LİKİT BİYOPSİ YAKLAŞIMI** Düzenleyen: **Ayşe CANER** **1.** Likit biyopsi Uygulamalarında Biyobelirteç Olarak Vücut Sıvılarındaki DNA'lar **Eylem AKDUR ÖZTÜRK** **2.** Likit Biyopsi Uygulamalarında Biyobelirteç Olarak mikroRNA'lar **Serra ÖRSTEN** **3.** Likit Biyopsi Uygulamalarında Biyobelirteç Olarak Ekzozomlar **İpek BAYSAL**
17:00 **17:30**	**ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI**
17:30 **18:00**	**KONFERANS 10 (ONLINE)** **MOSQUITO ECOLOGY; ARBOVIRUS INFECTION and TRANSMISSION** Oturum Başkanı: **Alparslan YILDIRIM** Konuşmacı: **Barry ALTO (USA)**

	KONFERANS SALONU	SALON A
18:00 **19:30**	**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06** Oturum Başkanları: **Münir AKTAŞ / Yusuf ÖZBEL** **SB39.** COVID-19 Pandemisinin Uyuz Sıklığı Üzerine Etkisi Zekayi KUTLUBAY, **Serhat SİREKBASAN**, Elif ÖZÇAKIR, Erdal POLAT **SB40.** Türkiye'de 2016-2019 Yılları Arasında *Culicoides* Faunasının Araştırılması **Ahmet DENİZ**, Çağla KORKMAZ, Ufuk ERO[3], Hilal BEDİR, Hakan YEŞİLÖZ, Ayşen BEYAZİT, Taraneh ÖNCEL, Mesut ŞENEL, Osman SEZER, Aysel EKİNCİ, Selim TUNCER, Funda ALTINÖZ, Neriman MOR, Berna DEMİRCİ, Zati VATANSEVER, Coşkun AYDIN, Zekai BASTEM **SB41.** Farklı Klimatik Ortamlarda Kum Sineklerinin Gecelik Aktivitesi ve Konak Tercihlerinin Belirlenmesi **Kardelen YETİŞMİŞ**, Suha K. ARSERİM, Hüseyin ÇETİN, Zeph Nelson OMONDİ, Ufuk MERT, Ayşe CANER, Muhammed NALÇACI, Seray TÖZ, Yusuf ÖZBEL	**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07** Oturum Başkanları: **Nermin ŞAKRU / Soykan ÖZKOÇ** **SB48.** *Leishmania* RNA Virüs Negatif ve Pozitif İki *Leishmania tropica* Suşunun de novo Transkriptom Profili ve Diferansiyel Gen Ekspresyonu Analizi **Muhammed NALÇACI**, Ayşe CANER, Yusuf ÖZBEL, Seray TÖZ **SB49.** Edirne İlinde 2019-2021 ılları Arasında Saptanan Kutanöz Leishmaniasis Olgularının Değerlendirilmesi **Canan ERYILDIZ**, Yıldız GÜRSEL ÜRÜN, Nermin ŞAKRU **SB50.** Kutanöz Leishmaniasis Tanısı İçin Kayseri Eğitim Araştırma Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarı'na 2012-2018 Yılları Arasında Başvuran Hastaların Değerlendirilmesi **Ozan YAMAN**, Merve YÜRÜK, Emrah ERDOĞAN

SB42. Orta Karadeniz Bölgesi'nde Yayılış Gösteren Kum Sineklerinin (Diptera: Psychodidae) Filogenetik Karakterizasyonu
Alparslan YILDIRIM, **Gupse Kübra KARADEMİR**, Gökmen Zafer PEKMEZCİ, Kardelen YETİŞMİŞ, Yusuf ÖZBEL, Önder DÜZLÜ, Seray TÖZ, Arif ÇİLOĞLU, Emrah ŞİMŞEK, Zuhal ÖNDER, Osman İBİŞ, Gamze YETİŞMİŞ, Didem PEKMEZCİ, Faruk KARABULUT, Abdullah İNCİ

SB43. *Hyalomma* Kenelerinin Komple Mitokondriyal Genom ve Nükleer Genler Tabanlı Karakterizasyonu ve Filogenetik Analizleri
Arif ÇİLOĞLU, Münir AKTAŞ, Osman İBİŞ, Alparslan YILDIRIM, Önder DÜZLÜ, Zuhal ÖNDER, Emrah ŞİMŞEK, Gamze YETİŞMİŞ, Abdullah İNCİ

SB44. *Hyalomma* Türlerinin Glutathione S-Transferase Geninin Moleküler Karakterizasyonu ve *Hyalomma marginatum* Nesillerinde Ekspresyon Analizleri
Alparslan YILDIRIM, **Sadullah USLUĞ**, Münir AKTAŞ, Gamze YETİŞMİŞ, Önder DÜZLÜ, Arif ÇİLOGLU, Gupse Kübra KARADEMİR[1], Nesrin DELİBAŞI KÖKÇÜ, Zuhal ÖNDER, Abdullah İNCİ

SB45. Evaluation of *Lucilia sericata* and Its Excretion/Secretion Products in Terms of Biocompatibility
Büşra MORAN-BOZER, Uğur USLU, Kosta Y. MUMCUOGLU, Ayşegül TAYLAN-OZKAN

SB46. Samsun Yöresinde *Fasciola* Türlerinin Ara konaklardaki Varlığının Araştırılması: Türkiye İçin Muhtemel Yeni Arakonaklar
Elif Burcu GENÇAY TOPÇU, Cenk BÖLÜKBAŞ

SB47. Türkiye'de Varroazisde Voltaj Kapılı Sodyum Kanalı Geninde L925 Mutasyonun Araştırılması
Tuğçe TUYGUN, Serbülent YİĞİT, Ali Tümay GÜRLER, Rahşan AKPINAR, Ayşe Feyda NURSAL, Nilüfer KURUCA, Cenk Soner BÖLÜKBAŞ, Elif Burcu GENÇAY TOPÇU, Mustafa AÇICI, Şinasi UMUR

SB51. Çoklu Lezyon Gelişen Kutanöz *Leishmania* Olgusunun *Lucilia sericata* Larvalarının Salgısı ile Tedavisi
Tansu DÜNDAR, Burhan ENGİN, Erdal POLAT

SB52. Sıtma Marjinal Bir Vaka: Kamerun Orijinli İlginç Bir Sıtma Öyküsü
Emrah ERDOĞAN, Zeynep TÜRE YÜCE, Atiye AYRIK, Merve YÜRÜK, Ozan YAMAN, Orhan YILDIZ

SB53. *Oestrius ovis* Larvasının Sebep Olduğu İnsan Nasal Myiasis Olgusu
Mehmet AYKUR, Murat ÜNAL, Mehmet KARAKUŞ

SB54. Nadir Nazo- Oftalmik Myazis: Olgu Sunumu
Oktay ALVER, Derya DOĞANAY, Selim DOĞANAY, Hakan COŞKUN

SB55. Anisakidosis in Turkey: Serological Survey and Risk for Humans
Eylem AKDUR OZTURK, Fatma İrvasa BILGIÇ, Alessandra LUDOVISI, Okan GULBAHAR, Derya Dirim ERDOGAN, Metin KORKMAZ, Maria Ángeles GÓMEZ MORALES

SB56. Evaluation of the Diagnostic Performance of Multi-epitope Recombinant Antigen DIPOL and Hydatid Fluid in Serodiagnosis of Patients with Cystic Echinococcosis According to Clinical Variables
Eylem AKDUR OZTURK, Raúl Manzano-ROMÁN, Carlos Sánchez-OVEJERO, Ayse CANER, Ülkü KARAMAN, Nuray ALTINTAS, Adriano CASULLI, Nazmiye ALTINTAS, Mar Siles-LUCAS, Aysegul UNVER

20:00-	**AKŞAM YEMEĞİ**

4. GÜN

14 Ekim 2021, Perşembe		
	KONFERANS SALONU	
09:00 **09:30**	**KONFERANS 11** **ADLİ PARAZİTOLOJİ** Oturum Başkanı: **Seray TÖZ** Konuşmacı: **Ayşegül TAYLAN ÖZKAN**	
09:30 **10:00**	**ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI**	
10:00 **11:00**	**KONFERANS 12 (ONLINE)** **A REVİEW OF THE EPIDEMIOLOGY and CONTROL of LEISHMANIASIS IN AZERBAIJAN and GEORGIA** Oturum Başkanı: **Seray TÖZ** Konuşmacı: **Eduardo BERRIATUA (Spain)** **KONFERANS 13 (ONLINE)** **IXODID TICKS PARASITIZING WILD CARNIVORES IN ROMANIA** Oturum Başkanı: **Seray TÖZ** Konuşmacı: **Gianluca D'AMICO (Romania)**	
11:00 **11:30**	**ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI**	
	KONFERANS SALONU	**SALON A**
11:30 **12:30**	**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08** Oturum Başkanları: **Meral AYDENİZÖZ / İ. Cüneyt BALCIOĞLU** **SB57.** *Toxoplasma gondii* RE ve B1 Genlerini Hedefleyen Kolorimetrik LAMP Testlerinin Geliştirilmesi ve PCR ile Doğrulanmış Kedi Dışkı DNA Örneklerinde Performanslarının Karşılaştırılması **Muhammet KARAKAVUK**, Hüseyin CAN, Tuğba KARAKAVUK, Aytül GÜL, Sedef ERKUNT ALAK, Ceren GÜL, Cemal ÜN, Adnan Yüksel GÜRÜZ, Mert DÖŞKAYA, Aysu DEĞİRMENCİ DÖŞKAYA **SB58.** Ceylanpınar'da Sığırlarda *Theileria annulata* ve *Theileria buffeli/orientalis*'in Multipleks PCR ile Araştırılması **Meral AYDENİZÖZ**, Sami GÖKPINAR, Erhan İÇÖZ	**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09** Oturum Başkanları: **Tülin KARAGENÇ / Ahmet DENİZ** **SB64.** Iğdır Aras Nehri Kuş Cenneti'nde Göçmen Kuşların Bitleri (Phthiraptera: Amblycera, Ischnocera) Üzerine Bir Araştırma **Ayşegül ÇOBAN**, Bilal DİK, Beğüm ÇATALKAYA, Emrah ÇOBAN, Çağan ŞEKERCİOĞLU **SB65.** *Theileria annulata*'nın Kenelere Aktarımını Engelleyebilecek Antijen Adaylarının in vivo İncelenmesi **Hakan KANLIOĞLU**, Hüseyin Bilgin BİLGİÇ, Beril KOÇ, Metin PEKAĞIRBAŞ, Heycan Berk AYDIN, Selin HACILARLIOĞLU, Serkan BAKIRCI, Gülben İYİBİLİR, Tülin KARAGENÇ

	SB59. *Leishmania major* ile Deneysel Olarak Enfekte Edilen Balb/c farelerde IL-4, IL-10, TNF-α ve IFN-γ Düzeylerinin Araştırılması **Meral AYDENİZÖZ**, Oğuz KUL, Aycan N. GAZYAĞCI, Sami GÖKPINAR, Tuğçe SÜMER **SB60.** Köpeklerde Leishmaniasisin Hızlı Tanı Kiti, IFAT ve qPCR ile Karşılaştırılmalı Tanısı **Gökmen Zafer PEKMEZCİ**, Alparslan YILDIRIM, Didem PEKMEZCİ, Yusuf ÖZBEL, Önder DÜZLÜ, Seray TÖZ, Arif ÇİLOĞLU, Emrah ŞİMŞEK, Zuhal ÖNDER, Osman İBİŞ, Sadullah USLUĞ, Zeynep Nurselin ÇOLAK, Gupse KARADEMİR, Gamze ÖZKILIÇ, Abdullah İNCİ **SB61.** Köpeklerde Bağırsak Parazitlerinin Yaygınlığı ve Halk Sağlığı Açısından Önemi Gizem ÜNAL, **Sami GÖKPINAR** **SB62.** Evaluation of Molecular Characterization and Phylogeny for Quantification of *Acanthamoeba* and *Naegleria fowleri* in Various Water Sources, Turkey **Mehmet AYKUR**, Hande DAĞCI **SB63.** *Acanthamoeba*'nın Hızlı Tespiti İçin 18S rRNA Genine Özgü Hızlı Döngü Aracılı İzotermal Amplifikasyon (LAMP) Testinin Geliştirilmesi ve Hassasiyetinin Belirlenmesi **Mehmet AYKUR**, Muhammet KARAKAVUK, Mesut AKIL, Hüseyin CAN, Adnan Yüksel GÜRÜZ, Hande DAĞCI, Mert DÖŞKAYA	**SB66.** *Theileria annulata* 'nın Hücre Kültürü Pasajlarında Atenüasyon Düzeylerinin Farklı Markerlar ile İncelenmesi **Beril KOÇ**, Tülin KARAGENÇ, Selin HACILARLIOĞLU, Hakan KANLIOĞLU, Heycan AYDIN, Metin PEKAĞIRBAŞ, Serkan BAKIRCI, Hüseyin BİLGİÇ **SB67.** *Hypoderma bovis* ve *Oestrus ovis*'in Komple Mitokondriyal Genom Karakterizasyonu ve Filogenetik Analizi **Zuhal ÖNDER**, Mübeccel ATELGE, Alparslan YILDIRIM, Osman İBİŞ, Önder DÜZLÜ, Arif ÇİLOĞLU, Gamze YETİŞMİŞ, Gupse Kübra KARADEMİR, Sadullah USLUĞ, Abdullah İNCİ **SB68.** Sığırlara Keneler ile Bulaştırılan Protozoal ve Rickettsial Hastalıklar **Ozan Cem ŞİMŞEK**, Meral AYDENİZÖZ **SB69.** Aydın Bölgesi Bal Arılarında (*Apis mellifera*) *Nosema* spp.'nin Multipleks PCR ile Araştırılması **Metin PEKAĞIRBAŞ**, Selin HACILARLIOĞLU, Hakan KANLIOĞLU, Heycan AYDIN, Beril KOÇ, Hüseyin Bilgin BİLGİÇ, Tülin KARAGENÇ, Serkan BAKIRCI **SB70.** *Toxoplasma gondii* Takizoitlerinin Kriyoprezervasyon Protokol Performanslarının Değerlendirilmesi İçin Canlılık Testlerinin Optimize Edilmesi **Ayşe Nuriye VARIŞLI**, Merve BİŞKİN TÜRKMEN, Hatice BORAN, Ömer VARIŞLI, Gülay ARAL AKARSU
12:30 **13:30**	**ÖĞLE ARASI**	
13:30 **14:30**	**KONFERANS 14 (ONLINE)** **TICKS, DISEASE and CLIMATE CHANGE** Oturum Başkanı: **Arif ÇİLOĞLU** Konuşmacı: **Patricia A. NUTTALL (UK)** **KONFERANS 15 (ONLINE)** **DETECTION, IDENTIFICATION and GENOTYPING of *Borrelia* spp. IN SLOVENIA** Oturum Başkanı: **Arif ÇİLOĞLU** Konuşmacı: **Vladimir IVOVIC (Slovenia)**	

14:30 15:00	**ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI**
15:00 16:30	**YUVARLAK MASA OTURUMU 05** **AŞI GELİŞTİRME SÜRECİ, PARAZİTOLOJİ ve *Toxoplasma gondii* - 01** Düzenleyen: **A. Yüksel GÜRÜZ** **1.** Tarihin Önemli Kilometre Taşı: Aşılar **Adnan Yüksel GÜRÜZ** **2.** Aşıda İmmünolojik Analizler **Aysu DEĞİRMENCİ DÖŞKAYA** **3.** Aşı Biliminde Biyoinformatiğin Rolü **Cemal ÜN** **4.** Genomdan Başlayan Antijen Keşfi: Revers Vaksinoloji **Sedef ERKUNT ALAK** **5.** Aşı Biliminde Docking Analizi **Ahmet Efe KÖSEOĞLU** **6.** mRNA aşıları **Hüseyin CAN**
16:30 17:00	**ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI**
17:00 18:30	**YUVARLAK MASA OTURUMU 04** **AŞI GELİŞTİRME SÜRECİ, PARAZİTOLOJİ ve *Toxoplasma gondii* - 02** Düzenleyen: **A. Yüksel GÜRÜZ** **1.** DNA Aşıları **Muhammet KARAKAVUK** **2.** Rekombinant Protein Bazlı Aşıların Dünü, Bugünü ve Geleceği **Aytül GÜL** **3.** Parazitolojide Aşı **Mert DÖŞKAYA** **4.** *Toxoplasma gondii*'ye karşı DNA Aşı Yaklaşımı **Ceren GÜL** **5.** *Toxoplasma gondii*'ye Karşı Rekombinant Protein Aşı Yaklaşımı **Tuğba KARAKAVUK** **6.** *Toxoplasma gondii* Aşı Çalışmalarında Yenilikçi CRISPR Yaklaşımı **Gülbuse TURAN**
20:00	**GALA YEMEĞİ (İLKSAN Didim DEHA Tesisi)**

5. GÜN

15 Ekim 2021, Cuma	
	KONFERANS SALONU
09:00 **09:30**	**KONFERANS 16** **KUM SİNEKLERİ ve İNSEKTİSİTLER** Oturum Başkanı: **Yusuf ÖZBEL** Konuşmacı: **Suha K. ARSERİM**
09:30 **10:00**	**ÇAY / KAHVE ARASI ve POSTER TARTIŞMASI**
10:00 **11:00**	**SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 10** Oturum Başkanları: **Zuhal ÖNDER / Serkan BAKIRCI** **SB71.** İstanbul'da göçmen ve yerli Kuşlarda Dikkat Çeken Kene Enfestasyon Verileri; Ön Çalışma Sonuçları Ergün BACAK, Arif ÖZSEMİR, **Gürkan AKYILDIZ**, Umut GÜNGÖR, Ayşen GARGILI KELEŞ, Sırrı KAR **SB72.** The Effect of Five Synthetic Chemical Complexes on *Leishmania tropica* Promastigotes: *in vitro* Study **Ufuk MERT**, Saba NAZ, Shumaila NAZ, Ali HAIDER, Saqib ALI, Ayşe CANER, Yusuf ÖZBEL, Seray TÖZ **SB73.** Ankara'nın Polatlı Yöresindeki Keçilerde *Neospora caninum*'un Seroprevalansı **Gizem ÇUBUKÇU**, Sami GÖKPINAR **SB74.** Erzurum Yöresi Koyunlarında Piroplasmosisin Mikroskobik ve Moleküler Yöntemlerle İncelenmesi **Rıdvan KİRMAN,** Esin GÜVEN **SB75.** Koyunlarda *Giardia intestinalis*'in Yaygınlığı ve İzolatların Filogenetik Karakterizasyonu Zuhal ÖNDER, **Faruk KARABULUT**, Alparslan YILDIRIM, Abdullah İNCİ **SB76.** *Leishmania donovani* ile Enfekte BALB/c Farelerin Karaciğerindeki Gen Ekspresyon Profilinin Araştırılması **Özlem ULUSAN BAĞCI**, Ayşe CANER **SB77.** Respiratuvar Problemleri Olan Hastaların Solunum Yolu Örneklerinde *Microsporidia* Sıklığının Araştırılması **Özlem ULUSAN BAGCI**, Filiz GULDAVAL, Can MUFTUOGLU, Ufuk MERT, Reyhan GÜMÜŞBURUN, Gülhan BOĞATEKİN, Damla SERÇE UNAT, Ömer Selim UNAT, Gülru POLAT, Özlem GOKSEL, Seray TOZ, Ayse CANER
11:00 **11:30**	**ÇAY / KAHVE ARASI**

11:30 **12:00**	**KAPANIŞ KONFERANSI** **TIP EĞİTİMİNDE PARAZİTOLOJİ MÜFREDATLARINA GENEL BAKIŞ VE COVİD-19 PANDEMİSİNDE UZAKTAN PARAZİTOLOJİ EĞİTİMİ** Oturum Başkanı: **Yusuf ÖZBEL** Konuşmacı: **Muttalip ÇİÇEK**
12:00 **12:30**	**KAPANIŞ**

POSTER BİLDİRİLER

12 Ekim 2021, Salı - 15 Ekim 2021 Cuma

09:30
19:00

P01. *Culex pipiens* L. Sivrisineği Üzerinde Entomopatojen Nematod *Steinernema carpocapsae*'nin Patojenik Etkisi
Ayşegül CENGİZ, Şevval KAHRAMAN, Sadık Burak POLAT, Mehmet ÇİVRİL, Samed KOÇ, Hüseyin ÇETİN

P02. *Anopheles sacharovi*'nin insektaryumda yetiştirilmesindeki önemli faktörler
Sadullah USLUĞ, Fatih Mehmet ŞİMŞEK, Sümeyye AYGÜN, Faruk KARABULUT, Gupse Kübra KARADEMİR, Nesrin DELİBAŞI KÖKÇÜ, Önder DÜZLÜ, Alparslan YILDIRIM, Arif ÇİLOGLU, Osman İBİŞ, Abdullah İNCİ

P03. *Culex pipiens form pipiens, Cx. pipiens form molestus* ve Hibritlerinin Moleküler Olarak Araştırılması
Ahsen Meliha TOROSLU, Faruk KARABULUT, Sümmani ÇİFCİ, Alparslan YILDIRIM

P04. Bursa Yöresi Sokak Köpeklerinde Uyuz Enfestasyonunun Yayılışı
Betül SAYGIN, Yiğit ALTAV, Suna ZENGİN, Levent AYDIN

P05. Türkiye'nin Kuzeydoğusunda Bir Yaban Keçisinden Elde Edilen *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *kohlsi*'nin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüleri
Esin GÜVEN, Rıdvan KİRMAN, **Muzaffer AKYÜZ**

P06. Molecular Identification of *Hepatozoon canis* in *Rhipicephalus sanguineus* Ticks from Dogs in Siirt Province of Turkey
Burçak ASLAN ÇELİK, Adnan AYAN, Ali YILMAZ, Özgür Yaşar ÇELİK, Özlem ORUNÇ KILINÇ, Özge OKTAY AYAN

P07. İstanbul İlinde Sahadan Toplanan Kene Türleri ve Taşıdıkları Riskler; Güncelleme Çalışması
Salar Zarrabi AHRABİ, Gürkan AKYILDIZ, Sırrı KAR, Ayşen GARGILI KELEŞ

P08. İstanbul'da Sahadan Toplanan ***Ixodes*** sp. Türü Kenelerde ***Borrelia burgdorferi*** Varlığı, Yayılışları ve Biyogüvenlik Riskleri; Ön Çalışma Sonuçları
Gürkan AKYILDIZ, Salar Zarrabi AHRABİ, Ayşen GARGILI KELEŞ

P09. *Musca domestica* L. Üzerinde Entomopatojen Nematod *Steinernema carpocapsae'nin* Patojenik Etkisi
Sadık Burak POLAT, Gökhan ERDOĞAN, Şevval KAHRAMAN, Ayşegül CENGİZ, Mehmet ÇİVRİL, Samed KOÇ, Hüseyin ÇETİN

P10. Keçilerden Toplanan Kedi Pirelerinin (*Ctenocephalides felis*) Genetik Çeşitliliğinin COX1 Gen Analizi ile Araştırılması
Mervenur GÜVENDİ, Hüseyin CAN, Ahmet Efe KÖSEOĞLU, Çağrı KANDEMİR, Turğay TAŞKIN, Pumla Bhekiwe MANYATSİ, Sedef ERKUNT ALAK, Aysu DEĞİRMENCİ DÖŞKAYA, Muhammet KARAKAVUK, Mert DÖŞKAYA, Adnan Yüksel GÜRÜZ, Cemal ÜN

P11. Kızılırmak Deltası Kuşlarının Bitleri Üzerine Çalışmalar: Türkiye Bit Faunası İçin Yeni Bildirimler
Mustafa AÇICI, Kiraz ERCİYAS YAVUZ, Ali Tümay GÜRLER, **Gökhan EREN**, Tuğçe TUYGUN, Özlem KOÇ, Cenk Soner BÖLÜKBAŞ, Şinasi UMUR

P12. Orta ve Doğu Karadeniz'de Ev Tozu Akar (Fam: Pyroglyphidae) Prevalansı (Ön çalışma)
Cihangir AKDEMİR, Ülkü KARAMAN, Nejla CEBECİ GÜLER, Emel KARAGÖZ, Şahin DİREKEL, Hakan ŞENTÜRK, Uğur AYHAN

P13. Şırnak'ta Eksternal Oftalmomiyaz Olguları
Kemal GÜLTEKİN, **Sefer Özer BABAT**, Erdal POLAT, Derya DİRİM ERDOĞAN

P14. Üç Bozayıda (*Ursus arctos*) Bulunan Ektoparazitler
Rıdvan KİRMAN, Muzaffer AKYÜZ, Esin GÜVEN, İbrahim BALKAYA

P15. A Study of Ectoparasites on The Mole (*Talpa* spp.) (Mammalia: Eulipotyphla) from Turkey
Mehmet ÖZTÜRK, Gökhan EREN, Sadık DEMİRTAŞ, Mustafa AÇICI

P16. İzmir İli Sokak Kedilerinde *Hepatozoon* spp.'nin Polimeraz Zincir reaksiyonu Yöntemi ile Araştırılması
Mervenur GÜVENDİ, Hüseyin CAN, Ahmet Efe KÖSEOĞLU, Muhammet KARAKAVUK, Aysu DEĞİRMENCİ DÖŞKAYA, Sedef ERKUNT ALAK, Mert DÖŞKAYA, Adnan Yüksel GÜRÜZ, Cemal ÜN

P17. 2015–2021 yılları arasında Kayseri'de Sıtma Epidemiyolojisi
Emrah ERDOĞAN, Ozan YAMAN, Merve YÜRÜK, Eda SİVCAN, Orhan YILDIZ

P18. *Trypanosoma cruzi, Leishmania tropica* ve *Toxoplasma gondii* Parazitlerinin *ex vivo* Kültivasyonu ve Auranofin Antiparaziter İlaç Etkinliğinin Değerlendirilmesi
Ahmet YILDIRIM, Ahmet ÖZBİLGİN, Kor YERELİ

P19. Visserotropizm Gösteren *Leishmania tropica* İzolatlarının *in vivo* Model Değerlendirmeleri
Ahmet ÖZBİLGİN, Nami Ege PERK, **İbrahim ÇAVUŞ**, Yener ÖZEL, Şükran KÖSE, Talat YALÇIN, Cumhur GÜNDÜZ

P20. Türkiye'den Vissero-tropik Davranış Gösteren *Leishmania tropica* Olguları: Mr Hyde ve Dr. Jekyll
Ahmet ÖZBİLGİN, İbrahim ÇAVUŞ, **Nami Ege PERK**, Şükran KÖSE, Talat YALÇIN, Cumhur GÜNDÜZ

P21. Aydın ve Çevresinde Kanin Leishmaniasis (KanL) Şüpheli Köpeklerde IFA Tekniği ile KanL Seropozitifliğinin Araştırılması
Evren TİLEKLİOĞLU, Erdoğan MALATYALI, İbrahim YILDIZ, Mehmet GÜLTEKİN, Sema ERTUĞ, Hatice ERTABAKLAR

P22. Kutanöz Leishmaniasis Tanı ve İzolasyonunda NNN Besiyeri Olmadığı Durumda RPMI-1640 Besiyeri Kullanılabilir mi? Olgu Sunumu
İbrahim ÇAVUŞ, **Tülay AKSOY**, Ahmet YILDIRIM, Mustafa Turhan ŞAHİN, Ahmet ÖZBİLGİN

P23. *Leishmania tropica*'da İlaç Direnci Morfolojiyi Etkiliyor mu?
Nami Ege PERK, İbrahim ÇAVUŞ, Yener ÖZEL, Ahmet ÖZBİLGİN

P24. İzmir İli Sokak Kedilerinden Toplanan Dışkı Örneklerinde *Cryptosporidium* spp.'nin Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yöntemi ile Araştırılması ve Alt Tiplendirilmesi
Ahmet Efe KÖSEOĞLU, Hüseyin CAN, Muhammet KARAKAVUK, **Mervenur GÜVENDİ**,
Aysu DEĞİRMENCİ DÖŞKAYA, Pumla Bhekiwe MANYATSİ, Sedef ERKUNT ALAK, Mert DÖŞKAYA,
Adnan Yüksel GÜRÜZ, Cemal ÜN

P25. *Trichomonas vaginalis*'in Katı Besiyerinde Üretilmesi
Yener ÖZEL, İbrahim ÇAVUŞ, Gülhan VARDAR ÜNLÜ, Ahmet ÖZBİLGİN, Mehmet ÜNLÜ

P26. Erzurum Yöresi Koyunlarında Anaplasmosisin Mikroskobik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması
Rıdvan KİRMAN, Muzaffer AKYÜZ, Esin GÜVEN

P27. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Çevresinden Toplanan Farelerde (Mus musculus) *Toxoplasma gondii* ve *Trichinella* sp. Varlığının Araştırılması
Hakan KANLIOĞLU, Heycan Berk AYDIN, Çisem MERİÇ, Metin PEKAĞIRBAŞ,
Selin HACILARLIOĞLU, Hüseyin Bilgin BİLGİÇ, Serkan BAKIRCI, Tülin KARAGENÇ

P28. Molecular Investigation of the Existence and Prevalence of Some Bacteria (*Coxiella burnetii, Mycoplasma haemocanis, Candidatus mycoplasma haematoparvum, Wolbachia*) in Ticks in Siirt Province of Turkey
Burçak ASLAN ÇELİK, **Özgür Yaşar ÇELİK**, Adnan AYAN, Ali YILMAZ, Özlem ORUNÇ KILINÇ, Ezgi ŞABABOĞLU, Özge OKTAY AYAN

P29. Crohn Hastalarında *Dientamoeba fragilis*'in Moleküler Prevalansı
Merve YÜRÜK, Eda SİVCAN, Ozan YAMAN, Emrah ERDOĞAN

P30. *Rattus norvegicus*'a Özelleşmiş Bir Parazit: *Trichosomoides crassicauda*
Ali Tümay GÜRLER, Sadık DEMİRTAŞ, Öykü BARILI[1], **Tuğçe TUYGUN**, Cenk Soner BÖLÜKBAŞ, Mustafa AÇICI, Şinasi UMUR

P31. Bir Kurtta (*Canis lupus*) *Echinococcus granulosus sensu stricto* ve *Echinococcus multilocularis* Olgusu
Hamza AVCIOĞLU, Rıdvan KİRMAN, **Muzaffer AKYÜZ**, İbrahim BALKAYA, Esin GÜVEN

P32. *Echinococcus multilocularis* İçin Yeni Arakonak: *Microtus guentheri*
Ali Tümay GÜRLER, Cenk Soner BÖLÜKBAŞ, Sadık DEMİRTAŞ, **Elif Burcu GENÇAY TOPÇU**, Öykü BARILI,
Efe KARACA, Mustafa AÇICI, Şinasi UMUR

P33. Bir Bozayıda (*Ursus arctos*) *Dicrocoelium dendriticum* ve *Uncinaria* sp.
Rıdvan KİRMAN, Muzaffer AKYÜZ, İbrahim BALKAYA, Esin GÜVEN

P34. Türkiye'nin Kuzey Doğusunda İnsanlarda Kistik Ekinokokkozis Sıklığı
Neriman MOR, Hilal BEDİR, Eray ATALAY, Mükremin ARSLAN

P35. Türkiye'nin Kuzey Doğu'sunda Kistik Ekinokokkozis Klinik Ön Tanılı Hastalarda anti-*Echinococcus granulosus* Antikorları Seropozitifliği
Mükremin Özkan ARSLAN, Neriman MOR, Hilal BEDİR

P36. Bir Eşekte *Echinococcus equinus*'un Moleküler Karakterizasyonu ve Haplotiplerinin Belirlenmesi
Harun Kaya KESİK, **Figen ÇELİK**, Şeyma GÜNYAKTI KILINÇ, Sami ŞİMŞEK

P37. Bir Keçide Enfeksiyona Yol Açan *Moniezia expansa*'nın Filogenetik Karakterizasyonu
Faruk KARABULUT, Zuhal ÖNDER, Önder DÜZLÜ, Gamze YETİŞMİŞ, Arif ÇİLOĞLU, Abdullah İNCİ, Alparslan YILDIRIM

P38. Kayseri Yöresindeki Kedilerde *Toxocara cati*'nin Prevalansı ve Filogenetik Karakterizasyonu
Soner DEMİRPOLAT, Önder DÜZLÜ

P39. Parazit Bankası: Geçmişten Günümüze
Ahmet ÖZBİLGİN, **İbrahim ÇAVUŞ**

P40. Sand Fly Identification and Screening for *Leishmania* spp. in Adıyaman Province, Southeast Turkey
Suha K. ARSERİM, **Zeph N. OMONDI**, M. Emin LİMONCU, Cankut KARABULUT, Kardelen YETİŞMİŞ, İbrahim ÇAVUŞ, İ. Cüneyt BALCIOĞLU, Seray TÖZ, M. Kirami ÖLGEN, Yusuf ÖZBEL

KONFERANSLAR

AÇILIŞ KONFERANSI ***11 Ekim 2021 – 15:30-16:00***

Toz Akarları Alerjileri: Akarolojik Bakımdan Hastaya Nasıl Yardım Edilebilir?

Kosta Y. MUMCUOĞLU

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

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

Dermatophagoides ve *Euroglyphus* cinslerine ait ev tozu akarları, insanların barındığı konutlardaki en önemli alerjenlerdir. Gelişmiş ülkelerdeki insan nüfusunun %7'si toz akar alerjisinden muzdariptir. Ev tozu akarları özellikle yatak, koltuk ve halıların üzerinde yaşamakta (biyotoplarıdır) ve alerjenleri dışkılarıyla çevreye yayılmaktadır. Ev tozu akarları ve ürettikleri alerjenlere daha az maruz kalmak amacıyla hasta veya diğer ev üyelerinin bazı tedbirler alması gereklidir. Akarlar özellikle nem oranı>%70 olan ortamlarda yaşamayı tercih ettiği için evin içindeki nispi nem oranı %50'nin altında tutulmalıdır. Genelde evin tamamı özellikle de yatak, koltuk ve halılar elektrik süpürgesiyle sık sık süpürülmelidir. Bu gibi mobilyalar akarisitlerle muamele edilmeli ve/veya doğrudan güneş ışığına maruz bırakılmalıdır. Yatak veya yastıklarda bulunan alerjenlerin hasta ile doğrudan temas etmesine izin vermeyen alerjen geçirmez çarşaf ve yastık kılıfları kullanılmalıdır. Çarşaf, battaniye, yastık kılıfı ve yatak örtüleri en geç 2-3 haftada bir 60°C ve üzerinde yıkanmalıdır. Isı, toz akarlarını öldürecek ve alerjenlerin büyük bir kısmını etkisiz hale getirecektir. Zemin, duvardan duvara halılarla değil, fayans, ahşap, parke, muşamba veya vinil malzeme ile kaplanmalıdır. Özellikle yünden dokunmuş ağır halılar yatak odasından çıkarılmalıdır. Düzenli olarak kullanılmayan ve toz toplayabilen herhangi bir nesne yatak odasından uzaklaştırılmalı veya uzaklaştırılamıyorsa düzenli olarak yıkanmalı veya alerjen geçirmez plastik torbalarda saklanmalıdır.

Sonuç olarak, akar ve alerjenlerinden kaçınmaya yönelik tedbirler hem ev tozu akar alerjisi olan bireylerin semptomlarını hafifletebilir hem de tedavi için alınan ilaçların sayısını ve düzeyini azaltabilir.

KONFERANS 02 ***12 Ekim 2021 – 09:00-09:30***

Vektör Kaynaklı Hastalıklarda Risk Haritalaması

M. Kirami ÖLGEN

Ege Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Coğrafya Bölümü, İZMİR

E-posta: kirami.olgen@ege.edu.tr

Risk haritalamasının temeli risk analizine dayanır. Risk ise bir olayın meydana gelme olasılığı ve o olayın etkisidir. Olayın olma olasılığı ise maruziyete bağlıdır. Etki, olayın maruz kalan popülasyonlar üzerindeki etkisiyle ilgilidir. Nüfusun güvenlik açığı, etkinin değerlendirilmesi için dikkate alınması gereken ana faktörlerden biridir. Biyolojik tehditler için tehlike ve maruziyet enfeksiyonun bulaşma yoluna bağlıdır. Enfeksiyondan etkilenme düzeyi ise incinebilirlik ile ilişkilidir ve risk altındaki nüfus, tedavi kapasitesi, kontrol önlemlerinin bileşkesidir.

Vektör kaynaklı hastalıkların patojen, konakçı ve patojeni diğer canlılara ileten vektör olmak üzere üç bileşeni vardır. Bir bölgenin vektör kaynaklı hastalık riskini tahmin edebilmek için bu üç bileşenden biri referans alınarak risk modelleri oluşturulabilir. Buna karşın hem patojen temelli (veya vaka temelli) hem de konakçı temelli modellerin oluşturulması vektör temelli modellere kıyasla daha zor olduğundan, vektör temelli risk modelleri daha yaygın kullanılır. Burada ana fikir, vektör varsa hastalığa yakalanma riski de vardır demektir. Bu modeller aynı zamanda vektör varlığına ilişkin haritaların hazırlanmasına da olanak sağlar. Dolayısıyla bir türün ekolojik nişini belirlemek için kullanılan modeller, dolaylı olarak hastalık riskini de belirleyebilir.

Bu sunumda, vektör niş modellerine dayalı risk analizleri örneklere verilmeye çalışılacaktır.

KONFERANS 03 ***12 Ekim 2021 – 11:30-12:00***

Toskana virus özelinde Phleboviruslerve Türkiye'deki Toskana virus Enfeksiyonlarına Genel Bakış

Nazlı AYHAN

Unité Des Virus Emergents (UVE: Aix Marseille Université, IRD 190, Inserm 1207, IHU Méditerranée Infection) MARSEILLE, FRANCE

E-posta: nazliayhann@gmail.com

Toskana virus (TOSV) kum sinekleri ile bulaşan ve Akdeniz havzasına endemik, Phlebovirus cinsinde yer alan bir virustür. Diğer bilinen hastalık yapıcı phleboviruslerden farklı olarak TOSV insanlarda merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarına sebep olabilmektedir. Hastalarda TOSV enfeksiyonuna bağlı merkezi sinir sistemi olgularının tespit edilmesi ve hem insan hem hayvanlarla yapılan serolojik çalısmalar TOSV'nin Türkiye'de aktif bir şekilde bulunduğunu göstermektedir. Ek olarak son dönemde, TOSV genomu Osmaniye ve Diyarbakir illerinden toplanan kum sineklerinde tespit edilmistir. Türkiye'den elde edilen örneklerde hem TOSV genotip A hem genotip B'ye ait genom sekansları elde edilmiştir. Bunun yanı sıra, TOSV genotipleri arasında virülans ya da klinik özellikler açısından belirgin bir farklılık henüz bildirilmemiştir.

KONFERANS 04 ***12 Ekim 2021 – 12:00-12:30***

Purine Metabolism as Target for Antiprotozoal Chemotherapy

Husain F. HASSAN

Department of Biology, College of Science, University of Kirkuk, KIRKUK, IRAQ

E-mail: drhusain4@gmail.com

Parasitic protozoa differ from mammalian cells in that they lack ability to synthesize purine de novo and so rely upon salvage pathways to provide the purine nicleotides necessory for nucleic acid synthesis. Some of the salvage enzymes have shown to differ from mammalian isofunctional enzymes whereas others do not occur in the host. Both categories of enzyme provide targets for chemotherapeutic exploitation and attepts to design drugs.

To do this have led to the discovery that some purin analogs such as allopurinol and formycin have significantly antiprotozoal activity.

KONFERANS 05 ***12 Ekim 2021 – 17:30-18:00***

A Bird Perspective of Malaria – From The Microscope To Genomics

Staffan BENSCH

Department of Biology, Lund University, SWEDEN

E-posta: staffan.bensch@biol.lu.se

One hundred years ago bird malaria parasites where instrumental models for nailing down the complete life cycle of malaria parasites, for understanding pathology of human malaria and for the first attempts to develop vaccines. The discoveries of rodent and monkey malaria in the mid 20th century however left the research of bird malaria parasites mainly to taxonomists and ornithologists interesting in bird parasites. Whereas there are five species of malaria infecting humans, the number of species of malaria infecting birds is probably at least 10,000 and show a huge diversity in host range, life history traits and geographic distribution. I will illustrate this diversity and present the developments of molecular techniques for identification and sequencing of genomes and give examples of how studies of bird malaria parasites can provide important insights to the general puzzle of host-pathogen evolution, and in particular serve as a complementary model system for evolutionary research related to human malaria parasites.

Önceleri

KONFERANS 06 ***13 Ekim 2021 – 09:00-09:30***

Parazitoloji Laboratuvarlarında Atık Yönetimi

Banuçiçek YÜCESAN

Çankırı Karatekin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, ÇANKIRI

E-mail: yucesanbanu@yahoo.com

Günümüzde atık kavramı giderek artan bir sorun halinde önümüzde durmaktadır. Artan endüstriyel ve halk sağlığı sorunları nedeniyle çözümleri sağlamaya yönelik çabalar da, birçok atık maddenin oluşumuna neden olmaktadır. İnsan eliyle oluşturulan veya sistemin içinde gelişen atık maddeler kısa veya uzun zaman içinde insan, hayvan ve çevre sağlığı konularında ciddi önlemler alınmasını gerektirmektedir. Bu istenmeyen durum her geçen gün insanoğlunun önemli bir problemi haline gelmiştir ve gelecektir. Atıklar ürünlerin kullanıldıktan sonra fayda sağlamayan kısımlarını ifade eder. Bu kısımlar zaman içerisinde birikeceğinden uygun koşullarda bertaraf edilmeleri zorunludur.

Atık kavramı içerisinde incelenen ve özel bir yere sahip olan tıbbi atıklar; mikrobiyoloji, parazitoloji, viroloji, toksikoloji, kimya laboratuvarları, hayvan deneyi laboratuvarları vb. gibi özel konular hakkında çalışan birimlerden ortaya çıkan ve istenmeyen mal ve malzemeleri içerir. Hali hazırda zararlı olduğunu düşündüğümüz etkenler ile bulaş halindeki atıkların, muhakkak suretle özel koşullarda muhafaza edilmesi ve ortadan kaldırılması gerekmektedir.

Ortadan kaldırılma konusu ''Atık Yönetimi'' kavramı ile değerlendirilmektedir ve bertarafı için bu özel atıkların üretildiği alanlarda özel kurallar ile önlemler alınmalıdır. Atık yönetimi atıkların kaynağında ayrıştırılması ile toplanması, geçici depolara taşınmasını, geri kazanım ya da imha edilmesi işlemleri ile imha edilmesi sonrasında kontrol ve çevre sağlığının bozulmasının önlenmesini kapsayan süreçler bütünüdür (1)

Tıbbi atıklar sağlık kuruluşlarında üretilen dekontamine edilmeleri gerek ve şart olan ve bundan sonra imha edilen atıklardır. Sağlık kuruluşlarının enfeksiyon açısından en riskli alanları elbette konu ile ilgilenen laboratuvarlar, hayvan laboratuvarları ve üniteleridir. Bu konudaki en önemli kural bulaşıcı mal ve malzemelerin laboratuvarda ayıklanması, dekontamine edilmesi, otoklavlanması ve bundan sonra yakılma vb. imha süreçlerine geçilmesidir. Bu çalışmaların sonucunda insan, hayvan ve çevreye zararsız olan sıfır atık hedeflenmektedir ve çeşitli iş kollarının bu konuda işbirliği halinde olması gerekmektedir.

Zaman içinde gelişen teknoloji ile bilimsel araştırmalar ve faaliyetler son derece toksik, tehlikeli ve bazen çok küçük hacimlerde dahi çok büyük tehlike içeren tıbbi atıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu atıklar ortadan kaldırılmazsa çok büyük tehdit oluşturabilir. Ülkeler oluşturdukları yasalar ve yönetmelikler ile ulusal ve uluslararası bu çevre performansını artırmak için çalışmak zorundadırlar (2).

Günümüzde atık yönetimini geliştirilmesi için yasal ve idari çerçevenin geliştirilerek ülkelerde aşağıdaki tanımların yerine getirilmesi gerekir:

a. Sağlık hizmetlerinde atık yasası oluşturulmalıdır: Bu yasalar ile ulusal düzeyde atık konusu ile ilgilenen personelin sorunlarını ele alan yasaların oluşturulması da sağlanmalıdır.
b. Sağlık hizmetleri atık politikası oluşturulmalıdır: Bu resmi belgelerde ulaşılacak hedefler de olmalıdır.

c. Sağlık hizmetlerinin atık stratejisi olmalıdır: Politika belgesinde hedeflere ulaşmak için gereken adımlar listelenmelidir.
d. Sağlık hizmetlerindeki harcamalar ve israflar için ulusal eylem planları olmalıdır: Bu belgede kimin, neyi, ne zaman, nasıl ve ne pahasına yaptığını tanımlayan zaman odaklı bir planlaması olmalıdır.
e. Sağlık hizmeti atık klavuzu oluşturulmalıdır: Bu belge personelin görev ve sorumluluklarını listeleyen pratik bir belge olmalıdır. İçeriğinde renk kodlaması, ayırma, depolama, dezenfekte etme işlemleri ve taşıma prosedürleri ile ilgili bilgiler olmalıdır.
f. Sağlık hizmeti atıklarını denetleyen bir ulusal yönlendirme komitesi oluşturulmalıdır: Bu komite ulusal eylem planının koordinasyonunu ve uygulamasını sağlar (3).

Türkiye'de tıbbi atıklar ile ilgili çalışmalara 1983 yılında başlanmıştır. Daha sonra 1993 yılında ''Tıbbi Atıkların Kontrol Yönetmeliği'' ile sadece bu konu ile ilgili ayrıntılar üzerinde durulmuştur. Bu gün resmi gazete 25 Ocak 2017 tarih ve 29959 sayı ile gündeme alınan ''Tıbbi Atıkların Kontrol Yönetmeliği'' geçerliliğini korumaktadır. Tablo 1'de dünden bugüne kadar konu ile ilgili yayınlanmış olan mevzuatlar mevcuttur.

Tablo 1. Türkiye'de tıbbi atıklar ile ilgili mevzuat mevzuatların tarihsel gelişimi

Sıra	Kanun, Yönetmelik veya Tebliğin Adı	Resmi Gazete Tarih	Resmi Gazete Sayı
1.	Çevre Kanunu	09 Ağu 1983	2872
2.	Tıbbi Atıkların Kontrolü Yönetmeliği	20 May 1993	21586
3.	Tehlikeli Atıkların Kontrolü Yönetmeliği	27 Ağu 1995	22387
4.	Radyasyon Güvenliği Yönetmeliği	24 Mart 2000	23999
5.	Güvenlik Bilgi Formları'nın Düzenlenmesine İlişkin Usul ve Esaslar Tebliği	11 Mart 2002	24692
6.	Kimyasal Maddelerle Çalışmalarda Sağlık ve Güvenlik Önlemleri Hakkında Yönetmelik	26 Ara 2003	25328
7.	İş Sağlığı ve Güvenliği Yönetmeliği	09 Ara 2003	25311
8.	İşyeri Sağlık Birimleri ve İşyeri Hekimlerinin Görevleri İle Çalışma Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik	16 Ara 2003	25318
9.	İş Güvenliği ile Görevli Mühendis veya Teknik Elemanların Görev, Yetki ve Sorumlulukları ile Çalışma Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik	20 Ocak 2004	25352
10.	Çalışanların İş Sağlığı ve Güvenliği Eğitimlerinin Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik	07 Nisan 2004	25426
11.	İş Sağlığı ve Güvenliği Kurulları Hakkında Yönetmelik	07 Nisan 2004	25426
12.	Biyolojik Etkenlere Maruziyet Risklerinin Önlenmesi Hakkında Yönetmelik	10 Haz 2004	25488
13.	Ağır ve Tehlikeli İşler Yönetmeliği	16 Haz 2004	25494
14.	Tıbbi Atıkların Kontrolü Yönetmeliği	22 Tem 2005	25883
15.	Yataklı Tedavi Kurumları Enfeksiyon Kontrol Yönetmeliği	11 Ağu 2005	25903
16.	Atık Yönetimi Genel Esaslarına İlişkin Yönetmelik	05 Tem 2008	26927
17.	İş Sağlığı ve Güvenliği Kanunu	20 Haz 2012	6331
18.	İş Sağlığı ve Güvenliği Kurulları Hakkında Yönetmelik	18 Oca 2013	28532

19.	Ağır ve Tehlikeli İşler Yönetmeliğinin Yürürlükten Kaldırılmasına dair Yönetmelik	08 Şub 2013	28553
20.	Çalışanların İş Sağlığı ve Güvenliği Eğitimlerinin Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik	15 May 2013	28648
21.	Biyolojik Etkenlere Maruziyet Risklerinin Önlenmesi Hakkında Yönetmelik	15 Haz 2013	28678
22.	Tıbbi Atıkların Kontrolü Yönetmeliği	25 Oca 2017	29959
23.	Çevre Kanunu	30 Ara 2020	5909

Sağlık kuruluşlarında oluşturulan atıklar evsel nitelikli atıklar, tıbbi atıklar, tehlikeli atıklar ve radyoaktif atıklar olarak ayrıştırılabilir. Tablo 2'de bu atıkların sınıflandırılması görülebilir.

Tablo 2. Sağlık kuruluşlarında üretilen atık kaynakları (4-6)

SAĞLIK KURULUŞLARINDAN TOPLANAN ATIKLAR						
EVSEL ATIKLAR		**TIBBİ ATIKLAR**			**TEHLİKELİ ATIKLAR**	**RADYOAKTİF ATIKLAR**
A. Genel Atıklar	**B. Ambalaj Atıkları**	**C. Enfeksiyon Atıkları**	**D. Patalojik Atıklar**	**E. Kesici Delici Atıklar**	**F. Tehlikeli Atıklar**	**G. Radyoaktif Atıklar**
•B, C, D, E, F ve G gruplarında anılanlar hariç tüm atıklar	• Kağıt • Karton • Mukavva • Plastik • Cam • Metal vb.	• Mikrobiyolojik laboratuvar atıkları kültür ve stoklar • Enfeksiyöz vücut sıvıları • Serolojik atıklar • Diğer kontamine laboratuvar atıkları (lam-lamel, pipet, petri vb) • Kan ve kan ürünleri ve bunlarla kontamine olmuş nesneler • Kullanılmış ameliyat giysileri (kumaş, önlük ve eldiven vb.) • Diyaliz atıkları (atık su ve ekipmanlar) • Karantina atıkları • Bakteri ve virüs içeren hava filtreleri, • Enfekte deney hayvanı leşleri, organ parçaları, kanı ve bunlarla temas eden tüm nesneler	• Anatomik atık dokular, organ ve vücut parçaları ile ameliyat, otopsi vb. tıbbi müdahale esnasında ortaya çıkan vücut sıvıları • Ameliyathaneler, morg, otopsi, adli tıp gibi yerlerden kaynaklanan vücut parçaları, organik parçalar, plasenta, kesik uzuvlar vb. (insani patolojik atıklar) • Biyolojik deneylerde Kullanılan kobay leşleri	• Batma, delme sıyrık ve yaralanmalara neden olabilecek atıklar: enjektör iğnesi, iğne içeren diğer kesiciler bisturi lam-lamel cam pastör pipeti kırılmış diğer cam vb.	• Tehlikeli Kimyasallar • Sitotoksik ve Sitostatik ilaçlar • Amalgam atıkları • Genotoksik ve sitotoksik atıklar • Farmosotik atıklar • Ağır metal İçeren atıklar • Basınçlı kaplar	• Türkiye Atom Enerjisi Kurumu(-TAEK) Mevzuatı hükümlerine göre toplanıp uzaklaştırılan atıklar

Ülkemizde tıbbi atıkların yönetimi konusunda Sağlık Bakanlığı, Çevre Bakanlığı, Belediyeler, Mülki idari amirler, Başhekimlikler ve Tıbbi atık üreticileri paydaşları oluşturur. Bu gruplar tüm atık yönetimleri konusunda birlikte iş birliği içinde hareket ederler.

Türkiye'de 2019 yılında TUİK verilerine göre sağlık kuruluşlarında 91 bin ton tıbbi atık toplanmıştır. Bu veriler yıllar içinde tıbbi atık miktarının giderek arttığını göstermektedir. Bu atıkların %8,7'si yakma tesislerinde bertaraf edilmiştir. 2018 verileri (%7,7) ile karşılaştırıldığında yakma ile bertaraf edilen tıbbi atık miktarının da arttığı görülmektedir. Bu toplanan atıkların %82,8'inin büyükşehirlerden elde edildiği görülmektedir (7).

Sağlık kuruluşlarında tıbbi atıkların çok ve ciddi boyutlarda oluştuğu en önemli alanlardan biri de laboratuvar alanlarıdır. Tüm laboratuvarlarda olduğu Parazitoloji Laboratuvarları'nda (PL) da büyük ölçüde atık üretimi söz konusudur. PL, immünoparazitolojik, mikroskobik, moleküler çalışmalar yapmalarının yanı sıra, hayvan deneyleri de yapan özel laboratuvarlar olduklarından çok çeşitli tıbbi atıkları üretebilme potansiyeline sahiptirler. Tüm vücut sıvıları (kan, serum, bos, amniyon sıvısı, idrar, BOS, aspirasyon sıvıları vb.), gaita vb. ve ayrıca hayvan leşleri gibi atıkları da üretirler. Bunun yanı sıra kimyasal, farmasötik, genotoksik, radyoaktif ve kesici delici atıkların da oluştuğu birimlerdir. Bu laboratuvarlar içinde bulundukları sağlık kuruluşlarının oluşturmuş olduğu atık yönetim planlarına tabiidirler. Kuruluşlar bu planlarını ulusal ve uluslararası mevzuatlara uygun olarak hazırlarlar.

Parazitoloji laboratuvarlarında atık yönetiminin temel ilkeleri diğer laboratuvarlar ile eşdeğerdir. Hayvan üniteleri gibi farklı çalışmalardan elde edilen atıklar bu bölümlerin atık yönetim kurallarına göre ayrıştırılarak bertaraf edilir. Tıbbi atıklar PL'da yerinde ayrılarak paketlenir ve otoklavlanmadan kesinlikle laboratuvar sınırlarından çıkarılıp, belediyelerin teslim alacakları alanlara bırakılmaz.

Atıklar üretildiği andan itibaren evsel, tıbbi, kesici delici, kimyasal, tehlikeli ve radyoaktif atıklar olarak ayrı muhafaza edilir.

PL'da oluşturulan evsel atıklar; kontamine olmamış genel atıklar kağıt, karton, plastik, cam, metal vb. ambalaj atıklarıdır. Bu atıklar dünya standartlarına uygun bir şekilde genel atıklar olarak, siyah torbalarda, ambalaj atıkları ise mavi torbalarda biriktirilirler. Evsel ve ambalaj atıkları tıbbi atıklar ile karıştırılmadan evsel atık olarak imha edilirler (8).

PL'dan elde edilen tıbbi atıklar enfeksiyöz, patolojik ve kesici delici atıklardır. Bu atıklardan enfeksiyöz ve patolojik atıklar (Biyolojik deneylerde PL'da kullanılan hayvan leşleri bu gruptadır.) kırmızı renkte torbalarda biriktirilir ve muhakkak surette otoklavlanır. Kırmızı renkteki tıbbi atık torbaları; en fazla ¾'ünün doldurulması gereken, biyotehlike işareti ve dikkat tıbbi atık ifadesi taşıyan, en az 10 kg taşıma kapasiteli, kalınlığı 100 µm olan çift kat polietilen bir malzemeden yapılan ve kati olarak tekrar kullanılmayan torbalardır. Bu torbalar otoklavlandıktan sonra bertaraf alanına taşındığından ısıya ve yırtılmaya dirençli olmalıdırlar. Kesici delici malzemelerin konduğu ve bunlarla imhaya gönderilen atık kapları ise, yırtılmaya, delinmeye, sızdırmaya karşı dayanıklı olmalı, kapakları kapatıldıktan sonra açılmamalı, üzerinde biyotehlike işareti ve içinde kesici delici materyal olduğuna dair ibareler olmalıdır. Kesici delicilerin atıldığı kaplar kesinlikle çöpe atılmamalıdır. Enfeksiyöz olan kontamine pipet uçları, pastör pipetleri vb malzemeler de delici malzeme olarak değerlendirilip atık kaplarına alınarak otoklavlanmalıdır. PL'da çalışılan idrar örnekleri ya kırmızı poşetlerde sızdırmaz kaplar içinde depolanıp otoklavlanır veya kapalı bidonlara aktarılıp üzerine çamaşır suyu veya hipoklorit tabletler eklenip en az 20 dk. tutularak dekontamine edildikten sonra kanalizasyona atılır. Kontamine malzemeler mümkün olduğunca tek kullanımlık olanlardan oluşmalıdır. Otoklavlanacak ve yeniden kontamine materyaller için ön temizleme yapılmamalıdır. Gerekli herhangi bir temizlik ancak otoklavlanma sonrası yapılmalıdır.

PL'da ayrıca tehlikeli kimyasalların, ilaçların, farmosötik, genotoksik, sitotoksik ajanların ve ağır metallerin kullanıldığı analizler de yapılmaktadır. Ör; rutin analizler sırasında PL'da bolca mikroskobik tanımlama yapılır ki; bu da değişik miktarlarda tehlikeli kimyasalların fazla miktarlarda kullanıldığı durumlardır. PL'da üretilen tehlikeli atıkların kesinlikle kanalizasyona dökülmemesi gerekmektedir. Özellikle moleküler PL'dan çıkan boyalı jeller (etidyum bromür vb.) kilitli torbaya konduktan sonra kırmızı torbaya konur. Bu atıkların bertarafı ''Tıbbi Atıkların Kontrol Yönetmeliği'' ve ''Atık Yönetimi Genel Esaslarına İlişkin

Yönetmelik'' Ek 4'de bildirilen kurallar çerçevesinde gerçekleştirilir. Üretilen kimyasalların bir kısmı miktardan bağımsız olarak (A kategori), bazıları ise miktara bağımlı olarak (M kategorisi) tehlikeli kimyasallardan kabul edilir (9). Tehlikeli kimyasallar dayanıklı ve kapalı kaplarda, tamamen doldurulmadan muhafaza edilir. Bu kaplar muhakkak suretle etiketlenir ve üzerine kimyasalın adı, miktarı ve kimyasalın atımı ile ilgili iletişim kurulacak kurum yetkilisi yazılır. Bu atıklar uygun koşullarda, önlemler alınarak biriktirildikten sonra imha edecek kuruluşa bilgi verilerek teslim edilmeleri gereklidir.

PL'dan tıbbi atıklar çıkarılırken tüm atık kapları ve tıbbi atık torbaları kapatılmış ve otoklavlanmış olmalıdır. Laboratuvar atıkları hiçbir zaman yerde muhafaza edilmemelidir. Otoklav poşetinin ve otoklav konteynırının içinde olmalıdır. Atıklar donma noktasının üzerindeki bir sıcaklıkta 7 günden fazla saklanmamalıdır. Atık torbaları en kısa sürede atılmalıdır. Atıklar, kesici delici kapları, insan dokuları ve hayvan leşleri dondurucuda 90 günden fazla saklanmamalıdır (10).

PL'dan çıkan atıklar atık cinsine göre ayıklanmalıdır ve tıbbi atıklar yakma ve sterilizasyon ünitelerinde sterilize edilme, gömme ve mikrodalga sterilizasyon yöntemleri ile bertaraf edilir (11,12).

Laboratuvarlar biyogüvenlik düzeylerine (BGD) göre değerlendirilip, atıkların tasnifi buna göre de yapılmalıdır.

BGD 1: Temel laboratuvarlardır: standart uygulamalar geçerlidir.

BGD 2: Temel laboratuvarlardır: BGD1+aerosol önlemleri gereklidir.

BGD 3: Muhafaza laboratuvarlarıdır : BGD 2+ileri aerosol önlemleri gereklidir.

BGD 4: Maksimum muhafaza laboratuvarlarıdır: BGD 3+ maksimum biyogüvenlik kuralları gereklidir.

Parazitoloji laboratuvarları birer tıbbi laboratuvar olma hasebiyle en az BGD 2 şartlarında çalışmalıdır ve dolayısıyla atıkları da bu çerçevede bertaraf edilmelidir. Bu laboratuvarlarda atıkların dekontaminasyonu ve nihai bertarafı gereklidir. En önemli ilke, tüm bulaşıcı malzemelerin laboratuvar içinde dekontamine edilmesi, otoklavlanması veya yakılması gerekliliğidir.

Ayrıca hayvan üniteleri içeren PL'da biyogüvenlik alanları göre ABSL 1,2,3,4 risk gruplarına ayrılır. Bu ünitelerde mevcut olan tıbbi atıklar da dekontamine edildikten sonra bertaraf edilmelidir (8).

PL'da karşılaşılabilecek ve dolayısıyla bu ajanlar ile kontamine materyaller üretilebilecek parazitler ve biyogüvenlik düzeyleri Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Parazitoloji Laboratuvarlarında Karşılaşılabilecek Ajanlar ve Klasifikasyonları (13)

Parazit	Kalsifikasyon
Acanthamoeba castellanii	2
Acanthamoeba spp	2
Ancylostoma duodenale	2
Angiostrongylus cantonensis	2
Angiostrongylus costaricensis	2
Anisakis simplex	2
Ascaris lumbricoides	2
Ascaris suum	2
Babesia divergens	2
Babesia microti	2
Balantidium coli	2
Blastocystis hominis	2

Brugia malayi	2
Brugia pahangi	2
Brugia timori	2
Capillaria philippinensis	2
Capillaria spp	2
Clonorchis - see Opisthorchis	2
Contracaecum osculatum	2
Cryptosporidium parvum	2
Cryptosporidium spp	2
Cyclospora cayetanensis	2
Cyclospora spp	2
Dicrocoelium dendriticum	2
Dientamoeba fragilis	2
Dipetalonema - see Mansonella	2
Diphyllobothrium latum	2
Dracunculus medinensis	2
Echinococcus granulosus	3
Echinococcus multilocularis	3
Echinococcus vogeli	3
Entamoeba histolytica	2
Enterobius vermicularis	2
Enterocytozoon bieneusi	2
Fasciola gigantica	2
Fasciola hepatica	2
Fasciolopsis buski	2
Giardia lamblia (Giardia intestinalis)	2
Heterophyes spp	2
Hymenolepis diminuta	2
Hymenolepis nana	2
Isopora belli	2
Leishmania aethiopica	2
Leishmania brasiliensis	3
Leishmania donovani	3
Leishmania mexicana	2
Leishmania peruviana	2
Leishmania major	2
Leishmania tropica	2
Leishmania spp	2
Loa loa	2
Mansonella ozzardi	2
Mansonella perstans	2

Mansonella streptocerca	2
Metagonimus spp	2
Naegleria fowleri	3
Necator americanus	2
Onchocerca volvulus	2
Opisthorchis felineus	2
Opisthorchis sinensis (Clonorchis sinensis)	2
Opisthorchis viverrini (Clonorchis viverrini)	2
Opisthorchis spp	2
Paragonimus westermani	2
Paragonimus spp	2
Plasmodium falciparum	3
Plasmodium spp (human & simian)	2
Pseudoterranova decipiens	2
Sarcocystis suihominis	2
Schistosoma haematobium	2
Schistosoma intercalatum	2
Schistosoma japonicum	2
Schistosoma mansoni	2
Schistosoma mekongi	2
Schistosoma spp	2
Strongyloides stercoralis	2
Strongyloides spp	2
Taenia saginata	2
Taenia solium	3
Toxocara canis	2
Toxocara cati	2
Toxoplasma gondii	2
Trichinella nativa	2
Trichinella nelsoni	2
Trichinella pseudospiralis	2
Trichinella spiralis	2
Trichomonas vaginalis	2
Trichostrongylus orientalis	2
Trichostrongylus spp	2
Trichuris trichiura	2
Trypanosoma brucei brucei	2
Trypanosoma brucei gambiense	2
Trypanosoma brucei rhodesiense	3
Trypanosoma cruzi	3
Wuchereria bancrofti	2

Bulaşıcı organizmalar ve hayvan dokuları ile ilgilenen PL'da kontamine içeriğin uzaklaştırılması için öncelikle şu cevaplanması gereklidir:

1- Kontamine mal ve malzemeler onaylanmış bir prosedürle etkin bir şekilde dekontamine veya dezenfekte edilmiş midir?
2- Yakma veya bertaraf için başka bir tesise transfer amacıyla onaylanmış bir şekilde paketlenmiş veya istif edilmiş midir?
3- Dekontamine edilen malzemeler bu prosedürleri uygulayan veya tesis dışında temas edecek insanlar için potansiyel bir tehlike taşımakta mıdır? (7).

Bu soruların yanıtlarının PL'da kişilerin çeşitli etkenlerle kontamine olmasını önleyecek tarzda olması gerekmektedir.

PL'dan çıkan her türlü tıbbi atık insanlara, hayvanlara ve çevreye zararlı olmayacak şekilde bertaraf edilmelidir. Bunun için PL'da atıklar biriktirilmeden bertaraf edilmelidir. Atıklar otoklavlandıktan sonra belediyenin alabileceği ve evsel atıklarla karışmayacağı özel alanlara eğitimli personeller tarafından iletilmelidir. Atık ile ilgilenen personeller, Atık yönetimi ve Laboratuvar güvenliği konularında çok ciddi eğitimler almış ve bu bilgileri içselleştirdiklerinden emin olunacak sınavlardan geçirilmiş olmalıdır. Tehlikeli atıklar asla tehlikeli olmayan atıklar ile bir araya konmamalıdır. Kontamine olmayan atıklar olanlara yakın alanlarda bulundurulmamalıdır. Unutulmamalıdır ki; tıbbi atıkların bertarafı oldukça maliyetli işlerdir. Bu nedenle temiz atıklar da kirlilerle aynı yerlere atılmamalıdır. Tehlikeli kimyasal ve enfeksiyöz atıklar asla kanalizasyona akıtılmamalıdır (6).

Laboratuvarlarda tüm atıkların atılımı ve imhası ile ilgili kişiler de oldukça önemli ve sorumluluk sahibi olmalıdır. Özellikle atıkların oluşturulması sırasında laboratuvar personeline, otoklavlama sırasında konu ile ilgili eğitim almış laboratuvar çalışanına, atıkların dış konteynerlara taşınmasını sağlayan eğitimli personele ve belediyenin ilgili çalışanlarına konu ile ilgili oldukça fazla iş düşmektedir. Denloya ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada laboratuvarlarda biyogüvenlik düzeyleri oluşturmanın atık yönetiminde oldukça önemli olduğunu vurgulamışlardır. Bu çalışmada sağlık kuruluşlarında atık yönetimi ile ilgili bilgi düzeyleri araştırılmış ve çalışanlar parazitlerle kontaminasyon açısından değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak atık bertarafında alışan kişilerin idrar örneklerinde Trichomonas vaginalis ve gaita örneklerinde *Entamoeba histolytica, Ascaris lumbricoides* ve *Cryptosporidium* spp' nin gibi parazitlerin yaygın olduğu tespit edilmiştir (14). Cointeau (2006) yaptığı çalışmada, belediye atık çalışanlarında hastalıklara yakalanma riskinin 1.5 kat daha fazla olduğunu bildirmiştir (15). Eassa ve ark. (2016), belediye işçilerinde yaptıkları çalışmada işçilerin yaklaşık yarısının parazitler tarafından enfekte olduğunu tespit etmişlerdir. Bu paraziter enfeksiyon profilini Schistosoma mansoni, Enterobius vermicularis, A. lumbricoides , Hymenolepis nana helmintleri, *E. histolytica, Giardia intestinalis, Entamoeba coli, Cryptosporidium* spp., *Microsporidia* spp., *Cylospora* spp., *Blastocystis hominis, Cystoisospora* belli gibi protozoonları oluşturmaktadır. Ayrıca kafa derisinde ve kirpiklerinde sırasıyla pediküloz ve phthiriasis enfestasyonu de görülmüştür (16). Adeyeba ve Akinbo (2002) belediye işçilerinin özellikle parazitik olmak üzere enfeksiyona açık olduklarını bildirmişlerdir (17). Atık taşıma ve geri dönüşüm birimlerinde çalışanlarda atıklar ile bulaşabilen parazitik enfeksiyonların sıklığı fazladır. Dolayısıyla özellikle bu alanlarda çalışanların atık yönetimi eğitimlerinin artırılması zorunludur. Laboratuvar alanlarında ise atık yönetiminde görevli olan kişilerin hijyen ve kişisel koruyucu donanım açısından tam korunaklı olmaları zaruridir (16). Bunun yanı sıra tüm laboratuvarlarda olduğu gibi PL'da da atıkların atılım ile ilgili bilgi ve yeteneğe sahip, konunun takibini yapan bir Laboratuvar biyogüvenlik uzmanına ihtiyaç vardır. Bu uzman atıkların her safhasını kontrol etmeli ve uygun olduğunda bertaraf ile ilgili gerekli izinleri vermelidir (8). Ülkemizde yapılan çalışmalar daha çok atık yönetimi konularına genel bir bakışı içermektedir. Birpınar ve ark. (2009), İstanbul özelinde atık yönetimi konusunu irdelemişlerdir (18). Terzi ve ark. (2010) çalışmalarında kesici delici alet yaralanmalarının oranının halen yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (19). Akbolat ve ark (2011), sağlık çalışanlarının bilgi düzeylerini

araştırmış ve sonuçta halen atık poşetleri ile ilgili yeterli bilgiye sahip olunmadığını görmüşlerdir (20). Uzunoğlu (2014), çalışmasında atıkların ve atıkların çevre üzerindeki kirletici etkilerinden bahsetmiştir (21). Ergin ve ark. (2017), biyokimya ve mikrobiyoloji laboratuvarında çalışanların tıbbi atık konusunda farkındalığını incelemişlerdir (22). Ayrıca üniversitelerdeki atık yönetimi uygulamaları ve farklılıkları da ele alınmıştır (23).

''Laboratuvar çalışanları güvenlik kurallarına uyarken kimin sağlığını korurlar?'' sorusunun yanıtı aslında sırasıyla kendisinin, ailesinin, çevresinin ve dolayısıyla tüm toplumun olmalıdır. Koruma ilaveten tek sağlık konsepti çerçevesinde tüm canlıların, dolayısıyla hayvanların ve çevrenin de korunmasını da sağlayacaktır. PL'ı diğer laboratuvarlarda olduğu gibi çok sayıda ve çeşitli atığın çıkarıldığı laboratuvarlardır. Tablo 3 görülebilen çok çeşitli parazit etkenler ile yüzyüze kalınabilecek, enfeksiyona açık alanlardır. Bu alanlardan çıkan atıkların ülke ekonomisine de katkıda bulunacak şekilde yerinde ayrı toplanması ve uygun koşullarda dekontaminasyonunun ve sterilizasyonunun sağlaması önemlidir. Atıklar konusunda tüm personelin eğitilmesi PL'da güvenliğin sağlanmasının önemli ve vazgeçilmez basamaklarından biridir. Bunu sağlamak üzere ulusal ve uluslararası yasal düzenlemeler sıklıkla gözden geçirilmeli ve yenilenmelidir. Unutulmamalıdır ki; Dünya insanoğlunun yaşayabildiği tek yerdir ve koruyabildiğimiz sürece sağlıklı kalabilmemiz mümkün olacaktır…

Kaynaklar

1- Ertaş H, Güden MA. Hastanelerde Tibbi Atik Yönetimi. Sosyal Araştırmalar ve Yönetim Dergisi. 2019(1):53-67.
2- Abou-Elela S, Ibrahim H. Management of laboratory hazardous wastes: Experience from egypt. International Waste Working Group. 2014:9.
3- WHO (World Health Organization) a. Status of health-care waste management. 1st editon. WHO Western Pasific Region Publication 2016
4- Resmi gazete (RG) a: Tıbbi atıkların kontrolü yönetmeliği (2017) Erişim tarihi: 09.08.2021 Erişim adresi: https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2017/01/20170125-2.htm
5- Erdoğan (2018). Tıbbi atık Yönetimi (Biomedical waste management) Bölüm 9. Erişim tarihi: 09.08.2021 Erişim adresi: https://www.researchgate.net/publication/322499279
6- Lab Güv Üst Kurulu, Gümüşlü F, Akbaş E, Özkan AT, Ceyhan İ. Laboratuvarda Güvenli Çalışma Teknikleri. 1. Baskı. Ankara. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı 2007.
7- TUİK Tıbbi Atık İstatistikleri (2019) Erişim tarihi: 10.08.2021. Erişim adresi: https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Tibbi-Atik-Istatistikleri-2019-33900
8- WHO b. Laboratory biosafety manual. 3rd editİon. Geneva, Switzerland 2004.
9- Resmi gazete (RG) b: Atık Yönetimi Genel Esaslarına İlişkin Yönetmelik Ek 4. Erişim tarihi: 09.08.2021 Erişim adresi: https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2015/04/20150402-2-1.pdf
10- Zakharyuta A, Şen C, Avaz MS, Akkaş T. Laboratory Safety Handbook. 1st edition. Maltepe, İstanbul. Sabancı University 2016.
11- WHO c. (1999) Prüss A, Giroult E, Rshbrook P. Safe management of wastes from health-care activities. Erişim tarihi: 10.08.2021. Erişim adresi: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42175/9241545259.pdf
12- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). National ınstitutes of Health. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 6th edition. CDC pblication 2020.
13- Dempsey M. Advisory Committee on Dangerous Pathogens, The Approved List of biologşcal agents. 1st edition. Norwich, UK. Her Majesty's Stationery Office 2004.
14- Denloye AA, Ojuromi OT, Ochei K, Ade-Serrano EA. Biosafety knowledge, waste disposal practices and identification of parasites in biomedical wastes from healthcare establishments in Lagos and Abuja, Nigeria. Animal Research International. 2019;16(1):3144-50.
15- Cointreau S. Occupational and environmental health issues of solid waste management: special emphasis on middle-and lower-income countries. Urban Papers. 2006;2.
16- Eassa SM, El-Wahab EWA, Lotfi SE, El Masry SA, Shatat HZ, Kotkat AM. Risk factors associated with parasitic infection among municipality solid-waste workers in an Egyptian community. The Journal of parasitology. 2016;102(2):214-21.
17- Adeyeba O, Akinbo J. Pathogenic intestinal parasites and bacterial agents in solid wastes. East African medical journal. 2002;79(11):604-10.
18- Birpınar ME, Bilgili MS, Erdoğan T. Medical waste management in Turkey: A case study of Istanbul. Waste management. 2009;29(1):445-8.
19- Terzi Ö, Aker S, Terzi Ö, Sünter AT, Pekşen Y. Hastane temizlik elemanları ve mesleki enfeksiyon riski: Bilgi ve davranışlar üzerine bir çalışma. 2010.

20- Akbolat M, Oğuz I, Cemile D, Çimen M. Sağlık çalışanlarının tıbbi atık bilgi düzeylerinin değerlendirilmesi. Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2011(3):131-40.
21- Uzunoğlu H. Çevremizi Kirleten Atıklar ve Atık Yönetiminin Önemi. Ar&Ge Bülten. 2014:2.
22- Ergin M, Erdoğan S, Özcan E. Biyokimya ve mikrobiyoloji laboratuvar personelinin tıbbi atık yönetimi konusundaki farkındalığı. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi. 2017;74(2):129-38.
23- Ömürbek V, Çiğdem E, Herek S, Üniversitelerde atık uygulamaları. Süleyman Demirel Üniversitesi Sosoyal Bilimler Enstitüsü Dergisi. 2019(35):124-61.

KONFERANS 07 ***13 Ekim 2021 – 10:00-10:30***

Parazitolojiye Moleküler Yaklaşım: Tanı, Tiplendirme ve Genomik Sekanslama

Dilek GÜLDEMİR

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı, ANKARA

E-posta: dilekg06@yahoo.com.tr

Moleküler yöntemlerin yaygın olarak kullanıma girmesiyle birlikte pek çok alanda olduğu gibi parazitoloji alanında da mikroskobi, kültür, seroloji gibi geleneksel yöntemler ile birlikte moleküler yöntemler kullanılmaya başlanmıştır. Bu yöntemlerin bilim insanlarına sağladığı yeni araçlar sayesinde, daha hızlı ve güvenilir tanı hedefleri mümkün olabilmekte, dahası parazitlerin sınıflandırılması/tiplendirilmesi, türlerin biyolojisi ve parazit-konak-vektör ilişkileri gibi konuların daha iyi anlaşılmasına imkan sağlanmaktadır.

Moleküler yöntemler günümüzde evrimsel biyoloji, gelişimsel biyolojisi, taksonomi, ekoloji, immünoloji, tıp ve genetik gibi çeşitli alanlarda artık bilim adamlarının standart araç setinin bir parçası olarak görülmektedir. Hızla gelişmekte olan moleküler yöntemler, genel olarak bizlere bilimsel ilerlemelere yön verebilecek yeni araçlar sunmaktadır. Bununla birlikte, moleküler yöntemler genellikle farklı araştırma alanlarında aynı ya da benzer düzeyde kullanılmamakta, bu ise disiplinler arası ilerleme farklılıklarına yol açabilmektedir.

Parazitoloji alanındaki moleküler çalışmalar bakteri, virüs gibi diğer mikroorganizmalara nazaran daha geriden gelmiştir. Bunun başlıca nedeni bu mikroorganizmalar ile çalışmanın getirdiği birtakım güçlüklerdir. Dünya genelinde parazitoloji ile ilgili yayınlar arasında moleküler yöntemlerin kullanıldığı araştırmalar, moleküler yöntemlerin ilk kullanıma girmesi itibaren incelendiğinde, yaklaşık olarak parazitoloji araştırmalarının (~ 1,33 milyon) %5'i kadar olup, bunun da önemli bir kısmını (yaklaşık %70) tıbbi önemi olan *Plasmodium, Trypanosoma, Leishmania ve Toxoplasma* türleri ile akarlar ve kenelerin vektör olduğu paraziter enfeksiyonlar ile ilgili literatür oluşturmaktadır (Selbach ve ark., 2019). Ülkemizde ise moleküler yöntemlerin parazitolojide kullanımı daha geriden gelmiştir (Ardıç ve ark., 1998; Araz ve ark., 2000). Son yıllarda ülkemizde bu alanda yapılan çalışmaların sayısı hızla artmakla birlikte yine de sınırlı kaldığı aşikardır.

Moleküler teknoloji alanındaki büyük ölçekteki gelişmeler ve bunların hızlı bir şekilde kullanılabilir araçlara dönüştürülmesi ''moleküler çağı'' ya da ''moleküler genetik çağı'' olarak nitelendirilen dönemi başlatmıştır. Moleküler genetik çağı, her biri kendi yöntemleri, analitik veya istatistiksel yaklaşımları ve olasılıkları ile karakterize edilen üç farklı döneme (allozim, nükleotid dizileme ve genomik) ayrılabilir (Parker ve ark., 1998; Schlötterer, 2004; Metzker, 2005; Schuster, 2007; Metzker, 2009).

Parazitler ile yapılan nükleotid ve/veya genom çalışmaları sonucunda genel olarak; (i) Genetik çeşitliliğin ileri düzeyde olduğu görülmüş, taksonomi güncellemeleri yapılmıştır. (ii) Atasal DNA araştırmaları türlerin tarihsel ayrımlaşmasını ortaya koymuştur. (iii) Türlerinin biyolojisi ve parazit-konak-vektör üçgeni daha iyi anlaşılmıştır. (iv) Yeni türlerin keşfi konusunda ivme kazanılmıştır. (v) Bazı ilaç direnci biyomarker ve determinantlarının identifikasyonu mümkün hale gelmiştir.

İki binli yılların başında, nükleotid döneminin tam ortasında klasik taksonominin yerini "bütünleştirici taksonomi" almıştır (Dayrat, 2005). Nükleotid dizileme yaklaşımları (örn. barkodlama), ekosistemlerdeki parazit çeşitliliğini ortaya çıkarmak için pratik, güvenilir ve uygun maliyetli araçlar haline gelmiştir (Locke ve ark., 2010; Selbach ve ark., 2015). Ayrıca, birçok parazitin farklı konaklarda morfolojik olarak oldukça farklı aşamaları olan karmaşık yaşam döngüleri vardır; bu nedenle bu aşamaları eşleştirmek ve aynı türe atamak zordur (Poulin ve Leung, 2010; Locke ve ark., 2013). Sonuç olarak, birçok parazit yaşam döngüsü henüz tam olarak tanımlanmamıştır ve modern moleküler araçlar sayesinde yaşam döngülerini çözmek mümkün hale gelmiştir (Jensen ve Bullard, 2010; Blasco-Costa ve ark., 2016). Parazit çeşitliliği hakkındaki bilgilerimiz halen oldukça sınırlıdır, bu köklü moleküler ilerlemeler keşif çabalarımızı destekleyen önemli araçlar olarak önümüzde durmaktadır (Jorge ve Poulin, 2018).

Sonuç olarak; önümüzde katedilecek daha çok yol olsa da moleküler yöntemlerin, insan patojeni olarak önemleri açısından ve ekosistemlerdeki çeşitli rolleri de dahil olmak üzere, parazitlerle ilgili araştırmalarda güçlü araçlar olduğunu anlaşılmaktadır. Aynı zamanda, araştırmacıları parazitler üzerine araştırmaları geliştirmek için yeni yaklaşımlar ve yöntemler aramaya yüreklendirmenin önemli olduğu da aşikardır.

Anahtar kelimeler: Moleküler parazitoloji, Moleküler tanı/tiplendirme, Genomik sekanslama

Kaynaklar:

Araz E, Babür C, Tanyüksel M [Preparation of the test kits (ELISA, IFA) that are used in the diagnosis of toxoplasmosis improvement in usage of non-nested PCR]. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 2000; 24: 337-42.

Ardıç N, Tanyüksel M, Doğancı M, Gun H. Patojen ve non-patojen Entamoeba histolytica zimodemlerinin araştırılması. Flora, 1998; 3: 125-33.

Blasco-Costa I, Poulin R and Presswell B (2016) Species of Apatemon szidat, 1928 and Australapatemon sudarikov, 1959 (Trematoda: Strigeidae) from New Zealand: linking and characterising life cycle stages with morphology and molecules. Parasitology Research 115, 271–289.

Dayrat B (2005) Towards integrative taxonomy. Biological Journal of the Linnean Society 85, 407–415.

Jensen K and Bullard SA (2010) Characterization of a diversity of tetraphyllidean and rhinebothriidean cestode larval types, with comments on host associations and life-cycles. International Journal for Parasitology 40, 889–910.

Jorge F and Poulin R (2018) Poor geographical match between the distributions of host diversity and parasite discovery effort. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 285, 20180072.

Locke SA, McLaughlin JD and Marcogliese DJ (2013) Predicting the similarity of parasite communities in freshwater fishes using the phylogeny, ecology and proximity of hosts. Oikos 122, 73–83.

Locke SA, McLaughlin JD, Dayanandan S and Marcogliese D (2010) Diversity and specificity in Diplostomum spp. metacercariae in freshwater fishes revealed by cytochrome c oxidase I and internal transcribed spacer sequences. International Journal for Parasitology 40, 333–343.

Metzker ML (2005) Emerging technologies in DNA sequencing. Genome Research 15, 1767–1776.

Metzker ML (2009) Sequencing technologies — the next generation. Nature Reviews Genetics 11, 31–46.

Parker PG, Snow AA, Schug MD, Booton GC and Fuerst PA (1998) What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. Ecology 79, 361–382.

Poulin R and Leung TLF (2010) Taxonomic resolution in parasite community studies: are things getting worse? Parasitology 137, 1967–1973.

Schlötterer C (2004) The evolution of molecular markers – just a matter of fashion? Nature Reviews Genetics 5, 63–69.

Schuster SC (2007) Next-generation sequencing transforms today's biology. Nature Methods 5, 16–18.

Selbach C, Soldánová M, Georgieva S, Kostadinova A and Sures B (2015) Integrative taxonomic approach to the cryptic diversity of Diplostomum spp. in lymnaeid snails from Europe with a focus on the 'Diplostomum mergi' species complex. Parasites & Vectors 8, 300.

Selbach, C., Jorge, F., Dowle, et al. (2019). Parasitological research in the molecular age. Parasitology, 146(11), 1361-1370. doi:10.1017/S0031182019000726

KONFERANS 08 ***13 Ekim 2021 – 10:30-11:00***

Atık Sularda/Çevresel Örneklerde Parazit Araştırılması ve Önemi

Ayşegül TAYLAN ÖZKAN

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD; ANKARA

E-mail: aysegultaylanozkan@gmail.com

Çevredeki değişikliklere ve kirleticilere duyarlılıkları nedeniyle birçok parazitten çevre sağlığı ve antropojenik etkinin izlemesinde yararlanılmaktadır. Çevresel parazitoloji, parazitlerin tanımlanması veya analizi yoluyla ekolojik olarak hangi bilgilerin elde edilebileceği sorusunu ele alır. Temel olarak çevresel parazitolojinin iki farklı dalı vardır. Ekolojik temelli yaklaşım, parazitlerle çevre sağlığının göstergesi olarak ilgilenirken, tıbbi yönelimli yaklaşım ise çevredeki insan parazitleri ve bunların tanımlanması ile ilgilidir.

İşlenmemiş atık suların tarımsal amaçlı kullanımının da yaygınlaşmasıyla parazitler de dahil olmak üzere çevresel örneklerdeki patojenlerin izlenmesi günümüzde daha da önem kazanmıştır. Tıbbi yönelimli yaklaşım kapsamında atık sulardaki patojenlerin genotip ve alt tipleri belirlenerek suşların moleküler sürveyansı yoluyla toplumdaki bulaşın karakteristik özellikleri izlenebilir. Ülkemizde konvansiyonel yöntemlerle dışkı ve yüzey suyu örneklerinde bazı protozoa ve helmintler araştırılmışsa da moleküler düzeyde veriler sınırlıdır.

Anahtar kelimeler: Atık su, çevresel parazitoloji, ekoloji

KONFERANS 09 ***13 Ekim 2021 – 15:00-15:30***

Psoriasis Hastalığının Doktor Balıklar ve *Lucilia sericata* Larvalarının Salgısı ile Tedavisi

Erdal POLAT[1,2], Zekayi KUTLUBAY[3,4]

[1]İÜ-C, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İSTANBUL; [2]İÜ-C, Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi, İSTANBUL; [3]İÜ-C, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları AD, [4]İÜ-C, Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi, İSTANBUL

E-mail: erdalp@istanbul.edu.tr

Amaç: Psoriasis tedavisinde çok sayıda topikal, sistemik ilaçlar ve biyolojik ajanlar kullanılmasına rağmen hastalığın kronik seyri nedeniyle tamamıyla iyileşme olmamakta ve nüksetmektedir. Klimaterapi ve balneoterapi İsrail'de Ölü Denizde yapılan alternatif tedavilerdir. Ülkemizde ise Sivas iline bağlı Kangal ilçesindeki doktor balıklar psoriasis tedavisinde kullanılan tamamen doğal bir yöntemdir. Ancak bu tedavilerden sonra hastalık yeniden nüksetmektedir. Biz çalışmamızda doktor balık ile birlikte *L. sericata* larvalarının salgısını kullandık ve elde etiğimiz olumlu sonuçların bildirilmesinin uygun olacağını düşündük.

Genel Bilgiler: İhtiyoterapi bazı balık türlerinin deri hastalıklarının tedavisinde kullanılmasıdır. Yunancada Ichty: balık anlamına geldiğinden bu terim kullanılmaktadır. Bu balıklar *Garra rufa* ve *Cyprinion macrostomum* türüne ait olup deri hastalıklarının tedavisinde kullanıldığından bölgedeki halk tarafından doktor balık olarak isimlendirilmektedir. Sivas'ın Kangal ilçesinde yaşayan bu balıklar litaratürde 'Kangal balıkları' olarak bilinmektedir. *Garra rufa* ve *Cyprinion macrostomum* türü balıkların psoriasis hastalığının tedavisinde kullanılabileceğinin farkına 1980 yılından varılmıştır. Ancak günümüze kadar yapılan bilimsel çalışmaların sayısı çok az olup yetersizdir. Balıklar, suyun yumuşattığı lezyonların üzerini kaplayan skuamları ufak dokunuşlarla yemekte ve temizlemektedir. Bu balıklar bir iki saat gibi kısa bir sürede skuamları temizleyebilmektedir. Skuamların hızla ortadan kaldırılması nedeniyle pozitif bir fizyolojik ortam oluşmakta ve psoriatik lezyonların iyileşmesi hızlanmaktadır. Çalışmaların sonucunda balıkların lezyonlarda belirgin bir düzelme sağladığı tespit edilmiştir. Sivas'ın Kangal ilçesindeki balıklı termal havuzlarda tedavi olup belirli bir süre sonra hastalığı nüksettiği için tedavi amacıyla merkezimize gelen hastalar bulunmaktadır. Bundan dolayı biz psoriasis tedavisinin ilk günü balık, ikinci günü ise larva salgısı uygulanmasını planladık.

Yöntem: Dermatologlar tarafından psoriasis tanısı konmuş, doktor balık tedavisinin uygulanmasına onay verilen hastalara çalışmaya alınmıştır. Tedaviyi kabul eden hastaların fotoğrafları çekilmiş, tedaviye başlamadan önce ihtiyoterapi uygulama ve onam formu doldurulmuş ve imzalatılmıştır. Tedavinin ilk günde Akdeniz Su Ürünleri Araştırma Üretme ve Eğitim Enstitüsü Müdürlüğü [(Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü) (TAGEM)] den temin edilen *Garra rufa* ve *Cyprinion macrostomum* türü balıklar kullanılmıştır. 3-4 cm büyüklüğünde 4-6 gr ağırlığındaki balıklardan, içerisinde 28 0C'lik dinlenmiş çeşme suyu bulunan el küvetine 25, ayak küvetine 50 ve vücut küvetine ise 250 – 300 adet balık konmuştur. Küvetlere alınan hastalar 2 - 3 saat tutulmuş, süre sonunda balıklar akvaryuma alınmış, suyu tamamen boşaltılan küvetler dezenfekte edilmiştir. Her hasta için kullanılan balıklar ayrı ayrı akvaryumlara alınarak tedavi tamamlanıncaya

kadar aynı hastaya tekrar tekrar kullanılmıştır. Tedavi tamamlandıktan sonra tedavide kullanılan balıklar anaç olarak üretim akvaryumlarına alınmıştır. İkinci günü ise *L. sericata* sinek türünün larvalarından elde edilen salgı "H2 O2 hydra facial machine" marka cilt bakım cihazının oksijen pompası ile püskürtülerek uygulanmıştır. Lezyonların durumuna göre bir gün balık, bir gün ise larva salgısı uygulanarak tedavi 20 ile 60 günde tamamlanmıştır. Toplamda 15 hastaya tedavi uygulanmıştır. **Sonuç**: İhtiyoterapiye gelen hastaların balıklardan herhangi bir rahatsızlık duymadığı, nörolojik ve romatizmal hastalıkları olan kişilerin de faydalanmak istediği görülmüştür. Balıklar havuza giren hastaların önce etrafını sarmakta, dokunuşları nedeniyle başlangıçta duyulan hafif huzursuzluk yerini mikromasajın hoş etkisine bırakmaktadır. Bu seri dokunuşlar, büyümeleri için daha fazla besine ihtiyaç duyan küçük balıklarca yapılmaktadır. Bu neden ile küçük balıklar, yara iyileşmesine katkıları yanında nörolojik, romatizmal ve travmatik sekelleri olan hastaların daha iyi hissetmelerine neden olmaktadır. Sağlıklı insanlar bu balıklardan derilerinin keratinize olan kısımlarının temizlenmesi amacıyla da faydalanmaktadır. Balıklar ciltteki skuamları temizleyerek psoriatik plakların keratinini azaltmakta bu durumda yüzeysel eksülserasyonlar ve hafif hemorajiye neden olabilmektedir. Bunun üzerine püskürtülen larva salgısı daha etkili olmakta ve kalan ölü dokuları temizlemektedir. Yarayı dezenfekte ederek enfeksiyondan koruyarak kronikleşmesini önler. ECM elemanlarının yıkımını ve yeni ECM elemanlarının oluşmasını sağlar. Anjiyogenezi arttırarak, fibril yapıdaki kollajenlerin sentezini başlatarak yaranın iyileşmesini hızlandırır. Heparine bağlı epidermal ve trombosit kaynaklı büyüme faktörlerini arttırır. NF-KB sinyalleyerek endotelyal hücreleri aktive eder ve vasküler inflamasyonu azaltır. Granülasyon oluşumunu sağlar ve epitelizasyon için önemli olan keratinositlerin göçünü sağlar. Bunların sonucu olarak deri eski sağlıklı görünümünü kazanır. İhtiyoterapide kullanılan balıklar, kanıta dayalı alternatif tıp çalışmalarının da etkisiyle günümüzde Fırat Nehri'nin dışında yapay üretilip kaplıca benzeri ortamlar oluşturularak kullanılabilmektedir. Rejuvenasyon, deri kalitesinde artış ve masaj amaçlı olarak Amerika Birleşik Devletleri, İngiltere ve Uzak Doğu'da çeşitli ülkelerde bu balıkların kullanımı oldukça yaygındır.

Anahtar Kelimeler: Psoriasis, doktor balıklar, *Lucilia sericata* larvaları

KONFERANS 10 ***13 Ekim 2021 – 17:30-18:00***

Mosquito Ecology and Arbovirus Infection and Transmission

Barry ALTO, Abdullah ALOMAR, Shawna BELLAMY, Kylie YANCHULA, Andre PAİGE

University of Florida, Florida Medical Entomology Laboratory, USA

E-mail: bwalto@ufl.edu

The larval environment shapes the phenotypes of adult mosquitoes and may, thereby, alter traits relevant to their ability to transmit arthropod-borne (arbo) viruses. These studies characterize the role of sublethal exposure to insecticides, predators, and nutrition during the immature stages on invasive Stegomyia mosquito survival (adult lifespan) and vector competence for arboviruses. We demonstrate that both sublethal exposure to insecticides and predators can reduce adult lifespan and enhance vector competence of Zika and dengue viruses of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. Nutrient stoichiometry studies using mosquitoes showed that larval nutrition altered adult *Ae. aegypti* vector competence for Zika virus. Further, we show that parental larval diet in *Ae. aegypti* results in differential allocation of resources in offspring of parents depending on the nutrition condition (quality) of their mate. Taken together, these studies underscore the importance of considering the larval environment in the development and deployment of novel control strategies.

KONFERANS 11 ***14 Ekim 2021 – 09:00-09:30***

Adli Parazitoloji

Ayşegül TAYLAN ÖZKAN

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD; ANKARA

E-mail: aysegultaylanozkan@gmail.com

"Bilimin yasal sisteme uygulanması" olarak tanımlanan adli bilimlerle ilgilenen bilim insanlarının ana amacı, elde edilen kanıtın yasal bir dava ile bilimsel olarak ilişkisi olup olmadığını belirlemektir. Dünyanın her yerinde bulunan ve küresel çeşitliliğin neredeyse yarıdan fazlasını oluşturan parazitler ekosistemin önemli bir parçasıdır. Bu nedenle adli bilimlerde parazitlerden yararlanılması büyük bir potansiyel taşımaktadır: Cinayet silahını belirlemek, bir bireyi veya suç mahallini tanımlamak, bir şehirdeki salgını araştırmak gibi.

Bu oturumda biyoterörizm/ biyosuç, ölüm nedeni ve zamanı belirlenmesi, suç mahali ve materyali incelemesi, cinsel yolla bulaşan hastalıklar ve çocuk istismarı, transfüzyon/ transplantasyon bulaşları, salgınlar, paleoparazitoloji /arkeoparazitoloji ile adli parazitolojinin nasıl kesiştiği üzerinde durulacaktır.

Anahtar Kelimeler: Adli parazitoloji, paleoparazitoloji, arkeoparazitoloji

KONFERANS 12 ***14 Ekim 2021 – 10:00-10:30***

A Review of The Epidemiology and Control of Leishmaniasis in Azerbaijan and Georgia

Eduardo BERRIATUA

Faculty of Veterinary Medicine University of MURCIA, SPAIN

E-mail: berriatu@um.es

Leishmaniasis are diseases of humans and animals caused by *Leishmania* spp. protozoan parasites transmitted by hematophagous Phlebotomine sand flies. They are endemic in the warm latitudes of the planet including the southern Caucasian countries. The present study is a review of the epidemiology and control of leishmaniasis in Azerbaijan and Georgia from 2005 to 2020. It is based on an analysis of WHO and OIE reported cases, on scientific articles published in SCOPUS during this period and on a questionnaire survey to public health and veterinary authorities. Endemic *Leishmania* spp. include *L. infantum* in both countries and *L. major* in Azerbaijan, the disease is reported in humans, animals and sand flies, and incidence is spatially and temporarily variable. Very few human cutaneous leishmaniasis (CL) cases were reported in Georgia over the study period, whilst in Azerbaijan reported CL incidence (per 100,000 population) ranged between 0.1 and 0.5, and all cases were associated to *L. major* infection. In contrast, similar incidence of human Visceral leishmaniasis (VL) by *L. infantum* in Georgia was 4.1-4.7 in 2005-09 and gradually decreased to 1.0-1.8 in 2014-2020. VL incidence in Azerbaijan was 0.2-0.4 in 2005-09 and 0.4-0.6 in 2016-19. Most VL cases in these countries affect young children from disadvantaged urban areas where leishmaniasis in dogs, the reservoir of infection, is widespread. The disease represents a regional public and animal health challenge and there is a need to improve diagnosis, treatment, and control.

Key words: Leishmaniasis, *Leishmania,* epidemiology, control, Azerbaijan, Georgia, Caucasus

KONFERANS 13 ***14 Ekim 2021 – 10:30-11:00***

Ticks in Wild Carnivores and General Aspects of Pathogen Spreading

Gianluca D'AMICO

University of Agricultural Science and Veterinary Medicine Parasitology and Parasitic Diseases Department, Cluj Napoca, CLUJ, ROMANIA

E-posta: gianluca.damico@usamvcluj.ro

In Romania, data regarding hard-tick diversity and tick–host associations in wild carnivores are scarce. Our aim is to identify tick species in wild carnivores and to establish reliable data on tick–host associations. The study is conducted in various Romanian localities from all five ecoregions found in the country. Fourteen species of wild carnivores were examined. Immature and adult ticks were collected and identified using the morphological keys. New tick–host associations are recorded. Our results suggest that anthropogenic changes of the envionment lead to the diminishing of the boundaries, between wild and domestic animals.

KONFERANS 14 ***14 Ekim 2021 – 13:30-14:00***

Ticks, Disease, and Climate Change

Pat NUTTALL

Emeritus Professor of Arbovirology, Department of Zoology, University of Oxford, UK

E-mail: pat.nuttall@zoo.ox.ac.uk

Is climate change affecting parasites? This question will be considered in relation to ticks - blood-feeding ectoparasites that transmit a wide range of pathogens causing disease in humans and livestock, including Crimean-Congo haemorrhagic fever, Lyme borreliosis, tick-borne typhus, anaplasmosis, babesiosis, and theileriosis. If global warming is affecting ticks/tick-borne infections, signs of change should be detectable in: (i) geographical distribution, (ii) development rate of ticks, (iii) tick seasonal activity, (iv) tick phenotype/genotype, and/or (v) tick microbiota. Evidence for such signs of change will be discussed with a focus on Turkey and the surrounding region.

KONFERANS 15 ***14 Ekim 2021 – 14:00-14:30***

Detection, Identification and Genotyping of *Borrelia* spp. in Ticks in Slovenia

Vladimir IVOVIĆ

Faculty of Mathematics, Natural Sciences and Information Technologies, University of Primorska, Koper, SLOVENIA

E-mail: ivovic.v@gmail.com

The density and spread of tick vector species have increased throughout Europe in the last 30 years, leading to an increase in cases of Lyme borreliosis cases, including in Slovenia. Among them, Ixo*des ricinus* is undoubtedly the best-known tick species in Europe, and the most medically and economically important vector of pathogenic microorganisms. This species is also a major vector of the pathogens causing Lyme borreliosis (LB) and tick-borne encephalitis (TBE). Lyme borreliosis, the most common tick-borne zoonosis in Europe, is also a significant epidemiological problem in North America and Asia. The highest prevalence rates in Europe are found in Central European countries, which include Slovenia. "Hot spots" with more than 100 cases per 100 000 inhabitants per year have been reported from several parts of Slovenia (regions of Gorizia, Carinthia, Mura and Upper Carniola. In Slovenia, all human pathogenic species were isolated from patients, some were isolated from ticks and patients, and some were isolated only from ticks. The prevalence of the species *Ixodes ricinus* in Slovenia has been regularly monitored for the last 5 years and the main aim of our research is to determine the infection of this species with pathogens of the genus *Borrelia*, as well as changes in the occurrence of various genopecies.

Key words: *Borrelia burgdorferi s.l., Ixodes ricinus*, Slovenia

KONFERANS 16 ***15 Ekim 2021 – 09:00-09:30***

Kum Sinekleri ve İnsektisitler

Suha K. ARSERİM

Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, MANİSA

E-posta: suhaarserim@hotmail.com

Dünyada her yıl bir milyardan fazla insan vektör kaynaklı hastalıklar ile enfekte olmakta ve bir milyondan fazla insan bu hastalıklar yüzünden yaşamını yitirmektedir. Bu vektörlerden Phlebotomine kum sinekleri, *Leishmania* cinsi protozoon parazitlerine, virüslere ve bakterilere biyolojik vektörlük yapmaktadırlar. Vektör artropodlar ile mücadele yöntemleri arasında, kimyasal mücadele, mekanik (fiziksel) mücadele, kültürel mücadele ve biyolojik mücadelenin bir arada yürütüldüğü entegre mücadele yöntemleri kullanılmaktadır. Entegre vektör mücadelesi kapsamında insektisit kullanımı, kısa zamanda etkili olması, hızlı ve kesin sonuç alınabilmesi bakımından günümüzde zararlı böceklerle mücadelede en fazla tercih edilen yöntem olmaya devam etmektedir.

Türkiye'de kum sineklerine yönelik halihazırda özel bir mücadele programı bulunmamaktadır. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğünün sıtma kontrol programı ve yerel belediyelerin zararlı mücadele programları genel olarak sivrisinek ve ev sineği ile mücadele amaçlı olup, bu mücadelede kullanılan kimyasalların kum sinekleri üzerinde de etkili olduğu bilinmektedir. Kum sineklerinin larva mücadelesi neredeyse imkânsız olduğundan DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından önerilen sivrisinek erginleri için kullanılan ürünlerin uygulama dozlarının kum sinekleri için de kullanılabileceği bildirilmiştir.

Vektör mücadelesinde, insektisitlerin kullanıldığı, rezidüel uygulamalar ve sıcak-soğuk sislemeler en çok kullanılan yöntemlerdir. Kum sinekleriyle ve diğer artropodlarla mücadelede birçok insektisit grubundan faydalanılmaktadır. En iyi bilinen DDT, organik klorlular, karbamatlar, organik fosfatlar ile son yıllarda yüksek etkinlikleri ve düşük toksisiteleri nedeniyle sentetik piretroitler ve neonikotinoidler yaygın olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde de tarım ve halk sağlığı zararlılarına karşı sentetik piretroitler ve neonikotinoid grubu insektisitler en sık olarak kullanılmaktadırlar. Buna karşın bu iki grup insektisitlere kum sineklerinin hassasiyeti ile ilgili çalışmalar son derece sınırlıdır. Özellikle larva mücadelesinin çok güç olmasından dolayı ergin mücadelesi büyük önem taşımaktadır. Dünyanın birçok bölgesinde kum sineği erginlerine karşı kullanılan ürünlere oldukça hassas olduğu bildirilse de yapılan bazı araştırmalar ergin kum sineklerinde bölgesel direncin oluşabildiği yönündedir. Ancak ülkemizde kullanılan etken maddelerin kum sinekleri üzerinde bir dirence yol açıp açmadığı henüz tam olarak bilinmemektedir. Halk sağlığı önemleri ve toplum tarafından da daha yakından bilinmeleri nedeni ile hassasiyet/direnç denemeleri de genellikle sivrisinekler ve ev sinekleri ile yapılmaktadır.

Ülkemizde de birçok bölgede kullanılan ergin öldürücü insektisitlere, ev sineği ve sivrisineklerde bazı etken maddelere karşı direnç geliştiği bildirilse de kum sineklerinin hassas oldukları ancak kullanılmaya devam edilmesi halinde direnç gelişebileceği bildirilmiştir. Bu nedenle aynı grup insektisitlerin kullanıldığı bölgelerde hassasiyet/direnç testlerinin sürekli olarak yapılması yönünde çalışmalar yapılmalıdır. Bu hassasiyet testleri hem sivrisinek ve ev sineği hem de kum sineği popülasyonlarını kapsayacak şekilde planlanmalıdır.

Anahtar kelimeler: Kum sineği, insektisit, vektör mücadelesi, sentetik piretroitler, neonikotinoidler

KAPANIŞ KONFERANSI ***15 Ekim 2021 – 11:30-12:00***

Tıp Eğitiminde Parazitoloji Müfredatlarına Genel Bakış ve COVID-19 Pandemisinde Uzaktan Parazitoloji Eğitimi

Muttalip ÇİÇEK

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, KIRŞEHİR

E-mail: muttalipcicek@hotmail.com

Globalleşen günümüz dünyasında lokal bölgede görülen bir paraziter hastalık seyahatler ile bir başka bölgeye taşınabilmektedir. Ülkemizin iklim ve stratejik bölge yapısı nedeniyle paraziter hastalık tehdidi devam etmektir. Son yıllarda mülteci sorunu ve düzensiz göç hareketliliği, yabancı öğrenci kontenjanlarının artışı, yurt dışında çalışan insan iş gücünün yükselmesi ve turizm sektörünün canlılığı paraziter hastalıkların çeşitliliğini, importe vakalarda artışı ve prevalansını etkileyen faktörler olarak göze çarpmaktadır (1,2,3,4,5). Paraziter hastalıkların önemini koruduğu Ülkemizde bu hastalıkların tanınması ve bunlarla mücadele Tıp fakültelerinde nitelikli bir parazitoloji eğitimini gerektirir. Tarafımızca yapılan araştırmada, Tıp Fakültelerinde anlatılan parazitoloji derslerinin sayısı ve çeşitliliği farklılık göstermektedir. Özellikle Parazitoloji Anabilim Dalının olmadığı tıp fakültelerinde bütün parazitoloji derslerinin 3-5 saate sıkıştırıldığı göze çarpmaktadır. Bunun nedenleri arasında Parazitolojinin o fakültelerde Anabilim dalı olmaması, Parazitoloji uzmanının olmaması gösterilebilir. Tıp eğitiminde Parazitoloji teorik ve uygulama dersleri ideal olarak kaç saat olmalıdır ve hangi dersleri içermelidir. Elbette fakültelerin eğitim modeli, eğitici durumu bunları etkileyecektir. Bu model veya eğitici durumu ne olursa olsun belirli ders sayısı ve çeşitliliğinin altına düşmemelidir. 2020'de yenilenen Ulusal çekirdek eğitim programı(UÇEP) (6) 2026'da tekrar yenilenecektir, bu yenileme de Temel Tıp Bilimleri çekirdek eğitim programı oluşturulması hedeflenmektedir. Bu Temel Tıp Bilimleri UÇEP programında Parazitoloji derslerinin çeşitliliği ve sayısı nasıl olmalıdır, hangi kurullar içerisinde hangi dersler anlatılmalıdır? Türkiye Parazitoloji Derneği olarak bir müfredatın sunulması veya bir kitapçıkta parazitoloji eğitiminin ders sayısı ve çeşitliliğinin ayrıntılı bir şekilde belirtilerek yayınlanması oldukça önemlidir. Böyle bir kitapçığın oluşumu 2020 Temel Tıp Bilimleri UÇEP programına ışık tutacağı gibi, müfredatlarını yeni oluşturan ya da müfredat yenileyen tıp fakültelerine rehber olacaktır. Ayrıca bu program bütün tıp fakültelerine gönderilerek parazitoloji eğitiminin standartlarının belirlenmesine katkı sağlanabilir. Dersler anlatılırken yapılan hatalardan biri de çoğu zaman muhatabın bir lisans öğrencisi olduğu unutularak çok detay bilgi ile öğrenciye yüklenilmesidir. Bu sorun ancak konuların hangi bilgi düzeyinde anlatılacağı belirlenerek, konu içeriği içinde dersin belirtke tabloları oluşturularak ve öğrenim hedefleri belirlenerek çözülebilir. Böylece çıktıya dayalı eğitim sistemine göre dersler aynı formatta işlenmiş olacaktır. Bütün dünya son iki yıldan bu yana Covid 19 pandemisiyle mücadele etmektedir. Bu pandemi hepimizi olumsuz etkilediği gibi ne yazık ki yüz yüze yüksek öğretimi de olumsuz etkiledi. Covid 19 pandemisiyle hayatımıza uzaktan eğitim girdi. Online toplantılarda buluştuk. Lisans, Doktora, hatta Doçentlik sınavları online yapıldı. Hayatımıza giren online dersler, sınavlar ve toplantılar pandemi bitse de kullanılmaya devam edecektir (7). Parazitoloji dersleri uzaktan eğitim modeli ile anlatıldı. Uzaktan eğitim modeli önümüzdeki günlerde de kullanılacaktır. Şüphesiz ki uygulamalı derslerin online eğitimi daha zordur. Yüzyüze eğitimde

derslerinde yazılım desteği olan üniversiteler online uzaktan eğitime daha kolay adapte oldukları görülmüştür. Öncelikle elektronik kaynaklar sisteme yerleştirilmelidir. Ders öncesinde ders notları ve diğer eğitim materyalleri öğrenciye ulaştırılmalıdır. Kaynaklar bol resimler ile desteklenmelidir. Laboratuvar dersleri için eğitim materyali olarak mutlaka eğitim kılavuzları oluşturulmalıdır. Bu dersler için videolar çekilmeli veya paylaşılan benzeri videoların linkleri öğrenciler ile paylaşılmalıdır (7,8,9). Laboratuvar derslerinin işleyişine katkı sağlayacak diğer bir eğitim materyali ise online mikroskobik preparat bakısı sağlayan internet siteleridir. Bu siteler sanal mikroskop eşliğinde ders anlatımı kolaylığı sağlamaktadır (10). Uzaktan online eğitimlerin süreleri yüz yüze eğitimden daha kısa tutulmalıdır, sanal sınıflarda öğrencinin dikkati daha kolay dağılmaktadır. Yüz yüze eğitimlerden farklı olarak daha kısa, vurgulayıcı ve öz olmalıdır. Yüz yüze eğitimde olduğu gibi online eğitime uygun aktif öğrenme yöntemleri kullanılarak dersler daha cezbedici olmalıdır (11). Çağımızın bir bilgi ve teknoloji çağı olduğu ve tıp eğitiminin öğrenen merkezli aktif bir eğitime evrildiği düşünüldüğünde E-öğrenme uygulamaları tıp eğitimi içinde yaygınlığını giderek artıracağı görülmektedir. Ancak mücbir sebepler dışında tıp eğitiminin tamamen uzaktan eğitim yöntemleri ile yapılması beklenen yetkinlik ve yeterlikler için uygun değildir (12).

Anahtar Kelimeler: Uzaktan Online Eğitim, Tıp Fakültesi Parazitoloji Eğitimi ve Müfredatı

YUVARLAK MASA OTURUMLARI

YUVARLAK MASA OTURUMU 01

Eksozomların Mediyatör ve Biyobelirteç Olarak Paraziter Hastalıklardaki Önemi

Düzenleyen	**Abdullah İNCİ**
12 Ekim 2021	**09:30 – 11:00**
Mahmodul Hasan SOHEL	**Exosomes (Extracellular vesicles) Structure and functions**
Gupse Kübra KARADEMİR	**Eksozomların İzolasyonu, Kantitasyonu ve Karakterizasyonunda Kullanılan Yöntemler**
Gökmen ZARARSIZ	**Eksozom Türevli Non-coding RNA'ların karakterizasyonunda Biyoinformatik Yaklaşımlar**
Alparslan YILDIRIM	**Metazoon Parazitlerde Eksozom Bazlı Çalışmalara Genel Bakış**
Arif ÇİLOĞLU	**Protozoon Parazitlerde Eksozom Bazlı Çalışmalara Genel Bakış**

Exosomes (Extracellular vesicles) Structure and Functions

Mahmodul Hasan SOHEL

Vectors and Vector Borne Disease Implementation and Research Centre Erciyes University, KAYSERİ, TURKEY

E-posta: sohel.mmh@gmail.com

Exosomes are small vesicles of 30 – 150 nm diameter that have shown to have several important biological roles including cell to cell communication. Exosomes contain several bioactive molecules such as protein, RNA, small RNAs including microRNAs (miRNAs). The exosomal miRNAs shown to have potential use as blood-based non-invasive biomarkers for disease and health. To understand the function and potential use of exosomes, it is necessary to understand the structure of exosome. In this article, I will briefly describe the structure and the function of exosomes.

Exosomes correspond to the internal vesicles of multivesicular bodies (MVBs) and are released in the extracellular environment upon fusion of MVBs with the plasma membrane (Sohel 2018). Exosomes were first discovered in the process of eliminating transferrin receptors during reticulocyte (immature red blood cells) maturation and thought to function as cellular waste products, thus received little attention and remained understudied. This "cellular waste" hypothesis was challenged in the '90s, when exosomes were shown to have an immunoregulatory effect, with the demonstration that B cell-derived exosomes could stimulate T cells (Raposo et al. 1996). The results of the subsequent studies provide the basis for the hypothesis that exosomes could play an active role in intercellular communication (Théry 2011). Today, exosomes have been found in all most all type of body fluids (Sohel 2016b). Exosomes can be distinguished from other classes of cell-secreted vesicles such as microvesicles (MVs) and apoptotic bodies by several classification features including size, biological content, and most markedly, by biogenesis and mode of release from the cell. Exosomes range in size from 100 nm or less while MVs are typically larger at 100 to 1000 nm in diameter (Théry 2011). The secretion of exosomes can be spontaneous or induced depending on the cell type.

Biogenesis of exosomes

Exosome formation begins with the initiation of the endocytotic pathway as material, such as protein, is engulfed by the cell at its surface. This process may be clathrin-dependent, as is true in the case of the transferrin receptor, or maybe clathrin-independent, as is the case with glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored proteins, caveolae, or lipid raft mechanisms (Mayor and Riezman 2004). Once internalized, the endocytotic vesicles are delivered to early endosomes in which the mildly acidic pH (~6.2) causes an uncoupling of housekeeping receptors from their ligands, and then recycled back to the plasma membrane or transported to late endosomes together with other proteins and lipids (Maxfield and McGraw 2004). In late endosomes, which is spherical in shape and acidic in nature (pH 5.0 to 5.5), two sequential steps have been recognized for sorting of protein during MVBs formation. The first step includes the lateral sorting or selection of proteins at the limiting membrane of endosomal lumen and the second step is the formation of inwardly budding vesicles, commonly known as intraluminal vesicles (ILV), with the concomitant incorporation of selected proteins, lipids, mRNAs and miRNAs. Once MVBs formed they can either fuse with lysosomes for degradation of proteins or direct interaction

with the plasma membrane, resulting in the release of the ILVs as exosomes. Since two membrane inversion occurs during the formation of an exosome from a membrane patch on the plasma membrane, it allows exosomes to present trans membrane cargo in the same orientation relative to the cell cytoplasm and with the same membrane protein on the outside as at the plasma membrane (Lakkaraju and Rodriguez-Boulan 2008).

Exosomal contents

Exosomes carry a wide variety of bioactive molecules including fragments of DNA, proteins, RNA, and miRNAs. Among the molecules present in the exosomes, miRNAs were studied extensively (Sohel 2016a). The primary reason for this perhaps the size of the miRNAs. Due to their tiny size, miRNAs are loaded with ease during the biogenesis of exosomes. On the other hand, molecules like DNA are huge in size and cannot have regulatory functions outside the nucleus. Therefore, DNA fragments transported from one cell to another via exosomes may exert no significant function at all. On the other hand, miRNAs carried by exosomes showed to have regulatory impacts on the expression of genes in recipient cells (Sohel et al. 2013).

Function and potential usage of exosomes

The function of exosomes most probably depends on the cells from and conditions under which they are produced, as this provides them with their characteristic composition. When exosomes were first discovered from reticulocytes, they were shown to function as a way to discard proteins, such as the transferrin receptor during the maturation process of reticulocytes into erythrocytes (Johnstone 2006). Reticulocytes lack lysosomes, and it seems as if exosome release is an alternative to lysosome degradation. Another function of exosomes that was later described is as cell-free messengers, that can be released from one cell and have an effect on another. This communication with other cells may occur either in the microenvironment or over a distance (Février and Raposo 2004). Therefore, the central hypothesis is that since exosomes have been found in blood plasma, they may be transported between organs via the systemic circulation. How this interaction occurs between exosomes and cells is not fully known. However, several mechanisms describing the interactions of exosomes and cells have been hypothesized. Exosomes can bind to cells through receptor-ligand interactions, similar to cell to cell communication, mediating for example antigen presentation (Admyre et al. 2006). There are several functions that exosomes can perform. The glimpse of these potential functions is given below.

Functional delivery of genetic information: A recent breakthrough in exosome biology is that RNA molecules, in particular, miRNAs, are present in these vesicles. To date, studies have demonstrated that miRNAs in exosomes can influence target cell function (Sohel et al. 2013). The transport of nucleic acids inside the exosomes can play an important role in the functioning of a multicellular organism; moreover, the supposed specificity of this process can, on necessity, contribute to the directed transfection of an exogenous material (Mittelbrunn et al. 2011). In early 2008, Hunter et al. identified miRNAs that differentially expressed in circulating plasma microvesicles from diseased and normal subjects, creating the platform for future work for examination of the predictive role of peripheral blood miRNA signatures in human disease, as well as defining the biological processes regulated by particular miRNAs (Hunter et al. 2008). Advances in miRNA array techniques have provided significant advances in miRNA profiling of exosomes. Koh et al. demonstrated that miRNAs are also found in the extracellular environment of human embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells (hES-MSC). It has been well documented that exosomes contain a substantial amount of small RNAs, but little or no ribosomal RNA compared to the levels observed in the donor cells (Valadi et al. 2007). Moreover, selective packaging of miRNAs into exosomes appears to occur, as the miRNA profiles in exosomes do not reflect the miRNA profiles observed in the parental cells (Valadi et al. 2007; Mittelbrunn et al. 2011).

Cell to cell communication: Exosomes have many different functions, which depend on both their cellular origin as well as the current state of that cell, as it influences the cargo of the released exosomes. However, these functions have primarily been associated with exosomal proteins. The novel finding

that exosomes contain RNA (Valadi et al. 2007) has prompted many researchers to address the biological role of exosomal RNA, which further increases the complexity of the understanding of cell-to-cell communication. Valadi et al. did not only demonstrate the presence of RNA in exosomes but also demonstrated that the exosomal RNA could be transferred to recipient cells. This was demonstrated by culturing mouse mast cells with radioactive uridine prior to exosome isolation, thus incorporating radioactive RNA into the exosomes released by these cells. Radioactive RNA could be measured in recipient cells following co-culture with the exosomes, demonstrating RNA transfer from exosome to cell. Since exosomes themselves do not contain the complete machinery to produce proteins, the functionality of the RNA content was shown by using an in vitro translation assay, where mouse mast cell-derived exosomes were used as templates. Subsequently, after adding mouse mast cell-derived exosomes to human mast cells, newly produced mouse proteins could be identified in the human cells. These proteins were shown to be present only as mRNA, not as proteins, in the mouse mast cell-derived exosomes. Thus, this translation demonstrated the functionality of the exosomal mRNA (Valadi et al. 2007).

Exosomes in the physiological process: Because exosomes are readily released by different cell types, they are likely involved in many physiological processes such as antigen presentation (Théry 2011), tissue repair or transfer of RNAs (Valadi et al. 2007). Later Lai et al. demonstrated that exosomes are the active components of conditioned medium from human embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells and the injection of these exosomes into swine and murine models of ischemia/reperfusion injury reduced the infarct size (Lai et al. 2010). Because most of the exosome studies were performed in vitro culture conditions or from different biological fluids, therefore, it is not perfectly assessed if the quantities of exosomes used to see effects in vitro are comparable to physiological amounts of exosomes secreted in vivo. It has also been shown that the expression of certain miRNAs in exosomes deviated based on the physiological changes induced by hormonal treatment (Noferesti et al. 2015).

Exosomes in the pathological process: Exosomes have been associated with the progression of disease conditions including neurodegenerative disease, cardiovascular diseases, and cancer (Théry 2011). It was in 1983 when Tailor revealed for the first time the secretion of tumor-derived microvesicles in ovarian cancer patients. Exosomes from cancer cells can transfer tumor antigens to dendritic cells and present tumor antigens, which induce immune responses (Théry 2011). In contrast, tumor exosomes can also suppress the function of immune cells by inducing apoptosis of activated cytotoxic T cells or promoting differentiation of regulatory T lymphocytes. Other reports suggest that tumor exosomes can promote tumor growth by suppressing antitumor immune responses or by promoting neoangiogenesis or migration to other cells resulting in metastasis (Valadi et al. 2007). A recent study revealed that exosomes/microvesicles secreted from tumor-associated macrophages can transport miRNAs into breast cancer cells promoting the invasiveness of breast cancer cells (Yang et al. 2011).

Exosome-based vehicles for tumor cell targeting: Over the last few years, there was a significant advancement in cancer treatment due to the progress in target-based therapies. Various nanocarriers including polymer micelles, solid lipid nanoparticles, and liposomes were extensively studied for target-based treatment in cancer primarily because of their improved solubility for hydrophobic molecules, enhanced existence in the plasma circulation, and low systemic toxicity. However, the major obstacle using nanocarriers for cancer therapy in the clinical setting is the toxicity. It has been shown that all the nanocarriers exert some degree of toxicity (Hossen et al. 2019). Another limitation is that most of the nanocarriers are rapidly cleared by immune cells and less chance to uptake by the cancer cell, hence exert limited anti-cancer effects. Under these circumstances, exosomes could be the best alternative because of two major reasons. First, exosomes are stable in biological fluids and their small size enables exosomes to escape from lung clearance, pass through biological barriers and penetrate deep in solid tumor tissue. Second, exosomes can be loaded with various tumor therapeutic cargoes

including anti-cancer drugs and cancer gene suppressors in order to kill cancer cells in a more efficient manner (Zhang et al. 2019).

Exosomes as chemotherapeutic drugs vehicles: Chemotherapeutic drugs including curcumin, celastrol, paclitaxel (PTX), and doxorubicin (DOX) have been reported to be encapsulated into exosomes. Research has shown that specific drug-loaded exosomes are able to improve the efficiency of chemotherapy (Smyth et al. 2014; Tian et al. 2014). Due to specific receptor-legand interaction with the recipient cell, exosomes have 10 fold higher ability to target cancer cells compare to the liposomes of equivalent size (Smyth et al. 2014).

Exosomes loading protein for cancer therapy: In addition to chemotherapeutic drugs, exosomes are reported to delivering functional proteins to target cancer cells. The bioactivity and the stability in the circulation is the major problem of protein treatment which can be ameliorated by using exosomes as a delivery agent. Once the protein molecules are encapsulated in exosomes, the protein/peptide-based drugs exhibited elevated pharmacokinetic properties including penetrating target tissue and increased the bioavailability (Sterzenbach et al. 2017).

Exosomes as a carrier for gene therapy: Gene therapy, including a variety of small RNA and plasmid DNA (pDNA), is a promising and attractive strategy for the treatment of cancer. However, these molecules are highly susceptible to endogenous nuclease activity. The conventional nanocarriers used in gene therapy are far from clinical expectations due to their transfection efficiency, stability, and overall safety. However, use of exosomes can eliminate these disadvantages of conventional nanocarriers. For instance, it has been reported that the siRNAs loaded into exosome-based vectors can silence the polo-like kinase 1 gene more efficiently in bladder cancer cells in vitro (Greco et al. 2016).

References

Admyre C, Johansson SM, Paulie S, Gabrielsson S (2006) Direct exosome stimulation of peripheral human T cells detected by ELISPOT. Eur J Immunol 36:1772–1781. https://doi.org/10.1002/eji.200535615

Février B, Raposo G (2004) Exosomes: Endosomal-derived vesicles shipping extracellular messages. Curr. Opin. Cell Biol. 16:415–421

Greco KA, Franzen CA, Foreman KE, et al (2016) PLK-1 Silencing in Bladder Cancer by siRNA Delivered with Exosomes. Urology 91:241.e1-241.e7. https://doi.org/10.1016/j.urology.2016.01.028

Hossen S, Hossain MK, Basher MK, et al (2019) Smart nanocarrier-based drug delivery systems for cancer therapy and toxicity studies: A review. J. Adv. Res. 15:1–18

Hunter MP, Ismail N, Zhang X, et al (2008) Detection of microRNA expression in human peripheral blood microvesicles. PLoS One 3:e3694. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003694

Johnstone RM (2006) Exosomes biological significance: A concise review. Blood Cells Mol Dis 36:315–21. https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2005.12.001

Lai RC, Arslan F, Lee MM, et al (2010) Exosome secreted by MSC reduces myocardial ischemia/reperfusion injury. Stem Cell Res 4:214–222. https://doi.org/10.1016/j.scr.2009.12.003

Lakkaraju A, Rodriguez-Boulan E (2008) Itinerant exosomes: emerging roles in cell and tissue polarity. Trends Cell Biol. 18:199–209

Maxfield FR, McGraw TE (2004) Endocytic recycling. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 5:121–132

Mayor S, Riezman H (2004) Sorting GPI-anchored proteins. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 5:110–120

Mittelbrunn M, Gutiérrez-Vázquez C, Villarroya-Beltri C, et al (2011) Unidirectional transfer of microRNA-loaded exosomes from T cells to antigen-presenting cells. Nat Commun 2:. https://doi.org/10.1038/ncomms1285

Noferesti SS, Sohel MMH, Hoelker M, et al (2015) Controlled ovarian hyperstimulation induced changes in the expression of circulatory miRNA in bovine follicular fluid and blood plasma. J Ovarian Res. https://doi.org/10.1186/s13048-015-0208-5

Raposo G, Nijman HW, Stoorvogel W, et al (1996) B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. J Exp Med 183:1161–1172. https://doi.org/10.1084/jem.183.3.1161

Smyth TJ, Redzic JS, Graner MW, Anchordoquy TJ (2014) Examination of the specificity of tumor cell derived exosomes with tumor cells in vitro. Biochim Biophys Acta - Biomembr 1838:2954–2965. https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.07.026

Sohel MH (2016a) Extracellular/Circulating MicroRNAs: Release Mechanisms, Functions and Challenges. Achiev Life Sci 10:175–186. https://doi.org/10.1016/j.als.2016.11.007

Sohel MMH (2016b) Extracellular/Circulating MicroRNAs: Release Mechanisms, Functions and Challenges. Achiev Life Sci 10:175–186. https://doi.org/10.1016/j.als.2016.11.007

Sohel MMH (2018) Choice of samples in extracellular microRNA research: Which fraction is better- exosomal or nonexosomal? J Adv Biotechnol Exp Ther 1:11. https://doi.org/10.5455/jabet.d3

Sohel MMH, Hoelker M, Noferesti SS, et al (2013) Exosomal and non-exosomal transport of extra-cellular microRNAs in follicular fluid: Implications for bovine oocyte developmental competence. PLoS One 8:e78505. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078505

Sterzenbach U, Putz U, Low LH, et al (2017) Engineered Exosomes as Vehicles for Biologically Active Proteins. Mol Ther 25:1269–1278. https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.03.030

Théry C (2011) Exosomes: Secreted vesicles and intercellular communications. F1000 Biol. Rep. 3

Tian Y, Li S, Song J, et al (2014) A doxorubicin delivery platform using engineered natural membrane vesicle exosomes for targeted tumor therapy. Biomaterials 35:2383–2390. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.11.083

Valadi H, Ekström K, Bossios A, et al (2007) Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. Nat Cell Biol 9:654–9. https://doi.org/10.1038/ncb1596

Yang M, Chen J, Su F, et al (2011) Microvesicles secreted by macrophages shuttle invasion-potentiating microRNAs into breast cancer cells. Mol Cancer 10:. https://doi.org/10.1186/1476-4598-10-117

Zhang M, Zang X, Wang M, et al (2019) Exosome-based nanocarriers as bio-inspired and versatile vehicles for drug delivery: recent advances and challenges. J. Mater. Chem. B 7:2421–2433

YUVARLAK MASA 01 **2** ***12 Ekim 2021 – 09:30-11:00***

Eksozomların İzolasyonu, Kantitasyonu ve Karakterizasyonunda Kullanılan Yöntemler

Gupse Kübra KARADEMİR

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, KAYSERİ

E-posta: gupsekarademir@gmail.com

Eksozomlar 30-150 nm arasında çapa sahip, endozom kaynaklı hemen hemen her türlü hücre tipinden fizyolojik ve patofizyolojik şartlarda üretilebilen bunun yanında lipid, protein, mRNA, miRNA, ve DNA moleküllerini de içeren veziküllerdir (1). Ayrıca, hücreler arası iletişim, onarım, rejenerasyon gibi birçok önemli biyolojik fonksiyonları gerçekleştirmekle birlikte protein sekresyonu, antijen sunumu ve RNA'lar ile enfeksiyöz ajanların transferi ve patojen immun sürveyansında da oldukça önemli rol oynamaktadır (2). Yapılan yeni araştırmalar sonucunda hastalıkların erken teşhisi için potansiyel bir biyomarker olarak dikkat çekmektedir (3-4). Teknolojinin ve bilimin de ilerlemesiyle ekzosomların önemleri gün geçtikçe daha da ortaya çıkmaktadır. Bu veziküllerin izolasyonu ve karakterizasyonu için uygun metodolojilerin kullanılacak materyale ve yapılacak olan çalışmaya göre belirlenmelidir. Ayrıca belirlenen yöntemlere bağlı olarak ortaya çıkabilecek avantaj ve dezavantajlar da göz önünde bulundurulmalıdır.

Bu bildiride, eksozomların izolasyonu, kantitasyonu ve karakterizasyonunda kullanılan yöntemler hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

Eksozomların İzolasyonunda Kullanılan Teknikler

Eksozomların keşfinden günümüze kadar bu veziküllerin elde edilmesinde kullanılacak materyale ve yapılacak olan çalışmaya bağlı olarak en verimli ve uygun yöntemin belirlenmesi amacıyla birçok teknik geliştirilmiştir. Bu teknikler genel olarak; santrifüjleme, ultrafiltrasyon, boyutça ayırma kromatografisi, polimer esaslı çöktürme ve immünolojik izolasyon olmak üzere kategorize edilmiştir. (5,6)

1. **Santrifüjleme Tekniği**

Ultrasantrifüjleme günümüzde en yaygın kullanılan izolasyon tekniği olmakla birlikte eksozom ekstraksiyonu ve separasyonu için altın standart olarak bilinir. Hatta yapılan çalışmalarda %56 oranında bu yöntem kullanıldığı görülmüştür (7). Ancak bu teknik için gerekli cihazların maliyeti bir dezavantaj olarak ortaya çıkmaktadır. Bu yöntem esas olarak kullanılan materyalin boyut ve yoğunluk farklarından faydalanarak eksozom izolasyonuna imkan tanımaktadır. Böylece materyal içerisinde bulunan farklı boyut ve ağırlıklardaki partiküller ayrışmaktadır. Bu tekniğin kullanılması özellikle büyük hacimde çalışılan materyallerden yapılacak olan eksozom izolasyonu için uygun olmaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalar, santrifüjleme süresi, merkezkaç kuvveti, rotor tipi gibi parametrelerin hedef eksozomların verimini ve saflığını etkilediğini ortaya koymuştur (8,9). Ultrasantrifüj bazlı izolasyon teknikleri diferansiyel ultrasantrifüj ve gradient ultrasantrifüj olmak üzere iki başlık altında değerlendirilmektedir.

1.1. Diferansiyel Santrifüj Tekniği

Diferansiyel ultrasantrifüj tekniği iki adımdan meydana gelir: ilk adım, ölü hücreleri, hücre kalıntılarını ve büyük boyutlu hücre dışı vezikülleri çöktürmek için yapılan orta hızlı bir santrifüjlemedir. Yapılan ilk santrifüj işleminden sonra eksozomları içeren süpernatant yeni ultrasantrifüj tüplerine aktarılır. Ardından en az 100.000 g'lik bir hızda santrifüj yapılır ve bu santrifüj sonucu eksozomlar çökmüş olur. Elde edilen eksozom peleti PBS ile resüspanse edilebilir (10).

1.2. Gradient Santrifüj

Gradient santrifüj tekniğinin temelini sükroz kullanılarak yoğun bir ortam oluşturulması ve ultrasantrifüj işleminin yapılması oluşturur. Kullanılan bu teknikte de materyal içerisinde bulunan partiküllerin yoğunluk, boyut, kütle gibi kriterlerine bağlı olarak fraksiyonlara ayrılmaktadır. Diferansiyel santrifüj tekniğine göre daha uzun zaman gerektiren bu teknikte materyal ultrasantrifüj tüpleri içerisinde, yoğunluğu aşağıdan yukarıya doğru azalan gradient bir ortama aktarılarak en az 100,000g devirde 16 saat boyunca santrifüjlenmektedir. Yapılan bu santrifüjleme işlemi sonucunda agrege olmuş proteinler tüpün altında birikirken eksozomlar, yoğunluğu 1.10-1.18 g/ mL aralığında olan bölgede birikmiş olur (11-13). Bu teknik yüksek saflıkta eksozom eldesini mümkün hale getirirken küçük hacimlerde çalışılması ve karmaşık bir prosesinin olması da dikkate alınmalıdır.

2. Ultrafiltrasyon Tekniği

Ultrafiltrasyon tekniği molekül ağırlığı ve partikül ağırlığından faydalanılarak eksozom izolasyonunun yapılmasını temel alan bir tekniktir. Eksozomlar sahip oldukları boyutlara uygun molekül ağırlık sınırı olan membran filtreler ile izole edilmektedir. Bu teknikte filtrasyon sırasında uygulanan kuvvetin büyük molekülleri parçalaması, membranın tıkanması ve tıkanmaya bağlı kalan eksozomların filtreden geçemeyerek mevcut miktardan daha az eksozom elde edilmesi olumsuz yönü olarak kabul edilir. Bununla birlikte ultrasantrifüjleme tekniğinde kullanılan ultrasantrifüj cihazı ve ultrasantrifüj tüpleri gibi özel bir ekipmana ihtiyaç duyulmaması ayrıca nisbeten daha hızlı bir işlem olması tercih edilmesine neden olan en önemli kriterlerdendir (5).

3. Boyutça Ayırma Kromatografisi Tekniği

Boyutça ayırma kromatografisi materyalde bulunan eksozomların, morfolojisine ve fonksiyonlarına zarar vermeden izole edilmesini sağlar (14). Ancak verim daha düşüktür. Bu amaçla ticari kolonlar ve kitler kullanılmaktadır. Kullanılan materyallerin sahip olduğu porlar sayesinde büyük parçacıklar kolayca ayrıştırılabilir. Bu teknik hem hızlıdır hem de yüksek saflıkta eksozomların elde edilmesine olanak sağlar ve her türlü materyalden eksozom izolasyonuna elverişlidir. Fakat yüksek maliyetli cihazların kullanılması ve eksozom zenginleştirme için ek yöntemlere ihtiyaç duyulması da olumsuz yönleri olarak kabul edilebilir.

4. Polimer Esaslı Çöktürme Tekniği

Bu teknikte kullanılacak materyalin polimer esaslı bir çöktürme çözeltisi ile karıştırılması sonucu eksozom peleti oluşturulmasına dayanır. Çökeltinin oluşması amacıyla polietilen glikol gibi polimerler ya da sodyum asetat gibi tuz çözeltileri kullanılabilmektedir. Materyalin çözeltiyle karıştırılmasını inkübasyon ve hızlı bir santrifüj işlemi takip etmektedir (15). Bu işlemler sonucunda eksozomlar çökelti halinde dipte birikir. Bu teknikte biyolojik sıvılarla uyumlu ticari kitler de kullanılabilmektedir (6) İlgili tekniğin kullanımının kolay olması, özel ekipman gerektirmemesi hem büyük hem küçük hacimli materyallerle çalışmaya olanak tanıması ve yüksek verim sağlaması avantajları arasında sayılabilir. Ancak saflığının iyi olmaması, uygulanan prosedürün uzun olması da göz ardı edilmemesi gereken dezavantajlarıdır.

5. İmmünolojik İzolasyon Tekniği

İmmünolojik izolasyon için çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Bunlardan ilki eksozomların hücre membranı üzerinde bulunan reseptörlerin kullanıldığı teknik olmakla birlikte bir diğer teknikteyse eksozomlar içerisinde yer alan proteinlerden faydalanılır. İmmünolojik izolasyon tekniğinde CD9, CD63, CD81, CD82, annexin, RAB5, ve epiteliyal hücre adezyon molekülleri sıklıkla kullanılan yüzey antijenleri ve proteinlerdir (16). İzole edilen eksozomlar doğrudan RNA ve DNA eldesinde kullanılabilmektedir. Bu yöntem yüksek saflığa sahip eksozom elde edilmesini sağlamasının yanında yapılan uygulamanın kolay olması ve kimyasal kontaminasyonun meydana gelmesini en az seviyeye indirmesiyle avantaj sağlar. Fakat maliyetin fazla olması, eksozom markerlarının optimize edilmeye ihtiyaç duyması ve düşük hacimlerde materyalden eksozom izole edilebilmesi gibi dezavantajlara da sahiptir.

6. Mikrofluid İzolasyon Tekniği

Bu teknik mikrokanallar kullanılarak küçük hacimdeki materyallerden eksozom izolasyonuna imkan verir. Yeni gelişen ve oldukça umut vaat eden bir tekniktir (17). Temelde immunaffiniteyle eksozomlar yakalanır ve porlu yapılar kullanılarak eksozom izole edilir (18). Mikrofluid İzolasyon tekniği hızlı ,güvenilir ve saf bir şekilde eksozomların elde edilmesine imkan verir. Buna rağmen bu izolasyon tekniğinin daha uzun sürmesi, vezikül hasarına sebep olması ve düşük eksozom verimi gibi olumsuz yönleri de söz konusudur (19).

Eksozomların Kantitasyonu ve Karakterizasyonunda Kullanılan Teknikler

Eksozomların karakterizasyonu ve kantitasyonu için kullanılan teknikler genel olarak elektron mikroskobi, Dinamik Işık Saçılımı (DLS), Nanopartikül İzleme Analizleri (NTA), Western Blot (WB), Enzim Bağlı İmmün Testi (ELISA) ve Flow Sitometridir. Bu teknikler eksozom izolasyonu sonrasında gerçekleştirilir ve eksozomların boyut, içerik, miktar, oluşum mekanizması, türetildiği kaynak ve işlevsel özellikleri ile ilgili önemli bilgiler vermektedir.

1. Elektrom Mikroskobi (TEM/SEM)

Elektron mikroskobi tekniği eksozomların morfolojilerinin ve boyutlarının belirlenmesi için kullanılan bir tekniktir. Yapılan çalışmalarda sıklıkla eksozomların karakteristik kupa şeklindeki görünümünün daha belirgin şekilde elde edilmesi sebebiyle geçirimli elektron mikroskobu (TEM) kullanılmaktadır. Bunun yanında görüntülemeli elektron mikroskobi (SEM) de yaygın kullanılan bir tekniktir. SEM'de eksozomların yüzey yapısı, TEM'de ise iç yapısı görüntülenebilir. TEM görüntülemenin daha karmaşık ve uzun bir protokole sahip olması, uygulamak için uranil asit gibi özel kimyasallara gereksinim duyulması dezavantajları arasında sayılabilirken çok sayıda materyalle çalışılan araştırmalar için uygun değildir. Bahsedilen avantajlarına rağmen TEM'de elde edilen görüntünün çözünürlüğü daha iyidir (20,21).

2. Dinamik Işık Saçılımı (DLS)

Dinamik ışık saçılımı tekniği foton korelasyon spektrofotometrisi olarak da bilinir ve lazer ışınının saçılımını temel alarak ölçüm yapılmasını sağlar. Bu teknik eksozomların boyutlarının belirlenmesi için kullanılmaktadır. Burada Brownian hareketlerinin etkisiyle saçılan ışığın şiddetindeki değişimlerin tespiti etkilidir. Alt limit olarak 10 nm boyutuna kadar ölçümleri alınabilir bu özelliğinden dolayı geniş boyut aralığına sahip karmaşık eksozom örneklerinin ölçülmesi için uygun değildir. Bu teknikte eksozomların konsantrasyonunu tespit edilemez ve proteinlerle kontamine olmuş eksozomlardan ayırt etmek zordur. Buna rağmen basit ve hızlı bir teknik olmasıyla yaygın kullanıma sahiptir.

3. Nanopartikül İzleme Analizleri (NTA)

Nanopartikül izleme analizleri de Brownian hareketlerini temel alan bir tekniltir. Bu teknikte hızlı ve gerçek zamanlı olarak partiküllerin kanallardan geçişi bir ekran yardımıyla gözlenebilir. Floresan

parçacıklarının ölçümünün alt sınırı 30-40 nm'ye ulaşabilir. Fakat proteinlerle kontamine olmuş eksozomlardan ayırt etmek bu teknikte de zordur. Kamera seviyeleri ve algılama eşikleri, eksozomların tespit edilen miktarını etkiler (22,23).

4. Western Blot (WB)

Western Blot karakterizasyon ve kantitasyonda kullanılan klasik yöntemlerdendir. Eksozomların plazma membranında yer alan CD9, CD63, CD81 gibi yüzey markerlarının tayininde Western boyama yöntemi kullanılmaktadır (24). Bu marker proteinleri eksozomları kalitatif ve kantitatif olarak analiz etme imkanı sağlar. Hücre kültürü ortamından izole edilen eksozomlarda kullanımı uygun bir teknikken biyolojik sıvıdan elde edilen eksozomlar için uygun değildir (25).

5. Enzim Bağlı İmmün Testi (ELISA)

Eksozomal marker proteinlerin ekspresyonunun tespiti için kullanılan bir yöntemdir. Güçlü özgüllüğe sahip bir tekniktir. Bunun yanında marker proteinler niteliksel ve niceliksel olarak analiz edebilir. ELISA için yapılan işlemler karmaşık ve zaman alıcıdır (26).

6. Flow sitometri

Flow sitometri eksozomların biyomarkerlarının tespitine dayanan bir tekniktir. Bu teknik verimin yüksek olması, analizin hızlı olması ve kullanılması gereken materyal miktarının konsantrasyonunun düşük olması gibi avantajlar sağlar. Ancak bu teknik zaman alıcı ve zahmetlidir. Tespit sınırının 400nm olması eksozomların parçacık boyutunun ölçülmesinde yetersiz kalır. Ayrıca optik sinyallerin algılanmasından dolayı doğruluğu ve çözünürlüğü nispeten düşüktür. Tüm bu sebepler bu tekniğin uygulanmasının sınırlı kalmasına sebep olmuştur (27).

Sonuç olarak bu bildiri ile eksozomların izolasyonu, kantitasyonu ve karakterizasyonunda kullanılan teknikler hakkında bilgi verilmiştir. Eksozomlarla ilgili yapılacak olan çalışmalarda bu tekniklerin doğru seçilmesi ve uygulanması oldukça önem arz etmektedir. Gün geçtikçe eksozomların kullanım alanları artmaktadır. Son yıllarda özellikle medikal alanlarda hastalıkların teşhisi, prognozunu ve tedavisinde dikkat çekmektedir. Tüm bu sebeplerle daha çok çalışma ve araştırma yapılması ihtiyacını ortaya çıkarmaktadır.

Anahtar kelimeler: Eksozom, Karakterizasyon, Kantitasyon, Biyomarker, İzolasyon

Kaynaklar

1. Pant S, Hilton H, Burczynski ME. The multifaceted exosome: biogenesis, role in normal and aberrant cellular function, and frontiers for pharmacological and biomarker opportunities. Biochem Pharmacol. 2012;83(11):1484-1494.
2. Yu X, Liang J, Xu J, Li X, Xing S, Li H, et al. Identification and validation of circulating microRNA signatures for breast cancer early detection based on large scale tissue-derived data. J Breast Cancer 2018; 21(4): 363–370.
3. Skog J, Würdinger T, van Rijn S, Meijer DH, Gainche L, Curry WT, et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. Nat. Cell Biol. 2008; 10:1470–1476.
4. Melo SA, Luecke LB, Kahlert C, Fernandez AF, Gammon ST, Kaye J, et al. Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer. Nature 2015; 523:177–182.
5. Li P, Kaslan M, Lee SH, Yao J, Gao Z. Progress in Exosome Isolation Techniques. Theranostics. 2017;7(3):789-804.
6. Pethő A, Chen Y, George A. Exosomes in Extracellular Matrix Bone Biology. Curr Osteoporos Rep. 2018;16(1):58-64.
7. Zarovni N, Corrado A, Guazzi P, Zocco D, Lari E, Radano G, et al. Integrated isolation and quantitative analysis of exosome shuttled proteins and nucleic acids using immunocapture approaches. Methods. 2015; 87:46-58.
8. Livshits MA, Khomyakova E, Evtushenko EG, Lazarev VN, Kulemin NA, Semina SE, et al. Isolation of exosomes by differential centrifugation: Theoretical analysis of a commonly used protocol [published correction appears in Sci Rep. 2016; 6:21447.

9. Théry C, Amigorena S, Raposo G, Clayton A. Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids. Curr Protoc Cell Biol. 2006; Chapter 3.
10. Yamashita T, Takahashi Y, Nishikawa M, Takakura Y. Effect of exosome isolation methods on physicochemical properties of exosomes and clearance of exosomes from the blood circulation. Eur J Pharm Biopharm. 2016; 98:1-8.
11. Q. Y. Zhang, L. Fu, Y. H. Liang, Z. K. Guo, L. S. Wang, C. Ma, et al. Methods and Technologies for Exosome Isolation and Characterization Small Methods, vol. 2, 2018 1-10
12. Heath N, Grant L, De Oliveira TM, Rowlinson R, Osteikoetxea X, Dekker N, et al. Rapid isolation and enrichment of extracellular vesicle preparations using anion exchange chromatography. Sci Rep 2018;8.
13. M. Popovic, A. de Marco, Canonical and selective approaches in exosome purification and their implications for diagnostic accuracy, Translational Cancer Research, vol. 7, 2018 S209-S225.
14. Guerreiro EM, Vestad B, Steffensen LA, Aass H. C. D, Saeed M, Øvstebø R. et al. Efficient extracellular vesicle isolation by combining cell media modifications, ultrafiltration, and size-exclusion chromatography. PLoS One. 2018;13(9): e0204276
15. M. Kotmakçı ve G. Erel Akbaba. Exosome Isolation: Is There an Optimal Method with Regard to Diagnosis or Treatment, InTech, 2017.
16. Yang, X.X., Sun, C., Wang, L., Guo, X.L. New insight into isolation, identification techniques and medical applications of exosomes. Journal of Controlled Release, 2019, 308, 119-129.
17. Iliescu FS, Vrtačnik D, Neuzil P, Iliescu C. Microfluidic Technology for Clinical Applications of Exosomes. Micromachines (Basel). 2019;10(6):392.
18. Tschuschke M, Kocherova I, Bryja A, Mozdziak P, Angelova Volponi A, Janowicz K, et al. Inclusion Biogenesis, Methods of Isolation and Clinical Application of Human Cellular Exosomes. Journal of Clinical Medicine. 2020; 9(2):436.
19. Liga A, Vliegenthart AD, Oosthuyzen W, Dear JW, Kersaudy-Kerhoas M. Exosome isolation: a microfluidic road-map. Lab Chip. 2015;15(11):2388-2394.
20. Pisitkun T, Shen RF, Knepper MA. Identification and proteomic profiling of exosomes in human urine. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004;101(36):13368-13373.
21. Wu Y, Deng W, Klinke DJ 2nd. Exosomes: improved methods to characterize their morphology, RNA content, and surface protein biomarkers. Analyst. 2015;140(19):6631-6642.
22. Szatanek R, Baj-Krzyworzeka M, Zimoch J, Lekka M, Siedlar M, Baran J. The Methods of Choice for Extracellular Vesicles (EVs) Characterization. Int J Mol Sci. 2017;18(6):1153.
23. Maas SL, de Vrij J, van der Vlist EJ, et al. Possibilities and limitations of current technologies for quantification of biological extracellular vesicles and synthetic mimics. J Control Release. 2015; 200:87-96.
24. Paolini, L, Zendrini, A., Noto, G., Busatto S, Lottini E, Radeghieri X, et al. Residual matrix from different separation techniques impacts exosome biological activity. Sci Rep., 2016, 23550.
25. Théry C, Witwer KW, Aikawa E, Alcaraz M. J, Anderson J. D, Andriantsitohaina R, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. J Extracell Vesicles. 2018;7(1):1535750.
26. Shao H, Im H, Castro CM, Breakefield X, Weissleder R, Lee H. New Technologies for Analysis of Extracellular Vesicles. Chem Rev. 2018;118(4):1917-1950.
27. Pospichalova V, Svoboda J, Dave Z, Kotrbova A, Kaiser K, Klemova D, et al. Simplified protocol for flow cytometry analysis of fluorescently labeled exosomes and microvesicles using dedicated flow cytometer. J Extracell Vesicles. 2015; 4:25530.

Eksozom Türevli Non-coding RNA'ların Karakterizasyonunda Biyoinformatik Yaklaşımlar

Gökmen ZARARSIZ[1,2], Serra İlayda YERLİTAŞ[1,2], Funda İPEKTEN[1,2], Elif ÇELİK[2,3], Ahu CEPHE[2,4], Necla KOCHAN[5], Gözde ERTÜRK ZARARSIZ[1,2], Vahap ELDEM[6]

[1]Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik AD, KAYSERİ; [2]Erciyes Üniversitesi İlaç Uygulama ve Araştırma Merkezi (ERFARMA), KAYSERİ; [3]Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyometri AD, KAYSERİ; [4]Erciyes Üniversitesi Rektörlüğü, KAYSERİ; [5]Izmir Biomedicine and Genome Center (IBG), İZMİR; [6]İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İSTANBUL

E-posta: gokmenzararsiz@erciyes.edu.tr

Eksozomlar, ökaryotik hücreler tarafından salgılanan hücre dışı veziküllerdir. Bu veziküller ~30-100 nm boyutunda olup, birçok dokuda ve serum, plazma, amniyotik sıvı, idrar gibi çok çeşitli biyolojik sıvıda bulunmaktadır. Eksozomlar hücreler arası iletişimin önemli araçları olarak kabul edilmektedir ve birçok biyomolekül grubunu içermektedir (1-2).

Literatürdeki güncel çalışmalar eksozomların bol miktarda nükleik asit içerdiğini göstermiştir. Bu nükleik asitler protein kodlayan mesajcı RNA'lar ile birlikte mikroRNA'lar (miRNA), ribozomal RNA'lar (rRNA), uzun kodlama yapmayan RNA'lar (lncRNA'lar), piwi etkileşimli RNA'lar (piRNA'lar), küçük nüklear RNA'lar (snRNA'lar), küçük nükleolar RNA'lar (snoRNA'lar) gibi kodlama yapmayan RNA'ları da (non-coding RNA, ncRNA) içermektedir. Biyolojik sıvılarda bol miktarda yer aldığı ve non-invaziv olarak elde edilebildiği için eksozom türevli ncRNA'lar, hastalıklar ile ilişkili diyagnostik ya da prognostik biyobelirteçlerin tespit edilmesinde kullanılabilmektedir (2-3).

Eksozom türevli ncRNA'ların invaziv olmayan biyobelirteç olarak kullanılabilmesi için eksozom içindeki ncRNA'ların bolluğunun kesin olarak ölçülmesi oldukça önemlidir. Yeni nesil RNA-dizileme ncRNA'ların miktar tayininde kullanılan güçlü ve modern bir tekniktir (4). RNA-dizileme tekniği kullanılarak hastalıklar ile ilişkili eksozom türevli ncRNA biyobelirteçleri araştırılabilir ve bu biyobelirteçlere dayalı hastalık çıktıları kestirilebilir (5). Bahsedilen analizler iki farklı analiz yaklaşımı ile gerçekleştirilebilmektedir (6):

i. Anlamlılık testleri (differential expression analysis) gerçekleştirerek daha sonraki analizlerde kullanmak üzere büyük sayıda ncRNA kümesinin tespit etmek; bu küme benzer fonksiyona sahip ya da yüksek düzeyde ilişkili ncRNA'ları içermektedir.

ii. Klinik uygulamada diyagnostik ya da prognostik amaçlı kullanılabilecek küçük ncRNA gruplarını belirlemek; gerek duyulmayan ncRNA'lar çıkarılır ve kestirim performansı yüksek olan en küçük ncRNA seti elde edilir.

Bahsedilen ilk analiz yaklaşımına ilişkin literatürde çok sayıda çalışma mevcuttur. İlk gerçekleştirilen çalışmalarda RNA-dizileme verilerinin normalleştirilmesi ve logaritmik dönüşümü sonrası mikrodizi için geliştirilen yöntemler uygulanmıştır (7-10). Sonraki çalışmalar ise RNA-dizileme verisinin kesikli sayma verisine uygun özelleştirilmiş yöntemlerin kullanımına odaklanmıştır. Araştırmacıların bir bölümü bu anlamlılık testlerinin gerçekleştirilmesinde Poisson dağılımına dayalı yöntemler

kullanmıştır (11-13). Lakin bu dağılım hem ortalama, hem de varyans için tek bir parametre (λ) kullanmakta, dolayısıyla varyans için ilave bir kestirime ihtiyaç duyulmamaktadır. Teknik tekrarların (technical replicates) olduğu durumlarda Poisson dağılıma dayalı yöntemler kullanılabilse de, biyolojik tekrarların (biological replicates) olduğu çalışmalarda varyans ortalamanın üzerinde değerlere sahip olmakta ve aşırı yaygınlık (overdispersion) problemi ile karşılaşılmaktadır (14). Bu problemlerin üstesinden gelebilmek için izleyen çalışmalar, varyans kestirimi için ayrı bir parametre kullanan negatif-Binom dağılımından yararlanarak RNA-dizileme verilerini modellemiştir. DESeq ve edgeR yöntemleri bu amaçla geliştirilen ve yaygın olarak kullanılan yaklaşımlardır (15, 16). Farklı bir yaklaşım olarak Law ve ark. (17) geliştirdikleri voom dönüşümü ile RNA-dizileme verilerindeki ortalama varyans ilişkisini modelleyerek veriyi mikrodizi verisine benzer bir yapıya dönüştürmekte ve bu verilerde anlamlılık testi gerçekleştiren limma yönteminin RNA-dizileme verilerinde kullanılabilmesini mümkün kılmaktadır (17, 18).

İkinci analiz yaklaşımı ile ilgili literatürde daha az sayıda çalışma mevcuttur. Witten ve ark. (19) doğrusal ayırma analizinin yüksek boyutlu RNA-dizileme verilerinde bir uyarlaması olan Poisson doğrusal ayırma analizini geliştirmiş ve uygun bir güç dönüşümü ile kullanımını göstermiştir. Dong ve ark. (20) bu yöntemi özelleştirmiş ve Negatif-Binom doğrusal ayırma analizini geliştirmiştir. Zararsiz ve ark. (21) voom dönüşümü ile en yakın küçültülmüş merkezler (nearest shrunken centroids) yöntemlerini entegre ederek voom tabanlı köşegenel ayırma analizleri yöntemlerini geliştirmiş ve hem hastalıklar ile ilişkili biyobelirteçleri tespit eden, hem de yeni bir örnek için hastalık sınıfını kestirebilen voomDDA web uygulamasını geliştirmiştir. Diğer bir çalışmada ise Zararsiz ve ark. (22) kapsamlı bir benzetim çalışması gerçekleştirerek makine öğrenmesi yöntemlerinin RNA-dizileme verilerindeki performansını değerlendirmiştir. Ayrıca, araştırmacılar çok sayıda makine öğrenmesi algoritmasının araştırmacılar tarafından uygulanabilmesini sağlamak amacıyla MLSeq R/BIOCONDUCTOR kütüphanesini geliştirmiştir (23).

Bu bildiride bahsedilen yaklaşımlar için hastalıklar ile ilişkili eksozom türevli ncRNA biyobelirteçlerinin nasıl belirlenebileceği ve hastalık çıktılarının nasıl kestirilebileceği ile ilgili literatürdeki çalışmaların bir özeti sunulacaktır. Bu alanda çalışan araştırmacılara, ihtiyaçlarını en iyi şekilde karşılayacak uygun yaklaşımları seçebilmesi ve bu konularda devam eden projelerinin iyileştirilmesi için genel bir bakış ve pratik rehberlik sağlanması amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Eksozom, biyobelirteç, kodlama yapmayan RNA'lar, makine öğrenmesi, RNA-dizileme

Kaynaklar

1. Prendergast EN, de Souza Fonseca MA, Dezem FS, Lester J, Karlan BY, Noushmehr H, Lin X, Lawrenson K. Optimizing exosomal RNA isolation for RNASeq analyses of archival sera specimens. PLoS One 2017; 13(5): e0196913.
2. Dai Y, Cao Y, Köhler J, Lu A, Xu S, Wang H. Unbiased RNA-Seq-driven identification and validation of reference genes for quantitative RT-PCR analyses of pooled cancer exosomes. BMC Genomics 2021; 22-27.
3. Silva M, Melo SA. Non-coding RNAs in Exosomes: New Players in Cancer Biology. Current Genomics 2015; 16:295-303.
4. Zheng H, Brennan K, Hernaez M, Gevaert O. Benchmark of long non-coding RNA quantification for RNA sequencing of cancer samples. GigaScience 2019; 8:1–13.
5. Xie Y, Li J, Li P, Li N, Zhang Y, Binang H, Zhao Y, Duan W, Chen Y, Wang Y, Du L, Wang C. RNA-Seq Profiling of Serum Exosomal Circular RNAs Reveals Circ-PNN as a Potential Biomarker for Human Colorectal Cancer. Front. Oncol 2020; 10:982.
6. Diaz-Uriarte R, Alvarez de Andres S. Gene selection and classification of microarray data using random forest. BMC Bioinformatics 2006; 7:3.
7. Cloonan N, Forrest ARR, Kolle G, Gardiner BBA, Faulkner GJ, Brown MK, et al. Stem cell transcriptome profiling via massive-scale mRNA sequencing. Nature Methods 2018; 5: 613–9.

8. Han X, Wu X, Chung WY, Li T, Nekrutenko A, Altman NS, et al. Transcriptome of embryonic and neonatal mouse cortex by high-throughput RNA sequencing. Proc Natl Acad Sci 2009; 1274, 106: 12741–6.
9. Parikh A, Miranda ER, Katoh-Kurasawa M, Fuller D, Rot G, Zagar L, et al. Conserved developmental transcriptomes in evolutionarily divergent species. Genome Biol 2010; 11: R35.
10. Perkins TT, Kingsley RA, Fookes MC, Gardner PP, James KD, Yu L, et al. A strand-specific RNA-seq analysis of the transcriptome of the typhoid bacillus Salmonella Typhi. PLoS Genet 2009; 5:e1000569.
11. Marioni JC, Mason CE, Mane SM, Stephens M, Gilad Y. RNA-seq: An assessment of technical reproducibility and comparison with gene expression arrays. Genome Res 2008; 18:1509-17.
12. Wang L, Feng Z, Wang X, Wang X, Zhang X. DEGseq: an R package for identifying differentially expressed genes from RNA-seq data. Bioinformatics 2010; 26: 136-8.
13. Li J, Witten DM, Johnstone IM, Tibshirani R. Normalization, testing, and false discovery rate estimation for RNA-sequencing data. Biostatistics 2012; 13(3): 523-38. doi: 10.1093/biostatistics/kxr031.
14. Nagalakshmi U, Wang Z, Waern K, Shou C, Raha D, Gerstein M, et al. The transcriptional landscape of the yeast genome defined by RNA sequencing. Science 2008; 320(5881): 1344-9. doi: 10.1126/science.1158441 .
15. Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. Bioinformatics 2010; 26(1): 139–40. doi: 10.1093/bioinformatics/btp616.
16. Anders S, Huber W. Differential expression analysis for sequence count data. Genome Biology 2010; 11(R106): doi:10.1186/gb-2010-11-10-r106 .
17. Law CW, Chen Y, Shi W, Smyth GK. voom: Precision weights unlock linear model analysis tools for RNA-Seq read counts. Genome Biology 2014; 15:R29.
18. Ritchie ME, Phipson B, Wu D, Hu Y, Law C, Shi W, et al. limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. Nucleic Acids Res. 2015; 43(7): e47. doi: 10.1093/nar/gkv007
19. Witten DM. Classification and clustering of sequencing data using a poisson model. The Annals of Applied Statistics 2011; 5(4): 2493-518.
20. Dong K, Zhao H, Wan X, Tong T. NBLDA: Negative Binomial Linear Discriminant Analysis for RNA-Seq Data. arXiv 2015:1501.06643.
21. Zararsiz G, Goksuluk D, Klaus B, Korkmaz S, Eldem V, Karabulut E, Ozturk A. voomDDA: discovery of diagnostic biomarkers and classification of RNA-seq data. PeerJ 2017; 5, e3890.
22. Zararsiz G, Goksuluk D, Korkmaz S, Eldem V, Ertürk Zararsiz G, Parug Duru I, Ozturk A. A comprehensive simulation study on classification of RNA-Seq data. PLoS One 2017; 12(8): e0182507.
23. Goksuluk D, Zararsiz G, Korkmaz S, Eldem V, Erturk Zararsiz G, Ozcetin E, Ozturk A, Karaagaoglu AE. MLSeq: Machine learning interface for RNA-sequencing data. Comput Methods Programs Biomed. 2019;175:223-231.

Metazoon Parazitlerde Eksozom Bazlı Çalışmalara Genel Bakış

Alparslan YILDIRIM

Erciyes Üniversitesi veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, KAYSERİ

E-posta: yildirima@erciyes.edu.tr

Konak ve parazit arasında yakın bir ilişki olup çoğu zaman bu durum uzun sürebilmektedir. Kancalı kurtlar insan bağırsağında 18 yıla kadar yaşayabilmektedir. Bu süre Ancylostoma duodenale için 1-3 yıl, Necator americanus için ise 3-10 yıl arasında değişmektedir. Bazı tenya türleri 20-30 yıl hayatta kalabilirler. Nematodlar ve yassı helmintler evrimsel olarak birbirlerine uzak olmalarına rağmen, bu parazitler konakları içinde benzer bölgelere yerleşirler ve uzun süreli hayatta kalma ve yoğun üreme için benzer konak immün manipülasyon yöntemleri geliştirmişlerdir (Maizels ve McSorley, 2016). Helmintler tarafından konak immun sistem manipülasyonu, genel olarak çevreye salınan boşaltım/salgı (ES) ürünlerinin molekülleriyle ilişklendirilmiştir (Maizels ve ark., 2018). Parazitlerden gelen bu bileşenlerin immünomodülatör özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Örneğin fare nematodu *Heligmosomoides polygyrus*'dan (HES) elde edilen ES ürünü, alerjik tepkileri bastırabilir, dendritik hücreleri modüle edebilir ve düzenleyici T hücrelerini indükleyebilir (McSorley ve ark., 2015). *Fasciola hepatica* ve *Nippostrongylus brasiliensis* ES ürünleri ile *Schistosoma* yumurtalarından salınan proteinler, konak immun sistemindeki Th1 veTh2 hücresel yanıtını etkileyebilmekte olup her iki durumda bu olay dendritik hücreler aracılığıyla meydana gelmektedir (Robinson ve ark., 2013). Günümüze kadar ES bileşimi üzerine detaylı proteomik ve glikomik analizlerle birlikte yapılan çok sayıda araştırma (Harnett'te derlenmiş (2014); Maizels ve ark., 2018) bulunmakta olup son yıllarda small RNAlar ve özellikle ekstrasellüler veziküller (EVler) üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır.

Parazitlerin EV ürettiği ve salgıladığı, ilk kez trematodlardan Echinostoma caproni ve F. hepatica'da gösterilmiştir. EV'ler, her iki trematod türünden ES ürünlerinin ultrasantrifüjlenmesinden sonra transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile görüntülenmiş ve kütle spektrometrisi ile yapılan analizde, bu EV'lerde sırasıyla 45 ve 79 farklı protein tarif edilmiştir (Marcilla ve ark., 2012). Nematod ve cestodların ES ürünlerinin de EV içerdiği rapor edilmiştir (Tzelos ve ark., 2016; Ancarola ve ark., 2017). Araştırma sonuçlarına göre, EV'lerin çok çeşitli türlerde parazit salgılarının ortak bir özelliği olduğu belirlenmiştir (Tritten ve Geary, 2018). Parazit salgıları içinde hem eksozom hem de ektozom boyutunda EV'ler tarif edilmiştir (Cwiklinski ve ark., 2015). Her bir parazitin subcellular kökenlerinin belirlenmesi gibi bazı durumlarda ikisini birbirinden ayırt etmek zor olabileceğinden, her ikisi de "hücre dışı kesecik" veya EV terimi altında konak-parazit etkileşimleri bağlamında incelenmiştir (Evans-Osses ve ark., 2015). Eksozomlar endozomal yoldan geçerken, genellikle Transport için gerekli Endosomal Sıralama Kompleksleri (ESCRT) yolak proteinleriyle ilişkili olmaktadır; buna karşın, doğrudan plazma zarından tomurcuklanan mikroveziküller ise eksternal parental membran gibi aynı belirteçleri içermektedirler.

Fasciola hepatica gibi trematodlarda tegument, EV'lerin ana kaynaklarından birisi olup, ergin parazitin tegümentinden multiveziküler cisimcikler olarak salgılanan bazı veziküller eksozom olarak karakterize

edilmiştir. EV'ler ayrıca F. hepatica tarafından parazitin gastrodermusunu kaplayan özel hücrelerden de salınmaktadır (de la Torre-Escudero ve ark., 2019). Benzer şekilde, TEM ile *E. caproni, Dicrocoelium dendriticum ve Schistosoma mansoni* serkeri gibi trematodlarının tegument yüzeylerinde de EV'lerin varlığı gösterilmiştir (Coakley ve ark., 2015). Nematodlarda bu proses, bir vücut açıklığından sıvılarla salınmadan önce EVlerin bir iç bölgeden salgılanması şeklinde olduğu ifade edilmektedir. Ergin H. polygyrus'un bağırsağının TEM görüntülemesinde, eksozomlarla aynı boyutta vezikül tomurcuklanması tanımlanmış olup, proteomik analizlerde, epitelin apikal yüzeyinde nematod bağırsak proteinlerine karşılık gelen bir dizi EV bileşeni tarif edilmiştir. Ayrıca, H. polygyrus'un ön açıklığının Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile görüntülenmesinde, eksozomlara benzer boyutta yapılar gösterilmiştir (Coakley ve ark., 2015). H. polygyrus EV'lerinde, murin konaktan gelen EV'lere kıyasla yüksek seviyelerde plazmalojen lipid bileşenleri bulunmuştur. Bunların, bağırsakta parazitin daha uzun süre hayatta kalmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmekte olup, bu durum EV'lerin seçici olarak üretildiğine işaret etmektedir (Simbari ve ark., 2016). Eksozom belirteci olarak kullanılan ESCRT ile ilişkili Alix (ALG-2 etkileşimli protein X) proteininin bir homoloğunun floresan ile işaretlenmesiyle yapılan bir çalışmada B. malayi mikrofilerlerinin ES gözeneklerinin EV salınımı yaptığı gösterilmiştir (Harischandra ve ark., 2018). Ascaris suum üzerine yapılan çalışmalarda, bağırsak yüzeyinden EV sekresyonu ile vücut sıvısı ya da salgı porlarından köken alan EV'ler arasında ayrım yapılamamış olup, ker iki bölgenin mikroRNA (miRNA) bileşiminin benzerlik gösterdiği rapor edilmiştir (Hansen ve ark., 2019). Aslında EV'ler, konakla parazit arasındaki etkileşime bağlı olarak yaşam döngüsü boyunca bir parazitin farklı bölgelerinden salınabilmektedir.

EV'lerin karakterize edilen işlevi, hücre proliferasyonu, hayatta kalma ve transformasyon dahil olmak üzere çoklu hücresel süreçlerin düzenlenmesi ile hücreler arası iletişimdir (van Niel ve ark., 2018). Bu nedenle helmint parazit salgılarında EV'lerin tanımlanması, konağın manipülasyonundaki rolleri açısından önemlidir. Konağın çeşitli sistemlerdeki hücreleri tarafından parazit EV'lerinin alındığına dair artan kanıtlar vardır. Örneğin bağırsak kanalında yaşayan parazitlerden, trematod türü Echinostoma caproni ve nematod türü Heligmosomoides polygyrus'tan gelen EV'ler, bağırsak epitel hücreleri tarafından alınır (Marcilla ve ark., 2014). Bununla birlikte bağırsak nematodları olan Trichuris muris ve Nippostrongylus brasiliensis sırasıyla fare kolonik ve ince bağırsak organoidleri tarafından aktif olarak alınan EV'ler üretir (Eichenberger ve ark., 2018a). Safra kanalı epitelinin hücreleri olan insan kolanjiyositlerinin karaciğer paraziti Opisthorchis viverrini tarafından salgılanan EV'leri aldığı gösterilmiştir (Chaiyadet ve ark., 2019). Bu hücre tipleri parazitik helmint ile doğrudan temas halindedir ve dolayısıyla da EV salınım bölgesine yakın olup çevresini saran ortamı düzenlemek için ideal bir hedef olarak bildirilmiştir. Diğer parazit türleri ve bazı bağırsak parazitlerinin yaşam döngülerindeki istilacı larvalar hayatta kalmaya elverişli bir ortam oluşturmak için bağışıklık sistemi hücrelerini de hedefleyebilir. Aslında, Heligmosomoides polygyrus, Brugia malayi ve Fasciola hepatica EV'lerinin tümü murin makrofajları tarafından alınmaktadır (de la Torre-Escudero ve ark., 2019). Echinococcus granulosus'un dokudaki metacestod aşamasından gelen EV'ler, murin dendritik hücreleri tarafından alınır (Nicolao ve ark., 2019). Bu, sadece EV'lerin serbest bırakılması yoluyla yakın çevrelerini şekillendirebilen helmintlerin değil, aynı zamanda konakçılarının daha geniş immünolojik statüsünün de olduğunu göstermektedir. Hedef hücrelerle temastan sonra, hem clathrin-bağımlı hem de bağımsız yolların bildirildiği endositoz yoluyla EV'lerin alımının gerçekleştiği hipotez edilmiştir (Mathieu ve ark., 2019). Öte yandan, parazit EV'lerin içeriklerini teslim etmeden hücre yüzeyinde de hareket edebilecekleri göz ardı edilmemelidir; bağışıklık tepkileri sırasında Majör Histokompatibilite Kompleksi (MHC)-peptid kompleksleri içeren dendritik hücrelerden gelen EV'ler, T hücrelerini aktive edebilir (Tkach ve ark., 2017). EV'ler içinde tanımlanan birçok protein transmembran alanları bulundurmakta olup, bunların EV'lerin dış yüzeyinde işlevi olduğu rapor edilmiştir. EV'ler ayrıca bir konak içindeki aynı türün farklı bireyleri arasında veya aynı konaktaki farklı parazitler arasında bir

iletişim aracı olabilir. Parazit EV'lerinin işlevini anlamak için proteinler, RNA ve lipidler gibi içeriklerini belirlemek oldukça önemlidir. Şu anda mevcut olan verilerin çoğu proteomik düzeydedir (Mekonnen ve ark., 2018). Ayrıca bazı türler için EV'lerdeki mikro RNA profillerinin ayrıntılı analizleri yapılmıştır (Zhu ve ark., 2016). Eksozomlar yalnızca proteinler ve RNA'ları konakçı üzerinde etki göstermek için paketlenmekle kalmaz, ayrıca hücreler arasında lipit, serbest yağ asitleri ile prostaglandinleri ve bunların işleyişinde yer alan enzimleri taşıdıkları bilinmektedir (Subra ve ark., 2010). Biyoaktif lipidleri taşıyan EV'ler bağışıklık sistemi fonksiyonunda önemlidir (Sagini ve ark., 2018). Eozinofilleri aktive eden *Schistosoma mansoni* lipitleri tanımlanmıştır (Magalhaes ve ark., 2018) ve bu lipit dağıtımının gerçekleşmesinin etkili bir yolunun EV'ler aracılığıyla olduğu gösterilmiştir (Coakley ve ark., 2019).

EV içerikleri bir parazitin yaşam döngüsü boyunca değişebilir. Haemonchus contortus'un farklı yaşam evrelerinden gelen EV'lerde bulunan miRNA'ların analizi, bağırsakların; L4 aşamasında vezikülle ilişkili miRNA'ların muhtemel kaynağı olduğunu, ancak yetişkin nematodlarda olmadığını göstermiştir (Gu ve ark., 2017). B. malayi kaynaklı EV'ler, mikrofilerlerden yetişkin erkek ve dişi'lere kadar yaşam döngüsünün tüm aşamalarında üretilir (Harischandra ve ark., 2018), ancak salınımın en yüksek L3'ler olduğu bildirilmiştir (Zamanian ve ark. 2015). Ascaria suum'un L3 ve L4'lerinden salınan EV'lerinin, yetişkinlere kıyasla daha fazla özgün miRNA profili içerdiği gösterilmiştir (Hansen ve ark., 2019). Bu farklılıkların lenfatikler ve ince bağırsaktaki yetişkinlere kıyasla, L3'lerin farklı dokular yoluyla göçleri sırasında konakçıyı çok daha fazla manipüle etmeye ihtiyaçlarından kaynaklanabileceği bildirilmiştir. (Harischandra ve ark. 2018), B. malayi'nin EV proteomunun hem gelişim evresine hem de cinsiyete özgü olduğunu, dişi EV'lerde 74 proteinin, erkekler de ise yalnızca 20'sinin tanımlandığını bulmuştur. Bu durum, B. malayi'nin dişi parazitlerinin erkeklerden daha fazla sayıda ve daha fazla miktarda protein salgıladığı ES ürünlerine benzerlik göstermektedir (Bennuru ve ark., 2009). BmMIF-1 gibi immünomodülatör fonksiyonlara sahip proteinler, dişi parazit EV profilinde zenginleşmiş olup bunların daha yüksek immünomodülatör rolleri olduğunu göstermektedir (Harischandra ve ark., 2018). Konak hedefleriyle eşleşen small RNA'lar gibi parazit EV'lerin içerikleri ve immün hücreler tarafından alınmaları, bu EV'lerin ilgili konaklarının immünomodülasyonunda rol aldığını göstermektedir. Gerçekten de EV'lerin helmint parazitlerinden alınmasının bağışıklık tepkilerinin aşağı regülasyonuna yol açtığına dair artan kanıtlar vardır.

Bir hücrenin belirli bir maddeyi yapısına alma yeteneği ve etkileri, esas olarak hücre dışı içeriğini yapısına alma eğiliminde olan makrofajlarda araştırılmıştır (Coakley ve ark., 2017). Parazitin kendisiyle doğrudan temas halinde olan hücreler üzerinde EV'lerin etkilerini görmek oldukça önemlidir. Opisthorchis viverrini EV'lerinin hücre proliferasyonunu tetiklediği ve kanser yolaklarıyla ilişkili proteinlerde değişikliklere neden olarak enfekte hastalarda kolanjiokarsinom gelişimine katıldığı gösterilmiştir (Chaiyadet ve ark., 2015). (Buck ve ark., 2014) bir fare epitel hücre hattında yaptıkları çalışmalarında MAPK sinyalleme düzenleyicisi ve IL-33 reseptörünün bir subuniti de dahil olmak üzere EV'lerin genleri down regüle ettiklerini rapor etmişlerdir. Bu kapsamda daha fazla hücre tipinin araştırılmasının helmint enfeksiyonlarının patolojik yolaklarının açıklamasına katkıda bulunacağı düşünülmektedir. Parazit tarafından üretilen EV'lerde halihazırda immünomodülatörler olarak bilinen veya immünomodülatörlere benzerlik gösteren proteinler mevcuttur. Bunun bir örneği, H. polygyrus proteini dönüştürücü büyüme faktörü (TGF)-b mimik veya TGM'dir (Johnston ve ark., 2017). TGM orijinal olarak H. polygyrus ES ürünlerinden identifiye edilmiştir. TGM'nin TGF-b reseptörleri ile etkileşime girerek efektör T hücrelerini baskılayabildiği ve Foxp3+ T-düzenleyici (Treg) hücrelerini indükleyebildiği tespit edilmiştir (Johnston ve ark., 2017). Bu moleküllerin 5'inin erişkin parazitlerden 4'ünün ise larval dönemden üretildiği de belirlenmiştir (Smyth ve ark., 2018). TGM, H. polygyrus EV'lerinde bulunmakla birlikte Treg farklılaşmasını yönlendiren çözünür bir formda da bulunabilmektedir (Johnston ve ark., 2017). Vezikül bağlı TGM'nin daha geniş bir hücre çeşitliliğini

hedefleyebilen ve/veya konak hücreler tarafından keseciklere alındıktan sonra aktif kalabilen daha etkili bir ulaşım şeklinin olup olmadığı ise henüz netleştirilememiştir.

Trichinella spiralis'in EVleri periferal kan mononükleer hücrelerindeki IL-10 ve IL-6 üretimini yükseltebilmektedir (Kosanovic ve ark., 2019). Bu EVler, dentritik hücreler üzerine modülatör etkisi olduğu bilinen ve T-hücrelerinden IL-4 ve IL-10 indüksiyonunu düzenleyen 7C2C5 monoklonal antikoru tarafından tanınan proteinleri içerir (Cvetkovic ve ark., 2016). B. malayi EVlerinin insan miRNAlarına homoloji gösteren miRNAları içermesinin insan genlerini hedeflediğine dair kanıt oluşturduğu rapor edilmiştir (Zamanian ve ark., 2015). Bunlardan biri miRNA Bma-let-7 olup enfeksiyona karşı hem doğal hem de kazanılmış bağışıklık yanıtlarında görev aldığı rapor edilmiştir (Jiang, 2018). H. polygyrus EVlerinde let-7'nin bir homoloğunun identifiye edilmiş olması da nematodlar arasında bu immunomodülasyon metodunun korunmuşluğuna dair kanıt oluşturmuştur (Buck ve ark., 2014). Her iki nematodun (B. malayi, Teladorsagia circumcincta) ve trematodların (F. hepatica, E. caproni) EVleri thioredoxin peroksidazları (peroxiredoxins) içerir (Harischandra ve ark., 2018). Bu peroksiredoksinler, makrofajların alternatif aktivasyonu yoluyla Th2 yanıtlarının gelişimininin indüklenmesini içeren konak immun yanıtlarını module etme yeteneğindedir (Robinson ve ark., 2010). Bununla birlikte B. malayi EVleri makrofaj göçü inhibisyon faktörü (MIF) de içermekte olup (Harischandra ve ark., 2018) MIF de benzer yolla makrofajların alternatif aktivasyonunda etki gösterebilir (Prieto-Lafuente ve ark., 2009). EVlerin vezikül yapılarıyla proteinleri koruyup hedef hücrelere ulaşması ve etki göstermesindeki rolleriyle birlikte bizzat kendilerinin immunmodülatörlerin kompleks bir paketi olduğuna dair artan bir bilgi bulunmaktadır.

Vektör Artropoda

Memeli hücrelerinden köken alan eksozomların viral, bakteriyel ve paraziter enfeksiyonlardaki rolü, patojenlerin artropodlardaki saf (naif) hücreleri enfekte etmek için enfeksiyon oluşturma noktasında benzer stratejiler kullanabileceğini göstermektedir. Ayrıca, farklı hücre tiplerinden eksozomların salgılanmasının tüm artropodlarda korunduğu ileri sürülmektedir (Lai ve ark., 2015). Çoğunlukla, sivrisinekler veya keneler tarafından bulaşan Zika virüsü (ZIKV), Dang virüsü (DENV), Kene kaynaklı ensefalit virüsü (TBEV), Batı Nil virüsü (WNV), Powassan virüsü (POWV) ve Sarı Humma virüsü (YFV) dahil Flaviviridae ailesine ait virüsler, klatrin içeren reseptör aracılı endositoz yoluyla konak hücrelere girerler (Smit ve ark., 2011). Bu arbovirüsler hücreleri enfekte etmek için endositik yolları kullandıklarından, eksozomlarla iletişim kurma şansları daha yüksektir. Günümüze kadar çeşitli araştırmalarda kene ve sivrisinek hücrelerinden salınan eksozomların izolasyonunu ve karakterizasyonu başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir (Vora ve ark., 2018). Langat virüsünden (LGTV, bir TBEV aile üyesi) köken alan eksozomların, enfekte olmayan hücrelerden elde edilen eksozom sayılarına kıyasla sayıca daha fazla olduğu gösterilmiştir (Zhou ve ark., 2018). Flavivirüsler, konak hücrelerin sitoplazmasında replike olan pozitif iplikçik RNA genomuna sahiptir. Flaviviral RNA genomu poli-adenillenmiş (poli-A) kuyruktan yoksun olup konak hücre mekanizması tarafından çevrildiğinde, sonunda üç yapısal (kapsid, prM ve zarf) ve yedi yapısal olmayan (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B ve NS5) proteinin oluşumuna yol açan bir poliproteini kodlar (Apte-Sengupta ve ark., 2014). LGTV ile enfekte kene hücrelerinden veya DENV2 ile enfekte sivrisinek hücrelerinden köken alan eksozomların, viral pozitif-iplikçik RNA, negatif-iplikçik RNA, Zarf (E)-proteini ve NS1 gibi proteinler dahil olmak üzere viral materyal içerdiği tespit edilmiştir. LGTV ile enfekte kene hücrelerinden veya DENV2/DENV3 ile enfekte sivrisinek hücrelerinden köken alan eksozomlarda hem pozitif hem de negatif zincirli viral RNA, NS1 ve E proteinlerinin varlığı, arbovirüslerin enfekte hücrelerden non-enfekte hücrelere mesaj iletmek için eksozomları kullandığına dair kanıtlar ortaya çıkarmıştır. İlginç bir şekilde, sivrisinek hücrelerinden köken alan eksozomlarda tam uzunlukta bir DENV2 RNA genomunun varlığı saptanmıştır (Vora ve ark., 2018). Viral RNA ve proteinlerin eksozom aracılı transferi, yeni enfekte olmuş kene veya sivrisinek hücrelerinde sırasıyla viral genomların daha

hızlı replikasyonu ve translasyonu ile poliproteinlerin sentezi için kullanıma hazır bir paket görevi üstlendiği ifade edilmektedir. Eksozomların içinde tüm virionların/viral partiküllerin varlığı da olasıdır. Flavivirüsler genellikle 40-60 nM boyutundadır. Dolayısıyla, her bir eksozom içinde yalnızca 2-3 viral partikülün bulunabileceği veya daha büyük EV'lerde 6-8 virionun paketlenebileceği düşünülebilir. Flavivirüslerin iki ila üç tam virion taşımak yerine, naif alıcı hücreleri enfekte etmek için viral RNA genomları ve protein mesajları göndermek için eksozomları kullanmayı tercih edebileceği de ifade edilmektedir. LGTV ile enfekte kene hücrelerinden veya DENV2 ile enfekte sivrisinek hücrelerinden köken alan eksozomlar kolayca viral plaklar oluşturmuş, bu da enfekte eksozomlarda bulunan RNA ve protein mesajlarının, saf alıcı hücrelerin enfeksiyonu üzerine virion üretimi için yeterli olduğunu düşündürmüştür. GTV veya DENV2 RNA ve proteinleri içeren enfeksiyöz eksozomların, insan derisi keratinositlerini ve endotel hücrelerini in vitro olarak kolayca enfekte ettiği belirlenmiştir. Bu, diğer arthropod molekülleri ile birlikte viral RNA ve protein mesajları taşıyan kene veya sivrisinek eksozomlarının (muhtemelen ısırma ve beslenme sırasında tükürükte salgılanan) keratinositlere ve endotel hücrelerine kaynaşabileceğini ve vektörden omurgalı konağa viral bulaşmada yardımcı olabileceğini düşündürmektedir. Tetraspanin, Tsp29Fb'nin (insan CD63'ün bir ortoloğu), sivrisinek hücrelerinden köken alan eksozomlar üzerinde zenginleştirilmiş bir belirteç olduğu kaydedilmiştir (Vora ve ark., 2018). Sivrisinek eksozomları üzerindeki Tsp29Fb gibi yüksek oranda korunmuş moleküller, arthropodların kan beslemesi sırasında immünolojik tepkiden kaçınmak için konağın bağışıklık hücrelerini farklı olarak yönlendirebilir.

Arthropod eksozomların, kene ve sivrisinek bünyesindeki rolü de göz ardı edilemez. Arthropodlar kan emme esnasında arbovirüsleri alır. Arbovirüsler vektör bağırsağına girdikten sonra, klatrin içeren reseptör aracılı endositoz veya E-proteinin membranlar üzerindeki reseptörlerle E-proteinin doğrudan füzyonu ile orta bağırsak epitel hücrelerine penetre olur ve daha sonra vektör bünyesinde diğer kısımlarına yayılırlar (Plemper RK., 2011). Bu nedenle, arthropodun orta bağırsak epitel hücrelerinden salınan eksozomların, kene veya sivrisinek bünyesinde arbovirüslerin yayılmasına yardımcı olabileceği düşünülmektedir. Tsp29Fb ekspresyonunun RNAi aracılı susturulması veya Tsp29Fb fonksiyonunun antikor aracılı bloke edilmesi (CD63 antikoru aracılığıyla), sivrisinek hücrelerinde ve bu hücrelerden köken alan eksozomlarda DENV2 yüklerinin azalmasına neden olmuştur. Ayrıca, DENV2 E-proteini ve Tsp29Fb arasındaki etkileşim, bu molekülün DENV 2 replikasyonunda rolü olduğunu göstermektedir (Vora ve ark., 2018). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, sivrisinek hücrelerinden köken alan eksozomlar üzerinde tetraspanin varlığını da gösterilmiştir. Bir insan CD9 tetraspanin antikorunun, *Aedes albopictus*'ta CD9 homologlarını tanıdığı belirlenmiştir. Bu çalışma ayrıca, DENV ile enfekte olmuş hücrelerden izole edilen eksozomların, enfekte olmayan hücrelere kıyasla boyut olarak daha büyük olduğunu ve virüs benzeri partiküller içerdiğini göstermiştir (Reyes-Ruiz ve ark., 2019). Bu bulgular, tetraspaninlerin arthropodlarda eksozom biyogenezinde ve viral replikasyon/yayılma için önemli figürler olduğunu desteklemektedir. Günümüze kadar yapılan çalışmalara dayanarak, arthropod/memeli hücrelerinde arboviral yayılma veya arthropod hücrelerinden omurgalı hücrelerine bulaşma için eksozom kullanımının flavivirüsler arasında yaygın göründüğü varsayılmaktadır.

Arthropod eksozomların bakterilerle etkileşimlerindeki rolü göz ardı edilemez. Birçok bakteri hayatta kalmak veya konağın immün yanıtlarını module etmek için omurgalı konak hücrelerinin eksozomlarını kullandığı gösterilmiştir (Husmann ve ark., 2009). Bakteriler eklembacaklıların eksozomlarının içine girmeseler de (muhtemelen büyüklüklerinden dolayı), enfeksiyona karşı duyarlılığı artırmak için saf alıcı hücrelerini modüle etmek için RNA'larını veya toksik protein mesajlarını göndermek için eksozomları kullanabilirler. Bu noktada artropod-bakteri etkileşimlerinde eksozomların keşfedilmemiş rollerinin daha iyi anlaşılması için çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Kaynaklar

Ancarola ME, Marcilla A, Herz M, Macchiaroli N, Perez M, Asurmendi S, Brehm K, Poncini C, Rosenzvit M, Cucher M: Cestode parasites release extracellular vesicles with microRNAs and immunodiagnostic protein cargo. Int. J. Parasitol 2017, 47: 675–686.

Apte-Sengupta S, Sirohi D, Kuhn RJ: Coupling of replication and assembly in flaviviruses. Curr Opin Virol 2014, 9:134-142.

Bennuru S, Semnani R, Meng Z, Ribeiro JM, Veenstra TD, Nutman TB: Brugia malayi excreted/secreted proteins at the host/parasite Interface: stageand gender-specific proteomic profiling. PLoS Negl Trop Dis 2009, 3, e410.

Buck AH, Coakley G, Simbari F, McSorley HJ, Quintana JF, Le Bihan T, Kumar S, Abreu-Goodger C, Lear M, Harcus Y, Ceroni A, Babayan SA, Blaxter M, Ivens A, Maizels RM: Exosomes secreted by a nematode parasite transfer RNA to mammalian cells and regulate genes of the innate immune system. Nat Commun 2014, 5, 5488.

Chaiyadet S, Sotillo J, Krueajampa W, Thongsen S, Brindley PJ, Sripa B, Loukas A, Laha T: Vaccination of hamsters with Opisthorchis viverrini extracellular vesicles and vesicle-derived recombinant tetraspanins induces antibodies that block vesicle uptake by cholangiocytes and reduce parasite burden after challenge infection. PLoS Negl Trop Dis 2019, 13:e0007450.

Chaiyadet S, Sotillo J, Smout M, Cantacessi C, Jones MK, Johnson MS, Turnbull L, Whitchurch CB, Potriquet J, Laohaviroj M, Mulvenna J, Brindley PJ, Bethony JM, Laha T, Sripa B, Loukas A: Carcinogenic liver fluke secretes extracellular vesicles that promote cholangiocytes to adopt a tumorigenic phenotype. J. Infect Dis 2015, 212: 1636–1645.

Coakley G, Maizels RM, Buck AH: Exosomes and other extracellular vesicles: the new communicators in parasite infections. Trends Parasitol 2015, 31: 477–489.

Coakley G, McCaskill JL, Borger JG, Simbari F, Robertson E, Millar M, Harcus Y, McSorley HJ, Maizels RM, Buck AH: Extracellular vesicles from a helminth parasite suppress macrophage activation and constitute an effective vaccine for protective immunity. Cell Rep 2017, 19: 1545–1557.

Coakley G, Wright MD, Borger JG: Schistosoma mansoni-derived lipids in extracellular vesicles: potential agonists for eosinophillic tissue repair. Front Immunol 2019, 10, 1010.

Cvetkovic J, Sofronic-Milosavljevic L, Ilic N, Gnjatovic M, Nagano I, Gruden- Movsesijan A: Immunomodulatory potential of particular Trichinella spiralis muscle larvae excretory secretory components. Int J Parasitol 2016, 46: 833–842.

Cwiklinski K, de la Torre-Escudero E, Trelis M, Bernal D, Dufresne PJ, Brennan GP, O'Neill S, Tort J, Paterson S, Marcilla A, Dalton JP, Robinson MW: The extracellular vesicles of the helminth pathogen, Fasciola hepatica: biogenesis pathways and cargo molecules Involved in parasite pathogenesis. Mol Cell Proteomics 2015, 14: 3258–3273.

de la Torre-Escudero E, Gerlach JQ, Bennett APS, Cwiklinski K, Jewhurst HL, Huson KM, Joshi L, Kilcoyne M, O'Neill S, Dalton JP, Robinson MW: Surface molecules of extracellular vesicles secreted by the helminth pathogen Fasciola hepatica direct their internalisation by host cells. PLoS Negl Trop Dis 2019, 13:e0007087.

Eichenberger RM, Ryan S, Jones L, Buitrago G, Polster R, Montes de Oca M, Zuvelek J, Giacomin PR, Dent LA, Engwerda CR, Field MA, Sotillo J, Loukas A: Hookworm secreted extracellular vesicles interact with host cells and prevent inducible colitis in mice. Front Immunol 2018a, 9, 850.

Evans-Osses I, Reichembach LH, Ramirez MI: Exosomes or microvesicles? Two kinds of extracellular vesicles with different routes to modify protozoan host cell interaction. Parasitol Res 2015, 114: 3567–3575.

Gu HY, Marks ND, Winter AD, Weir W, Tzelos T, McNeilly TN, Britton C, Devaney E: Conservation of a microRNA cluster in parasitic nematodes and profiling of miRNAs in excretory-secretory products and microvesicles of Haemonchus contortus. PLoS Negl Trop Dis 2017, 11:e0006056.

Hansen EP, Fromm B, Andersen SD, Marcilla A, Andersen KL, Borup A, Williams AR, Jex AR, Gasser RB, Young ND, Hall RS, Stensballe A, Ovchinnikov V, Yan Y, Fredholm M, Thamsborg SM, Nejsum P: Exploration of extracellular vesicles from Ascaris suum provides evidence of parasite-host cross talk. J. Extracell Vesicles 2019, 8, 1578116.

Harischandra H, Yuan W, Loghry HJ, Zamanian M, Kimber MJ: Profiling extracellular vesicle release by the filarial nematode Brugia malayi reveals sex specific differences in cargo and a sensitivity to ivermectin. PLoS Negl Trop Dis 2018, 12:e0006438.

Harnett W: Secretory products of helminth parasites as immunomodulators. Mol. Biochem. Parasitol 2014, 195: 130–136.

Husmann M, Beckmann E, Boller K, Kloft N, Tenzer S, Bobkiewicz W, Neukirch C, Bayley H, Bhakdi S: Elimination of a bacterial pore-forming toxin by sequential endocytosis and exocytosis. FEBS Lett 2009, 583:337-344.

Jiang S: Recent findings regarding let-7 in immunity. Cancer Lett 2018, 434: 130–131.

Johnston CJC, Smyth DJ, Kodali RB, White MPJ, Harcus Y, Filbey KJ, Hewitson JP, Hinck CS, Ivens A, Kemter AM, Kildemoes AO, Le Bihan T, Soares DC, Anderton SM, Brenn T, Wigmore SJ, Woodcock H, Chambers RC, Hinck AP, McSorley HJ, Maizels RM: A structurally distinct TGF-b mimic from an intestinal helminth parasite potently induces regulatory T cells. Nat Commun 2017, 8, 1741.

Kosanovic M, Cvetkovic J, Gruden-Movsesijan A, Vasilev S, Svetlana M, Ilic N, Sofronic-Milosavljevic L: Trichinella spiralis muscle larvae release extracellular vesicles with immunomodulatory properties. Parasite Immunol 2019, 41:e12665.

Lai FW, Lichty BD, Bowdish DM: Microvesicles: ubiquitous contributors to infection and immunity. J Leukoc Biol 2015, 97:237-245.

Magalhaes KG, Luna-Gomes T, Mesquita-Santos F, Correa R, Assuncao LS,Atella GC, Weller PF, Bandeira-Melo C, Bozza PT: Schistosomal lipids activate human eosinophils via Toll-Like Receptor 2 and PGD2 receptors: 15-LOrole in cytokine secretion. Front Immunol 2018, 9, 3161.

Maizels RM, McSorley HJ: Regulation of the host immune system by helminth parasites. J. Allergy Clin. Immunol 2016, 138: 666–675.

Maizels RM, Smits HH, McSorley H: Modulation of host immunity by helminths: the expanding repertoire of parasite effector molecules. Immunity 2018, 49: 801–818.

Marcilla A, Martin-Jaular L, Trelis M, de Menezes-Neto A, Osuna A, Bernal D, Fernandez-Becerra C, Almeida IC, Del Portillo HA: Extracellular vesicles in parasitic diseases. J. Extracell Vesicles 2014, 3, 25040.

Marcilla A, Trelis M, Cortés A, Sotillo J, Cantalapiedra F, Minguez MT, Valero ML, Sánchez del Pino MM, Muñoz-Antoli C, Toledo R, Bernal D: Extracellular vesicles from parasitic helminths contain specific excretory/secretory proteins and are internalized in intestinal host cells 2012, PLoS ONE 7:e45974.

Mathieu M, Martin-Jaular L, Lavieu G, Thery C: Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication. Nat Cell Biol 2019, 21: 9–17.

McSorley HJ, Blair NF, Robertson E, Maizels RM: Suppression of OVAalum induced allergy by Heligmosomoides polygyrus products is MyD88-, TRIF-, regulatory T- and B cell-independent, but is associated with reduced innate lymphoid cell activation. Exp. Parasitol 2015, 158: 8–17.

Mekonnen GG, Pearson M, Loukas A, Sotillo J: Extracellular vesicles from parasitic helminths and their potential utility as vaccines. Expert Rev Vaccines 2018, 17: 197–205.

Nicolao MC, Rodriguez Rodrigues C, Cumino AC: Extracellular vesicles from Echinococcus granulosus larval stage: isolation, characterization and uptake by dendritic cells. PLoS Negl Trop Dis 2019, 13:e0007032.

Plemper RK: Cell entry of enveloped viruses. Curr Opin Virol 2011, 1:92-100.

Prieto-Lafuente L, Gregory WF, Allen JE, Maizels RM: MIF homologues from a filarial nematode parasite synergize with IL-4 to Induce alternative activation of host macrophages. J Leuk Biol 2009, 85: 844–854.

Reyes-Ruiz JM, Osuna-Ramos JF, De Jesus-Gonzalez LA, Hurtado-Monzon AM, Farfan-Morales CN, Cervantes-Salazar M, Bolanos J, Cigarroa-Mayorga OE, Martin-Martinez ES, Medina F ve ark.: Isolation and characterization of exosomes released from mosquito cells infected with dengue virus. Virus Res 2019, 266:1-14.

Robinson MW, Dalton JP, O'Brien BA, Donnelly S: Fasciola hepatica: thetherapeutic potential of a worm secretome. Int. J. Parasitol 2013, 43: 283–291.

Robinson MW, Hutchinson AT, Dalton JP, Donnelly S: Peroxiredoxin: a central player in immune modulation. Parasite Immunol 2010, 32: 305–313.

Sagini K, Costanzi E, Emiliani C, Buratta S, Urbanelli L: Extracellular vesicles as conveyors of membrane-derived bioactive lipids in immune system. Int J Mol Sci 2018, 19.

Simbari F, McCaskill J, Coakley G, Millar M, Maizels RM, Fabrias G, Casas J, Buck AH: Plasmalogen enrichment in exosomes secreted by a nematode parasite versus those derived from its mouse host: implications for exosome stability and biology. J. Extracell Vesicles 2016, 5: 30741.

Smit JM, Moesker B, Rodenhuis-Zybert I, Wilschut J: Flavivirus cell entry and membrane fusion. Viruses 2011, 3:160-171.

Smyth DJ, Harcus Y, White MPJ, Gregory WF, Nahler J, Stephens I, Toke-Bjolgerud E, Hewitson JP, Ivens A, McSorley HJ, Maizels,RM: TGF-b mimic proteins form an extended gene family in the murine parasite Heligmosomoides polygyrus. Int J Parasitol 2018, 48: 379–385.

Subra C, Grand D, Laulagnier K, Stella A, Lambeau G, Paillasse M, De Medina P, Monsarrat B, Perret B, Silvente-Poirot S, Poirot M, Record M: Exosomes account for vesicle-mediated transcellular transport of activatable phospholipases and prostaglandins. J. Lipid Res 2010, 51: 2105–2120.

Tkach M, Kowal J, Zucchetti AE, Enserink L, Jouve M, Lankar D, Saitakis M, Martin-Jaular L, Thery C: Qualitative differences in T-cell activation by dendritic cell-derived extracellular vesicle subtypes. EMBO J. 2017, 36: 3012–3028.

Tritten L, Geary TG: Helminth extracellular vesicles in host-parasite interactions. Curr. Opin. Microbiol 2018, 46: 73–79.

Tzelos T, Matthews JB, Buck AH, Simbari F, Frew D, Inglis NF, McLean K, Nisbet AJ, Whitelaw CB, Knox DP, McNeilly TN: A preliminary proteomic characterisation of extracellular vesicles released by the ovine parasitic nematode, Teladorsagia circumcincta. Vet. Parasitol 2016, 221: 84–92.

van Niel G, D'Angelo G, Raposo G: Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. Nat Rev Mol Cell Biol 2018, 19: 213–228.

Vora A, Zhou W, Londono-Renteria B, Woodson M, Sherman MB, Colpitts TM, Neelakanta G, Sultana H: Arthropod EVs mediate dengue virus transmission through interaction with a tetraspanin domain containing glycoprotein Tsp29Fb. Proc Natl Acad Sci U S A 2018, 115:E6604-E6613

Zamanian M, Fraser LM, Agbedanu PN, Harischandra H, Moorhead AR, Day TA, Bartholomay LC, Kimber MJ: Release of small RNA-containing exosome-like vesicles from the human filarial parasite Brugia malayi. PLoS Negl Trop Dis 2015, 9:e0004069.

Zhou W, Woodson M, Neupane B, Bai F, Sherman MB, Choi KH, Neelakanta G, Sultana H: Exosomes serve as novel modes of tick-borne flavivirus transmission from arthropod to human cells and facilitates dissemination of viral RNA and proteins to the vertebrate neuronal cells. PLoS Pathog 2018, 14:e1006764

Zhu S, Wang S, Lin Y, Jiang P, Cui X, Wang X, Zhang Y, Pan W: Release of extracellular vesicles containing small RNAs from the eggs of Schistosoma japonicum. Parasit Vectors 2016, 9, 574.

YUVARLAK MASA 01 **5** ***12 Ekim 2021 – 09:30-11:00***

Protozoon Parazitlerde Eksozom Bazlı Çalışmalara Genel Bakış

Arif ÇİLOĞLU

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-posta: arifciloglu@erciyes.edu.tr

Hücre-hücre iletişimi, rejenerasyon, onarım, parakrin sinyali aracılı onkogenesis gibi birçok önemli biyolojik fonksiyonları gerçekleştiren eksozomlar, aynı zamanda protein sekresyonu, antijen sunumu, RNA'lar ile enfeksiyöz ajanların transferi ve patojen immun sürveyansında önemli bir rol oynamaktadırlar (1). Son yıllarda özellikle kanser gibi çeşitli hastalıkların erken tanısında non-invaziv biyobelirteçler olarak kullanılan bu mikroveziküller, farklı alanlarda da kullanılmaya başlanmalarıyla birlikte popülerliklerini gün geçtikçe artırmaktadırlar (2).

Protozoon parazitlerde eksozomların varlığı ilk kez Schepilewsky (3) tarafından 1912 yılına *Trypanosoma brucei*'de yapılan bir çalışmayla ortaya konmuştur. Ancak bu tarihlerde, keşfedilen bu mikroveziküllerin tam olarak işlevlerinin belirlenememesi nedeniyle, uzun bir süre protozoonlarda eksozomlar üzerine herhangi bir çalışma yapılamamıştır. Yaklaşık 67 yıl sonra, da Silveira ve ark. (4)'nın *T. cruzi* epimastigot formlarında plazma membran veziküllerin salgılanmasını gösteren çalışmalarıyla birlikte eksozomlar, tekrar protozoon parazitler için gündeme alınmış ve konuyla ilgili araştırmalara devam edilmiştir. Geniş zaman aralıklarıyla birbirini takip eden bu çalışmaların ardından, parazitlerde eksozomlar ile ilgili en detaylı ilk çalışma 2011 yılında Silverman ve Reiner (5) *Leishmania donovani* üzerinde yapılmış ve bu kapsamlı çalışmayla birlikte aynı zamanda parazitlerde eksozom araştırmalarının temelini oluşturan sonuçlar da ortaya konularak farklı parazitlerde eksozomların daha detaylı bir şekilde araştırılması için zemin oluşturulmuştur.

Bu bildiride, protozoon parazitlerde yapılmış olan eksozom temelli çalışmalar ve eksozomların kullanım yerleri ile ilgili, genel bakış çerçevesinde bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

Plasmodium Türlerinde Eksozom Çalışmaları

Plasmodium türleri ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, eksozomların ilk kez Combes ve ark. (6) tarafından *Plasmodium falciparum*'un neden olduğu şiddetli sıtma hastalığı görülen Malavili bir çocuğun plazmasındaki endotelyal hücrelerden izole edilerek araştırıldığı görülmektedir. Takiben eksozomlar, *P. yoelii, P. vivax, P. malariae* ve *P. berghei*'den de izole edilmiş ve yapısal özellikleri ortaya çıkarılmıştır (7). Eksozomların sıtma mekanizması için önemini gösteren ilk çalışma ise yine Combes ve ark. (8)'nın farelerde ABCA1 genini knock-out yapmaları sonucunda, fareleri serebral sıtmadan koruyan ekstraselüler veziküllerin (EV) üretiminde bir azalmanın meydana geldiğini gözlemlemeleri ve rapor etmeleri ile ortaya konmuştur. Bunun yanında immunregülatör özellikleri nedeniyle eksozomlar, sıtma için ideal ve efektif aşı adayı olarak da araştırılmaya başlanmıştır. Ayrıca eksozomlar, özellikle nükleik asit iletimi yoluyla kurdukları hücreler arası iletişimleri nedeniyle, potansiyel bir terapötik hedef olarak da çalışılmıştır. Bu kapsamda *Plasmodium falciparum* üzerine yapılan çalışmalarda (9, 10), enfekte eritrositlerden salınan eksozom benzeri vezüküllerin kendi aralarındaki DNA alış-verişleri sonucunda, parazit gametositlerinin sayısında artışa yol açarak vektör sivrisinekler tarafından daha fazla sayıda gametositin alınmasına sebebiyet vermeleri ve böylece hastalık etkeninin bulaşma potansiyelinde artışa

yol açmalarının bildirilmesi ile bu veziküllerin aşı adayı olarak değerlendirilme ve ilaç hedefleme çalışmaları için önemi gösterilmiştir. Bunun yanında, transjenik *P. falciparum* parazitler tarafından üretilen EV'lerin ilaç direnci belirtecini kodlayan DNA'yı aktarabilme özelliğinin bildirilmesiyle birlikte bu veziküllerin ilaç direncinin saptanmasında kullanılabilecek önemli bir marker olabileceği de ortaya konmuştur (10). Ayrıca yapılan çalışmalar, EV'lerin sıtmanın klinik semptomları ve seyriyle ilişkili olduğunu da göstermiştir. Campos ve ark. (11) Brezilya'da *P. vivax* enfekte insanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında, enfeksiyon aktivitesinin EV'lerin salınımı ile doğru orantılı olduğunu ve enfeksiyon esnasında hastalarda ateşin yükselmesinin EV'lerin yükselmesi ile yüksek oranda ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Elde edilen bu sonuçlar, EV'lerin sıtmanın seyri ve şiddetini belirlemede aynı zamanda önemli bir marker adayı olabileceğini de göstermiştir.

***Leishmania* Türlerinde Eksozom Çalışmaları**

Günümüze kadar *Leishmania* türleri üzerine yapılan çalışmalarda *Leishmania mexicana*, *L. donovani*, *L. major* ve *L. braziliensis*'de eksozomların konak-patojen etkileşimleri çerçevesinde non-enfekte hücrelerde modifikasyonlara yol açtıkları ve immun sistemde antijen sunucuları olarak rol oynadıkları tespit edilmiştir (12). Silverman ve ark. (13) *L. donovani*'de yaptıkları sekrotom analizi çalışmalarında, parazit tarafından salgılanan 151 proteini tanımlamışlar ve bu proteinlerin sadece %14'ünün klasik ökaryotik amino-terminal sinyal peptid sekresyonundan oluştuğunu rapor etmişlerdir. Aynı araştırıcılar, geri kalan *L. donovani* proteinlerinin ise hücreler arası iletişimden türetilen vezikül temelli olduklarını da açıklamışlar ve burada eksozomların önemine dikkat çekmişlerdir.

Leishmania eksozomları, makrofajlar ve nötrofillerin yanında monositlerin ve dendritik hücrelerin (DC'ler) immun reaksiyonlarını da etkileyebilmektedirler (14). Örneğin, *L. donovani*'den gelen eksozomlar, IL-10 üretimini kolaylaştırmakla birlikte IFN-ɣ karşı monosit immün yanıtını inhibe etmek için TNF-α aktivasyonunu azaltmaktadır. Bunun yanında, ilginç olarak HSP100'ün bulunmadığı *L. donovani* eksozomlarının bağışıklık sistemini baskılamak yerine pro-inflamatuar aktivasyonu ve koruyucu bağışıklığı teşvik ettiği de bildirilmiştir. Nitekim bu raporlar, HSP100'ün eksozomal protein sınıflandırmasındaki önemini de ortaya koymuştur (1).

Günümüzde, leishmaniasise karşı aşı geliştirme çalışmalarındaki en büyük problemlerden biri uygulanabilir adjuvant eksikliği olmakla birlikte bir çeşit lipid adjuvantı olan *Leishmania* eksozomlarının aşı çalışmalarında kullanılabilirliğinin ortaya konması, bu alanda eksozomların popülerliğinin yükselmesine sebebiyet vermiştir. Ayrıca yapılan çalışmalarda, *L. major* GP63 ve LieIF eksozom moleküllerinin leishmaniasise karşı potansiyel terapötik hedef olarak kullanılma potansiyellerinin olduğu da bildirilmiştir (15, 16).

***Toxoplasma gondii*'de Eksozom Çalışmaları**

Eksozomların *Toxoplasma gondii*'den izolasyonu ve identifikasyonu ilk kez Li ve ark. (17) tarafından 2018 yılında elektron mikroskobu, nanopartikül takibi ve Western blot analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, aynı zamanda yüksek konsantrasyonlardaki *T. gondii* eksozomlarının konak makrofaj canlılığını azaltabileceği de gösterilmiştir. Daha düşük konsantrasyonlarda ise eksozomlara maruz kalan makrofajların sitokin üretimini uyardığı, c-jun terminal kinase (JNK) yolunu aktive ederek immun yanıtların oluşumuna sebebiyet verdiği ve böylece konak hücre-parazit iletişimini regüle ettiği belirtilmiştir (17, 18).

Günümüze kadar *T. gondii*'den çok sayıda eksozom proteini tanımlanmasına rağmen bu proteinlerin çoğunun fonksiyonu halen bilinmemektedir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda, elde edilen eksozomların ortalama boyutunun 50 nm olduğu ve HSP70, CD63 ve P30 dahil olmak üzere önemli protein markerlarından oluştuğu belirlenmiştir. Bu markerlardan CD63 ve HSP70'in daha önce diğer organizmalardan da eksozom markerları olarak tanımlandığı bildirilmekle birlikte P30'un *T. gondii*'nin major surface markerı olarak tanımlandığı ifade edilmiştir. Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalarda, enfekte dendritik hücrelerden, SRDC'lerden, makrofajlardan ve direkt *T. gondii*'den elde edilen eksozomların aşı geliştirme çalışmalarında potansiyel uygulama alanlarının bulunabileceği de bildirilmiştir (7).

***Trichomonas* Türlerinde Eksozom Çalışmaları**

Trichomonas türleri arasında eksozomlar ile ilgili ilk detaylı çalışma *T. vaginalis*'te yapılmıştır (19). Araştırıcılar çalışmalarında bu protozoonun yüzey membran proteomunda (surface membrane proteome) üç tetraspanin proteinin varlığını saptamışlardır (19). Tetraspaninler, tüm memelilerin eksozomlarında yer almakla birlikte aynı zamanda eksozom markerları olarak da kullanılmaktadırlar. Öte yandan, Twu ve ark. (19) *T. vaginalis* eksozomları ve bu eksozomların bileşimleri üzerine yaptıkları çalışmalarında eksozomların, korunmuş proteinlerin ve RNA'nın yanında aynı zamanda bazı spesifik parazit proteinlerini de içerdiklerini bildirmişlerdir. Günümüzde, keşfedilen *T. vaginalis* eksozomlarının, trichomoniasisin teşhisi ve tedavisinde kullanılabilme potansiyeli ile ilgili çalışmalar halen devam etmektedir.

***Trypanosoma* Türlerinde Eksozom Çalışmaları**

Eksozom çalışmaları *Trypanosoma* türleri içerisinde daha çok *T. brucei* üzerine yoğunlaşmıştır. Önceki dönemlerde yapılan proteomik analiz çalışmalarında *T. brucei* tarafından salgılanan proteinlerin büyük çoğunluğunun ilginç olarak transit peptidlerden yoksun olduğunu bildirilirken daha sonra yapılan çalışmalar, *T. brucei*'nin esas olarak proteinleri eksozom temelli bir yol aracılığıyla salgıladığını göstermiştir (1). Bu durum, *T. brucei*'nin besin kaynağını etkileyen proteazlar da dahil olmak üzere birçok proteinin salınımını sağlayan eksozomların, *T. brucei* için ne derecede önemli olduğunu ortaya koymuştur (20, 21). Bunun yanında, yapılan birçok çalışmada, *T. brucei* tarafından salgılanan eksozomların, rRNA, snoRNA ve mRNA işleme ve kalite kontrolünü modüle edebildiği de gösterilmiştir (22-24).

Trypanosoma brucei'nin yanında eksozomların çalışıldığı bir diğer *Trypanosoma* türü ise *T. cruzi*'dir. *T. cruzi* eksozomlarının keşfini takiben yapılan çalışmalarda araştırmacılar, bu eksozomlarda küçük RNA'ları tanımlamışlar ve bunların esas olarak tRNA'lardan ve rRNA'lardan türetildiğini ifade etmişlerdir (1). Bunun yanında, tRNA'dan türetilmiş küçük RNA'ların (tsRNA'lar), tripanosomatidlerden farklı olduğu ve *T. cruzi* veya konak hücrelerine aktarılabilen bir Argonaute proteini ile aynı yerde bulunmakla birlikte, parazitin epimastigot formundan trypomastigot formuna dönüşümünü teşvik ederek konak hücre duyarlılığını artırabildiği de bildirilmiştir (25-26). Böylece, eksozomlar tarafından taşınan tsRNA'ların, özellikle konak hücrelerdeki bazı genlerin ekspresyon profillerinde değişikliklere neden olabileceği ifade edilmiş ve eksozomların *Trypanosoma* türleri için önemi vurgulanmıştır.

***Cryptosporidium* Türlerinde Eksozom Çalışmaları**

Cryptosporidium türleri üzerine yapılan çalışmalar çok sınırlı olmakla birlikte, Hu ve ark. (27) çalışmalarında *Cryptosporidium parvum* eksozomlarını araştırmışlar ve eksozomların *C. parvum* ile enfekte hayvanların bağırsak epitel hücrelerinden salındığını ve β-defensin-2 ile IL-37 gibi antimikrobiyal peptitler içerdiği bildirilmişlerdir. Bunun yanında aynı çalışmada, konak hücreden miRNA aracılı bir ekzositik mekanizma ile salınan bu eksozomların, sporozoitlerin yüzeyine bağlanarak hem parazitin enfektivitesini hem de canlılığını azalttığı da ortaya konmuştur.

***Giardia* Türlerinde Eksozom Çalışmaları**

Giardia türleri arasında yapılan ilk detaylı çalışma *Giardia intesitinalis* üzerinde gerçekleştirilmiş ve bu çalışmada Evans-Osses ve ark. (28), trofozoitlerden elde ettikleri eksozomların yedisinin genellikle diğer hücrelerin veziküllerinde bulunan 11 proteini içerdiğini ortaya koymuşlar ve *in vitro* enkistasyon işlemi sırasında parazitlerden izole edilen veziküllerin 80 protein içerdiğini tespit etmişlerdir.

Sonuç olarak bu bildiri ile protozoonlarda yapılan ekzsozom çalışmaları ve elde edilen bulgular özetlenmiş ve eksozomların önemi göz önüne alınarak, eksozom ve ekstrasellüler veziküllerin mekanizmalarının daha iyi anlaşılması ve neticesinde yeni diagnostik biyobelirteçler, aşı ve terapötik gelişmelerine yeni bir anlayış ortaya çıkarmak amacıyla bu alandaki çalışmaların artırılması gerektiği vurgulanmıştır.

Anahtar kelimeler: Eksozom, ekstraselüler vezikül, mikrovezikül, protozoon, biyobelirteç

Kaynaklar

1. Wu Z, Wang L, Li J, Wang L, Wu Z, Sun X. Extracellular vesicle-mediated communication within host-parasite interactions. Front Immunol 2019; 9: 3066.
2. Yu X, Liang J, Xu J, Li X, Xing S, Li H, et al. Identification and validation of circulating microRNA signatures for breast cancer early detection based on large scale tissue-derived data. J Breast Cancer 2018; 21(4): 363–370.
3. Schepilewsky E. Fadenförmige anhängsel bei den trypanosomen. Zbl Bakt I Abt Orig 1912; 65: 79-83.
4. da Silveira JF, Abrahamsohn PA, Colli W. Plasma membrane vesicles isolated from epimastigote forms of *Trypanosoma cruzi*. Biochim Biophys Acta 1979; 550(2): 222-232.
5. Silverman JM, Reiner NE. Exosomes and other microvesicles in infection biology: organelles with unanticipated phenotypes. Cell Microbiol 2011; 13(1): 1-9.
6. Combes V, Taylor TE, Johan-Vacue I, Mege JL, Mwenechanya J, Grau GE, et al. Circulating endothelial microparticles in Malawian children with severe falciparum malaria complicated with coma. JAMA 2004; 291(21): 2542–2544.
7. de Souza W, Barrias ES. Membrane-bound extracellular vesicles secreted by parasitic protozoa: cellular structures involved in the communication between cells. Parasitol Res 2020; 119(7): 2005-2023.
8. Combes V, Coltel N, Alibert M, van Eck M, Raymond C, Juhan-Vague I, et al. ABCA1 gene deletion protects against cerebral malaria: potential pathogenic role of microparticles in neuropathology. Am J Pathol 2005; 166(1): 295-302.
9. Mantel PY, Hoang AN, Goldowitz I, Potashnikova D, Hamza B, Vorobjev I, et al. Malaria-infected erythrocyte-derived microvesicles mediate cellular communication within the parasite population and with the host immune system. Cell Host Microbe 2013; 13(5): 521-534.
10. Regev-Rudzki N, Wilson DW, Carvalho TG, Sisquella X, Coleman BM, Rug M, et al. Cell-cell communication between malaria-infected red blood cells via exosome-like vesicles. Cell 2013; 153(5): 1120-1133.
11. Campos FM, Franklin BS, Teixeira-Carvalho A, Filho AL, de Paula SC, Fontes CJ, et al. Augmented plasma microparticles during acute *Plasmodium vivax* infection. Malar J 2010; 16(9): 327.
12. Schorey JS, Cheng Y, Singh PP, Smith VL. Exosomes and other extracellular vesicles in host-pathogen interactions. EMBO Rep 2015; 16: 24-43.
13. Silverman JM, Chan SK, Robinson DP, Dwyer DM, Nandan D, Foster LJ, et al. Proteomic analysis of the secretome of *Leishmania donovani*. Genome Biol 2008; 9: R35.
14. Silverman JM, Clos J, Horakova E, Wang AY, Wiesgigl M, Kelly I, et al. *Leishmania* exosomes modulate innate and adaptive immune responses through effects on monocytes and dendritic cells. J Immunol 2010; 185: 5011-5022.
15. Hassani K, Shio MT, Martel C, Faubert D, Olivier M. Absence of metalloprotease GP63 alters the protein content of *Leishmania* exosomes. Plos One 2014; 9 :e95007.
16. Bhattacharyya S, Ghosh S, Dasgupta B, Mazumder D, Roy S, Majumdar S. Chemokine-induced leishmanicidal activity in murine macrophages via the generation of nitric oxide. J Infect Dis 2002; 185: 1704-1708.
17. Li Y, Liu Y, Xiu F, Wang J, Cong H, He S, et al. Characterization of exosomes derived from *Toxoplasma gondii* and their functions in modulating immune responses. Int J Nanomedicine 2018; 19(13): 467-477.
18. Li Y, Xiu F, Mou Z, Xue Z, Du H, Zhou C, et al. Exosomes derived from Toxoplasma gondii stimulate an inflammatory response through JNK signaling pathway. Nanomedicine 2018; 13(10): 1157-1168.
19. Twu O, de Miguel N, Lustig G, Stevens GC, Vashisht AA, Wohlschlegel JA, et al. *Trichomonas vaginalis* exosomes deliver cargo to host cells and mediate host: parasite interactions. Plos Pathog 2013; 9(7): e1003482.
20. Atyame NC, Sommerer N, Rofidal V, Hirtz C, Rossignol M, Cuny G, et al. Excreted/secreted proteins from trypanosome procyclic strains. J Biomed Biotechnol 2010; 212817.
21. Geiger A, Hirtz C, Becue T, Bellard E, Centeno D, Gargani D, et al. Exocytosis and protein secretion in *Trypanosoma*. BMC Microbiol 2010; 10: 20.
22. Cristodero M, Clayton CE. *Trypanosome* MTR4 is involved in rRNA processing. Nucleic Acids Res 2007; 35: 7023-7030.
23. Fadda A, Farber V, Droll D, Clayton C. The roles of 3'-exoribonucleases and the exosome in trypanosome mRNA degradation. RNA 2013; 19: 937-947.
24. Kramer S, Piper S, Estevez A, Carrington M. Polycistronic trypanosome mRNAs are a target for the exosome. Mol Biochem Parasitol 2016; 205: 1-5.
25. Bayer-Santos E, Lima FM, Ruiz JC, Almeida IC, da Silveira JF. Characterization of the small RNA content of *Trypanosoma cruzi* extracellular vesicles. Mol Biochem Parasitol 2014; 193: 71-74.
26. Garcia-Silva MR, das Neves RF, Cabrera-Cabrera F, Sanguinetti J, Medeiros LC, Robello, C, et al. Extracellular vesicles shed by *Trypanosoma cruzi* are linked to small RNA pathways, life cycle regulation, and susceptibility to infection of mammalian cells. Parasitol Res 2014; 113: 285-304.
27. Hu G, Gong AY, Roth AL, Huang BQ, Ward HD, Zhu G, et al. Release of luminal exosomes contributes to TLR4-mediated epithelial antimicrobial defense. Plos Pathog 2013; 9(4): e1003261.
28. Evans-Osses I, Mojoli A, Monguió-Tortajada M, Marcilla A, Aran V, Amorim M, et al. Microvesicles released from *Giardia intestinalis* disturb host-pathogen response in vitro. Eur J Cell Biol 2017; 96(2): 131–142.

YUVARLAK MASA OTURUMU 02

Parazitolojide *In vitro, Ex vivo* ve *In vivo* ilaç direnç testleri ve etken madde taramaları: Deneyimlerimiz

Düzenleyen	**Ahmet ÖZBİLGİN**
12 Ekim 2021	**13:30 – 15:00**
Tülay AKSOY	**Parazitolojide İlaç Direncinde *In vitro* Aktivite Testleri**
Nami Ege PERK	**Leishmaniasis: *In vitro* ve *In vivo* Etken Madde Taramaları**
Ahmet YILDIRIM	**Hücre içi Parazitlerde İlaç Direnç Testleri ve Etken Madde Taramaları: *Ex vivo* Deneyimi**
İbrahim ÇAVUŞ	**Sıtmada *In vitro* ve *In vivo* Etken Madde Taramaları**
Yener ÖZEL	***Trichomonas vaginalis*, Helmintler ve Artropodlarda Etken Madde Taramaları ve İlaç Direnç Testleri**

YUVARLAK MASA 02 **1** ***12 Ekim 2021 – 13:30-15:00***

Parazitolojide İlaç Direncinde *In vitro* Aktivite Testleri

Tülay AKSOY, Ahmet ÖZBİLGİN

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA

E-posta: tulay.aksoy@inonu.edu.tr

Paraziter hastalıklar tüm dünyada insan sağlığı ve refahını tehdit eden ve özellikle gelişmekte olan ülkelerde milyonlarca insanı etkileyen önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Paraziter hastalıkların kontrol altına alınarak hastaların etkin ve başarılı bir şekilde tedavi edilmesi gerekmektedir. Ancak birçok paraziter hastalığın tedavisi için mevcut ilaçlar oldukça sınırlıdır (1). 1981'den bu yana onaylanmış ilaç sayısı düşük olsa da, mevcut zaman diliminde sadece 20 civarı onaylanmış antiparaziter ilaç bulunmaktadır (2). İlaç keşfi, kliniğe ulaşana kadar en az 12 yıl süren ve ilaç başına 500 milyon dolardan fazlaya mal olan pahalı, yüksek riskli ve uzun bir süreçtir. Mevcut kullanımdaki ilaçlara karşı direnç gelişmesi de hastalığın sürekliliğine ve ölümlere neden olmaktadır. Son yıllarda bu ilaçlara karşı direnç gelişmesi, toksik yan etkisi, stabilitelerinin düşük ve çözünürlüklerinin az, yüksek maliyette olması gibi dezavantajlarının bulunması bu ajanlara karşı konakta bir direncin oluşması aşı geliştirme çalışmaları, yeni ilaç adayı ve alternatif tedavilerin gerekliliğini gündeme getirmiştir (3). Yeni ilaç aday etken ve moleküllerinin belirlenmesinde ilk olarak in vitro ve ex vivo tarama çalışmalarının yapılması ardından da in vivo etken madde etkinliğinin araştırılması gerekmektedir. Bir ilaç, etken madde veya biyolojik ajan, hücrelere farklı derecelerde etki ederek sitotoksisiteye yol açabilirler. Kullanılan ilaç ya da etken maddelerinin hücreler üzerindeki toksik ya da non-toksik etkileri in vitro olarak güncel yöntemlerle belirlenmesi son yıllarda oldukça önem kazanmıştır. Sitotoksisite testleri in vitro veya in vivo olarak yapılabilmektedir. In vitro sitotoksisite testlerinde, sitotoksisitesi araştırılan madde veya molekül artan konsantrasyonlarda hücrelere uygulanarak hücrelerin yaşama oranları ve morfolojisi üzerine etkileri araştırılır (4). Hücre canlılığı veya sitotoksisitenin belirlenmesi için birçok yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemler boyama yöntemleri, kolorimetrik tetrazolium reaktiflerinin farklı sınıflarının kullanıldığı yöntemler, florometrik yöntemler, luminometrik yöntemler, apoptozun belirlenmesi için kullanılan farklı teknikler ve otofajinin belirlenmesi için kullanılan farklı teknikler olarak sınıflandırılabilir (5-7). Bu yöntemler, canlı hücre sayısı ile bağlantılı bir işaretleyici aktivitesinin ölçümüne dayanmaktadır. Bu testler ile çok sayıda madde veya molekülün kısa sürede analizi mümkün olmakta ve yapılacak hayvan denemeleri (in vivo) için temel veriler elde edilebilmektedir. Kullanılan bu yöntemlerin hangisinin en uygun olduğu araştırıcı tarafından tüm bilimsel veriler kullanılarak değerlendirilmelidir. Bu değerlendirme yapılırken test maddesinin hangi mekanizma ile hücre ölümüne yol açtığı, fiziksel ve kimyasal özellikleri, yönteminin duyarlılığı ve özgünlüğü dikkate alınmalıdır. Bu şekilde elde edilen sonucun güvenirliliği ve doğruluğu konusunda emin olunmalıdır (8). Bu çalışmada, günümüzde in vitro olarak sitotoksisitenin belirlenmesinde sıklıkla kullanılan güncel yöntemlerden özellikle boyama yöntemleri (tripan mavisi), kolorimetrik yöntemler (MTT, XTT) ve luminometrik yöntemler (Cell-Titer glo), ayrıntılı olarak ele alınmış ve bu yöntemlerin üstünlük ve dezavantajları değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Hücre canlılık testleri, In vitro, İlaç direnci, Parazit, Sitotoksisite

Kaynaklar

1. Yıldırım, A., Aksoy, T., Ceylan, Ş. S., Kayalar, H., Tayfur, E., & Balcıoğlu, İ. C. (2021). Assessment of In-vitro Antileishmanial Activities of Cynara scolymus Extracts Against Leishmania tropica. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 27(3).
2. Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. Journal of Natural Products, 83(3), 770-803.
3. Capela, R., Moreira, R., & Lopes, F. (2019). An overview of drug resistance in protozoal diseases. International journal of molecular sciences, 20(22), 5748.
4. Riss TL, Moravec RA. Use of multiple assay endpoints to investigate the effects of incubation time, dose of toxin, and plating density in cell-based cytotoxicity assays. Assay Drug Dev Technol. 2004 Feb;2(1):51-62. doi: 10.1089/154065804322966315. PMID: 15090210.
5. Longo-Sorbello, G. S., Saydam, G., Banerjee, D., & Bertino, J. R. (2006). Cytotoxicity and cell growth assays. In Cell biology (pp. 315-324). Academic Press.
6. Riss TL, Moravec RA, Niles AL, Duellman S, Benink HA, Worzella TJ, Minor L. Cell Viability Assays. 2013 May 1 [updated 2016 Jul 1]. In: Markossian S, Grossman A, Brimacombe K, Arkin M, Auld D, Austin CP, Baell J, Chung TDY, Coussens NP, Dahlin JL, Devanarayan V, Foley TL, Glicksman M, Hall MD, Haas JV, Hoare SRJ, Inglese J, Iversen PW, Kales SC, Lal-Nag M, Li Z, McGee J, McManus O, Riss T, Saradjian P, Sittampalam GS, Tarselli M, Trask OJ Jr, Wang Y, Weidner JR, Wildey MJ, Wilson K, Xia M, Xu X, editors. Assay Guidance Manual [Internet]. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences; 2004–. PMID: 23805433.
7. Riss TL, Moravec RA. Use of multiple assay endpoints to investigate the effects of incubation time, dose of toxin, and plating density in cell-based cytotoxicity assays. Assay Drug Dev Technol. 2004 Feb;2(1):51-62. doi: 10.1089/154065804322966315. PMID: 15090210.
8. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods. 1983 Dec 16;65(1-2):55-63. doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4. PMID: 6606682.

YUVARLAK MASA 02 **2** ***12 Ekim 2021 – 13:30-15:00***

Leishmaniasis: *In vitro* ve *In vivo* Etken Madde Taramaları

Nami Ege PERK, Ahmet ÖZBİLGİN

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA

E-posta: egeprk@gmail.com

Leishmaniasis uzun yıllardır bilinen, toplumlarda veteriner ve halk sağlığı problemi oluşturan vektör kaynaklı bir hastalıktır. Eski dünyada Phlebotomus spp., Yeni dünyada ise Lutzomyia spp.'lerin vektörlük yaptığı hastalığın etkeni, kamçılı bir protozoon olan Leishmania cinsi parazitlerdir. Günümüze kadar yaklaşık 200 ülkeden rapor edilen bu hastalık, 98 ülkede endemik olarak görülmektedir. Hastalığın temel klinik tabloları, Visseral leishmaniasis (VL), Kutanöz leishmaniasis (KL) ve Mukokutanöz Leishmaniasis (MKL) olmak üzere üç tipte şekillenmektedir. Her yıl yaklaşık 700 bin – 1 milyon yeni vaka görülmekte, vakaların çoğunluğunu KL oluşturmaktadır. Hastalığın VL formu tedavi edilmediği taktirde ölümcül olabilmekte, her yıl yaklaşık 26 bin – 65 bin insan VL'ye bağlı olarak hayatını kaybetmektedir. Leishmaniasis hastalığının tedavisinde kullanılan kimyasal ajanlar kısıtlıdır. Standart tedavide antimon bileşiklerinden meglumin antimonat ve sodyum stiboglukonat ile amfoterisin B kullanılmaktadır. Kısıtlı sayıdaki bu ajanlar hastalarda önemli komplikasyonlara sebep olabilen toksik maddelerdir ve özellikle sistemik tedavilerde hastanın gözlemlenmesi gerekmektedir. Bu kimyasal ajanların toksisitesi, temin edilmesindeki zorluklar ve maliyeti gibi dezavantajların yanı sıra günümüzde bildirilen direnç durumları tedavide başarısızlıklara sebep olmaktadır. Özellikle antimon bileşiklerine karşı Hindistan'da gelişen direnç bölgesel olarak yayılım göstermekte ve diğer coğrafyaları tehdit etmektedir. Diğer bir yandan Avrupa'da yapılan çalışmalarda HIV – Leishmaniasis koenfeksiyonlarının tedavisinde amfoterisin B'nin başarısız olduğu olgular bildirilmektedir. Dünyada birçok araştırmacı, tedavide yaşanan zorlukları aşmak ve dirençli suşları tedavi etmek amacıyla hastayı riske atmayacak toksisite düzeylerine sahip yeni etken madde çalışmaları yürütmektedir. Etken madde taramaları kademeli olarak in vitro, ex vivo ve in vivo modellerde gerçekleştirilmektedir. In vitro çalışmalar etken maddenin parazite direkt olarak temas ettirildiği çalışmalardır ve konsantrasyon saptanması aşamasında son derece önemlidir. Ex vivo çalışmalar hücresel toksisitenin, in vivo modeller ise deney hayvanlarında tedavi sürecinin ve etken maddenin canlı vücudundaki yan etkilerinin gözlemlenmesini sağlamaktadır. In vitro aktivite çalışmaları 96'lı mikroplaklarda fazla sayıda etken maddenin kullanılabildiği ve konsantrasyonların saptanabildiği faydalı çalışmalardır. Leishmaniasis odaklı çalışmalarda kültür ortamında çoğaltılan promastigotlar, mikroplak dilüsyon yöntemi olarak da adı geçen teknik ile çeşitli yönlerden test edilebilmektedir. Gerçekleştirilen bu çalışmalarda kontrol gruplarının direnç durumları saptanabilmekte ya da etken maddenin aktivitesi kontrol gruplarıyla eş zamanlı olarak karşılaştırılabilmektedir. Tarama testlerinin değerlendirilmesi kolorimetrik, lüminesans ve enzimatik yöntemler ile gerçekleştirilmekte, veriler hemositometre yöntemi ile doğrulanmaktadır. Birimimizde yapılan çalışmalarda sıklıkla XTT (2,3-bis-(2- metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid) yöntemi kullanılmakta, zaman zaman Celltiter-Glo® lüminesans yönteminden de faydalanılmaktadır. Testler ile elde edilen absorbans verilerinden Excel veya Graphpad gibi yardımcı yazılımlar ile etken maddelerin IC50 değerleri hesaplanabilmektedir. In vivo modeller insan klinik tablosunun deney hayvanlarında oluşturulmasıdır. Diğer bir yandan vahşi suşun canlı vücudunda

davranışı ve oluşturduğu enfeksiyonun şiddeti gözle görülebilir şekilde takip edilebilmektedir. Leishmaniasis hayvan modellerinde KL için ayak tabanına intradermal, VL için için ise kuyruk venine intravenöz promastigot enjeksiyonu gerçekleştirilmektedir. Leishmania türüne göre değişen sürelerde enfeksiyonun oluşumu takip edilmekte, enfekte modelde planlanan tedavi çalışması KL için intralezyonel, VL için intramüsküler yoldan etken maddenin enjeksiyon ile sağlanmaktadır. Etken maddenin aktivitesi deney süresi boyunca haftalık ya da 15 günde bir modele göre ayak tabanı ölçümü ve kilo ölçümü ile takip edilebilmektedir. Deney sonunda hayvan modellerinin sakrifikasyonu gerçekleştirilerek hedef alınan organdan elde edilen numunelerde mikroskobi, kültür ve moleküler yöntemler ile parazit varlığı araştırılabilmektedir. Leishmaniasis in vivo modellerin oluşturulmasında en sık kullanılan hayvan türleri Mesocricetus auratus (Altın Hamster, Suriye Hamsteri) ve Mus Musculus (Balb/C) fareleridir. Birimimizde yapılan çalışmalarda sıklıkla kullanılan hayvan grubu Balb/C farelerdir. Leishmaniasis günümüzde önemi koruyan ancak ihmal edilebilen bir hastalıktır. Vektörlük yapabilen Phlebotomus türlerinin yaşam alanı olan tüm coğrafyalar risk altında kabul edilmektedir. Özellikle gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde ekonomik yetersizliğe bağlı olarak vektör ile mücadelenin yetersiz kalması ve küresel ısınmaya bağlı olarak olarak Phlebotomus türlerinin daha kuzey enlemlerde ortaya çıkması hastalığın daha da önem kazanacağına işaret etmektedir. Dirence bağlı olarak tedavi edilemeyen hastanın parazite kaynak konumunda bulunduğu bu hastalık, epidemilere varabilecek düzeyde toplumsal sorunlar teşkil edebilmektedir. Bu hastalıkla mücadelede kullanılabilecek direnç gelişmemiş, daha az toksik ve maliyeti düşük yeni etken maddelerin saptanması son derece önemlidir. Bu bağlamda üniversitelerin Tıp, Eczacılık, Biyoloji ve Veterinerlik fakültelerinin Farmasötik Kimya, Botanik, Mikrobiyoloji ve Parazitoloji dallarında multidisipliner çalışma yoğunluğunun arttırılmasının, ileri düzeyde etken madde taramalarının gerçekleştirilmesinin gerekliliği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu sunuda örnek olarak verilen yöntemler, TÜBİTAK 1001 - Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı'nın 117S041 no'lu projesinde uygulanan yöntemlerdir.

TÜBİTAK'a 117S041 no'lu projeyi desteklediği ve gerçekleşmesini sağladığı için teşekkür ederiz.

Kaynaklar

Özbilgin A, Çavuş İ, Yıldırım A, Kaya T, Ertabaklar H. Evaluation of In vitro and In vivo Drug Efficacy Over Leishmania tropica: A Pilot Study. Turkiye Parazitol Derg 2018; 42:11-9.
Perk NE, Çavuş İ, Özbilgin A. Köpeklerde kanin Leishmaniasis etkeni Leishmania tropica'da ilaç dirençlerinin araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(4):234-43

Anahtar Kelimeler: Direnç, in vitro, in vivo, leishmaniasis

YUVARLAK MASA 02 **3** ***12 Ekim 2021 – 13:30-15:00***

Hücre içi Parazitlerde İlaç Direnç Testleri ve Etken Madde Taramaları: *Ex vivo* Deneyimi

Ahmet YILDIRIM, Ahmet ÖZBİLGİN

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA

E-posta: ahmet.yildirim@cbu.edu.tr

Hücre içi parazitlerde parazitin hücresel tropizminin temelini oluşturan spesifik parazit-konak hücre etkileşimleri insanlarla birlikte evrimleşmiştir. Hücre içi parazitler, dokular arasında göç etmek, konak bağışıklık sisteminden kaçmak ve hücre içerisinde çoğalmak amacıyla bu tür etkileşimleri kullanırlar. Bu hücresel göç ve istila olayları, hücre içi parazitlerin yaşam döngülerinin tamamlanmasında zorunlu olmakla birlikte, patogenezin ilerlemesine neden olmaktadır. Önemli morbidite ve mortaliteden sorumlu olan ve makrofaj hücreleri içerisine yerleşen leishmaniasis etkeni Leishmania tropica, toksoplasmosis etkeni Toxoplasma gondii ve chagas hastalığı etkeni Trypanosoma cruzi olmak üzere üç zorunlu hücre içi protozoon parazit türü dünya nüfusunun yarısından fazlasını etkilemektedir, sosyo-ekonomik ve coğrafi faktörlerle bağlantılı olarak da önemi artan ihmal edilen paraziter hastalıklara neden olmaktadır (1). Leishmaniasis, toksoplasmosis ve chagas hastalığı tedavisinde kullanılan ilaçların toksik yan etkilere etkilere sahip olması, maliyetlerinin yüksek olması ve en önemlisi de bu ilaçlara karşı gelişen direnç nedeniyle tedavide önemli sorunlar ile karşılaşılmaktadır. Tedavide kullanılan ilaçlara karşı gelişen ilaç direncinin ve alternatif tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesinde in vitro, ex vivo ve in vivo ilaç direnç testleri kullanılmaktadır. In vitro ilaç direnç testleri, konak yanıtı üzerindeki etkiler dikkate alınmadan antiparaziter etkiye dayanmaktadır. In vivo ilaç direnç testleri, deney hayvanı modelinde ilacın antiparaziter etkisinin belirlenmesi için uygulanmaktadır. Ex vivo ilaç direnç testleri ise, in vitro kültür ortamına adaptasyon sırasında oluşan klonal seleksiyondan kaçınarak bir in vivo enfeksiyonun genel ilaç duyarlılık fenotipini yansıtan sonuçlar sağlamaktadır. Konak ve parazit yanıtlarına dayalı tedavi stratejilerinin tanımlanmasına yönelik entegre bir yaklaşımı kapsayan ex vivo ilaç direncinin saptanması, tedavi optimizasyonunun ve farklı klinik durumlara göre tedavinin uyarlanmasının yolunu açmaktadır (2). Leishmania tropica, Toxoplasma gondii ve Trypanosoma cruzi olmak üzere üç protozoon parazit türü üzerinde ex vivo ilaç direncinin araştırılmasında ve etken madde taramalarında klasik yöntem olarak doğrudan sayım yöntemi ve modern yöntemler (flow sitometri, yüksek içerikli tarama vs.) kullanılmaktadır (3-5). Bu yöntemler kullanılarak ex vivo ilaç direncinin kısa sürede analiz edilmesi mümkün olmakta ve yapılacak in vivo ilaç direnç testleri için temel veriler elde edilmektedir. Çalışmalarımızda ex vivo ilaç direncinin belirlenmesinde ve etken madde taramalarında sıklıkla kullanılan yöntemlerden özellikle klasik doğrudan sayım yöntemi ayrıntılı olarak ele alınarak değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Ex vivo*, İlaç direnç testleri, *Leishmania tropica, Toxoplasma gondii, Trypanosoma cruzi*

Kaynaklar

1. Walker DM, Oghumu S, Gupta G, McGwire BS, Drew ME, Satoskar AR. Mechanisms of cellular invasion by intracellular parasites. Cell Mol Life Sci. 2014 Apr;71(7):1245-63. doi: 10.1007/s00018-013-1491-1. Epub 2013 Nov 13. PMID: 24221133; PMCID: PMC4107162.

2. Gonzalez-Fajardo L, Fernández OL, McMahon-Pratt D, Saravia NG. Ex vivo host and parasite response to antileishmanial drugs and immunomodulators. PLoS Negl Trop Dis. 2015 May 29;9(5):e0003820. doi: 10.1371/journal.pntd.0003820. PMID: 26024228; PMCID: PMC4449175.
3. Zulfiqar B, Shelper TB, Avery VM. Leishmaniasis drug discovery: recent progress and challenges in assay development. Drug Discov Today. 2017 Oct;22(10):1516-1531. doi: 10.1016/j.drudis.2017.06.004. Epub 2017 Jun 21. PMID: 28647378.
4. Bhattacharya A, Corbeil A, do Monte-Neto RL, Fernandez-Prada C. Of Drugs and Trypanosomatids: New Tools and Knowledge to Reduce Bottlenecks in Drug Discovery. Genes (Basel). 2020 Jun 29;11(7):722. doi: 10.3390/genes11070722. PMID: 32610603; PMCID: PMC7397081.
5. Deng Y, Wu T, Zhai SQ, Li CH. Recent progress on anti-Toxoplasma drugs discovery: Design, synthesis and screening. Eur J Med Chem. 2019 Dec 1;183:111711. doi: 10.1016/j.ejmech.2019.111711. Epub 2019 Sep 19. PMID: 31585276.

Sıtmada *In vitro* ve *In vivo* Etken Madde Taramaları

İbrahim ÇAVUŞ, Ahmet ÖZBİLGİN

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA

E-posta: icvs26@yahoo.com

Tarihi binlerce yıl öncesine dayanan sıtma, yüzlerce farklı türü olmasına karşın insanda beş farklı Plasmodium türünün neden olduğu ölümcül bir hastalıktır. Günümüze kadar sıtma tedavisinde kullanılan ilaçlara karşı direncinin ortaya çıkmaya başlaması, yeni ilaç adaylarının araştırılması gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Yeni ilaç adaylarının belirlenmesinde ilk olarak in vitro etken madde tarama çalışmalarının yapılması daha sonra in vivo etken madde etkinliğinin araştırılması gerekmektedir. In vitro etken madde taramaları, in vivo durumu taklit ederek ilaç adayı molekülün parazitin hücre zarına ne kadar nüfuz ettiği ve ne kadar etkili olduğunun ölçülerek ilaç adayı olan molekül için temel oluşturmaktadır. Dünya çapında farklı laboratuvarlarda farklı yöntemler kullanılarak in vitro etken madde taramaları yapılmaktadır. In vitro etken madde tarama çalışmaları makroteknik yöntemi ile başlamış ve teknolojinin gelişmesi ile mikroteknik, laktat dehidrogenaz analizi, histidin açısından zengin protein II, CyQUANT, SYBR Green I tabanlı floresan, luciferase tabanlı tarama yöntemleri gibi birçok yöntem geliştirilmiştir. Antimalaryal ilaç geliştirmenin önemli adımlarından biri olan in vivo etken madde tarama yöntemlerinde insanda sıtmaya neden olan Plasmodium'ların temel DNA yapılarına en yakın olan kemirgen sıtması etkenleri Plasmodium berghei ve Plasmodium yoelii kullanılarak oluşturulan deney hayvanı modelleri kullanılmaktadır. Kemirgen sıtması modelleri konak savunma mekanizmaları ve enfeksiyonun tüm aşamalarına karşı oluşan bağışıklık hakkında sağladığı bilgiler nedeniyle parazitin biyolojik, kimyasal ve antijenik özelliklerinin incelenmesine ayrıca patojenitesinin takibi açısından önemlidir. Sıtma, seyahat ve göçler, ilaç direnci ve iklim değişikliği nedeni ile geçmişte olduğu gibi günümüzde ve gelecekte de ülkemiz için önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam edecektir. Bu nedenle yeni ilaç adaylarının belirlenmesinde önemli rol oynayan in vitro ve in vivo antimalaryal ilaç taramaları sıtmanın kontrol altına alınabilmesi için büyük önem arz etmektedir.

Kaynaklar

1. Craig AG, Grau GE, Janse C, Kazura JW, Milner D, Barnwell JW, Turner G, Langhorne J; participants of the Hinxton Retreat meeting on Animal Models for Research on Severe Malaria. The role of animal models for research on severe malaria. PLoS Pathog. 2012 Feb;8(2):e1002401. doi: 10.1371/journal.ppat.1002401.
2. Özbilgin A, Çavuş İ, Haghi M, Özel Y. In vitro Cultivation of Plasmodium falciparum, Turkiye Parazitol Derg 44(4):226-231. doi: 10.4274/tpd.galenos.2020.7148
3. Özbilgin A, Kayalar H, Rashed K, Östan Ural İ, Çavuş İ. Comparative Investigation on Antimalarial Activity of Ficus nitida, Terminallia bellerica and Diospyros virginiana in Balb/C Mice Infected with P. berghei, IJIPSR, 2016, 4(5), 470-478
4. Östan Ural İ, Kayalar H, Durmuşkahya C, Çavuş İ, Özbilgin A, "İn vivo Antimalarial Activity of Methanol and Water Extracts of Eryngium thorifolium Boiss (Apiaceae Family) against P. berghei in Infected Mice", Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2014;13(8):1313-1317

Anahtar Kelimeler: İlaç direnç testleri, İn vitro, İn vivo, Sıtma

YUVARLAK MASA 02 **5** ***12 Ekim 2021 – 13:30-15:00***

Trichomonas vaginalis, Helmintler ve Artropodlarda Etken Madde Taramaları ve İlaç Direnç Testleri

Yener ÖZEL, Ahmet ÖZBİLGİN

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA

E-posta: yenerozel7352@gmail.com

Paraziter hastalıklar, dünya çapında insan sağlığı ve refahı için büyüyen bir tehdittir. Bununla birlikte, çoğu paraziter hastalığın tedavisi için kullanılan mevcut ilaçlar, etki ve bulunabilirlik açısından çoğunlukla sınırlıdır. İlaç direnci hızla yayılmakta ve yeni ilaçların geliştirilmesi bu hıza ayak uyduramamaktadır. Bu sunuda, protozoonları temsilen T. vaginalis, trematodları temsilen Schistosoma spp., sestodları temsilen H. nana, nematodları temsilen S. stercoralis'e ve artropodları temsilen ise Pediculus humanus capitis'e yönelik etken madde tarama yöntemleri için kısa örnekler verilmek istenmektedir.

T. vaginalis için en sık kullanılan in vitro etken madde tarama yöntemi sıvı mikrodilüsyon yöntemidir. Sıklıkla hem aerobik hem de anaerobik ortamda denenen maddelerin farklı konsantrasyonları kullanılarak etkinlik saptanmaktadır. In vitro etkili saptanan maddeler için fare modeli oluşturularak in vivo etkinlik tespit edilmektedir. Trematodlar için en uygun laboratuvar modeli Schistosoma mansonidir. Parazitin hayat döngüsü laboratuvar şartlarında tamamlanabilmekte ve in vitro incelemeler parazitin farklı formları üzerinde yapılabilmektedir. In vitro incelemelerde etken maddenin farklı konsantrasyonları ile zamana bağımlı olarak muamele edilen parazitler, invert mikroskobu ile fenotipik değişiklikler (hareketlilik, morfolojik değişiklik ve ölüm) açısından kontrol edilmektedir. S. mansoni, in vivo modelinde deneysel çalışmalar için en yaygın olarak kullanılan memeli konak faredir. Farklı fare suşlarında olgunlaşan serkarya yüzdesinde farklılık olsa da test edilen fare suşlarının çoğu S. mansoni enfeksiyonuna karşı hassastır. Sestodlarda in vitro etkinlik çalışmalarında etken madde ile muamele edilen parazitler TEM ile incelenerek, tegümental hasar, lipid birikimi ve nefridiyal kanalın ve intrauterin yumurtaların tahribatı gibi morfolojik değişiklikler değerlendirilmektedir. Aynı şekilde in vivo fare modeli oluşturularak kontrol grubuna göre yumurta sayısı ve parazit yükündeki azalma değerlendirilerek etkinlik saptanabilmektedir. Nematodlara karşı etken madde tarama yöntemleri hem in vitro hem de in vivo olarak yapılmaktadır. In vitro araştırmalar için enfekte ratların dışkısından toplanan L1 larvalar agar besiyerlerinde üretilerek L3 tipi larvaya dönüştürülür ve 96 kuyucuklu düz tabanlı mikroplakaların her bir kuyucuğuna 100 adet L3 larva eklenir. Larvaların üzerine denenecek maddenin farklı konsantrasyonlarından ilave edilerek 28 oC'de 72 saat inkübe edilir. Canlılık XTT testleri ya da invert mikroskop ile larva hareketliğinin incelenmesi ile belirlenir. In vivo modelde ise, rat modellerinin dışkılarında yapılan yumurta sayımı ile etken maddenin etkinliği hakkında yorum yapılabilir. S. stercoralis çok enfektif olduğu için son dönemlerde bu nematod yerine patojen olmayan Caenorhabditis elegans model olarak tercih edilmektedir. Artropodlar için in vitro etken madde taramaları, denenecek maddenin farklı konsantrasyonları ile belirli sürelerde muamele edilen parazitin steromikroskop altında canlılık kontrolünün yapılması esasına dayanmaktadır. Uzuvların ve bağırsakların hareket etmemesi ve pens ile dokunulduğunda yanıt gözlenmemesi durumu ölü, iç veya dış organlarda aktif hareket gözlenmesi durumu ise canlı olarak yorumlanmaktadır.

Antiparazitik ilaç direnci, protozoalar, helmintler ve artropodlar dahil olmak üzere birçok parazit türünün kontrolünü sağlamanın önündeki en ciddi engeldir. İlaç direnci, hayvan ve insan parazitolojisini önemli derece etkilemektedir. Bu nedenle yeni ilaç adayı maddelerin in vitro ortamda oldukça hızlı şekilde taranması ve etkili olanlarının in vivo modellerde çalışılması zorunluluk haline gelmiştir. Etken madde taramalarının küresel bilim alanında standart metotlarla yapılması ve birbirleri ile kıyaslanabilir olması ve yeni nesil ilaçların geliştirilmesinde hız kazanmamıza yardımcı olabilir.

Anahtar kelimeler: *T. vaginalis, H. nana, S. stercoralis, Schistosoma* spp., *P. humanus capitis, in vitro, in vivo*

Kaynaklar

- Cobo ER, Eckmann L, Corbeil LB. Murine models of vaginal trichomonad infections. Am J Trop Med Hyg, 2011;85(4):667-73. doi: 10.4269/ajtmh.2011.11-0123.
- Hopper M, Yun JF, Zhou B, Le C, Kehoe K, Le R, Hill R, Jongeward G, Debnath A, Zhang L, Miyamoto Y, Eckmann L, Land KM, Wrischnik LA. Auranofin inactivates Trichomonas vaginalis thioredoxin reductase and is effective against trichomonads in vitro and in vivo. Int J Antimicrob Agents, 2016;48(6):690-4. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.09.020.
- Corbeil, LB. Use of an Animal Model of Trichomoniasis as a Basis for Understanding This Disease in Women. Clinical Infectious Diseases, 1995; 21(Supplement_2):158-61. doi: 10.1093/clinids/21.supplement
- Manneck T, Haggenmuller Y, Keiser J. Morphological effects and tegumental alterations induced by mefloquine on schistosomula and adult flukes of Schistosoma mansoni. Parasitology, 2009;136.
- Xiao SH, Keiser J, Chollet J, Utzinger J, Dong Y, Vennerstrom JL, Tanner M. The in vitro and in vivo activities of synthetic trioxolanes on major human schistosome species. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2007;51:1440–5.
- Beshay, EVN. Therapeutic efficacy of Artemisia absinthium against Hymenolepis nana: in vitro and in vivo studies in comparison with the anthelmintic praziquantel. Journal of Helminthology, 2017;92(03):298-308. doi:10.1017/s0022149x17000529 .
- Hosseinzadeh S, Ghalesefidi MJ, Azami M, Mohaghegh MA, Hejazi SH, Ghomashlooyan M. In vitro and in vivo anthelmintic activity of seed extract of Coriandrum sativum compared to Niclosamid against Hymenolepis nana infection. Journal of Parasitic Diseases, 2015;40(4):1307–10. doi:10.1007/s12639-015-0676-y
- Legarda-Ceballos AL, López-Abán J, Del Olmo E, Escarcena R, Bustos LA, Rojas-Caraballo J, Vicente B, Fernández-Soto P, San Feliciano A, Muro A. In vitro and in vivo evaluation of 2-aminoalkanol and 1,2-alkanediamine derivatives against Strongyloides venezuelensis. Parasit Vectors, 2016;9(1):364. doi: 10.1186/s13071-016-1648-5.
- Martins WA, Melo AL, Nicoli JR, Cara DC, Carvalho MA, Lana MA, Vieira EC, Farias LM. A method of decontaminating Strongyloides venezuelensis larvae for the study of strongyloidiasis in germ-free and conventional mice. J Med Microbiol. 2000; 49:387–90.
- Ozpinar H, Ozpinar N, Karakus S. The Effects of Erzincan Grape (Vitis vinifera spp., Cimin) and Benzothiazol on a Caenorhabditis elegans Organism Model. Pharmacogn Mag. 2017;13(Suppl 2):S380-S384. doi:10.4103/0973-1296.210164
- Arserim, S.K., Cetin, H., Yildirim, A. et al. The Toxicity of Essential Oils From Three Origanum Species Against Head Louse, Pediculus humanus capitis. Acta Parasit, 2021:66;1003–1011. doi.org/10.1007/s11686-021-00370-y
- Heukelbach J, Canyon DV, Oliveira FA, Muller R. Speare R. In vitro efficacy of over-the-counter botanical pediculicides against the head louse. Med Vet Entomol, 2008;22:264–272. doi.org/ 10. 1111/j. 1365- 2915. 2008. 00738.x
- WHO. Instructions for determining the susceptibility or resistance of body lice and head lice to insecticides. World Health Organization, Geneva, 1981

YUVARLAK MASA OTURUMU 03

Microsporidialarda Tanı Ve Kültür Yöntemlerine Genel Bir Bakış

Düzenleyen	**Ülkü KARAMAN**
13 Ekim 2021	**13:30 – 14:30**
Ülkü KARAMAN	**Microsporidialarda Konvansiyonel Tanı Yöntemleri**
Berna HAMAMCI	**Microsporidialarda Moleküler Yöntemler**
Ülfet ÇETİNKAYA	**Microsporidialarda Kültür Yöntemleri**

YUVARLAK MASA 03 **1** ***13 Ekim 2021 – 13:30-14:30***

Microsporidia Türlerinde Geleneksel Tanı Yöntemleri

Ülkü KARAMAN

Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, ORDU

E-mail: ukaraman@odu.edu.tr

Microsporidia filumunun insanlarda enfeksiyona neden olan yaklaşık 17 türü vardır. Ancak toplamda 200'den fazla cins ve 1500'den fazla türün olduğu bildirilmiştir. Microsporidia türleri zorunlu hücre içi organizması olup fırsatçı enfeksiyona neden olan bir ökaryotiktir ve kontamine besin ve suların tüketilmesi ile bulaşır.

Microsporidia tanısında altın standart olarak kabul edilen elektron mikroskobu aracılığı ile tür identifikasyonu da kolaylıkla yapılabilir. Ancak yaygın olarak kullanılmamaktadır. Bununla birlikte farklı boya yöntemleri de organizmanın tanısında yer alır. Bu boya yöntemleri olarak modifiye trikrom boyama, kitinli spor duvarını hedefleyen floresan boyalar (calcoflour white, uvitex 2B), Ryan'ın modifiye edilmiş trikrom boyası, Ziehl-Neelsen boyaması, gümüş lekesi, periyodik asit-Schiff, Giemsa, Gomori metenamin gümüş boyası, immünfloresan antikor yöntemi ve son yıllarda yaygınlaşan moleküler yöntemler sıralanabilir.

Tanı için taze dışkı, duodenal drenaj, diğer vücut sıvıları (balgam, bronkoalveolar lavaj, nazal akıntı veya BOS), konjunktiva sürüntüsü, kornea kazıntısı veya doku örneği kullanılabilir.

Dışkı örneklerinin ışık ve fluorasan mikroskobisiyle incelenmesi yöntemiyle (microsporidaların cins ve tür ayrımı yapamamasına rağmen) hücre içerisinde/dışında oval, reflaktif cisimciklerin görülmesi ile tanı konmasıda etkili olan bir tanı aracıdır.

Microsporidia teşhisi için immünofloresan monoklonal veya poliklonal antikorlar da kullanılmaktadır. Floresan parlatıcı olarak Calco fluor white M2R veya Uvitex 2B kullanan floresan mikroskopi kromotrop lekelerine benzer özgüllük ve duyarlılık sağlar. Ancak organizmanın sporları, maya hücreleri ile karıştırılabilmektir. Kesin ayırım için %1'lik aside dirençli boyama ya da Weber'in Modifiye Tricrome Boyama (MTS) ile tanının doğrulanması gerekir.

Microsporidia tanısında enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Western Blot, Indirekt Floresan Antikor Testi (IFAT), immün floresan ve immünoperoksidaz yöntemlerinin kullanılabileceği bildirilmiştir. Ayrıca moleküler yöntemler (örn., polimeraz zincir reaksiyonu, PCR) tanı ve türler için kullanılabilen bir diğer yöntemdir. Özellikle taksonomik sınıflama, filogenetik çalışmalar ve özellikle klinik örneklerden microsoridia tespiti ve tür ayrımı için PCR oldukça hassastır ve daha az yanlış negatif sonuç vermektedir.

Microsporidia türlerinin tanısında kullanılan yöntemlerden birisi de hücre kültürüdür. İnsanları enfekte eden birçok türün kültürleri yapılmıştır. Ayrıca Flow sitometri de microsporidia türlerinin tanısında kullanılan kolay ve etkili bir yöntemdir.

Anahtar kelimeler: Microsporidia, Boyama yöntemleri, Tanı

YUVARLAK MASA 03 **2** ***13 Ekim 2021 – 13:30-14:30***

Microsporidia'larda Moleküler Yöntemler

Berna HAMAMCI

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, HATAY

E-mail: bhamamci@mku.edu.dr

Microsporidia'ların 200'den fazla cins ve yaklaşık 1.500 türü bulunmaktadır ve geniş bir konak yelpazesine sahiptirler. Microsporidia enfeksiyonları, özellikle bağışıklığı baskılanmış bireylerde daha sık görülmektedir. Bu nedenle enfeksiyonun tanımlanması klinikte oldukça önemlidir. Microsporidia türlerinin fenotip ve morfolojik özelliklerine bakarak belirlenmesi mümkün olmayabilir. Genel olarak genotiplerin, fenotiplerin ve polimorfizimlerin belirlenmesinde moleküler teknikler kullanılmalıdır. Tanıda spesifite ve sensitivitesi'nin yüksek olması, hızlı ve doğru sonuç verme ve tedavi açısından önemli olan aynı anda birden fazla türün tespitini sağlayan moleküler yöntemler oldukça değer kazanmıştır. Bu sunumda insanda enfeksiyon oluşturan ve sıklıkla karşılaşılan Microsporidia türlerinde moleküler tanı yöntemlerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

PCR amplifikasyonunu içeren yöntemlerle, insan enfeksiyonuna neden olan Microsporidia türleri tanımlanabilmektedir. Özellikle intestinal sisteme yerleşen *Encephalitozoon intestinalis* ve *Enterocytozoon bieneusi* türlerinden birini tanımlayabilen moleküler tanıda kullanılan ticari kitler bulunmaktadır. Ayrıca oküler enfeksiyona neden olan *Microsporidia* türlerini belirlemek için de PCR ve dizileme yöntemleri kullanılmaktadır. *Microsporidia*'lar herhangi bir ökaryotun en küçük genomları arasında yer almaktadır. Zorunlu hücre içi parazitlerde olan gen kayıplarının varlığı metabolitleri için konakçılarına ihtiyaç duymalarına sebep olmaktadır. Klinikte önemli olan *E. bieneusi*, kendi kendine enerji üretimi için gerekli anahtar genlerden yoksun, azaltılmış genomu nedeniyle güçlü bir konakçı bağımlılığına sahiptir. İnsan ve hayvanlarda ki filogenetik analizler, *E. bieneusi*'ye ait genotip D genotipinin tek olduğunu göstermektedir. *Encephalitozoon cuniculi*; memelilerde tanımlanan ve en çok dalak, kalp, böbrek ve beyni etkileyen ilk *Microsporidia* türüdür. ITS rRNA dizilerinin moleküler verilerine dayanarak, şimdiye kadar dört E. cuniculi genotipi (genotip I-IV) tanımlandı. Nested PCR sonuçları genotip II ve III'ün enfeksiyonun şiddetti ve seyri hakkında bilgi verebilmektedir.

Geleneksel PCR hassas bir yöntem olmasına rağmen, minimum organizma konsantrasyonunu saptama noktasında zayıftır ve yanlış negatif sonuçlar verebilmektedir. Spor duvarlarının kalın olması DNA izolasyonunu zorlaştırmaktadır. Bu sebeple klasik DNA ekstraksiyon yöntemlerinin yanı sıra çeşitli DNA izolasyon kitleri kullanılmaktadır. DNA izolasyonunda verimin artırması için mekanik parçalamayı sağlayacak cam boncuklar kullanılabilir veya kaynatma yöntemleri uygulanabilir. Nested PCR, microsporidia teşhisi için hassas ve güvenilir bir yöntem olarak kabul görmektedir. Ancak bu yöntemde de önemli kontaminasyon riskinin var olması ve parazit yükünün nicelleştirilememesi açısından dezavantajlıdır.

Moleküler teknikler, mevcut tanı sınırlamalarının üstesinden gelmelidir. Doğrudan klinik örneklerden DNA ekstraksiyonu ve PCR ile amplifikasyon yeteneği moleküler yöntemlerin kullanışlılığını artırmaktadır. Teşhis ve patojen karakterizasyonunu, belirlemede PCR tabanlı yaklaşımlar ve dizi analizleri uygulanabilir. Ancak, patojenin patogenezi, epidemiyolojiyi, bulaşma yolları ve enfeksiyon kaynaklarını incelemek için sağlam, güvenilir ve hassas yöntemlere hala ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Microsporidia, Moleküler teknikler, Encephalitozoon türleri, *Enterocytozoon bieneusi*

YUVARLAK MASA 03 **3** ***13 Ekim 2021 – 13:30-14:30***

Microsporidia'larda Kültür Yöntemleri

Ülfet ÇETİNKAYA

Erciyes Üniversitesi, Halil Bayraktar Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, KAYSERİ

E-mail: ucetinkaya@erciyes.edu.tr

Microsporidialar birçok farklı türden canlıda enfeksiyon oluşturan konak hücre dışında aktif formu bulunmayan, tek hücreli, spor oluşturan patojenlerdir. Zorunlu hücre içi patojenleri olduklarından aksenik kültürleri yapılamamaktadır. Bu sunumda insanda enfeksiyon oluşturan ve sıklıkla karşılaşılan beş microsporidia türünün kültür yöntemlerine genel bir bakış amaçlandı. *In vitro* kültür sistemleri birçok çalışmada önemli bir temel oluşturmaktadır. Bu nedenle de parazitin kültürünü yapmak oldukça önemlidir. Microsporidia hücre kültürleri de patojeni tanımlama, çalışmalarda kullanılacak miktarda saf sporun elde edilmesi, enfeksiyon öncesi konak hücresine tutunması, enfeksiyon süreci, antimikrobiyal ajanların etkilerinin değerlendirilmesi gibi birçok değişik amaç için kullanılmaktadır.

İnsanı enfekte eden microsporidian parazitlerin hepsinin olmasa da bir kısmının hücre kültürü yapılabilmektedir. *Vittaforma corneae in vitro* olarak çoğaltılan ilk türdür. Sonraki yıllarda benzer yaklaşımlarla Encephalitozoon türlerinin de kültürleri yapılmıştır. Literatür incelemesi sonucunda bu dört türün birçok farklı memeli hücresinde kültürünün yapıldığı ve uzun süreli bu kültürlerin devam ettirildiği görülmektedir. Klinik olarak önemli türlerden biri olan *Enterocytozoon bieneusi*'nin ise farklı hücre hatlarında tekrarlanan denemelere rağmen uzun süreli kültürü yapılamamıştır.

Kültür steril örneklerden veya ticari olarak satılan standart suşlarla yapılacaksa hiç bir ön işlem yapılmadan uygun hücre hattına ekim yapılabilir ve standart hücre kültürü prosedürler uygulanabilir. Kültür ortamı ise seçilen hücre hattına göre belirlenir. Dışkı, idrar veya diğer enfekte dokular gibi çok miktarda mikroorganizma içeren örneklerden yapılacaksa farklı ajanlar ve mekanik yöntemlerle örnekte bulunan bakteri yoğunluğu azaltıldıktan sonra örnek uygun hücre hatlarına ekilir. Kültür ortamı ise klinik örnekte bulunabilecek diğer mikroorganizmaların üremesini engelleyecek ajanlarla zenginleştirilmelidir. Kültür ortamında Microsporidiaların gösterilebilmesi için yaklaşık on günlük bir süreye ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Microsporidia, Hücre kültürü, *Vittaforma corneae*, Encephalitozoon türleri, *Enterocytozoon bieneusi*

YUVARLAK MASA OTURUMU 04

Paraziter Enfeksiyonların Tanısında İnvaziv Olmayan Likit Biyopsi Yaklaşımı

Düzenleyen	**Ayşe CANER**
13 Ekim 2021	**16:00 – 17:00**
Eylem AKDUR ÖZTÜRK	**Likit biyopsi uygulamalarında biyobelirteç olarak vücut sıvılarındaki DNA'lar**
Serra ÖRSTEN	**Likit biyopsi uygulamalarında biyobelirteç olarak mikroRNA'lar**
İpek BAYSAL	**Likit biyopsi uygulamalarında biyobelirteç olarak ekzozomlar**

Likit Biyopsi Uygulamalarında Biyobelirteç Olarak Vücut Sıvılarındaki DNA'lar

Eylem AKDUR ÖZTÜRK

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, ADANA

E-posta: akdureylem@gmail.com

Son yıllarda giderek önem kazanan likid biyopsi yaklaşımının, paraziter enfeksiyonlar dahil pek çok hastalığın tanısında ve takibinde invaziv olmayan biyobelirteç kullanılmasına imkanı sunacağı bildirilmiştir. Likid biyopsi, geleneksel doku biyopsilerinin aksine kan, tükürük ve idrar gibi vücut sıvılarının örneklenmesi ve moleküler analizini ifade etmektedir. Bu yaklaşım vücut sıvılarındaki DNA, RNA, mikroRNA (miRNA) , proteinler, hücreler ve eksozomların analizine dayanmaktadır. Dolaşımdaki DNA'lar, likit biyopsi tekniğinin önemli materyallerinden biri olarak kabul edilmektedir. Dolaşımdaki DNA terimi esas olarak sağlıklı ve sağlıksız hücrelerden kan, balgam, idrar, beyin omurilik sıvısı gibi vücut sıvılarına salınan nükleer ve/veya mitokondriyal DNA'yı ifade etmektedir. Ayrıca, interstisyel boşluklarda DNA'nın bulunması, DNA'nın hücreler arası bir haberci olarak rol oynadığını göstermektedir. Sağlık alanında vücut sıvılarındaki DNA varlığının ya da miktarındaki değişimlerin gösterilmesinin; hastalıkların doğru tanısında ve terapötik yanıtların değerlendirilmesinde kullanılabildiği bildirilmiştir. Paraziter enfeksiyonlarda ise parazit ve konağın metabolik etkileşimi sonucu parazite ait DNA moleküllerinin konağın dolaşım sistemine salınabildiği bildiirlmiştir. Konak vücut sıvılarında DNA'nın saptanmasının, paraziter enfeksiyonlarda tanısında invaziv olmayan bir tanı aracı sağlayabileceği bildirilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda Plasmodium, Trypanosoma, Leishmania, Schistosoma ve Wuchereria spp gibi konağın dolaşım sistemi ile doğrudan temas halinde olan ve hücrelerini dolaşıma salan parazitlere ait DNA'lar konak vücut sıvılarında tespit edildiği gösterilmiştir. Dolaşımda bulunan DNA'ların yüksek oranda parçalanmış olmasından ve sıvı numunelerde düşük konsantrasyonda bulunmasından dolayı özellikle enfeksiyonların erken evrelerinde saptanmasının zor olduğu bildirilmiştir. Ancak son yıllarda moleküler yöntemlerdeki teknolojik gelişmeler, dolaşımdaki DNA analizini duyarlılık açısından daha da güçlendirmiştir. Dijital PCR (dPCR), mikroakışkan dPCR ve mikroakışkan damlacık dijital PCR (ddPCR), nükleik acia amplifikasyon testi(NAAT) dahil olmak üzere yeni hedeflenen prosedürlerin uygulanması, klinik numunelerde düşük konsantrasyondaki nükleik asit tespitine olanak sağlamaktadır. Dolaşımda bulunan DNA'lar genellikle endonükleazlar tarafından parçalanmakta ve oluşan sindirim ürünlerinin karaciğer ve böbrekte temizlenmektedir. Dolaşım sisteminde tanımlanan bu DNA parçalarının glomerüler bariyeri aşması nedeniyle idrarda da tespit edilebildiği gösterilmiştir. İnvaziv olmayan şekilde elde edilebilen idrar örneklerinden DNA araştırılmasının ağrısız, düşük maliyetli, daha güvenilir ve daha risksiz olduğu bildirilmiştir. Önceki yıllarda idrardan DNA varlığının araştırılmasında ağırlıklı olarak ürogenital sisteme yerleşen parazitlere odaklanılsa da yeni gelişen tekniklerle Plasmodium spp, Lesihmania spp, Trypanasoma spp.,T. solilum, Strongyloides stercoralis, Echinococcus granulosus, Facsiola gibi farklı doku ve organlara yerleşen parazitlere ait DNA'ların hastaların idrar örneklerinde tespit edildiği gösterilmiştir. Likit biyopsi materyali olarak tükürük kullanılmasının, invaziv olmayan teknikle materyale ulaşma ve örnekleme sırasında kişisel mahremiyet

sorunlarından kaçınma gibi avantajlar sağladığı bildirilmiştir. Ağız boşluğunda çok sayıda kılcal damar ağı bulunduğu ve endokrin sistemin bir parçası olarak birçok bileşenin kandan pasif difüzyon, aktif taşıma veya hücre dışı ultrafiltrasyon yoluyla tükürüğe geçtiği gösterilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda tükürük materyalinde Plasmodium spp, T. brucei, Toxoplasma gondii, S. japonicum gibi parazitlere ait biyobelirteçlerin varlığı gösterilmiştir. Serumda E. granulosus'a özgü DNA'yı saptamaya yönelik yapılan bir çalışmada ise yalnızca rüptüre hidatik kistleri olan hastaların serumunda E. granulosus' a ait DNA saptandığı bildirilmiştir. Bu çalışma serumda DNA tesptinin, rüptüre hidatik kistlerin doğrulamasında veya hastalığın tanısında yararlı olacağını düşündürmektedir. Tıbbi parazitoloji alanında, yeni gelişen moleküler tekniklerle birlikte tükürük, idrar, kan gibi invaziv olmayan klinik numunelerde parazite ait DNA'ların tespiti edilmesinin paraziter enfeksiyonların doğru tanısında ve takibinde faydalı olacağı bildirilmiştir. Bu konuda yapılan çalışmaların parazit-konak etkileşimlerinin temel biyolojisini anlamaya yönelik zengin bir parazit DNA dizi kütüphanesi oluşturacağı düşünülmektedir. Ayrıca likit biyopsi yaklaşımının, paraziter enfeksiyonlar için oluşturulacak kapsamlı kontrol ve eliminasyon programlarında numune toplama, işleme ve analizde kolaylık sağlayarak büyük ölçekli tarama programlarına imkan sunabileceği bildirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Likit biyopsi, Dolaşımdaki DNA, Paraziter enfeksiyon, tanı

YUVARLAK MASA 04 **2** ***13 Ekim 2021 – 16:00-17:00***

Likit Biyopsi Uygulamalarında Biyobelirteç Olarak mikroRNA'lar

Serra ÖRSTEN

Hacettepe Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, ANKARA

E-posta: serraorsten@gmail.com

Hastaların moleküler profili hakkında bilgi sağlayan ve günümüzde kullanımı yaygınlaşan, temeli genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik gibi "-omik" teknolojilere dayanan yöntemler tanı, prognoz ve tedavi etkinliğinin takibi için potansiyel biyobelirteç(ler)in varlığını araştırmak için güçlü araçlar olarak kabul edilmektedir. Spesifik hücre, doku veya gelişimsel evrelerde, gen ekspresyonu birçok mekanizma tarafından kontrol edilmektedir. MikroRNA'lar (miRNA), genom tarafından kodlanan, proteine dönüştürülmeyen küçük (21-25 nükleotid uzunluğunda) RNA molekülleridir. İlk miRNA kodlayan genler, Caenorhabditis elegans'da gelişimsel evrelerin zamanlamasını kontrol eden lin-4 ve let-7 genleri olarak tanımlanmıştır. Bilinen miRNA genlerinin çoğu birbirinden bağımsız eksprese olmakta ve protein kodlayan genlerin yaklaşık %30'unu kontrol ettikleri düşünülmektedir. miRNA genlerinin yaklaşık %50'si protein kodlayan genlerin intronlarında veya kodlamayan RNA transkriptleri içinde yer almaktadır. MiRNA'lar çoğunlukla özgül bir ifade profili sergilemektedir. Buna bağlı olarak, belirli biyolojik süreçler esnasında bazıları sürekli ifade edilirken bazıları sadece belirli zamanlarda ve/veya dokularda ifade edilmektedir. Memelilerde plazma, serum, idrar, tükürük ve semen gibi hücre dışı sıvılarda stabil olarak bulundukları bilinmekte olup, stabilitelerini tekrarlayan dondur-çöz işlemlerinden sonra ve uzun süreli dondurulmuş olarak saklanma sonrası dahi koruması birçok hastalığın tanı ve takibinde biyobelirteç olarak kullanımlarını gündeme getirmiştir. Belirli parazit enfeksiyonları (ör; Plasmodium spp. enfeksiyonları) sonrası da, konak miRNA ifade profilinin değiştiği gösterilmiştir. Bu sayede parazit enfeksiyonlarında kullanılabilecek miRNA profil farklılıklarının tespit edilmesi sonucu, tanı için biyobelirteç seçimi, hastalığın takibi veya potansiyel terapötik hedef olarak kullanım için kritik bilgi sağlayacaktır. Konak miRNA'larının yanı sıra parazitlere ait parazit-kaynaklı miRNA'larda biyobelirteç potansiyeli yüksek moleküller olarak düşünülmekte ve çalışılmaktadır. Sonuç olarak, invaziv işlemlere gerek kalmadan likit biyopsi uygulamaları ile gerek konak kaynaklı gerekse parazit kaynaklı miRNA'ların tespiti ve ölçümü, hastalıkların erken tanısı, izlemi ve takibinde değerli bir araç olarak değerlendirilmektedir.

Anahtar Kelimeler: biyobelirteç, miRNA, parazit enfesiyonu

YUVARLAK MASA 04 **3** ***13 Ekim 2021 – 16:00-17:00***

Likit Biyopsi Uygulamalarında Biyobelirteç Olarak Ekzozomlar

İpek BAYSAL

Hacettepe Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, ANKARA

E-posta: ipekbysl@gmail.com

Likit biyopsi, kan, idrar ve tükürük gibi biyo-akışkan örnekleri içeren ve hastaların bireysel moleküler profilinin çıkarılması ve hastalıkların yönetimi için invaziv olmayan güçlü ve güvenilir bir tanı yaklaşımıdır. Likit biyopsi, tümörler, metastatik bölgeler, mikroorganizmalar veya stresli/hasarlı hücrelerden biyolojik sıvılara karışan serbest DNA, RNA, miRNA proteinler, hücreler ve eksozomlardan oluşur. Eksozomlar, boyutları 30-150 nm arasında olan küçük hücre dışı veziküllerdir. Canlı hücrelerde ekzositoz yoluyla multiveziküler cisimler tarafından salgılanırlar ve nükleik asitler, proteinler ve lipidler gibi içerikleri nedeniyle hücreler arası iletişime katılabilirler. Eksozomların, tükürük, idrar ve kan gibi vücut sıvılarında tespit edilebilir olması, biyobelirteç olarak kullanım potansiyellerini öne çıkarmaktadır. Özellikle proteinler, DNA, mRNA, miRNA, lncRNA ve circRNA'yı içeren kargoları aracılığı ile çeşitli hastalıkların teşhisi, prognozun öngörülmesi ve terapötik etkinliğin değerlendirilmesi açısından çok büyük avantajlar sağlar. Bu şekilde, konak eksozomları içerisindeki parazit proteinlerinin tanımlanması, hastalığın oluşumunda rol oynayan olası molekülerin biyobelirteç olarak kullanılabilmesine olanak sağlayabilmektedir.
Sonuç olarak, eksozomlar immünomodülasyonda, nükleik asitlerin, proteinin ve enfeksiyöz ajanların taşınmasında ve patojenin hayatta kalmasında rol oynamaktadır. Özellikle, paraziter hastalıkların patogenezinde yalnızca parazit türevli eksozomlar değil, parazit enfeksiyonundan kaynaklı konak kaynaklı eksozomlar da yer almaktadır. Örnek olarak, yakın zamanda yapılan bir çalışmada kistik ekinokokozlu (KE) hastaların plazmasından potansiyel biyobelirteç olarak eksozomların analizleri yapılarak, aktif ve inaktif KE varlığında bağışıklık sisteminin tepkileri hakkında da bilgi sahibi olunmuştur. Sonuç olarak, eksozom gibi yapıların invaziv olmayan yöntemlerle elde edilen klinik örnekler kullanılarak tanımlanması, özellikle dokularda ve dolaşım sisteminde yerleşik parazitler için doğru teşhis ve kontrol açısından çok büyük bir öneme sahiptir.

Anahtar Kelimeler: Likit biyopsi, eksozom, paraziter enfeksiyon, tanı

YUVARLAK MASA OTURUMU 05

Aşı Geliştirme Süreci, Parazitoloji ve *Toxoplasma gondii - 1*

Düzenleyen

14 Ekim 2021 **15:00 – 16:30**

A. Yüksel GÜRÜZ	**Tarihin önemli kilometre taşı: AŞILAR**
Aysu DEĞİRMENCİ DÖŞKAYA	**Aşıda İmmünolojik Analizler**
Cemal ÜN	**Aşı Biliminde Biyoinformatiğin Rolü**
Sedef ERKUNT ALAK	**Genomdan başlayan antijen keşfi: Revers Vaksinoloji**
Ahmet KÖSEOĞLU	**Aşı Biliminde Docking Analizi**
Hüseyin CAN	**mRNA aşıları**

Tarihin önemli kilometre taşı: AŞILAR

Adnan Yüksel GÜRÜZ

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, İZMİR

E-posta: yüksel.guruz@ege.edu.tr

İnsan ve hayvanları, bulaşıcı hastalıklardan korumak amacıyla geliştirilen aşıların dünya tarihinde çok önemli bir yeri vardır. Modern aşıların başlangıcı olarak Edward Jenner'ın çalışması kabul görmektedir. Öncesinde Dr. Emanuel Timone (1713), Giacomo Pilarino (1716) Kraliyet Akademisine Türkiye'de uygulanan çiçek aşısıyla ilgili rapor yazmış olsalar da batı dünyasının aşıyla tanışması Leydi Mary Worthley Montagu'nun 1721'de İstanbul dönüşünde Dr. Charles Maitland aracılığıyla İngiltere'de variolasyon tekniğini uygulaması ile gerçekleşti. Hint ve Çin kaynaklarında 7. Yy kadar uzanan aşılama çalışmalarına ait yazıtlar olsa da daha güvenilir kayıtlar 16 ve 17.yy'a ait görünmektedir. Hayvancılık yapan Benjamin Jesty, süt sağan kişilerin sığır çiçeği ile karşılaştıktan sonra çiçek hastalığına yakalanmadıklarını gözlemlemesi sonucu karısına ve 2 çocuğuna, sığır çiçeği etkenini inoküle etmesiyle çiçek hastalığına karşı etkinliği kanıtlanmış ilk aşı olarak kayıtlara geçmiştir. 19.yy'a geldiğimizde Robert Koch, Louis Pasteur gibi bilim insanları aşıların etkinliğine katkı sağlamış, bu gelişme ile insanlara uygulanan kolera, şarbon ve kuduz aşıları tarihe başarı hikayesi olarak geçmiştir. Daniel Elmer Salmon ve Theobald Smith'in 1886'da canlı ve ölü aşı çalışmaları ile ivme kazanan bilim alanı, 19. Yy sonuna doğru Shibasaburo Kitasato, Alexandre Yersin, Albert Calmette, Amedee Borelle Waldemar Haffkine'in tifo, veba ve kolera ölü aşılarının geliştirmesine katkı sağlamıştır. Elie Metchnikoff serum ve plazmanın rolünü göz ardı ederek 1884' de açıkladığı sıvısal immünite teorisi ile 1908'e Paul Erlich ile Nobel ödülünü paylaşmıştır. Paul Erlich'in reseptör teorisi hiç şüphesiz ki aşı çalışmalarına çok ciddi bir katkı sağlamıştır. Toksin-Antitoksin, Antijen-Antikor ilişkilerinin anlaşılmasını kolaylaştıran teori daha geniş açılımlara uğramış ve Erlich aktif ve pasif immünite kavramının yerleşmesine zemin hazırlamıştır. 20.yy'a girildiğinde Jenner'in orijinal variola aşısı (canlı), Pasteur'ün kuduz aşısı (canlı), ve kolera, tifo ve veba (üçü de ölü) olmak üzere 5 aşı insanlara uygulanmaktaydı. Bu yüzyılın ilk yarısında difteri, tetanus, tbc (BCG), Sarı humma, influenza A, tifüs ve boğmaca aşıları birer birere kullanıma girmiş, 1948 yılına gelindiği ilk karma aşı (Difteri-Tetanus-Boğmaca) piyasaya sürülmüştü. Yirminci yüzyılın 2. yarısıyla aşının altın çağı başladığı söylenebilir. Hücre ve doku kültürlerinin çalışmalarda kullanılmasıyla insan virüsleri kolayca ve güvenle in vitro olarak çoğaltılmaya başlamıştır. İlk canlı Polio virüs aşısı 1950'de Hilary Koprowski tarafından insan uygulanmıştır. Jonas Salk formalin inaktive polio aşısına 1955' de lisans almış, aşıya bağlı polio olgularının görülmesi üzerine aşılama durdurulmuş, güvenlik testleri ve filtreleme konusunda çok ciddi adımlar atılmıştır. ABD'de hem Salk'ın ölü hem Sabin'in canlı polio aşıları 1963 yılına kadar kullanımda kalmış, 1964 polio sezonunda Amerikan Çocuk hekimleri enfeksiyon Hastalıkları Komitesi maymun böbreğinde üretilen Sabin'in canlı aşısının (OPV) kullanılmasını önermişlerdir. 1990'ların sonuna kadar ABD ve pek çok Avrupa ülkesi OPV kullanırken, İsveç, Finlandiya ve Hollanda ise (IPV=Inaktivated Polio Vaccine) tercih etmiş, OPV kullanan ülkelerde vahşi polio virüsü eredike edilmiş fakat aşıya bağlı polio görülmeye devam ettiği için, 2000 yılından itibaren de ABD'de, OPV kullanımını terk etmiştir. 1950'likerin sonuna doğru kızamık, 1960'ların başında adenovirüs, 1967'de kabakulak, 1970 kızamıkçık, yine 1970'lerde kullanılmaya başlayan canlı atenue Ok suşu Suçiçeği aşısının 1995' de lisans almasıyla 1 yaşın üzerindeki tüm sağlıklı bireylere uygulanması

önemli gelişmeler olarak aşı tarihinde yerini almıştır. Ayrıca hücre kültüründe üretilen kuduz dışında, kene kaynaklı ensefalit, tifo (salmonella Ty21a), Hepatit A, Rec Hepatit B yüzey Ag, Lyme, Plazma kaynaklı Hepatit B, *H. influenza* konjuge, *H. influenza* tip B polisakkarit, kolera (Rec Toksin B), Pneumokok polisakkarid, Meningokok polisakkarid şarbon (salgılanan protein) Tifo polisakkarid aşıları insanlarda kullanılmaya başlamıştır. 21.yy'a gelindiğinde 2003 yılında soğuğa adapte mutant (ca) canlı İnfluenza aşısı, 2005 Kuadrivalan Meningokok, 2006 yılında zona, rec HPV, oral pentavalan atenue rotavirüs aşısı lisans almıştır. İlk modern aşılama çalışmalarından günümüze suçiçeği, difteri, mevsimsel grip (influenza), Hepatit A ve B, Hib (*Haemophilus influenzae* tip b), kızamık, Menigokok enfeksiyonları, kabakulak, Pneumokok enfeksiyonları, polio, rotavirüs, kızamıkçık, HPV, zona, tetanus ve boğmaca aşılama ile önlenebilen hastalıklar arasındadır. COVID-19 pandemisiyle birlikte deneme aşamasında olan pek çok aşı platformu dünyayı saran kabusu ortadan kaldırmak için baş döndüren bir hıza kavuşmuştu. Çin hükümetinin virüs genomunu bilim dünyasıyla paylaşmasından 2 gün sonra Moderna mRNA aşısını hazırlamış, 63. günde de ilk gönüllü insana uygulamıştı. Yeni teknolojiler, bilgisayar programları ile daha önce onlarca yıl süren Ar-Ge süreci günlere, aylara inmiş durumda. Viral aşılar; tam virüs aşıları (inaktive veya canlı atenue), Protein aşıları (protein subunit veya VLP), viral vektör aşıları (insanda çoğalabilen/çoğalamayan viral vektörler) ve nükleik asit bazlı (RNA ve DNA) aşılar olmak üzere 4 farklı platformda gerçekleşmektedir. COVID-19 pandemisi sürecinde bugüne kadar bilinen tüm aşı platformlarında aşı üretimi için bilim dünyası milyarlarca USD kaynakla yüzlerce farklı içerikli aşı üretimine giriştiler. Son 2 yılda, aşıların 200 yıla yaklaşan geçmişindeki tüm bilgi birikimini günümüz teknolojisine aktararak 63 gün gibi kısa sürede aşı üretecek şekilde hız kazandı. Onlarca yıl süren aşamalar Pandemi koşullarının aciliyeti göz önüne alınarak yeniden tasarlandı. COVID-19 pandemisinin başlangıcından bugüne 114 aşı klinik, 185 aşı da preklinik evrededir. Bu aşılardan Klinik fazda olan aşıların dağılımı Protein subunit (39), insanda çoğalmayan viral vektör VVnr (17), DNA (11), İnaktif virüs IV (16), RNA (19), İnsanda çoğalabilen viral vektör VVr (2), Virüs Benzeri Parçacık VLP (5), VVr+Antijen Sunan Hücre (2), Canlı Atenüe Virüs LAV (2) ve VVnr+Antijen Sunan Hücre (1). Aşıların uygulama takviminleri de aşıların platformuna, formülasyonuna göre değişkenlik göstermektedir; 16 aşı tek doz, 74 aşı 2 doz (0-14. Günler 6 aşı, 0-21.günler 28 aşı, 0-28. Günler 40 aşı) bazı aşıların uygulama şemaları halen araştırılmaktadır. Üçüncü doz (rapel) uygulaması varyantlar nedeniyle gündemdedir. Aşıların uygulama yolları da oldukça farklılık göstermektedir. Klinik aşamadaki aşılardan 3'ü oral, 5'i subkutan, 4'ü intra dermal, 87'si intra musküler, 8'i intra nazal yoldan uygulanırken, 15 aşının hangi yoldan kullanılacağına karar verilememiştir. Bu klinik evredeki aşılardan bazıları FAZ 4 aşamasına geçmiş olup; İnaktif SARS-C0V-2 aşıları: Sinovac firmasının CoronoVac, Sinopharm firmasının BBIBV-CorV, VVnr aşıları: Oxford-AstraZeneca ortaklığının AZD1222 (Covishield, Vaxzevria), CanSino firmasının Adn5-nCov, Johnson&Johnson (Janssen) firmasının Ad26-COV2.S, RNA aşıları: Moderna firmasının mRNA-1273, Pfizer-BioNTech firmasının Comirnaty (BNT162b2), yine Moderna firmasının mRNA-1273.351 (B.1.351 varyant için) Klinik fazdaki aşılardan bazıları da birden çok ülkede erken, acil kullanım onayı almıştır; Diğer onay almış aşılar Moderna mRNA-1273, Gamelaya VVnr Ad26/Ad5 Sputnik V, Oxford/AstraZeneca VVnr ChAdOx1 nCoV-19/ AZD1222, Cansino Ad5, Johnson&Johnson (Janssen) firmasının Ad26-COV2.S, Vector Institute protein subunit aşı EpiVacCorona/Aurora-CoV, Sinopharm BBIBP-CorV, Sinovac CoronaVac, Sinopharm-Wuhan inaktif vİrüs aşısı, Bharat Biotech Covaxin (BBV152 A, B, C) 23 Ağustos 2021'de FDA Pfizer/BioNTech aşısına tam onay alan ilk ve tek aşıdır. Ege Üniversitesi adına ekibimizin preklinik çalışmalarını tamamlayıp klinik aşamaya hazır hale getirdiği DNA aşımız için çok yüksek bir beklenti içindeyiz. DNA aşıları veteriberlikte başarılı örneklere sahip olduğu halde beşeri tıpta ilk defa kullanılmaya başlamış, ve ilk çalışmaların sonucunda Hindistan ilk defa bir DNA aşısını insanlar için acil kullanım onayı ile devreye sokmuştur. Üç doz (0-28-56. günler) olarak uygulanan ZyCoV-D semptomatik hastalığı engellemekte %66 etkin bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Aşı, Tarih, Parazitoloji, COVID-19

YUVARLAK MASA 05 **2** ***14 Ekim 2021 – 15:00-16:30***

Aşıda İmmünolojik Analizler

Aysu DEĞİRMENCİ DÖŞKAYA

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, İZMİR
E-posta: aysu.degirmenci.doskaya@ege.edu.tr

Aşı aracılığı ile oluşturulan koruma oldukça karmaşıktır. Halen kullanılmakta olan klasikleşmiş pek çok aşı, bağışıklık sistemini nasıl harekete geçirdiği konusunda çok az veya hiç bilgi sahibi olunamadan, büyük ölçüde ampirik olarak geliştirilmiştir. Günümüzde ise bu konu ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmakta ve hatta aşı tasarımları ve yeni aşı modelleri, immun yanıt tarama çalışmaları doğrultusunda oluşturulmaktadır (1). Bir aşıya immun yanıt oluşabilmesi için öncelikle aşı antijeninin immun sistem tarafından "yabancı" olarak algılanması gerekir. Aşı antijeni ilk kez vücuda girdiğinde önce doğal immun sistemi harekete geçirir ve immun sistemin "yabancı" saydığı yapıyı algılamasına yarayan reseptörler aracılığıyla tanınır. Aşılama sonrası uyarılan antijen spesifik immun yanıt temelde humoral (salgısal) immun yanıt (B hücre yanıtı) ve hücresel immun yanıt (T hücre yanıtı) olarak iki şekilde gerçekleşmektedir. Aşılama sonrası vücuda verilen aşı antijenine özgü B ve T hücre yanıtları, dentritik hücreler başta olmak üzere antijen sunucu hücrelerin antijeni tanımaları ile başlar. Aşılama sonrası, aşı antijenleri serbest halde dolaşan dentritik hücreleri, makrofajları ve nötrofilleri olay bölgesine çekerler. Aşı antijeni yabancı olarak algılanır, sonrasında da makrofajlar ve dentritik hücreler aktive olur. Sonrasında dentritik hücrelerin yüzey reseptörlerinde değişiklik olur ve lenf düğümlerine göç ederler. Lenf düğümlerinde T ve B lenfositlerin aktivasyonu gerçekleşir. B hücreleri, ikincil lenf dokulara gelen aşı antijenleri ile uyarılmış aktive dentritik hücrelerden salgılanan sitokinler veya diffüzyon yoluyla B hücrelerine ulaşan aşı antijenleri ile uyarılmaktadır. Tekrarlanan antijen olmadığı ve canlı aşılar kullanılmadığı sürece aşı antikor yanıtları zamanla koruyucu seviyenin altına düşer. İlk aşılamadan sonra T hücreler yardımı ile bellek B hücreleri oluşur. Bellek B hücreleri, tekrar antijenle karşılaşıp antikor üreten plazma hücrelerine farklılaşana kadar antikor üretemezler. İkinci aşılama sonrası reaksiyon, ilk aşılamada oluşan bağışık yanıttan çok daha hızlı bir şekilde gerçekleşir. T hücre yanıtları aktive dentritik hücrelerin yardımı ile B hücre yanıtlarına paralel olarak gelişir. Polisakkarit aşılar dışında tüm aşılar CD4+ T hücre yanıtını uyarırlar. Th1 ve Th2 hücreler, B hücre veya CD8+ T hücre farklılaşmasını destekler. Ayrıca canlı aşılar, enfekte hücrelerin öldürülmesinde görevli CD8+ T hücre yanıtını direkt olarak uyarır (2,3). Aşı geliştirme sürecinde, aşının immunojenik etkinliğini saptamak için pek çok analiz gerçekleştirilir. İmmünojenisite çalışmaları, aşılanan hayvanlardaki immün yanıtı (humoral veya hücresel immün yanıt) değerlendirmektedir. Oluşan immün yanıta bağlı olarak bu tür çalışmaların, aşılanan hayvanlarda serokonversiyon oranlarını, antikor titrelerinin geometrik ortalamalarını ve hücresel immün yanıtın değerlendirmesini içermesi beklenir. Mümkün olan durumlarda koruyucu etkiyi oluşturan fonksiyonel immün yanıtı (ör. nötralize edici antikorlar) da içeren ilgili immun yanıtlar değerlendirilmektedir. B hücre yanıtının belirlenmesinde en çok kullanılan testler; serum nötralizan antikor testi, total IgG yanında IgG1 ve IgG2a gibi alt grup yanıtlarının belirlenmesi için yapılan ELISA ve Western blot testleridir. T hücre yanıtının belirlenmesinde en sık kullanılan testler ise; ELISPOT-Florospot, Flow sitometri intraselüler IFN-gama ve IL-4 yanıtının belirlenmesi, ELISA ile ekstraselüler IFN-gamma ve IL-4 yanıtlarının belirlenmesi, MHC-Tetramer

testleri ve Luminex gibi testlerdir. Bunun dışında hayvan modellerinin uygunluğunu doğrulamak ve aşı adayının koruyucu etkisini araştırmak için ilgili enfeksiyöz ajan ile koruyucu etkililik (challenge) çalışmalarının gerçekleştirilmesi de beklenir. Bu tür çalışmalardan elde edilen verilerin yorumlanmasında, hayvan modelinin insanlardaki hastalığa ve bağışıklık tepkisine ne kadar benzediği belirlenmektedirl (3,4,5). Parazitler özelinde immun mekanizmalara bakılacak olursa, hücre içi parazitlere karşı ağırlıklı olarak Th1, CD8+ T hücreler ve makrofajlar, hücre dışı parazitlere karşı ise Th2 ve antikor yanıtları etkin görünmektedir. Sestod ve nematod enfeksiyonlarında IgE ve mast hücreleri etkin rol oynamaktadır.

Konuya *Toxoplasma gondii* özelinde bakılacak olur ise, gastointestinal yol ile bulaşta IgA tepkisi gözlenir. *T. gondii*'ye karşı hem humoral hem de hücresel immun yanıt gözlenmektedir. Ancak koruyucu bağışıklık en iyi IFN-gamma salgılayan CD8+ T hücre ile ilişkili yanıtta gözlenmiştir. Bunun yanında tümör nekroz faktör alfa bağışık yanıtta önemli sitokinlerden birisidir (3). *T. gondii*'ye karşı geliştirilmeye çalışılan aşı çalışmalarına bakılacak olursa çalışma grubumuzun yaptığı bir çalışmada *T. gondii*'ye karşı geliştirilen aşı antijenin oluşturduğu hücresel ve humoral immun yanıt ELISA, Western Blot, MTT, flow sitometri yöntemleri ile araştırılmaktadır (6). Çalışma grubumuzun yaptığı *T. gondii* aşı adayı olabilecek yeni antijenik proteinlerin keşfi ile ilgili bir başka çalışmada da farelerde ELISA ile IgG ve IgM düzeylerine bakılmış ve proteinlerin immujenitesi değerlendirilerek bir aşı modelinde kullanılabileceği yönünde sonuçlar alınmıştır (7).

Kaynaklar:

1. Plotkin's Vaccines, Stanley Plotkin Walter Orenstein Paul Offit Kathryn M. Edwards Hardcover ISBN: 9780323357616 eBook ISBN: 9780323393010 Published Date: 7th April 2017. https://www.who.int/immunization/documents/Elsevier_Vaccine_immunology.pdf.
2. Furman D, Davis MM. New approaches to understanding the immune response to vaccination and infection. Vaccine, 2015 sep 29; 33(40):5271-81. Doi:10.1016/j.vaccine.2015.06.117.
3. Immunology Infection and Immunity, Gerald B. Pier, Jeffrey B. Lyczak, Lee M. Wetzler, First published:8 April 2004, Print ISBN:9781119739555 Online ISBN:9781683672111 DOI:10.1128/9781555816148.
4. T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Beşeri Aşıların Klinik Dışı Değerlendirilmesine İlişkin Klavuz https://titck.gov.tr/storage/Archive/2020/announcement/BeeriAlarnKlinikDDeerlendirilmesinelikinKlavuz_8b89348c-f0f0-45d4-b4d3-ab98b40fde0a.pdf.
5. Smith TRF, Patel A, Ramos S, Elwood D, Zhu X, Yan J, et all. Immunogenicity of a DNA vaccine candidate for COVID-19. Nat Commun. 2020 May 20;11(1):2601. doi: 10.1038/s41467-020-16505-0.
6. Karakavuk M, Can H, Gül A, Döşkaya AD, Alak SE, Ün C, et al. GRA8 DNA vaccine formulations protect against chronic toxoplasmosis. Microb Pathog. 2021;158.
7. Döşkaya M, Liang L, Jain A, Can H, Gülçe İz S, Felgner PL, Değirmenci Döşkaya A, Davies DH, Gürüz AY. Discovery of new Toxoplasma gondii antigenic proteins using a high throughput protein microarray approach screening sera of murine model infected orally with oocysts and tissue cysts. Parasit Vectors. 2018, 11(1):393. doi: 10.1186/s13071-018-2934-1.

Anahtar Kelimeler: Aşı geliştirme, immünolojik analiz, parazit aşıları, *Toxoplasma gondii*

YUVARLAK MASA 05 **3** ***14 Ekim 2021 – 15:00-16:30***

Aşı Biliminde Biyoinformatiğin Rolü

Cemal ÜN

Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji AD, İZMİR

E-posta: cemaluen@gmail.com

Aşılama insan ve diğer hayvanların hayatlarını korumak ve sağlıklı yaşamalarını sağlamak için patojenler ve sebep oldukları enfeksiyon hastalıkları ile mücadelede en önemli yöntemdir. Aşı çalışmaları ilk başta konvansiyonel yöntemler ile gerçekleştirilirken ardından rekombinant DNA teknolojisinin gelişmesiyle birlikte hız kazanmıştır. Genom sekanslama teknolojisinin gelişmesi ile birlikte biyoinformatik yöntemlerin uygulanmaya başlanması ile revers vaksinoloji olarak adlandırılan ve belli bir patojene yönelik genoma dayalı aşı tasarımını sağlayan çok daha hızlı ve hedef patojene spesifik yeni nesil aşı çalışmalarına geçilmiştir. Aşı tasarımına yönelik ilk biyoinformatik yöntemlerin 1980'li yıllarda gelişmesiyle birlikte içlerinden en öne çıkanı MHC-I ve II moleküllerinin bağlandığı lineer yapıdaki T hücre epitop tahmin algoritmalarıdır. Daha sonraki yıllar benzer şekilde lineer ve konformasyonel B hücre epitoplarını da tahmin etmeye yönelik algoritmalara dayalı programlar geliştirilmiş olup tüm bu süreçler biyoinformatiğin bir alt dalı olan immünoinformatik alanının konusunu oluşturmaktadır. Genoma dayalı aşı tasarımı olarak da bilinen revers vaksinolojinin temelini ise immünoinformatik analizler oluşturmakla birlikte bu analizler sonucunda ilk olarak belirli bir patojene ait genom taranır ve potansiyel aşı adayı proteinler tahmin edilir. Ardından bu proteinlerin daha ileri in silico yöntemlerle analiz edilmesi sonucunda, kodon kullanım eğilimleri, fizikokimyasal parametreleri, antijenite, allerjenite ve toksisite gibi özellikleri tahmin edilir. Daha sonra söz konusu patojene yönelik proteinde hücresel ve hümoral immüniteyi uyarabilecek epitop bölgeleri tahmin edilir. Son olarak da öne çıkan epitoplar moleküler docking analizleri ile immün sistem reseptörleri ile etkileşime girme açısından test edilir. Sonuç olarak biyoinformatik yöntemlerin kullanılması ile genoma dayalı aşı çalışmaları hızlı ve spesifik aşı tasarımını sağlaması ve hayvan testlerine bağımlılığı azaltması nedenleriyle konvansiyonel aşı geliştirme çalışmalarına göre çok daha avantajlı olup aşı biliminde gittikçe önemli bir rol oynamaya başlamıştır.

Anahtar Kelimeler: Aşı bilimi, biyoinformatik, revers vaksinoloji, immünoinformatik

YUVARLAK MASA 05 **4** ***14 Ekim 2021 – 15:00-16:30***

Genomdan başlayan antijen keşfi: Revers Vaksinoloji

Sedef ERKUNT ALAK

Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji AD, İZMİR

E-mail: erkuntsedef@gmail.com

Revers vaksinoloji, genom bilgisi kullanılarak antijen keşfedilmesini sağlayan bir aşı geliştirme yöntemidir. Rino Rappuoli tarafından tanımlanan revers vaksinoloji (1) in silico yöntemler kullanılarak aşı geliştirmeye genom temelli bir yaklaşımı temsil etmektedir. Bu yöntem, tüm genom sekans (WGS) çalışmalarının başlamasıyla birlikte (2), genom sekansı bulunan organizmaların geleneksel yaklaşımdan farklı olarak kültüre edilmesine gerek olmadan, biyonformatik araçlarla analiz edilerek, potansiyel tüm antijenlerinin tanımlanmasını sağlamaktadır (3). Revers vaksinoloji, ilk olarak çocuklarda ve genç erişkinlerde sepsis ve menenjitin başlıca nedeni olan serogrup B *Neisseria meningitidis*'e (MenB) karşı bir aşı geliştirmek için kullanılmıştır. Tam MenB genomu, patojen yüzeyinde bulunan veya salgılanan proteinleri kodlayan gen bölgelerini bulmak amacıyla biyoinformatik araçlarla analiz edilmiştir. Yaklaşık 600 yeni aşı adayının 350'si *E. coli*'de eksprese edilmiş ve 28'inin koruyucu bağışıklığı oluşturduğu bulunmuştur. MenB'de, son 40 yılda geleneksel yöntemlerle keşfedilenden daha fazla aşı adayı 18 aydan kısa sürede belirlenmiştir (4). Revers vaksinoloji iş akış şeması, (**i**) aşı geliştirilecek patojenin genom/proteome sekansının elde edilmesini, (**ii**) genom sekansından karşılaştırma analizleriyle proteinlerinin belirlenmesini, (**iii**) proteinlerin fizikokimyasal özelliklerinin, yapısal özelliklerinin, posttranslasyonel modifikasyonlarının, antijenisite, alerjenisite, çözünürlük, lokalizasyon, transmembran heliks, sinyal peptit özelliklerinin, konakçı proteinleriyle benzerliklerinin, BetaWrap motiflerinin, B ve T hücre epitoplarının in silico analizlerle belirlenmesini ve (**iv**) aday epitopların docking analizle bağlanma özelliklerinin belirlenmesini içermektedir (5,6). Aşı adayı olabilecek proteinlerin fizikokimyasal özellikleri analiz edildiğinde, proteinin stabil olması, çevredeki su molekülleri ile daha iyi etkileşim gösteren negatif bir hidropatinin ortalaması (GRAVY) değerinin olması ve geniş bir sıcaklık spektrumunda kararlı olduğunu gösteren orta derecede bir alifatik indekse sahip olması gerekmektedir (7). İkincil yapıları analiz edilen proteinlerin alfa heliks miktarı, alfa heliksin proteinin yapısını koruyabilmesi ve antijen ile antikor arasında güçlü bir ilişkiye neden olabilmesi nedeniyle önemlidir (8). Posttranslasyonel modifikasyonlar (PTM), aşı adayı belirlenmesindeki diğer önemli parametrelerden biridir. PTM'nin aşı adayına uygun ekspresyon vektörünün seçiminde önemli olmasının (9) yanı sıra, polisakkaritlerin B-hücresi aktivasyonu için bir ilk sinyal olarak hizmet edebileceği bilindiğinden, N- ve O- glikozilasyon profilinin belirlenmesi önem taşımaktadır (10,11,12). Diğer yandan, proteinin antijenik özellikte olması, alerjenik özellik göstermemesi ve çözünebilir yapıda olması gerekmektedir. Sinyal peptit varlığı (salgı proteini) ve proteinin hücre içinde lokalize olduğu yer (hücre zarı veya sitoplazma) ise aşı adaylarının belirlenmesini sağlayan diğer parametrelerdir. Ek olarak, BetaWrap motifler virülans faktör olduğundan, motifi olan proteinler aday protein potansiyeli taşımaktadırlar (13). Bir diğer parametre olan transmembrane heliks sayısı 1'den fazla olduğu zaman, proteinin ekspresyon ve saflaştırma işlemleri zor olduğundan, bu proteinler aday olarak tercih edilmemektedirler (14). Aşı adayı olacak proteinlerin bahsedilen analizlerden iyi sonuçlar almasının yanı sıra, konakçı proteinleriyle benzerlik

göstermemesi de oldukça önemlidir. Olası benzerliklerin konakçıda otoimmuniteyi tetikleyebilecek olması, benzerlik gösteren proteinlerin seçilmemesi gerektiğini göstermektedir (5). Bu analizlere ek olarak, B ve T hücre epitop analizi, sadece spesifik olarak aşı geliştirme amacıyla epitopları tanımlamak için değil, ayrıca bir proteinin antijenikliğine dair daha fazla kanıt sağlamak için de önemlidir (6). Bu analizler sonucunda belirlenen aday epitopların in silico validasyonunu gerçekleştirmek amacıyla MHC alelleri ile docking analiz gerçekleştirilmekte ve düşük bağlanma enerjisine sahip epitoplar daha güçlü bağlanmayı ortaya koyduğundan, aşı adayı olarak seçilmektedirler (13). Sonuç olarak, in silico analizlerle potansiyel aşı adaylarının belirlenmesi, geleneksel aşı yöntemlerine göre hızlı ve daha az maliyetle aşı üretimini sağlamakta ve yeni nesil aşı geliştirme yöntemleri açısından oldukça önem taşımaktadır.

Kaynaklar

1. Rappuoli R. Reverse vaccinology. Curr Opin Microbiol. 2000;3: 445–450
2. Fleischmann RD, Adams MD, White O, Clayton RA, Kirkness EF, Kerlavage AR, Bult CJ, Tomb JF, Dougherty BA, Merrick JM. Science. 1995 Jul 28; 269(5223):496-512.
3. Moxon R, Reche PA and Rappuoli R. Editorial: Reverse Vaccinology. Front. Immunol. 10:2776. doi: 10.3389/fimmu.2019.02776
4. Pizza M, Scarlato V, Masignani V, Giuliani MM, Aricò B, Comanducci M, et al. Science. 2000 Mar 10; 287(5459):1816-20.
5. Dangi M, Kumari R, Singh B, Chhillar AK. Advanced in silico tools for designing of antigenic epitope as potential vaccine candidates against coronavirus. In Bioinformatics: Sequences, Structures, Phylogeny (ed. Shanker, A.) 2018. 329–357
6. Goodswen SJ, Kennedy PJ, Ellis JTA. Guide to in silico vaccine discovery for eukaryotic pathogens. Brief. Bioinform. 2013; 14(6), 753–774.
7. Can H, Alak SE, Köseoğlu AE, Döşkaya M, Ün C. Do Toxoplasma gondii apicoplast proteins have antigenic potential? An in silico study. Computational biology and chemistry, 2020; 84, 107158.
8. Shaddel M, Ebrahimi M, Tabandeh MR. Bioinformatics analysis of single and multi-hybrid epitopes of GRA-1, GRA-4, GRA-6 and GRA-7 proteins to improve DNA vaccine design against Toxoplasma gondii. J Parasit Dis 2018;42, 269–276.
9. Hansson M, Nygren PAK, Sta˚ hl S. Design and production of recombinant subunit vaccines. Biotechnology and applied biochemistry, 2000;32(2), 95-107.
10. Maritz-Olivier C, van Zyl W, Stutzer C. A systematic, functional genomics, and reverse vaccinology approach to the identification of vaccine candidates in the cattle tick, Rhipicephalus microplus. Ticks and tick-borne diseases, 2012;3(3), 179-187.
11. Can H, Köseoğlu AE, Alak SE, Güvendi M, Döşkaya M, Karakavuk M, et al. In silico discovery of antigenic proteins and epitopes of SARS-CoV-2 for the development of a vaccine or a diagnostic approach for COVID-19. Scientific reports, 2020;10(1), 1-16.
12. Karakavuk M., Can H, Gül A, Döşkaya AD, Alak SE, Ün C, et al. GRA8 DNA vaccine formulations protect against chronic toxoplasmosis. Microbial Pathogenesis, 2021;158, 105016.
13. Şahar EA, CanH, İz SG, Döşkaya AD, Kalantari-Dehaghi M, Deveci R, et al. Development of a hexavalent recombinant protein vaccine adjuvanted with Montanide ISA 50 V and determination of its protective efficacy against acute toxoplasmosis. BMC Infectious Diseases, 2020;20(1), 1-16.
14. Meunier M, Guyard-Nicodème M, Hirchaud E, Parra A, Chemaly M, Dory D. Identification of Novel Vaccine Candidates against Campylobacter through Reverse Vaccinology. Journal of immunology research, 2016, 5715790

Anahtar Kelimeler: Ters aşılama, in silico analiz, aşı geliştirme, antijen

YUVARLAK MASA 05 **5** ***14 Ekim 2021 – 15:00-16:30***

Aşı Biliminde Docking Analizi

Ahmet KÖSEOĞLU

Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji AD, İZMİR

E-posta: ahmetefekoseoglu@hotmail.com

Moleküler docking birçok olası konformasyon ve oryantasyonu değerlendirerek iki makromolekülün enerji minimizasyonu üzerinden etkileşiminin tahminini sağlayan in silico bir tekniktir. Hedef protein molekülü ile DNA, RNA, lipid, karbonhidrat, ilaç molekülü, protein ve peptit gibi çok çeşitli ligand moleküller arasında docking analizi yapılabilmektedir. Docking analizi özellikle ilaç ve aşı geliştirme çalışmalarında gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Aşı çalışmalarında protein-peptit ve protein-protein docking analizleri gerçekleştirilmektedir. Moleküler docking analizi için gerekli olan protein ve peptit moleküllerine ait 3D (3 boyutlu) yapı modelleri protein data bank (PDB) üzerinden indirilebilmekte ya da moleküler modelleme ile oluşturulabilmektedir. Moleküler modellemede homoloji (kalıba bağlı) modelleme, ab initio (kalıptan bağımsız) modelleme ve katlanma (fold) tanıma modellemesi olmak üzere 3 temel yaklaşım uygulanmaktadır. Proteinlerin modellenmesinde en büyük problem protein katlanma biçiminin tahmin edilmesidir. Bu problemi çözmek için modelleme algoritmaları gittikçe makina öğrenme ve yapay zekaya dayanmaya başlamış ve bu yıl Google DeepMind yapay zekasının algoritması olan AlphaFold 2 NMR (Nükleer manyetik rezonans) spektroskopisi ve X ışını kristalografisi gibi deneysel yöntemlerle oluşturulmuş protein yapılarının çok benzerini tamamen moleküler modelleme ile oluşturabilmiştir. Protein modelleme ve moleküler docking analizleri için sırasıyla I-TASSER ve ClusPro sunucuları çok yaygın olarak kullanılmaktadır. I-TASSER sunucusu amino asit dizilerinden proteinlerin 3D yapı ve işlevlerinin tahmininde katlanma (fold) tanıma modellemesine dayalı hiyerarşik bir yaklaşım kullanmaktadır. ClusPro sunucusu ise protein-protein ya da protein-peptit etkileşimini tahmin etmeye yönelik yaygın olarak kullanılan ağ tabanlı bir moleküler docking sunucusudur. Revers vaksinoloji ve immünoinformatik yaklaşımlarıyla gerçekleştirilen aşı çalışmalarında moleküler docking analizinin çok çeşitli uygulama alanları vardır. Bu uygulama alanları tahmin edilen aşı adayı epitopların MHC reseptörleri ile etkileşimini ve tasarlanan aşı antijenlerinin TLR (Toll benzeri reseptör) gibi immün sistem reseptörleri ile etkileşimini doğrulamayı sağlamaktadır. Tüm bu uygulamaların aşının etkinliğini önceden ön görebilmemiz ve böylelikle en uygun epitoplara dayalı aşı antijenlerini seçebilmemiz gibi faydaları vardır. Sonuç olarak docking analizi hedefe yönelik ve etkili aşı antijenlerinin kısa zamanda keşfini ve etkinliğinin önceden test edilebilmesini sağladığından aşı çalışmalarında gittikçe önem kazanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Moleküler docking, protein modelleme, epitop, aşı antijen tasarımı

YUVARLAK MASA 05 **6** ***14 Ekim 2021 – 15:00-16:30***

mRNA aşıları

Hüseyin CAN

Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji AD, İZMİR

E-posta: huseyin.can@ege.edu.tr

mRNA aşısı, hedeflenen antijeni kodlayabilen in vitro olarak üretilmiş mRNA'ların kullanıldığı rekombinant aşı yaklaşımlarından biridir. In vitro mRNA üretiminin nispeten basit ve hızlı olması, mRNA'ların bulaşıcı veya konak genomuna entegrasyon olasılığının olmaması ve hücre içinde belirli bir süre sonunda parçalanması gibi özellikleri sebebiyle mRNA aşılarının diğer rekombinant aşı yaklaşımlarına göre bazı avantajları bulunmaktadır. Sentetik bir mRNA yapısı incelendiğinde dört önemli kısım bulunduğu görülmektedir. Bu kısımlar mRNA'nın 5′ ucundan 3′ ucuna doğru 5′ başlık, açık okuma çerçevesinin her iki yanında bulunan UTR'lar (translasyona uğramayan bölge), ilgili antijeni kodlayacak olan açık okuma çerçevesi (ORF) ve poly A kuyruktan oluşmaktadır. mRNA tasarımı sırasında modifiye edilmiş 5′ başlık kullanımı, α ya da β globin UTR sekanslarının kullanımı, 64-150 nükleotit uzunluğunda poly A kuyruk eklenmesi ve üridin yerine pseudoüridin kullanımı sayesinde mRNA ekspresyon seviyesi ve stabilitesi artırılmış, aşı yan etkisi olarak kabul edilen aşırı inflamatuvar yanıt oluşumunun önüne geçilmiştir. Diğer taraftan mRNA'ların hücre içine taşınmasında genellikle lipit nanopartiküller gibi bir taşıyıcı sistem kullanılarak hem hücre içine alınım potansiyelleri artırılmış hem de hücreler arası alanda mRNA parçalanmasının önüne geçilmiştir. mRNA aşılarının gelişim sürecindeki ilk çalışmalardan birisi influenza virüsüne karşı 1993 yılında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada antijen olarak nükleoprotein kodlayan mRNA'lar kolesterol/fosfatidilkolin/fosfatidilserin içerisinde subkütanöz ya da intravenöz olarak uygulanmıştır. Sonuç olarak uygulanan antijene spesifik sitotoksik T hücre yanıt geliştiği rapor edilmiştir. Diğer çalışma iki yıl sonra gerçekleştirilmiş olup karsinoembriyonik antijen (CEA) kodlayan mRNA'ların her angi bir taşıyıcı sistem ile birleştirilmeden haftada 2 kere kas içine uygulanması sonucunda antijene spesifik antikor yanıt geliştiği gösterilmiştir. İlk klinik çalışma olarak kabul edilen çalışma ise 2007 yılında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada lüsiferaz kodlayan mRNA'lar insan uygulamalarına uygun olarak üretildikten sonra deri altına verilmiş ve uygulama sonrası 1-2 saat içerisinde enjeksiyon bölgesinden alınan biyopsi örneklerinde lüsiferaz aktivitesi gösterilmiştir. Devam eden yıllarda gönüllü arama aşamasında olan, devam eden ya da tamamlanmış cilt, böbrek, prostat, akciğer, beyin ve meme kanseri gibi farklı kanser türlerine karşı mRNA aşısı geliştirmeyi hedefleyen çok sayıda klinik çalışma gerçekleştirilmiştir. Kanser çalışmalarına ek olarak HIV yanında kuduz, zika ve influenza virüslerine karşı mRNA aşısı geliştirilmesi ile ilgili klinik çalışmalar bulunmaktadır. Bunun yanında, faz çalışmaları başarılı bir şekilde tamamlanan Pfizer-BioNTech'in COVID-19'a karşı geliştirdiği mRNA aşısı FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)'den tam onay alan ilk COVID-19 aşısı olmuştur. COVID-19'a karşı geliştirilmiş bir diğer mRNA aşısı da Moderna tarafından geliştirilmiş olup FDA'dan acil kullanım izni almıştır. Sonuç olarak insanlarda güvenilir bir şekilde kullanılabileceği gösterilmiş olan mRNA aşılarının kanser yanında önemli parazit hastalıklarının da dahil olduğu bulaşıcı hastalıklara karşı aşı geliştirilmesinde de kullanılabileceği görülmektedir.

Kaynaklar

1. Kwon H, Kim M, Seo Y, Moon YS, Lee HJ, Lee K, Lee H. Emergence of synthetic mRNA: In vitro synthesis of mRNA and its applications in regenerative medicine. Biomaterials. 2018 Feb;156:172-193. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.11.034.
2. Pascolo S. Synthetic Messenger RNA-Based Vaccines: from Scorn to Hype. Viruses. 2021 Feb 9;13(2):270. doi: 10.3390/v13020270.
3. Pardi N, Hogan MJ, Porter FW, Weissman D. mRNA vaccines - a new era in vaccinology. Nat Rev Drug Discov. 2018 Apr;17(4):261-279. doi: 10.1038/nrd.2017.243.
4. Bloom K, van den Berg F, Arbuthnot P. Self-amplifying RNA vaccines for infectious diseases. Gene Ther. 2021 Apr;28(3-4):117-129. doi: 10.1038/s41434-020-00204-y.

Anahtar Kelimeler: mRNA aşıları

YUVARLAK MASA OTURUMU 06

Aşı Geliştirme Süreci, Parazitoloji ve *Toxoplasma gondii* - 2

Düzenleyen

14 Ekim 2021 **17:00 – 18:30**

Muhammet KARAKAVUK	**DNA Aşıları**
Aytül GÜL	**Rekombinant Protein bazlı aşıların Dünü, Bugünü ve Geleceği**
Mert DÖŞKAYA	**Parazitolojide Aşı**
Ceren GÜL	***Toxoplasma gondii*'ye karşı DNA aşı yaklaşımı**
Tuğba KARAKAVUK	***Toxoplasma gondii*'ye Karşı rekombinant protein aşı yaklaşımı**
Gülbuse TURAN	***Toxoplasma gondii* aşı çalışmalarında yenilikçi CRISPR yaklaşımı**

YUVARLAK MASA 06 **1** ***14 Ekim 2021 – 17:00-18:30***

DNA Aşıları

Muhammet KARAKAVUK[1,2]

[1]Department of Ege Üniversitesi Ödemiş Meslek Yüksekokulu, İZMİR
[2]Ege Üniversitesi Aşı Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi, İZMİR
E-mail: mkarakavuk@gmail.com

DNA aşıları, hedef olan antijenik gen bölgesinin uygun bir vektör sistem içerisine yerleştirilerek elde edilmektedir. Antijen-vektör kompleksi konak hücre içerisine girerek antijenik proteini sentezlemektedir. DNA aşıları CD8 ve CD4 hücre yanıtını yüksek düzeyde uyararak daha etkin koruma meydana getirebilmektedir. Bunun yanında üretiminin kolay olması, düşük maliyetli olması ve düşük miktarlarda kullanılabilmesi diğer avantajlarıdır (1). Farelerde yüksek immun yanıt uyarabilen DNA aşılarının diğer hayvanlarda ve insanlarda yeterli düzeyde immun yanıt uyaramaması en önemli dezavantajıdır. Bu sorunu ortadan kaldırmak amacıyla burun içi, göz mukozası, periton içi, gen tabancası, mikro iğne, elektroporasyon ve hava ile püskürtme gibi yöntemler ile immun yanıtın yüksek düzeyde uyarılması hedeflenmektedir. Ayrıca, DNA aşıları IL-12 gibi sitokinler, nano-partikül, mikropartiküller gibi adjuvanlantlar ile birleştirilerek immun yanıt güçlendirilmektedir (2) DNA aşı teknolojisi günden güne gelişerek insanlar ve insanlar tarafından tüketilecek hayvanlara uygulanabilmektedir. DNA aşı vektörlerinden Pvax-1 isimli plazmit FDA (U.S. Food and Drug Administration) tarafından onaylanmıştır (Thermofisher, USA). İlk ticari DNA aşısı olan ve tavuklara uygulanan H5N1 kuş gribi DNA aşısı 2017 yılında piyasaya girmiştir (Agrilabs, USA). Bunun dışında atların Batı Nil virüsü, somon balıklarının bulaşıcı hemopoetik nekroz hastalığı ve pankreas hastalığı, köpeklerde melenoma hastalıklarına karşı geliştirilen DNA aşıları lisanslanmıştır (2). Ayrıca 2021 yılında COVİD-19 hastalığına karşı ZyCoV-D adlı DNA aşısı ilk kez insanlara uygulanması için acil kullanım onayı almıştır (3). DNA aşılarının araştırılması, uygulanması ve kullanılmasında çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Öncelikle DNA aşısı tasarlanmasında antijen seçiminin yapılması gerekmektedir. Bu amaçla öncelikle biyoinformatik yöntemler kullanılarak antijen analizi yapılmalı ve ıslak laboratuvar çalışmalarıyla desteklenmelidir. Örneğin daha önce çalışma grubumuzun yaptığı araştırmalarda T. gondii' ye ait antijenik proteinler microarray yöntemi ile belirlenmiştir (4–6). Uygun bulunan antijenik proteine ait gen bölgesi PCR ile çoğaltılarak uygun vektöre klonlanmaktadır. Klonlama sonrasında kompotent hücrelere (E. coli, Maya hücreler veya Memeli hücrelerine transforme edilerek. Elde edilen plazmitler saflaştırılarak hedef canlıya uygulanmaktadır. Antijenin oluşturduğu hücresel ve humoral immun yanıt ELİSA, Western Blot, MTT, flow sitometri yöntemleri ile araştırılmaktadır (7).

Kaynaklar

1. Hiszczyńska-Sawicka E, Li H, Xu JB, Oledzka G, Kur J, Bickerstaffe R, et al. Comparison of immune response in sheep immunized with DNA vaccine encoding Toxoplasma gondii GRA7 antigen in different adjuvant formulations. Exp Parasitol. 2010;124(4):365–72.
2. Jazayeri SD, Poh CL. Recent advances in delivery of veterinary DNA vaccines against avian pathogens. Vet Res [Internet]. 2019;50(1):1–13. Available from: https://doi.org/10.1186/s13567-019-0698-z

3. ZyCoV-D becomes world's first plasmid DNA vaccine for COVID-19 [Internet]. 2021. Available from: https://www.europeanpharmaceuticalreview.com/news/160968/zycov-d-becomes-worlds-first-plasmid-dna-vaccine-for-covid-19/
4. Felgner J, Juarez S, Hung C, Liang L, Jain A, Döşkaya M, et al. Identification of Toxoplasma gondii antigens associated with different types of infection by serum antibody profiling. Parasitology. 2015;142(6):827–38.
5. Liang L, Döşkaya M, Juarez S, Caner A, Jasinskas A, Tan X, et al. Identification of potential serodiagnostic and subunit vaccine antigens by antibody profiling of toxoplasmosis cases in Turkey. Mol Cell Proteomics. 2011;10(7):1–17.
6. Döşkaya M, Caner A, Can H, Iz SG, Gedik Y, Döşkaya AD, et al. Diagnostic value of a Rec-ELISA Using toxoplasma gondii recombinant SporoSAG, BAG1, and GRA1 proteins in murine models infected orally with tissue cysts and oocysts. PLoS One. 2014;9(9):1–7.
7. Karakavuk M, Can H, Gül A, Döşkaya AD, Alak SE, Ün C, et al. GRA8 DNA vaccine formulations protect against chronic toxoplasmosis. Microb Pathog. 2021;158(March).

Anahtar Kelimeler: Aşı teknolojisi, Biyoteknolojik aşılar, DNA aşıları

Rekombinant Protein bazlı aşıların Dünü, Bugünü ve Geleceği

Aytül GÜL[1,2]

[1]Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü, İZMİR;
[2]Ege Üniversitesi, Aşı Geliştirme, Araştırma ve Uygulama Merkezi, İZMİR

E-mail: aytul.gul89@gmail.com

Aşılar, yüzyıllardır insanları bulaşıcı hastalıklara karşı koruyan en etkili ve uygun maliyetli araçlardır. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, aşılama ile her yıl tahmini 2-3 milyon ölüm önlenmektedir [1]. Rekombinant protein bazlı aşılar, rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak üretilen aşı platformu teknolojisidir. Bu teknoloji, bağışıklık tepkisini uyaran bir antijeni kodlayan DNA'nın bakteri, maya, böcek veya memeli hücrelerine aktarılmasını, bu hücrelerde eksprese edilmesini ve saflaştırılmasını içerir [2].

Rekombinant protein aşılarının (meningokok serogrup B enfeksiyon aşıları: Trumenba® (Pfizer), ve Bexsero® (GSK)) üretiminde bakteriyel ekspresyon sistemleri, kullanım kolaylığı ve yüksek düzeyde ifade kapasiteleri nedeniyle en çok kullanılır [3]. Fakat bakteri ekspresyon sistemleri glikosilasyon gibi bağışıklık tepkisinin doğasını ve aşının işlevselliğini etkileyebilen post translasyonel modifikasyonları (PTM'leri) sağlamaz. PTM'ler ayrıca proteinin çözünürlük ve stabilite gibi özelliklerini etkiler ve bu nedenle doğru katlanma ve disülfid bağı oluşumunu doğrulamak çok önemlidir [4]. Mayalar da bakteriyel ekspresyon sistemleri gibi hızlı büyürler ve genetik olarak manipüle edilmeleri kolaydır. Bakteriyel sistemlerden farklı olarak, mayalar rekombinant proteinleri hücre dışı salgılayabilir, bu da üretilen proteinin saflaştırma sürecini daha basit ve daha az maliyetli hale getirir. Mayalar belirli PTM'leri gerçekleştirerek sıklıkla rekombinant proteinin uygun şekilde katlanmasını sağlayabilir [5]. Günümüzde lisanslı Engerix-B® (GSK) ve Recombivax HB® (Merck) gibi hepatit B aşıları ve Gardasil® (Merck) gibi insan papiloma virüs aşıları mayalarda üretilmektedir [6,7]. Böcek hücreleri, bakteri ve maya ekspresyon sistemleri ile karşılaştırıldığında, gerekli büyüme ortamı daha maliyetlidir ve hücre büyüme hızı daha yavaştır. Böcek hücrelerinde ifade edilen rekombinant protein aşıları (Cervarix®GSK ve Flublok®) genellikle iyi katlanır, çözünür formda ve sıklıkla istenen PTM'leri içerir [8]. Fakat bu sistem hiperglikosilasyona neden olmamasına rağmen, N-glikosilasyonu daha yüksek ökaryotlarınkine eşdeğer değildir. Bu nedenle, rekombinant bir proteinin işlevini sürdürmek için karmaşık glikanlar gerekiyorsa memeli hücreleri tercih edilmelidir [9]. Memeli hücre kültürü ekspresyon sistemleri daha maliyetli olmasına rağmen, doğal yapıları ve PTM'leri ile büyük ve kompleks rekombinant proteinleri eksprese etme yeteneğine sahiptir. Bu benzersiz özellikleri nedeniyle son zamanlarda onaylanmış rekombinant biyolojiklerin çoğunluğu memeli hücrelerinde üretilmektedir [10-12]. Bu alanda en iyi örnek Shingrix® (GSK) herpes zoster aşısıdır, Çin hamster yumurtalık (CHO) hücreleri tarafından üretilmektedir [13].

Rekombinant protein bazlı aşılar zayıf bir bağışıklık tepkisi ortaya çıkarır. Bağışıklık tepkisini artırmak ve antijen dozunun korunmasına izin vermek için çoğu protein bazlı aşı, adjuvanlarla kombinasyon halinde formüle edilir [1, 14]. Klinik denemelerde test edilen rekombinant protein aşı formülasyonlarında kullanılan adjuvanlar; alum, MF59, AS03, CpG 1018, matrix M/IscoMatrix ve advax'dır [4].

1546'dan günümüze virüsler ve bakteriler hastalık etkeni olarak bilinmektedir ve bu patojenlere karşı ilk aşıların geliştirilmesinden (1796 ve 1800'ler) 250 yıl geçmiştir. Buna karşılık, şiddetli ve ölümcül bir protozoan hastalığı olan sıtma, MÖ beşinci yüzyıldan beri bilinmektedir ve aradan 2500 yıl geçmesine rağmen, sıtma için henüz herhangi bir insan aşısı ruhsatlandırılmamıştır [15]. Plasmodium falciparum genomunun dizilenmesi, sıtma aşısının tasarımı için umut vaat etmektedir. Bununla birlikte, 40 yıllık araştırma ve klinik denemelerden sonra, Faz III deneme aşamasına yalnızca füzyon eritrosit öncesi aşısı (RTS, S; hepatit B yüzey antijenine kaynaşmış CPS merkezi tekrarı ve ASO1 adjuvanı) ulaşmıştır [16]. Sıtma aşısı geliştirilmesinde 5400 antijen tanımlanmış olmasına rağmen, koruyucu bağışıklığı indükleyenler hala belirsizliğini korumaktadır [17]. Günümüzde, parazitlere karşı etkili antijenlerin belirlenmesi ve rekombinant protein bazlı aşıların geliştirilmesi dikkat çekmektedir [18]. RTS, S aşısının sonuçları göz önüne alındığında, muhtemelen tek bir adjuvan, gerekli olan tüm koruyucu bağışıklık tepkilerini ortaya çıkarma yeteneğine sahip değildir ve parazit aşı bilimi ilerledikçe kombinasyon adjuvanlarının kullanımı giderek daha önemli olacaktır [19].

Bu nedenle, rekombinant protein aşı geliştirmeye yönelik yeni yaklaşımlar, yapı bazlı immünojen tasarımı ve güçlü adjuvanlarla rekombinant antijenlerin formülasyonunu içerir [20]. Rekombinant protein bazlı aşılar, gelecekte parazitlerin kontrolü için en iyi alternatif yöntemlerden biri olabilir.

Anahtar Kelimeler: Aşı, rekombinant protein, protein ekspresyon sistemleri, adjuvantlar, parazit aşıları.

Kaynaklar

1. [1] Teixeira, A. F., Fernandes, L. G., Cavenague, M. F., Takahashi, M. B., Santos, J. C., Passalia, F. J., ... & Nascimento, A. L. (2019). Adjuvanted leptospiral vaccines: Challenges and future development of new leptospirosis vaccines. Vaccine, 37(30), 3961-3973. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.05.087
2. [2] Puetz, J., & Wurm, F. M. (2019). Recombinant proteins for industrial versus pharmaceutical purposes: a review of process and pricing. Processes, 7(8), 476. https://doi.org/10.3390/pr7080476
3. [3] Toneatto, D., Pizza, M., Masignani, V., & Rappuoli, R. (2017). Emerging experience with meningococcal serogroup B protein vaccines. Expert review of vaccines, 16(5), 433-451. https://doi.org/10.1080/14760584.2017.1308828
4. [4] Pollet, J., Chen, W. H., & Strych, U. (2021). Recombinant protein vaccines, a proven approach against coronavirus pandemics. Advanced Drug Delivery Reviews, 170, 71-82. https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.01.001
5. [5] Nielsen, K. H. (2014). Protein expression-yeast. Methods in enzymology, 536, 133-147. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420070-8.00012-X
6. [6] Nascimento, I. P., & Leite, L. C. C. (2012). Recombinant vaccines and the development of new vaccine strategies. Brazilian journal of medical and biological research, 45, 1102-1111. https://doi.org/10.1590/S0100-879X2012007500142
7. [7] Cox, M. M. (2012). Recombinant protein vaccines produced in insect cells. Vaccine, 30(10), 1759-1766. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.01.016
8. [8] Cox, M. M., & Hollister, J. R. (2009). FluBlok, a next generation influenza vaccine manufactured in insect cells. Biologicals, 37(3), 182-189. https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2009.02.014
9. [9] Shi, X., & Jarvis, D. L. (2007). Protein N-glycosylation in the baculovirus-insect cell system. Current drug targets, 8(10), 1116-1125. https://doi.org/10.2174/138945007782151360
10. [10] Hansson M, Nygren PA, Stahl S. (2000). Design and production of recombinant subunit vaccines. Biotechnol Appl Biochem. 32((Part 2)):95–107. https://doi.org/10.1042/BA20000034
11. [11] Clark TG, Cassidy-Hanley D. (2005) Recombinant subunit vaccines: potentials and constraints. Dev Biol.121:153–163. PMID: 15962478
12. [12] Tripathi, N. K., & Shrivastava, A. (2019). Recent developments in bioprocessing of recombinant proteins: expression hosts and process development. Frontiers in bioengineering and biotechnology, 7, 420. https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00420
13. [13] Syed, Y. Y. (2018). Recombinant zoster vaccine (Shingrix®): a review in herpes zoster. Drugs & aging, 35(12), 1031-1040. https://doi.org/10.1007/s40266-018-0603-x
14. [14] Soler, E., & Houdebine, L. M. (2007). Preparation of recombinant vaccines. Biotechnology annual review, 13, 65-94. https://doi.org/10.1016/S1387-2656(07)13004-0
15. [15] Palatnik-de-Sousa, C. B., & Nico, D. (2020). The delay in the licensing of protozoal vaccines: a comparative history. Frontiers in immunology, 11, 204. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00204

16. [16] Ouattara A, Laurens MB. (2015). Vaccines against malaria. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 60:930–6. https://doi.org/10.1093/cid/ciu954
17. [17] Tuju J, Kamuyu G, Murungi LM, Osier FHA. (2017). Vaccine candidate discovery for the next generation of malaria vaccines. Immunology.152, 195-206. https://doi.org/10.1111/imm.12780
18. [18] Lage, D. P., Ribeiro, P. A., Dias, D. S., Mendonça, D. V., Ramos, F. F., Carvalho, L. M., ... & Christodoulides, M. (2020). A candidate vaccine for human visceral leishmaniasis based on a specific T cell epitope-containing chimeric protein protects mice against Leishmania infantum infection. npj Vaccines, 5(1), 1-13. https://doi.org/10.1038/s41541-020-00224-0
19. [19] Pirahmadi, S., Zakeri, S., Djadid, N. D., & Mehrizi, A. A. (2021). A review of combination adjuvants for malaria vaccines: a promising approach for vaccine development. International Journal for Parasitology.51(9), 699-717. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2021.01.006
20. [20] Mascola, J. R., & Fauci, A. S. (2020). Novel vaccine technologies for the 21st century. Nature Reviews Immunology, 20(2), 87-88. https://doi.org/10.1038/s41577-019-0243-3

Parazitolojide Aşı

Mert DÖŞKAYA

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, İZMİR
E-mail: mert.doskaya@ege.edu.tr

Dünyanın gelişmekte olan ülkelerinde paraziter hastalıklar insanlarda morbidite ve mortalitenin başlıca nedenleridir. "Neglected" yani ihmal edilmiş enfeksiyöz hastalıkların 11 tanesinin sebebi protozoan ve helmint parazitlerdir (1). Bunların içinde sıtma, leishmaniasis, çengelli solucan enfeksiyonları ve schistosomiasis önemli hastalık etkeni olup bu hastalıklara karşı etkin bir aşı henüz geliştirilememiştir. Bunun başlıca sebepleri arasında parazitlerin kompleks yapıları ve konak immun yanıtına uyguladıkları manipülasyonlar yanında bu hastalıkların dünyanın daha çok gelişmemiş ülkelerinde görülmesinden dolayı olduğu düşünülebilir. Parazitlerin konak immun sistemi üzerinde oluşturduğu manipülasyonlar hastalığın kronikleşmesi ve parazitin konak ile birlikte yaşamasını sağlarken parazitinde çevreye ve diğer konaklara bulaşmasını hızlandırmaktadır. Bu bağlamda paraziter aşıların konak immun sistemini doğal enfeksiyonlarla oluşan yanıta göre daha kuvvetli veya farklı yollardan uyarması gerekmektedir. Bu durum var olan aşıların hedefi olan patojene karşı oluşan immun yanıtın benzerini uyarma stratejisi ile de uyuşmamaktadır (1). Global önemi olan paraziter hastalıklardan sıtma, leishmaniasis, çengelli solucan enfeksiyonları ve schistosomiasis'e karşı ciddi aşı çalışmaları uzun yıllardır devam etmektedir. Bu çalışmalar pre-klinik seviyeden klinik çalışma seviyesine kadar değişken oranlardadır. Sıtma hastalığına karşı etkinliği düşük RTS,S adlı rekombinant protein aşısı bulunmaktadır. Bunun yanında ülkemiz için önem arz eden toksoplasmosiz, kist hidatik ve paraziter hastalıklar içinde önemli sayıda preklinik aşamada bulunan aşı çalışması literatürde mevcuttur. Yukarıda belirtildiği gibi konak immun sistemi taklik eden bir immun yanıt sadece paraziti durdurabilir lakin parazitin konak vücudunda barınmasını önlemek için immun yanıtın konakta oluşandan daha kuvvetli uyarılması gerekmektedir. Parazitin kendisinin kullanıldığı inaktif veya atenüe aşılar ile bu gerçekleştirilebilir gözükmemekle birlikte Plasmodium falciparum'un sporozoitlerinin irradiye edilerek atenue edildiği çalışmada damar içinden (>600.000 adet) verilmesi ile sıtmaya karşı tam korunma sağlanabilmiştir (2). Bu bağlamda DNA, mRNA, rekombinant protein, adenoviral DNA aşıları gibi paraziter biyoteknolojik aşılar ön plana çıkmaktadır. Paraziter biyoteknolojik aşıların geliştirilmesinde dar boğazlardan birisi antijen seçimi olup, bu seçim aşamasının in siliko analizler, in vitrro ve in vivo immun yanıt tarama aşamalarını içermesi gerekmektedir (2). Ayrıca parazitler ökaryötik olduğundan antijen üretimi sırasında seçilmiş antijenin glikozillenmesi, disülfit bağları, fosfat bağları gibi post-translasyonel modifikasyon özellikleri iyice incelenmelidir. Bu inceleme sonrası antijenin eksprese edilmesi planlanan organizma seçilmelidir (3-5).

Anahtar Kelimeler: Parazit, aşı, parazitoloji

Kaynaklar

1. Vaccines Against Parasites. Chapter 17. The Vaccine Book (Second Edition). 2016, Pages 331-360

2. Seder RA, Chang LJ, Enama ME, Zephir KL, Sarwar UN, Gordon IJ, Holman LA, James ER, Billingsley PF, Gunasekera A, Richman A, Chakravarty S, Manoj A, Velmurugan S, Li M, Ruben AJ, Li T, Eappen AG, Stafford RE, Plummer SH, Hendel CS, Novik L, Costner PJ, Mendoza FH, Saunders JG, Nason MC, Richardson JH, Murphy J, Davidson SA, Richie TL, Sedegah M, Sutamihardja A, Fahle GA, Lyke KE, Laurens MB, Roederer M, Tewari K, Epstein JE, Sim BK, Ledgerwood JE, Graham BS, Hoffman SL; VRC 312 Study Team. Protection against malaria by intravenous immunization with a nonreplicating sporozoite vaccine. Science. 2013 Sep 20;341(6152):1359-65.
3. Can H, Köseoğlu AE, Erkunt Alak S, Güvendi M, Döşkaya M, Karakavuk M, Gürüz AY, Ün C. In silico discovery of antigenic proteins and epitopes of SARS-CoV-2 for the development of a vaccine or a diagnostic approach for COVID-19. Sci Rep. 2020 Dec 28;10(1):22387.
4. Karakavuk M, Can H, Gül A, Döşkaya AD, Alak SE, Ün C, Gürüz AY, Döşkaya M. GRA8 DNA vaccine formulations protect against chronic toxoplasmosis. Microb Pathog. 2021 Sep;158:105016.
5. Şahar EA, Can H, İz SG, Döşkaya AD, Kalantari-Dehaghi M, Deveci R, Gürüz AY, Döşkaya M. Development of a hexavalent recombinant protein vaccine adjuvanted with Montanide ISA 50 V and determination of its protective efficacy against acute toxoplasmosis. BMC Infect Dis. 2020 Jul 10;20(1):493.

YUVARLAK MASA 06 **4** ***14 Ekim 2021 – 17:00-18:30***

Toxoplasma gondii'ye karşı DNA aşı yaklaşımı

Ceren GÜL

Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji AD., İZMİR

E-mail: cerengul.4296@gmail.com

Dünya nüfusunun üçte birini enfekte ettiği düşünülen Toxoplasma gondii (T. gondii) zorunlu hücre içi Apicomplexan bir parazittir (1). Kesin konağı kedi ve kedigiller olan ve tüm sıcakkanlı hayvanları enfekte edebilen bu parazitin yaşam döngüsünde takizoit, bradizoit ve sporozoit olmak üzere üç farklı enfektif form yer almaktadır (2). Su kaynaklarını, toprağı ve ekinleri kontamine eden sporüle ookistlerin yutulması veya kontamine çiğ veya az pişmiş etlerin tüketimi iki ana bulaş yolunu oluşturmaktadır (3). Koyunlarda düşüklere ve ölü doğumlara sebep olan bu parazit büyük bir ekonomik kayıba yol açmaktadır ve bu kaybın önüne geçmek için koyunlarda kullanılmak üzere ticari olarak temin edilebilen yalnızca bir aşı (Toxovax®, MSD Hayvan sağlığı) mevcuttur (4, 5). T. gondii'nin neden olduğu enfeksiyon olan toksoplazmoz immünokompetan kişilerde genellikle asemptomatik seyrederken bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde, hamile kadınlarda ve fetusta ciddi komplikasyonlara neden olabilmektedir (6). Takizoitlerin neden olduğu akut enfeksiyonun tedavisinde pirimetamin ve sülfadiazin kombinasyonu kullanılmasının yanı sıra klindamisin, atovakuon, klaritromisin veya azitromisin ile kombine primetamin veya trimetoprim-sülfametoksazol ya da atovakuon ile monoterapi gibi farklı rejimler mevcut olsa da henüz T. gondii'ye karşı %100 etkili bir ilaç bulunmaması sebebiyle insanlarda koruyucu bağışıklığı sağlayabilecek güvenli bir aşıya ihtiyaç duyulmaktadır (7, 1). Hem hücresel hem de humoral immün yanıtı indükleyebilen DNA aşıları patojene ait olan hedef antijeni içeren bakteriyel plazmitlerden oluşmakta ve inaktive edilmiş patojenleri veya canlı zayıflatılmış patojenleri içermediğinden virulan forma geri dönüş riski taşımamaktadır (8, 9). Toksoplazmoz tedavisinde kullanılacak ideal bir aşının hastalık patogenezini kontrol etmek ve doku kistlerinin gelişmesini önlemek için Th1 (T helper 1) tipi bağışıklık tepkisini indüklemek adına yeterince immünojenik olması gerekmektedir ve DNA aşıları genellikle enfeksiyonu sınırlamak için artan enflamatuar sitokinler IFN-y (gamma interferon) ve IL-2 (interleukin 2) üretimi ile gelişmiş bir Th1 tepkisi oluşturmaktadır (10). 90'lı yıllardan günümüze kadar T. gondii'ye ait farklı antijenik bölgeleler ve adjuvantlar kullanılarak hazırlanmış birçok DNA aşısı farklı aşılama yolları kullanarak preklinik çalışmalarını tamamlamış olsa da parazite karşı %100 koruyucu olan bir aşı henüz bulunmamaktadır (11-16). Dünya'da olduğu gibi ülkemizde de T. gondii'ye karşı DNA aşı çalışmaları yapılmıştır. Döşkaya ve arkadaşlarının 2007 yılında yapmış olduğu çalışmada kodon optimize GRA1 (yoğun granül proteini 1) kodlayan plazmid DNA aşısının vahşi tipe göre daha iyi koruma sağladığı, İz vd. tarafından 2014 yılında yapılan çalışamada Bcl-xL (B-cell lymphoma-extra large) adjuvantı ile birlikte SporoSAG (sporozoit spesifik yüzey proteini) kodlayan plazmid DNA aşısının immün yanıtta uyarılma sağladığı belirlenmiştir (17, 18). 2019 yılında Karakavuk vd. tarafından yapılan bir çalışmada ise adjuvant olarak lipozom ve CpG (metillenmemiş deoxycytosine-deoxyguanosine) kullanılan GRA8 (yoğun granül proteini 8) kodlayan plazmid DNA aşısının immün yanıtta uyarılma aynı zamanda koruma zamanında uzama sağladığı belirlenmiştir (19). Hızlı formülasyon, büyük ölçekli üretim ve izolasyon, uygun maaliyet, raf ömrünün uzun olması ve geleneksel aşılardan daha termostabil olması sebebiyle taşıma

ve depolamanın daha kolay olduğu DNA aşıları toksoplazmoza karşı umut vaad eden bir aşı platformudur (20).

Anahtar Kelimeler: Toxoplasma gondii, Toxoplasmosis, DNA aşıları

Kaynaklar

1. Loh FK, Nathan S, Chow SC, Fang, CM. Vaccination challenges and strategies against long-lived Toxoplasma gondii. Vaccine 2019, 37(30): 3989-4000.
2. Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of Toxoplasma gondii tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. Clinical microbiology reviews 1998, 11(2): 267-299.
3. Milne G, Webster JP, Walker M. Toxoplasma gondii: an underestimated threat?. Trends in parasitology 2020, 36(12): 959-969.
4. Dubey JP. The history of Toxoplasma gondii—the first 100 years. Journal of eukaryotic microbiology 2008, 55(6): 467-475.
5. Buxton D and Innes EA. A commercial vaccine for ovine toxoplasmosis. Parasitology 1995, 110(S1): S11-S16.
6. Foroutan M, Ghaffarifar F, Sharifi Z, Dalimi A. Vaccination with a novel multi-epitope ROP8 DNA vaccine against acute Toxoplasma gondii infection induces strong B and T cell responses in mice. Comparative immunology, microbiology and infectious diseases 2020, 69: 101413.
7. Dunay IR, Gajurel K, Dhakal R, Liesenfeld O, Montoya JG. Treatment of toxoplasmosis: historical perspective, animal models, and current clinical practice. Clinical microbiology reviews 2018, 31(4): e00057-17.
8. Sefidi-Heris Y, Jahangiri A, Mokhtarzadeh A, Shahbazi MA, Khalili S, Baradaran B, et al. Recent progress in the design of DNA vaccines against tuberculosis. Drug Discovery Today 2020, 25(11): 1971-1987.
9. Coban C, Koyama S, Takeshita F, Akira S, Ishii K J. Molecular and cellular mechanisms of DNA vaccines. Human vaccines 2008, 4(6): 453-457.
10. Lim SSY and Othman RY. Recent advances in Toxoplasma gondii immunotherapeutics. The Korean journal of parasitology 2014, 52(6): 581.
11. Nielsen HV, Lauemøller SL, Christiansen L, Buus S, Fomsgaard A, Petersen E. Complete protection against lethal Toxoplasma gondii infection in mice immunized with a plasmid encoding theSAG1 gene. Infection and Immunity 1999; 67(12): 6358-6363.
12. Vercammen M, Scorza T, Huygen K, De Braekeleer J, Diet R, Jacobs D, et al. DNA vaccination with genes Encoding Toxoplasma gondii antigens GRA1, GRA7, and ROP2 induces partially protective immunity against lethal challenge in mice. Infection and Immunity 2000; 68(1): 38-45.
13. Mohamed RM, Aosai F, Chen M, Mun HS, Norose K, Belal US, et al. Induction of protective immunity by DNA vaccination with Toxoplasma gondii HSP70, HSP30 and SAG1 genes. Vaccine 2003; 21(21-22): 2852-2861.
14. Cong H, Yuan Q, Zhao Q, Zhao L, Yin H, Zhou H, et al. Comparative efficacy of a multi-epitope DNA vaccine via intranasal, peroral, and intramuscular delivery against lethal Toxoplasma gondii infection in mice. Parasites & vectors 2014; 7(1): 1-8.
15. Song P, He S, Zhou A, Lv G, Guo J, Zhou J et al. Vaccination with toxofilin DNA in combination with an alum-monophosphoryl lipid A mixed adjuvant induces significant protective immunity against Toxoplasma gondii. BMC infectious diseases 2017; 17(1): 1-11.
16. Arcon N, Picchio MS, Fenoy IM, Moretta RE, Soto AS, Sibilia MDP, et al. Synergistic effect of GRA7 and profilin proteins in vaccination against chronic Toxoplasma gondii infection. Vaccine 2021; 39(6): 933-942.
17. Döşkaya M, Kalantari-Dehaghi M, Walsh CM, Hiszczyńska-Sawicka E, Davies DH, Felgner PL, et al. GRA1 protein vaccine confers better immune response compared to codon-optimized GRA1 DNA vaccine. Vaccine 2007; 25(10): 1824-1837.
18. İz SG, Döşkaya M, Caner A, Döşkaya AD, Rodriguez F, Gürüz Y, Gürhan SİD. A novel dual promoter DNA vaccine induces CD8+ response against toxoplasma gondii sporozoite specific surface protein "sporoSAG" through non-apoptotic cells. Trials in Vaccinology 2014; 3: 81-88.
19. Karakavuk M, Can H, Gül A, Döşkaya AD, Alak SE, Ün C, et al. GRA8 DNA vaccine formulations protect against chronic toxoplasmosis. Microbial Pathogenesis 2021, 158: 105016.
20. Eusébio D, Neves AR, Costa D, Biswas S, Alves G, Cui Z, Sousa Â. Methods to improve the immunogenicity of plasmid DNA vaccines. Drug Discovery Today 2021, doi: https://doi.org/10.1016/j.drudis.2021.06.008.

Toxoplasma gondii'ye Karşı rekombinant protein aşı yaklaşımı

Tuğba KARAKAVUK

Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji AD., İZMİR
E-mail: karakavuk.t@gmail.com

Toxoplasma gondii, insan dahil tüm sıcakkanlı canlıları enfekte edebilen kesin konakları kedigiller olan geniş bir ara konak aralığına sahip hücre içi parazittir (1). Toksoplazmoz, dünya genelinde yaygın olarak görülen önemli bir hastalıktır. Hastalık, immun sistemi sağlam bireylerde asemptomatik olarak gözlenirken AIDS'li hastalar, kanser hastaları ve organ nakli alıcıları gibi immun sistemi baskılanmış bireylerde ise hayatı tehdit eden semptomlara ve ölüme neden olabilmektedir (2). İnsanlarda ve hayvanlarda ciddi sağlık sorunları oluşturan parazite yönelik günümüzde koyunlardaki ölü doğumları önlemeye yönelik ticari Toxovax (MSD Hayvan Sağlığı) aşısı bulunmaktadır. Ancak, insanlarda kullanımı olmayan yalnızca koyunlarda kullanılan bu aşının canlı zayıflatılmış bir aşı olması nedeniyle patojenik suşlara dönüşme ihtimalinin yüksek olması ve raf ömrünün kısa olması aşının kullanımı zorlaştırmaktadır. Yeni nesil aşıların güvenli olmaları, saklama koşullarının kolay olması ve konakçı genomuna entegrasyon riskinin düşük olması gibi pek çok özellik aşılara olan ihtiyacı ön plana çıkarmaktadır (3). Son yıllarda Biyoteknoloji, Moleküler Biyoloji, İmmunoloji ve Protein Mühendisliğindeki gelişmelerle birlikte aşı çalışmaları hız kazanmıştır. Özellikle yeni nesil aşı çalışmalarında yapılan antijen keşifleri, üretimde patojene ait herhangi bir materyalin kullanılmamasıyla virülent suşlara dönüş risklerinin olmaması ve çeşitli ekspresyon sistemlerinin kullanım avantajları rekombinant protein aşılarının önemini arttırmaktadır (4). Rekombinant protein aşılarının üretiminde kullanılan ekspresyon sistemlerinin (bakteri, maya, böcek, bitki ve memeli) manipülasyonlarının kolay olması, hızlı ve çok miktarda ürün elde edilebilirliği gibi pek çok avantaj bulunmaktadır. Bakteriyel ekspresyon sistemleri düşük maliyetli olmaları ve kolay üretilmeleri nedeniyle en çok tercih edilen sistemlerdir. Üretilmek istenilen ürünün translasyon sonrası modifikasyon gerekliliği ve hücre içi ekspresyon seviyeleri gibi pek çok özelliğe bağlı olarak maya, bitki, memeli ve böcek ekspresyon sistemlerinin kullanımıda oldukça yaygındır (5). Bunların yanında, proteinlerin hücrede kısa zamanda proteolitik bozunuma uğramaları, protein katlanmalarının doğru şekilde gerçekleşmeme riski ve tek başlarına güçlü immun oluşturamamaları gibi dezavantajlarıda bulunmaktadır (6). Ancak gelişen teknolojiyle birlikte özellikle adjuvan kullanımı ve kombine üretim strajilerinin kullanımıyla bu zorluklar aşılmaya çalışılmaktadır. Geçmişte, insanlarda ciddi klinik sorunlara neden olan Hepatit B Virüsüne (HBV) yönelik yapılan rekombinant protein aşısında Alum adjuvanı kullanılarak maya hücrelerinde (*Saccharomyces cerevisiae*) protein ekspresyonu gerçekleştirilmiştir. İnsan papilloma virüsüne (HPV) yönelik yapılan diğer bir aşıda ise Alum bazlı bir adjuvan olan AS04 adjuvanı kullanılmış maya ve böcek hücrelerinde protein ekspresyonları sağlanarak rekombinant protein aşısı geliştirilmiştir (7,8). Günümüzde de *T. gondii*'ye yönelik rekombinant protein aşılarının üretiminde çeşitli üretim stratejileri kullanılmaktadır. Parazite ait yüksek antijenik gen bölgelerinin seçilmesi, gen düzeyinde yapılan manipülasyonlar ve doğru ekspresyon sistemlerinin seçimi aşı çalışmalarında büyük bir öneme sahiptir. *T. gondii*'ye ait MIC16 antijeni kullanılarak oluşturan bir rekombinant protein aşısında Saccharomyces cerevisiae hücrelerinde protein ekspresyonu

sağlanmış ve aşılama sonucunda immun yanıtta ve hayatta kalma sürelerinde önemli düzeyde bir artış gözlenmiştir (9). Diğer bir çalışmada ise GRA14 antijeni Alum ve CaPNs adjuvanları ile birleştirilerek Escherichia coli hücrelerinde eksprese edilerek bir rekombinant protein aşısı oluşturulmuştur (10). Bu stratejilerin kullanımıyla elde edilmek istenen ürünün yüksek saflıkta, güvenilir ve aşılama sonucu güçlü ve koruyucu immun yanıt oluşturması hedeflenmektedir. Şimdiye dek yapılan çalışmalarda aşılama sonucunda elde edilen hem hücresel hemde humoral immun yanıtlar ve hayatta kalma oranlarındaki artışlar rekombinant protein aşılarının toksoplazmoz için umut vaad ettiğini göstermektedir (11).

Anahtar Kelimeler: *Toxoplasma gondii*, rekombinant protein aşıları, aşı

Kaynaklar

1. Hill DE, Chirukandoth S, & Dubey JP, Biology and epidemiology of Toxoplasma gondii in man and animals. Anim health Res Rev. 2005; 6(1), 41-61. DOI:10.1079/AHR2005100
2. Ajioka JW, Fitzpatrick JM, & Reitter CP, Toxoplasma gondii genomics: shedding light on pathogenesis and chemotherapy. Expert Rev Mol Med. 2001; 3(1), 1-19. DOI: 10.1017/S1462399401002204
3. Wang JL, Zhang NZ, Li TT, He JJ, Elsheikha HM, & Zhu XQ, Advances in the development of anti-Toxoplasma gondii vaccines: challenges, opportunities, and perspectives. Trends parasitol. 2019; 35(3), 239-253.
4. Nascimento IP, & Leite LCC, Recombinant vaccines and the development of new vaccine strategies. Braz J Med Biol Res. 2012; 45, 1102-1111. doi: 10.1590/S0100-879X2012007500142
5. Demain AL, & Vaishnav P, Production of recombinant proteins by microbes and higher organisms. Biotechnology advances 2009; 27(3), 297-306. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.01.008
6. Hansson M, Nygren PAK, & Sta˚ hlS, Design and production of recombinant subunit vaccines. Biotechnology and applied biochemistry 2000; 32(2), 95-107.https://doi.org/10.1042/BA20000034
7. Hudu SA, Shinkafi SH, & Shuaibu U, An overview of recombinant vaccine technology, adjuvants and vaccine delivery methods. Int J Pharm Pharm Sci 2016; 8, 19-24. http://dx.doi.org/10.22159/ijpps.2016v8i11.14311
8. Shi S, Zhu H, Xia X, Liang Z, Ma X, & Sun B, Vaccine adjuvants: Understanding the structure and mechanism of adjuvanticity. Vaccine 2019; 37(24), 3167-3178.
9. Wang LJ, Xiao T, Xu C, Li J, Liu GZ, Yin, K, et al. Protective immune response against Toxoplasma gondii elicited by a novel yeast-based vaccine with microneme protein 16. Vaccine 2018; 36(27), 3943-3948. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.05.072
10. Pagheh AS, Sarvi S, Gholami S, Asgarian-Omran H, Valadan R, Hassannia H, et al. Protective efficacy induced by DNA prime and recombinant protein boost vaccination with Toxoplasma gondii GRA14 in mice. Microb Pathog. 2019; 134, 103601. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103601
11. Dodangeh S, Fasihi-Ramandi M, Daryani A, Valadan R, Asgarian-Omran H, Hosseininejad Z, et al. Protective efficacy by a novel multi-epitope vaccine, including MIC3, ROP8, and SAG1, against acute Toxoplasma gondii infection in BALB/c mice. Microb Pathog. 2021; 153, 104764. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104764

YUVARLAK MASA 06 **6** ***14 Ekim 2021 – 17:00-18:30***

Toxoplasma gondii aşı çalışmalarında yenilikçi CRISPR yaklaşımı

Gülbuse TURAN

Ege Üniversitesi, Aşı Geliştirme, Uygulama ve Araştırma Merkezi, İZMİR

E-mail: gulbuseturan@gmail.com

Toxoplasma gondii çeşitli memeli ve kuş türünde tespit edilen zorunlu hücre içi bir parazittir. Enfektif ookistler ile kontamine su ve gıdaların tüketilmesi, tüm dünyada yaygın olarak görülen ve zoonotik bir enfeksiyon olan toksoplasmoz tablosuna neden olmaktadır. Toksoplasmoz enfeksiyonu hem hayvanlarda hem de insanlarda transplasental geçiş göstererek abortus, ölü doğum ya da yenidoğanda hayatı tehdit eden anomalilere ve organ tutulumuna bağlı ölüme sebep olabilir (1,2). Bu enfeksiyon tedavisinde kullanılan ilaçların yeterince efektif etkin olmaması ve ciddi yan etkileri sebebiyle T. gondii' ye yönelik aşı araştırmalarının önemi artmıştır.

Enfeksiyonun patogenezinde bulaş yolu ve konağa ait faktörlerin yanında parazite ait faktörler de aşı geliştirilmesinde önemli rol oynamaktadır. Günümüze kadar, ticari olarak sadece tek bir aşı üretilmiştir. Toxovax® (MSD Animal Health) adlı bu aşı koyunlara uygulanabilen *T. gondii* S48 suşuna ait canlı atenüe bir aşıdır (3). Özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış insanlarda kullanılabilecek bir aşı halen mevcut değildir. Toksoplazmozise karşı aşı geliştirilmesinde kullanılan geleneksel yöntemlerin çoğunun sınırlamalarının olması, bu yöntemlerin büyük ölçekte üretim için uygun olmayışının anlaşılması ve genetik düzenleme alanında yaşanan gelişmeler sayesinde yenilikçi yaklaşımlara duyulan ihtiyaç ve ilgi artmıştır. Bu yaklaşımlar arasında aşı dağıtım platformlarının çeşitlendirilmesi, genetik çaprazlamalar, kimyasal mutagenez, homolog gen değiştirme ve kümelenmiş düzenli aralıklarla kısa palindromik tekrarlar (CRISPR)–Cas sistemi gibi genetik manipülasyon araçları bulunmaktadır (4).

Yabancı nükleik asitleri algılayabilen ve susturabilen bir ribonükleoprotein kompleksine dayanan CRISPR-Cas sisteminin, bakteri ve arkeobakterilerde onları plazmidlere veya virüs istilalarına karşı koruyan adaptif bir bağışıklık sistemi olduğu kanıtlanmıştır (5). Tanımlanmış üç farklı CRISPR-Cas sistemi bulunmaktadır. Tip 1 sistem, kaskad kompleksi olan bir Cas3 proteini içerir. Tip III CRISPR-Cas sistemi, Cas6 ve Cas10 proteinleri ile etkileşime girer. Son olarak, Cas9 genom düzenleme için en iyi programlanabilir Cas proteini olmuştur ve bu nedenle sistem II, farklı modellerde genom düzenleme için en çok kullanılandır (5,6).

Yapılan bir çalışmada, *T. gondii*'deki genleri bozmak için tek kılavuz RNA'lara sahip CRISPR/Cas9 kullanılarak hedeflenen gen yıkımı ve homolog rekombinasyon yoluyla seçilebilir belirteçlerin bölgeye özgü eklenmesi için son derece verimli bir sistem sağlandığı gösterilmiştir (7). Yine aynı çalışmada, CRISPR/Cas9 sisteminin homoloji yokluğunda bölgeye özgü yerleştirmeyi kolaylaştırdığı, böylece bu yaklaşımın mevcut teknolojiye göre faydasını artırdığı kanıtlanmıştır (8). Bir diğer çalışmada, defektif döllenme sergileyen, doğurganlığı azaltan ve sporozoit üretemeyen ookistler oluşturan bir *T. gondii* suşu modifiye etmek için CRISPR/Cas9 ile hap2 knock-out stratejisi kullanıldıktan sonra genom sekanslanması ile bu suş hedef dışı lezyonlar için incelenmiştir. Kedilerin bu tasarlanmış parazit suşu

ile aşılanması, vahşi tip *T. gondii* ile enfeksiyonun ardından ookist atılımını tamamen önlediği ve bu mutantın atenüe, canlı, transmisyon bloke edici bir aşı olduğunu gösterilmiştir (8).

T. gondii genomunda hedeflenmiş bölgeye yönelik bir nokta mutasyonunun oluşturulmasına izin vermek amacıyla yapılan bir çalışmada sırasıyla; hedef gen için kılavuz RNA (gRNA) dizisinin tasarlanması, plazmid ve donör dizi plazmidini ifade eden bir Cas9 ve tek kılavuzlu RNA (sgRNA) oluşturma, mutasyona uğramış parazitlerin transfeksiyonu ve seçimi, mutasyonların kontrolü, mutasyon allel popülasyonunun izlenmesi prosedürleri takip edilmiştir (9). Böylelikle aynı anda transfekte edilen birden fazla mutasyon tipi oluşturulması ve zaman içinde hangi tip mutasyon(lar)ın zenginleştiği takip edilerek bu tekniğin farklı mutant alellerin uygunluğunu değerlendirmek için kullanılabileceği sonucu ortaya çıkmıştır. Geleneksel genetik manipülasyonda, bir gen knock-out elde edilememesi, genin gerekliliğinin bir göstergesi olarak kabul edilirken bu sistemle birlikte; genin önemi, parazitin kaybolan bir knock-out mutasyonun kinetiğinin izlenmesiyle doğrudan gösterilebilir. Bu çalışma gen uygunluğunun sadece transformant bir parazit elde edilememesinden çıkarılmaması gerektiğinin açık kanıtını sağlar. Bu durumun gerekli olan bir genin yanı sıra başka sorunlardan da kaynaklanabileceği akılda tutulmalıdır (9).

Bahsedilen yöntemlere ek olarak gen ekspresyonunun düzenlenmesi, spesifik genomik lokusların belirlenmesi ve epigenetik modifikasyonlar gibi *T. gondii*'de kullanım için modifiye edilmiş CRISPR–Cas9 sistemlerine eklenerek kullanılabilen uygulama yaklaşımları bulunmaktadır (4). Sonuç olarak, tüm bu gelişmelerin *T. gondii* biyolojisinin analizinde ilerleme kaydetme ve daha iyi aşıların geliştirilmesine yardımcı olma potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Toxoplasma gondii*, CRISPR, gen düzenlenmesi

Kaynaklar

1. Jones JL, Dubey JP. Foodborne Toxoplasmosis. Clin Infect Dis [Internet]. 2012 Sep 15;55(6):845–51. Available from: https://doi.org/10.1093/cid/cis508

2. Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. Lancet (London, England). 2004 Jun;363(9425):1965–76.

3. Buxton D, Thomson K, Maley S, Wright S, Bos HJ. Vaccination of sheep with a live incomplete strain (S48) of Toxoplasma gondii and their immunity to challenge when pregnant. Vet Rec [Internet]. 1991;129(5):89—93. Available from: https://doi.org/10.1136/vr.129.5.89

4. Wang J-L, Huang S-Y, Behnke MS, Chen K, Shen B, Zhu X-Q. The Past, Present, and Future of Genetic Manipulation in Toxoplasma gondii. Trends Parasitol [Internet]. 2016;32(7):542–53. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471492216300307

5. Singh V, Braddick D, Dhar PK. Exploring the potential of genome editing CRISPR-Cas9 technology. Gene [Internet]. 2017;599:1—18. Available from: https://doi.org/10.1016/j.gene.2016.11.008

6. Lander N, Chiurillo MA, Docampo R. Genome Editing by CRISPR/Cas9: A Game Change in the Genetic Manipulation of Protists. J Eukaryot Microbiol [Internet]. 2016;63(5):679—690. Available from: https://europepmc.org/articles/PMC5012946

7. Shen B, Brown K, Lee T, Sibley LD. Efficient gene disruption in diverse strains of Toxoplasma gondii using CRISPR/CAS9. MBio. 2014;5.

8. Ramakrishnan C, Maier S, Walker RA, Rehrauer H, Joekel DE, Winiger RR, et al. An experimental genetically attenuated live vaccine to prevent transmission of Toxoplasma gondii by cats. Sci Rep. 2019;9(1):1–14.

9. Sugi T, Kato K, Weiss LM. An improved method for introducing site-directed point mutation into the Toxoplasma gondii genome using CRISPR/Cas9. Parasitol Int [Internet]. 2016;65(5):558–62. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.parint.2016.05.002

SÖZLÜ BİLDİRİLER

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01A *11 Ekim 2021 – 16:30 – 17:30*

Oturum Başkanları:
Önder DÜZLÜ / Derya DİRİM ERDOĞAN

SB01. Rutin Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında Bulunan Temel Besiyerlerinde *Trichomonas vaginalis*'in Üretilmesi
Yener ÖZEL, Umut YILMAZ, Gülhan VARDAR ÜNLÜ, Ahmet ÖZBİLGİN, Mehmet ÜNLÜ

SB02. *Trichomonas vaginalis*'in Tanısında Konvansiyonel Yöntemlerin Moleküler Yöntemlerle Karşılaştırılması ve Metronidazol Direncinin Araştırılması
Yener ÖZEL, İbrahim ÇAVUŞ, Akın USTA, Gülhan VARDAR ÜNLÜ, Mehmet ÜNLÜ

SB03. Yoğun Bakım Hastalarında *Pneumocystis jirovecii* ve Atipik Pnömoni Etkeni *Chlamydia pneumoniae* ve *Mycoplasma pneumoniae* Tanısında PCR Yönteminin Konvansiyonel Yöntemlerle Karşılaştırılması
Yener ÖZEL, Nurhan GENCER SARIOĞLU, Gülhan VARDAR ÜNLÜ, Fuat EREL, Fatih UGÜN, Mehmet ÜNLÜ

SB04. *Ichtyophtirus multifiliis*'de Endosimbiyotik Riketsiya, *Candidatus megaira*'nın Moleküler ve Filogenetik Karakterizasyonu
Abdullah İNCİ**, Mübeccel ATELGE,** Gökmen Zafer PEKMEZCİ, Fikri BALTA, Emrah ŞİMŞEK, Önder DÜZLÜ, Arif ÇİLOĞLU, Ertan Emek ONUK, Banu YARDIMCI, Osman İBİŞ, Zuhal ÖNDER, Gamze YETİŞMİŞ, Alparslan YILDIRIM

SB05. Güvercinlerde (*Columba livia*) Haemosporidian Parazitlerin Yaygınlığı ve Moleküler Karakterizasyonu
Arif ÇİLOĞLU**, Sümeyye AYGÜN,** Alparslan YILDIRIM, Didem PEKMEZCİ, Gamze YETİŞMİŞ, Nesrin DELİBAŞI KÖKÇÜ, Emrah ŞİMŞEK, Neslihan SÜRSAL ŞİMŞEK, Gökmen Zafer PEKMEZCİ, Önder DÜZLÜ, Zuhal ÖNDER, Abdullah İNCİ

SB06. Koyun ve Keçilerde *Anaplasma phagocytophilum* ve Varyantlarının Belirlenmesi
Münir AKTAŞ, Sezayi ÖZÜBEK**, Mehmet Can ULUÇEŞME**

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01A **SB01** ***11 Ekim 2021 – 16:30-17:30***

Rutin Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında Bulunan Temel Besiyerlerinde *Trichomonas vaginalis*'in Üretilmesi

Yener ÖZEL[1], Umut YILMAZ[1], Gülhan VARDAR ÜNLÜ[1], Ahmet ÖZBİLGİN[2], Mehmet ÜNLÜ[1]

[1]Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, BALIKESİR [2]Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA

E-mail: yener_ozel@hotmail.com

Giriş: *Trichomonas vaginalis* kadınlarda en sık rastlanan protozoon parazittir. *T. vaginalis*'in laboratuvar tanısı mikroskobik inceleme, kültür ve moleküler yöntemler ile yapılmaktadır. Ancak rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarının çoğunda kültür ve moleküler yöntemlerin maliyetli olması nedeniyle sadece direk mikroskopi ile tanı konulmaya çalışılmaktadır. Bu çalışmada, rutin mikrobiyoloji laboratuvarında sıklıkla bulunabilen besiyerlerinde *T. vajinalis*'in üretilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada, tiyoglukolat sıvı besiyeri (THIO), beyin-kalp sıvı besiyeri (BHI), *Brucella* sıvı besiyeri (BRB) ve triptik soy sıvı besiyeri (TSB) olmak üzere dört besiyeri modifiye edilerek denendi. Referans besiyeri olarak at serumu ilave edilmiş Tripticase-yeast-extract-maltose (TYM) besiyeri kullanıldı. Parazit olarak ise laboratuvarımızda klinik örnekten izole edilmiş T. vaginalis suşu tercih edildi. Denenen her bir besiyeri at serumu (AS), fetal sığır serumu (FCS) ve insan serumu (İS) olmak üzere üç farklı serum katkısı ile zenginleştirildi. Her bir besiyerine 10*4 parazit/ml yoğunluğunda *T. vaginalis* eklendi ve 37 ^{0}C'de inkübe edildi. Parazit sayısı ve canlılık oranları 10 gün boyunca hemositometre ve tripan mavisi ile kayıt altına alınarak tüm besiyerlerinin üreme kinetikleri belirlendi.

Bulgular: Denenen besiyerlerinin üreme kinetikleri referans besiyeri olan TYM besiyeri ile kıyaslanarak yorumlandı. THIO, BHI ve TSB besiyerlerinin hem at serumlu hem de FCS'li formları TYM ile kıyaslandığında üreme kinetiklerinin oldukça iyi olduğu ancak insan serumu içeren formalarında parazit üremediği görüldü. Buna karşılık BRB besiyerinin hiçbir formunda parazit üremedi. Parazit sayıları, TSB-AS ve TSB-FCS'de sırasıyla 4. ve 7. günde, TSB-AS ve TSB-FCS'de sırasıyla 3. ve 5. günde, THIO-AS ve THIO-FCS'de 5. ve 4. günde pik noktasına ulaştı. Özellikle TSB-AS, TSB-FCS ve BHI-FCS besiyerlerinde parazit canlılığı 10. güne kadar sürdü.

Sonuç: Denenen besiyerlerinden TSB-FCS ve BHI-FCS'nin üreme kinetiklerinin TYM besiyeri ile kıyaslanabilir olduğu görülmüştür. Ayrıca, bu iki besiyerinde *T. vaginalis*'in daha yavaş ürediği ve canlılığını uzun süre koruduğu görülmüştür. Bu açıdan TYM besiyerinden daha avantajlıdır. TSB ve BHI besiyerleri rutin mikrobiyoloji laboratuvarında sıklıkla bulunabilmektedir. Bu besiyerleri rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında *T. vaginalis*'in kültür yönteminin uygulanabilir olmasına imkân sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Beyin kalp besiyeri, Tiyoglukolat besiyeri, Triptik soya besiyeri, *T. vaginalis*, TYM

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01A **SB02** ***11 Ekim 2021 – 16:30-17:30***

Trichomonas vaginalis'in Tanısında Konvansiyonel Yöntemlerin Moleküler Yöntemlerle Karşılaştırılması ve Metronidazol Direncinin Araştırılması

Yener ÖZEL[1], İbrahim ÇAVUŞ[2], Akın USTA[3], Gülhan VARDAR ÜNLÜ[1], Mehmet ÜNLÜ[1]

[1]Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, BALIKESİR; [2]Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA; [3]Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, BALIKESİR

E-mail: yener_ozel@hotmail.com

Giriş: Trichomoniasis, Trichomonas vaginalis'in etken olduğu ve cinsel yolla bulaşan parazit kaynaklı bir enfeksiyondur. Trichomoniasis tanısında ucuz ve hızlı bir yöntem olan direk mikroskopi (DM) tercih edilmekte ancak yöntemin duyarlılığının düşük olduğu bilinmektedir. Altın standart olarak kabul edilen kültür yöntemlerinin duyarlılığı yüksek olmakla birlikte ancak belirli merkezlerde uygulanabilmekte, deneyimli eleman gerektirmekte ve sonuç için 2-7 gün zamana ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, *T. vaginalis*'in rutin tanısında konvansiyonel yöntemler, kültür yöntemi ve PZR yönteminin karşılaştırılması; ayrıca TYM besiyerinde üretilen T. vaginalis suşlarında metronidazol direnci ile ilişkili olduğu düşünülen nitroredüktaz gen bölgesindeki ntr4tv ve ntr6tv tek nükleotit polimorfizmlerinin (SNP) araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmaya, Mart 2019 – Ağustos 2021 tarihleri arasında Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine başvuran 200 hasta dahil edildi. Hastaların jinekolojik muayenelerinde vajina arka forniksten iki adet steril eküvyon ile vajinal sürüntü örneği toplandı. Birinci eküvyon direk bakı, Giemsa boyalı preparat ve konvansiyonel PZR çalışmaları için kullanıldı. İkinci eküvyon *T. vaginalis* kültürü için tripticase-yeast-extract-maltose (TYM) besiyerine alındı. TYM besiyeri 37 ^{0}C'de 8 gün boyunca takip edildi. Tüm örnekler *T. vaginalis* varlığı açısından *T. vaginalis* β-tubulin (btub1) gen bölgesine özgü tasarlanan primerler kullanılarak konvansiyonel PZR ile tarandı. Ayrıca TYM besiyerinde üreyen *T. vaginalis* suşları metronidazol direnci açısından nitroredüktaz gen bölgesine özgü tasarlanan primerler ile konvansiyonel PZR kullanılarak incelendi. Metronidazol direnci ile ilişkili polimorfizm saptanan suşlara ayrıca ilaç direnç testi uygulandı.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen hastaların yaş ortalaması 39.9, *T. vaginalis* pozitif saptanan hastaların yaş ortalaması ise 41,8 olarak bulundu. Hastalarda en sık rastlanan bulgular, kötü kokulu vajinal akıntı (%36), kasık ağrısı (%21), vaginal kaşıntı (%19) ve idrar yaparken yanma (%18) idi. *T. vaginalis* pozitif hastalarda semptomların kötü kokulu vajinal akıntı, yanma ve kaşıntı olduğu tespit edildi. Örnek alınan 200 hastanın 8'i (%4) hem kültür/boyama hem de PZR yöntemiyle pozitif bulundu. İzole edilen sekiz adet *T. vaginalis* suşunun üçünde metronidazol direnci ile ilişkili olduğu düşünülen ntr6tv gen polimorfizm varlığı konvansiyonel PZR ile gösterildi. ntr6tv gen polimorfizmi tespit edilen 3 suşun, metronidazole dirençli (MLD: 390 μM) olduğu, ilaç direnç testi ile de tespit edildi.

Sonuç: Kültür ve PZR yönteminin, boyama ve direk bakı yöntemlerine kıyasla daha hassas olduğu pek çok çalışmada bildirilmektedir. Bu çalışmada, *T. vaginalis*'in laboratuvar tanısında Giemsa boyama, direk bakı, kültür ve PZR yöntemleri karşılaştırılmış ve saptanan sekiz adet *T. vaginalis* suşu araştırılan yöntemlerin hepsinde pozitif olarak bulunmuştur. Sekiz örnekte PZR yöntemi ile *T. vaginalis* suşu saptanmış olmakla birlikte, mikroskobinin dikkatli yapılması ve düzenli kültür takibi sonucu bu yöntemlerle de *T. vaginalis* saptanma oranının artacağı düşünülmektedir. ntr6tv polimorfizmi saptanan üç suşun ilaç direnç testi ile de metronidazole dirençli bulunması, bu polimorfizmin metronidazol direnci ile ilişkili olabileceği savını güçlendirmektedir.

Anahtar Kelimeler: Metronidazol direnci, PZR, SNP, *Trichomonas* kültürü, *T. vaginalis*, TYM

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01A **SB03** ***11 Ekim 2021 – 16:30-17:30***

Yoğun Bakım Hastalarında *Pneumocystis jirovecii* ve Atipik Pnömoni Etkeni *Chlamydia pneumoniae* ve *Mycoplasma pneumoniae* Tanısında PCR Yönteminin Konvansiyonel Yöntemlerle Karşılaştırılması

Yener ÖZEL[1], Nurhan GENCER SARIOĞLU[2], Gülhan VARDAR ÜNLÜ1, Fuat EREL[2], Fatih UGÜN[3], Mehmet ÜNLÜ[1]

[1]Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, BALIKESİR; [2]Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları AD, BALIKESİR; [3]Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reaminasyon AD, BALIKESİR

E-mail: yener_ozel@hotmail.com

Amaç: *Pneumocystis jirovecii*'nin bağışıklık sistemi bozulmuş ya da baskılanmış hastalar dışında sağlıklı kişilerde ve diğer kronik akciğer hastalarında da kolonize olabildiği bilinmektedir. *Mycoplasma pneumoniae* ve *Chlamydia pneumoniae* ise toplumda en sık rastlanan atipik pnömoni etkenleridir. *P. jirovecii, M. pneumoniae* ve *C. pneumoniae* rutin laboratuvarlar için tanısı zor olan mikroorganizmalardır. Bu çalışmada, yoğun bakım birimlerindeki hastalarda *P. jirovecii* tanısı için mevcut boyama yöntemlerinin duyarlılığının PCR yöntemi ile karşılaştırılması ve *M. pneumoniae/C. pneumoniae* DNA varlığı ile serum IgM/IgG antikorları arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada Şubat 2019-Şubat 2020 tarihleri arasında yoğun bakım hastalarından alınan balgam, bronkealveolar lavaj (BAL) ve endotrekeal aspirat (ETA) örneklerinde P. jirovecii, M. pneumoniae ve *C. pneumoniae* DNA'sının varlığı gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (GZ-PZR) yöntemi ile araştırılmıştır. Ayrıca aynı örneklere *P. jirovecii* tanısı için giemsa, Gomori metamin gümüş ve Gram-Weigert boyama yöntemleri uygulanmıştır. *M. pneumoniae* ve *C. pneumoniae*'ye karşı gelişen IgG ve IgM tipi antikorlar ise immün floresan antikor (İFA) tekniği ile saptanmıştır.

Bulgular: Çalışmaya alınan 50 hastadan 6'sında GZ-PZR yöntemi kullanılarak *P. jiroveci* DNA'sı saptanırken, bu hastaların sadece birinde Gram-Weigert ve Gomori metamin gümüş boyama yöntemi ile *P. jirovecii* kistleri tespit edilmiştir. Diğer beş hastanın örneklerinde iki boyama yönteminde de *P. jirovecii* görülememiştir. C. pneumoniae IgM/IgG antikoru 50 hastanın 19'unda saptanırken, GZ-PZR yöntemi ile sadece 8 hastada DNA saptanmış, dört hastada ise, IgM/IgG/PZR birlikte pozitif bulunmuştur. *M. pneumonie* IgM tüm hastalarda negatif iken 10 hastada IgG pozitifliği görülmüştür. *M. pneumonie* DNA'sı sadece bir hastada saptanmış ancak bu hastada IgM ve IgG antikorları tespit edilmemiştir.

Sonuç: *P. jirovecii* tanısında kullanılan Giemsa, Gram-Weigert ve Gomori Metamin Gümüş boyama gibi konvansiyonel yöntemler, düşük mikroorganizma yüküne sahip kolonize hastalarda tanıyı güçleştirmektedir. Çalışmamızda sadece yüksek DNA yüküne sahip bir hastada, Gram-Weigert ve Gomori Metamin Gümüş boyamada *P. jirovecii* kist formları görülebilmiştir. PZR yöntemi ile pozitif bulunan diğer hastaların hiçbirinde boyama yöntemleri ile *P. jirovecii* saptanamamıştır. Atipik pnömoni etkenlerinden *C. pneumoniae* ve *M. pneumoniae* hem PZR hem de serolojik olarak araştırılmış ve tanıda GZ-PZR yönteminin daha duyarlı olduğu kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Atipik pnömoni, *C. pneumoniae, M. pneumoniae*, PCP, *P. jirovecii*

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01A **SB04** ***11 Ekim 2021 – 16:30-17:30***

Ichtyophtirus multifiliis'de Endosimbiyotik Riketsiya, *Candidatus megaira*'nın Moleküler ve Filogenetik Karakterizasyonu

Abdullah İNCİ[1], **Mübeccel ATELGE[2]**, Gökmen Zafer PEKMEZCİ[3], Fikri BALTA[4], Emrah ŞİMŞEK[5], Önder DÜZLÜ[1], Arif ÇİLOĞLU[1], Ertan Emek ONUK[3], Banu YARDIMCI[3], Osman İBİŞ[6], Zuhal ÖNDER[1], Gamze YETİŞMİŞ[1], Alparslan YILDIRIM[1]

[1]Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ; [2]Kastamonu Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KASTAMONU; [3]Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları AD, SAMSUN; [4]Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Hastalıklar AD, RİZE; [5]Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları AD, KAYSERİ; [6]Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Hayvansal Biyoteknoloji AD, KAYSERİ

E-mail: matelge@kastamonu.edu.tr

Amaç: Endosimbiyotik bir bakteri olan *Candidatus megaira*, Rickettsia cinsinin (Rickettsiaceae familyası) bir kardeş taksonunu oluşturur. SSU rRNA dizilerine dayalı olarak, *Ca. megaira* ayrıca üç alt grupta sınıflandırılmıştır. *Ca. megaira* polyxenophila alt grubu üyeleri hem deniz hem de tatlı su siliatlarında, yeşil alglerde, göl sularında, yeraltı sularında ve akvaryumlarda identifiye edilmiştir. Diğer iki alt grup olan *Ca. megaira* B ve C ise, siliatlar, knidliler, sifonlu yeşil algler dahil olmak üzere çeşitli konaklarda ve habitatlarda bulunan türleri içermektedir. Parazitik siliat *Ichtyophtirus multifiliis*, tatlı su balıklarında "beyaz benek hastalığı"nın etiyolojik ajanıdır. *I. multifiliis* oral bir aparat içermekte olup fagotrofiktir. Bugüne kadar, çeşitli ülkelerden *I. multifiliis* izolatlarında endosimbiyotik Sphingobacteria ve rickettsiales alphaproteobacteria tespit edilmiştir. Riketsiyal alfaproteobakteriler daha sonra *Ca. megaira*, subclade C'nin üyesi olarak identifiye edilmiştir. Bu araştırmada Türkiye'de farklı lokasyonlarda yetiştiriciliği yapılan Gökkuşağı alabalıklarında enfeksiyona yol açan fagotropik *I. multifiliis* izolatlarında *Ca. megaira*'nın varlığı ve yaygınlığının araştırılması, mitokondrial sekanslar bazında filogenetik karakterizasyonu yapılan *I. multifiliis* izolatlarında belirlenen *Ca. megaira*'nın bulaşma dinamikleri çerçevesinde genetik karakterizasyonunun yapılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada 2018 ve 2019 yıllarının Temmuz ve Ağustos ayları arasında Gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliğinin yapıldığı Samsun, Rize, Kayseri, Elazığ, Burdur, Antalya ve Muğla illerinde bulunan işletmelerde balıklar üzerinden izole edilen ve genetik karakterizasyonu önceki çalışmalarla ortaya konmuş olan *I. multifiliis* suşlarına ait genomik DNA izolatları kullanılmıştır. *I. multifiliis* suşlarının COI ve NAD1 sıralı sekansarının filogenetik karakterizasyonu temelinde genotip ve coğrafik bölgeye göre seçilen toplam 30 izolata ait gDNA örnekleri, Rickettsialara daha spesifik olan ve 16S rRNA gen bölgesini hedefleyen primerlerle PCR analizine tabii tutulmuştur. PCR sonrası elde edilen hedef büyüklükteki amplikonlar klonlama ve sekans analizlerine tabii tutulmuştur. Elde edilen sekanslar GenBank veri tabanındaki mevcut *I. multifiliis* endosimbiyotik riketsiya ve diğer riketsiya sekanslarıyla hizalama analizlerine tabii tutularak filogenetik analizler için data seti oluşturulmuştur. Data set içerisinde genetik çeşitlilik 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. Çalışmada karakterize edilen *Ca. Megaira* genetik çeşitliliği ile *I. multifiliis* genotipleri arasındaki ilişkiler ayrıca değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışmada analize dahil edilen 30 izolatın tamamında 16S rRNA PCR analizlerinde hedef büyüklükte amplikonlar belirlenmiş ve bunların uygun plazmid vektörlere klonlanması sonucu rekombinant plazmidler elde edilmiştir. Rekombinant plazmitlerin sekanslanması sonucu izolatlara ait konsensüs dizilimler yüksek kalite skorları ile ortaya çıkarılmıştır. İlgili sekansların hizalama analizleri sonucunda izolatların 4 yeni genotip içerisinde (Ca.MegTR1-Ca.MegTR4) yerleştiği tespit edilmiştir. Karakterize edilen her 4 genotipin blastn analizleriyle *Ca. Megaira*'ya ait olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda yeni genotipler olarak karakterize edilen izolatlarla birlikte farklı ülkelerden *I. mulitifiliis*, diğer bazı ciliatalar ile çevresel örneklerden izole edilmiş *Ca. Megaira* ve diğer ilgili Rickettsiaceae, ve Anaplasmataceae izolatlarını içeren veri setinin filogenetik analizi sonucunda çalışmada belirlenen Ca.MegTR1- Ca.MegTR4 genotiplerinin *Ca. Megaira* Subclade C'de yer aldığı tespit edilmiştir. Ca.MegTR1 ve Ca.MegTR2 genotiplerinin Türkiyenin farklı bölgelerinde yaygın olan *I. multifiliis* genotiplerde, Ca.MegTR3 genotipinin yaygın *I. multifiliis* genotiplerinden biri olan ImulTR1 genotipine ait izolatlarda ve Ca.MegTR4 genotipinin ise Ege ve Doğu Anadolu bölgelerinde tespit edilen sırasıyla ImulTR5 ve ImulTR6 genotiplerine ait izolatlarda bulunduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Ca.MegTR1- Ca.MegTR3 genotiplerinin farklı coğrafyalardan bildirilen *I. multifiliis* ARK1,2,5,7,9 ve NY4 genotiplerine ait izolatlarda bildirilen *Ca. megaira* genotipleriyle birlikte kümelendiği, Ca.MegTR4 genotipinin ise bu kümeye dış dal olarak bağlandığı tespit edilmiştir.

Sonuç: Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TOA-2017-7742 kod numarasıyla desteklenen bu çalışma ile Türkiye'de gökkuşağı alabalıklarında sorun oluşturan ve ekonomik kayıplara yol açan *I. multifiliis* suşlarına ait endosimbiyotik riketsiya *Candidatus Megaira* nesillerinin ilk kez genetik karakterizasyonu yapılmıştır. Çalışmada *I. multifiliis* genotiplerinin filogenisi ve *Ca. Megaira* genotiplerinin filogenetik yapılanmaları incelendiğinde *Ca. Megaira*'nın yalnızca vertikal bulaşmaya sahip olmadığı söylenebilir. Aynı genogrupta yer alan I. *multifiliis* izolatlarının Ca. Megaria'nın farklı altgruplarındaki nesilleri bulundurabildiği görülmektedir. Bunun yanında Türkiyenin Ege, Karadeniz, Akdeniz ve İç Anadolu gibi farklı bölgelerinde yaygınlık gösteren *I. multifiliis* genotiplerine ait izolatlarda ortak *Ca. Megaira* genotiplerinin tespit edilmiş olması, bu coğrafyalar arasında canlı balık transferiyle ilişkili olarak *Ca. Megaria*'nın *I. mulitifiliis* popülasyonları arasında horizontal geçiş gösterebildiğine dair kanıtlar sağlamıştır. *Ca. Megaira*'nın filogenetik yapılanmasını daha iyi anlaşılması ve konak bazında bulaşma dinamiklerinin daha iyi belirlenebilmesi için 16S rRNA yanında diğer genetik markerlar kullanılarak farklı coğrafyalardan elde edilecek izolatlar üzerine geniş kapsamlı araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Ichthyophthirius multifiliis*, endosimbiyotik riketsiya, *Candidatus megaira*, 16S rRNA moleküler karakterizasyon, Türkiye

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01A **SB05** ***11 Ekim 2021 – 16:30-17:30***

Güvercinlerde (*Columba livia*) Haemosporidian Parazitlerin Yaygınlığı ve Moleküler Karakterizasyonu

Arif ÇİLOĞLU[1], **Sümeyye AYGÜN[1],** Alparslan YILDIRIM[1], Didem PEKMEZCİ[2], Gamze YETİŞMİŞ[1], Nesrin DELİBAŞI KÖKÇÜ[1], Emrah ŞİMŞEK[3], Neslihan SÜRSAL ŞİMŞEK[4], Gökmen Zafer PEKMEZCİ[5], Önder DÜZLÜ[1], Zuhal ÖNDER[1], Abdullah İNCİ[1]

[1]Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, KAYSERİ; [2]Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları AD, SAMSUN; [3]Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, KAYSERİ; [4]Aksaray Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, AKSARAY; [5]Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, SAMSUN

E-mail: sumeyyyeaygun@gmail.com

Amaç: Bu çalışmada, Karadeniz ve İç Anadolu Bölgelerindeki güvercinlerde avian haemosporidian parazitlerin prevalansının ve genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma ile, Türkiye'de halk elinde güvercin yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı bölgelerdeki avian haemosporidian etkenlerin varlığı ve yaygınlıkları hakkında moleküler düzeyde verilere ulaşılması ve belirlenen haemosporidian nesillerinin Dünya'da rapor edilen diğer homolog haemosporidian nesilleriyle parazit-konak ilişkileri bütününde değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

Yöntem: Çalışmanın materyalini Samsun, Kırıkkale ve Kayseri il sınırlarında bulunan ve halk elinde hobi amaçlı yetiştiriciliği yapılan 250 adet erişkin güvercin oluşturmuştur. Bu kapsamda Samsun ve Kırıkkale illerinden 100'er adet, Kayseri ilinden ise 50 adet güvercinden kan örneklemesi yapılmıştır. SET buffer içerisinde muhafaza edilmiş olan kan örneklerinden genomik DNA (gDNA) izolasyonları, ticari kit kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Takiben, her bir bireyden elde edilen gDNA izolatları, avian haemosporidian parazitlerin moleküler teşhisi ve miks enfeksiyonların belirlenebilmesi amacıyla yeni geliştirilen multipleks PCR ve parsiyel mitokondrial cyt-b gen bölgesinin amplifikasyonu için nested PCR analizlerine tabi tutulmuştur. Nested PCR analizleri sonucu elde edilen pozitif amplikonlar, saflaştırılmış ve elde edilen ürünler nükleotid dizilerinin belirlenebilmesi amacıyla çift yönlü olarak sekanslanmıştır.

Bulgular: Multipleks PCR analizleri sonucunda incelemesi yapılan 250 örneğin 71'i (%28,4) avian haemosporidian parazitler yönünden pozitif olarak teşhis edilmiştir. Samsun'dan örneklenen 100 güvercinin (48 dişi ve 52 erkek) 34'ü (%34,0) *Haemoproteus* (*Haemoproteus*) spp. ve 1'i (%1,0) *Leucocytozoon* sp. pozitif bulunurken, Kırıkkale'den örneklemeye dahil edilen 40 dişi ve 60 erkek güvercinde 2 (%2,0) *Haemoproteus* (*Haemoproteus*) spp. pozitifliği saptanmıştır. Kayseri'den örneklenen 50 güvercinin (33 dişi ve 17 erkek) ise 34'ü (%68) *Haemoproteus* (*Haemoproteus*) spp. pozitif olarak belirlenmiştir. *Haemoproteus* (*Haemoproteus*) spp. dişilerde %30,5 (37/121) oranında tespit edilirken erkeklerde ise bu oran %25,5 (33/129) olarak hesaplanmıştır. Çalışmada, *Leucocytozoon* sp. pozitif saptanan tek izolatın ise Samsun'dan örneklenen bir dişi güvercine ait olduğu tespit edilmiştir.

Nested PCR sonucu elde edilen amplikonların sekans analizlerine tabi tutulması sonucunda Samsun'da *Haemoproteus* (*Haemoproteus*) spp. pozitifliği tespit edilen güvercinlerin morfolojik olarak

Haemoproteus columbae ile ilişkilendirilen HAECOL1, COQUI05, COQUI05 ve COLIV03 nesilleri ile enfekte olduğu belirlenirken, Kırıkkale'den örneklenen ve *Haemoproteus* (*Haemoproteus*) spp. pozitif bulunan güvercinlerin ise yine *H. columbae* ile ilişkilendirilen HAECOL1 nesli ve henüz morfolojik tanımlanması yapılmamış STRTUR01 nesli ile enfekte oldukları tespit edilmiştir. Bunun yanında Kayseri'den analize dahil edilen örneklerde ise diğer illere benzer şekilde *H. columbae* ile ilişkilendirilen HAECOL1 nesli saptanmış ve ayrıca pozitif bir örneğin, iki farklı *Haemoproteus* nesliyle (COQUI05 ve HAECOL1) miks enfekte olduğu belirlenmiştir. Sadece Samsun'da bir güvercinde belirlenen *Leucocytozoon* sp. pozitifliğinin ise henüz morfolojik olarak tanımlanması yapılmamış COLIV04 nesli ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSA-2020-10253 kod numarasıyla desteklenen bu çalışma ile Karadeniz ve İç Anadolu Bölgelerindeki güvercinlerde avian haemosporidian parazitlerin yaygınlığı ve çeşitliliği ilk kez moleküler teşhis yöntemleri kullanılarak ortaya konmuş ve özgün veriler sağlanmıştır. Bunun yanında, Dünya'da yapılan çalışmalarda daha önce güvercinlerden rapor edilmemiş olan STRTUR01 nesli de ilk kez bu çalışma ile bildirilmiştir. Türkiye'de halk elinde hobi amaçlı olarak yaygın bir şekilde yetiştiriciliği yapılan güvercinlerde enfeksiyona yol açan sorumlu parazit nesillerinin generalist veya konak özgünlüğünün belirlenmesi bakımından önem arz eden bu çalışmanın yanında, bu önemli parazitlerin yabani ve/veya evcil kanatlı popülasyonlarında oluşturabileceği risk potansiyellerinin net bir şekilde ortaya konabilmesi amacıyla daha geniş kapsamlı moleküler araştırmalara da ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Güvercin, *Haemoproteus*, *Leucocytozoon*, PCR, Türkiye

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01A **SB06** ***11 Ekim 2021 – 16:30-17:30***

Koyun ve Keçilerde *Anaplasma phagocytophilum* ve Varyantlarının Belirlenmesi

Münir AKTAŞ, Sezayi ÖZÜBEK, **Mehmet Can ULUÇEŞME**

Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ELAZIĞ

E-mail: mculucesme@firat.edu.tr

Amaç: Bu çalışma, Akdeniz bölgesinde (Antalya, Mersin) koyun ve keçilerde *Anaplasma phagocytophilum* ve *Anaplasma phagocytophilum*-like bakterilerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Antalya ve Mersin illerinde farklı odaklardan 137'sı koyun, 296'sı keçi olmak üzere toplam 433 hayvandan EDTA'lı tüplere kan örneği alınmıştır. Kan örneği alınan hayvanlar aynı zamanda kene enfestasyonları yönünden kontrol edilmiş ve mevcut keneler toplanmıştır. Kan örneklerinden ekstrakte edilen DNA örnekleri 16S rRNA geni yönünden Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile amplifiye edilmiştir. Elde edilen PZR ürünleri restriction fragment length polymorphism (RFLP) yöntemi ile kesilerek *A. phagocytophilum* ve varyantları belirlenmiştir. RFLP sonuçları groEL geni yönünden konfirme edilmiştir.

Bulgular: 16S rRNA PZR ile incelenen DNA örneklerinin %27,9'unda (121/433) *Anaplasma* spp. pozitiflik tespit edilmiştir. RFLP sonucunda, *Anaplasma* spp. pozitif örneklerin %1,4'ünün *A. phagocytophilum*, %26,5'inin *A. phagocytophilum*-like 1 ile enfekte olduğu belirlenmiştir. Koyun ve keçilerde *A. phagocytophilum*-like 2 varyantına rastlanmamıştır. RFLP sonuçları groEL geni ve DNA dizileme ile doğrulanmıştır. Muayene edilen 433 hayvanın 190 (%43,9)'ının en az bir ixodid kene türü ile enfeste olduğu belirlenmiştir. Keçilerden (1409/1475, %95,5) ve koyunlardan (66/1475, %4,5) toplam 1475 yetişkin kene (449 dişi, 1026 erkek) toplanmıştır. Toplanan keneler *Rhipicephalus bursa* (1269/1475, 86%), *R. turanicus* (98/1475, %6,6), *Dermacentor marginatus* (94/1475, %6,4), *Hyalomma marginatum* (8/1475, %0,5), *R. sanguineus s.l.* (5/1475, %0,3), ve *Ixodes ricinus* (%0,06, sadece 1 örnek) olarak identifiye edilmiştir.

Sonuç: *Anaplasma phagocytophilum*'un Türkiye'de varlığı bilinmektedir. Bu çalışma ile ülkemizde koyun ve keçilerde *Anaplasma phagocytophilum*-like 1 varyantının varlığı ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Koyun, keçi; *Anaplasma phagocytophilum; Anaplasma phagocytophilum*-like 1; PZR-RFLP.

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

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01B *11 Ekim 2021 – 18:00 – 19:00*

Oturum Başkanları:
Önder DÜZLÜ / Derya DİRİM ERDOĞAN

SB07. Türkiye'de Reptillerde Trombikül (*Acariformes: Trombiculidae*) Akarların Konak Çeşitliliğine Katkı ve Konaklarda Akar Faunasının Değerlendirilmesi
Gökhan EREN, Şinasi UMUR, Ali Tümay GÜRLER, Cenk Soner BÖLÜKBAŞ, Özlem KOÇ, Mehmet ÖZTÜRK, Mustafa AÇICI

SB08. Türkiye'nin Farklı Karasularından Avlanmış Deniz Balıklarında Anisakid ve Raphidascaridid Nematodların Yaygınlığının Araştırılması
Neslihan SÜRSAL ŞİMŞEK, **Emrah ŞİMŞEK**

SB09. FAO 27 Balıkçılık Alanından Türkiye'ye İthal Edilen Uskumrularda *(Scomber scombrus*) Bulunan *A. pegreffii* X A. simplex (s.s) Hybrid Genotiplerin (Nematoda: Anisakidae) Mitokondriyal rrnS Geninin Moleküler Karakterizasyonu
Neslihan SÜRSAL ŞİMŞEK, Alparslan YILDIRIM, Gökmen PEKMEZCİ, Abdullah İNCİ, Emrah ŞİMŞEK

SB10. İşgalci *Aedes* Sivrisinek Türlerinin Türkiye'deki Güncel Durumları
Berna DEMİRCİ

SB11. At Çiftliklerinden Toplanan Sivrisinek (*Diptera: Culicidae*) Türleri Üzerine Araştırmalar
Hilal BEDİR, Ahmet DENİZ, Çağla KORKMAZ, Mesut YİĞİT, Neriman MOR, Mükremin Özkan ARSLAN, Zati VATANSEVER

SB12. Artropod Koruyucu Antijeni Akirin'in *Anopheles sacharovi* Nesillerinde Moleküler Karakterizasyonu ve Ekspresyon Analizleri
Önder DÜZLÜ, Alparslan YILDIRIM, Fatih Mehmet ŞİMŞEK, Arif ÇİLOGLU, Osman İBİŞ, Sadullah USLUĞ, Sümeyye AYGÜN, Nesrin DELİBAŞI KÖKÇÜ, Abdullah İNCİ

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01B **SB07** ***11 Ekim 2021 – 18:00-19:00***

Türkiye'de Reptillerde Trombikül (Acariformes: Trombiculidae) Akarların Konak Çeşitliliğine Katkı ve Konaklarda Akar Faunasının Değerlendirilmesi

Gökhan EREN, Şinasi UMUR, Ali Tümay GÜRLER, Cenk Soner BÖLÜKBAŞ, Özlem KOÇ, Mehmet ÖZTÜRK, Mustafa AÇICI

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, SAMSUN

E-mail: gokhaneren54@gmail.com

TAM METİN

ÖZET

Amaç: Trombiculosis**,** günümüzde 3000'in üzerinde Trombikülid türünün tanımlandığı ve sadece larva dönemlerinin insan ve hayvanlarda meydana getirdiği enfestasyon olarak bilinir. Son derece geniş bir konak yelpazesine sahip bu türler çoğunlukla memelilerde enfestasyona neden olmakla birlikte kuşlarda, sürüngenlerde ve amfibilerde de enfestasyona neden olabilmektedir. Türkiye'de trombikülidlere yönelik çalışmalar sınırlı sayıdadır. Bu çalışmalarda da çoğunlukla memeliler üzerinde durulmuş diğer omurgalı grupları çok fazla çalışılmamıştır. Bundan dolayı bazı sürüngenlerde trombikülid akarların varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Artvin yöresinde sürüngenlerde ektoparazit faunasına yönelik yapılan saha çalışmasında Artvin Kertenkelesi (*Darevskia derjugini* Nikolsky, 1896) ve Kırmızı Karınlı Kertenkele (*Darevskia parvula* Lantz & Cyrén, 1913) makroskobik ve mikroskobik ektoparaziter muayeneye tabi tutulmuştur.

Bulgu: Yapılan inceleme sonucunda trombikülid akar enfestasyonu tespit edilmiş, mikroskobik inceleme sonucunda da örnekler *Lacertacarus similis* Schluger & Vasilieva (1977) olarak tanımlanmıştır.

Sonuç: Bu çalışma *Darevskia derjugini* için *L. similis* yeni konak kaydı niteliği taşımaktadır. Ayrıca derleme niteliğindeki bu çalışmada trombikülid akarların genel değerlendirmesi ve Türkiye trombikülid akar faunası üzerinde durulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Sürüngen parazitleri, *Lacertacarus similis, Darevskia derjugini*

Contribution to Host Diversity of Trombiculid (Acariformes: Trombiculidae) Mites in Reptiles and Assessment of the Chigger Mites Fauna from Hosts in Turkey

ABSTRACT

Objective: Trombiculosis, is known as an infestation in which more than 3000 species of Trombiculids have been described today and only their larvae occur on humans and animals. Trombiculids, which have an extremely wide host range, mostly infestation on mammals, additionally, birds, reptiles and amphibians can be infested. Although studies on thrombiculids are limited in Turkey, these studies mostly focused on mammals, but studies on other vertebrate groups are insufficient. Therefore, we aimed to investigate the presence of thrombiculid mites in some reptiles.

Method: To achieve this aim, chigger mites samples were collected from Derjugin's Lizard (*Darevskia derjugini* Nikolsky, 1896) and Red Belly Lizard (*Darevskia parvula* Lantz & Cyrén, 1913) in Artvin Province. The mites were morphologically identified under a light microscope in the laboratory using taxonomic keys.

Results: As a result of the examination, all samples were identified as *Lacertacarus similis* Schluger & Vasilieva (1977).

Conclusion: *Lacertacarus similis* is the new host record for *D. derjugini*. In addition, this review focuses the overall assessment of the thrombiculid mite fauna of Turkey.

Key words: Reptile Parasites, *Lacertacarus similis*, *Darevskia derjugini*

GİRİŞ

Trombikülid akarlar çoğunlukla memelilerde enfestasyona neden olmakla birlikte bazen kuşlarda ve herptillerde de enfestasyona neden olabilmektedir. Bu denli geniş bir konak dağılımına sahip olan trombikülidlerde konak özgüllüğü son derece düşüktür (1). Bu taksonun konak tercihlerini muhtemelen bulundukları habitattaki omurgalıları konaklar ve ayrıca enfestasyona neden olduğu konak üzerindeki tutunum gösterdiği bölge/mikrohabitat etkilemektedir. Yaşadıkları habitatta buldukları ilk konağa saldırıp ve beslenebilirler (2). Bu tercihte ayrıca trombikülid türü ve konağın aynı anda ortaya çıkması, konak popülasyonunun yoğunluğu, karakteristik konak davranışı ve trombikülidin ekolojik özellikleri de etkili olabilir (3). Bununla birlikte nadiren de olsa bazı cinsler bazı omurgalı konaklara karşı yüksek özgüllük gösterebilmektedir. *Whartonia* türlerinin yarasalara veya *Lacertacarus* türlerinin kertenkelelere karşı yüksek konak özgüllüğü buna örnek olarak gösterilebilir (4,5). Ayrıca aynı konakta birden fazla tür (2-5 tür) trombikülid enfestasyonlarına neden olabilmektedir. Muhtemelen bunun olası nedeni düşük rekabetçi etkileşimleridir (6).

Şu ana kadar 3000'in üzerinde türün tanımlandığı Trombiculidae ailesi altında dört alt aile bulunmaktadır; Apoloniinae, Gahrliepiinae, Leeuwenhoekiinae ve Trombiculinae (1). Trombikülidlerin taksonomisi larvaların morfolojik karakterlerine dayalıdır: skutum şekli, palpal setasyon, bacakların segmentasyon ve setasyon modeli, dorsal ve ventral setasyon gibi (3). Çoğu trombikülid türü, tek bir örneğe dayalı olarak tarif edilmiştir, oysaki güvenilir bir tanımlama, türler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak değerlendirilmesini gerektirir (7). Şu ana kadar 3000'in üzerinde tanımlanmış tür olmasına rağmen, tahminlere göre tüm gelişim aşamaları tanımlanan tür sayısı toplam tür sayısının %3 ile %10 arasında değişmektedir (3,9). Ayrıca bazı türler sadece nimf ve erişkin dönemlerine göre tanımlanmış olup larva dönemleri bilinmemektedir (8). Bu gibi nedenlere

bağlı olarak varyasyon düzeyinin değerlendirilmesine ve kesin tür tanımlamasına izin verecek DNA belirteçlerinin bulunması, trombiklidlerin moleküler tabanlı çalışmalarında en büyük sorunlardan biridir (9). Sadece *Neotrombicula vulgaris*'in parazit olmayan gelişim aşamaları hem morfolojik hem de moleküler olarak çalışılmıştır (6).

Trombikülid akarlar yumurta, prelarva (deutovum), larva, üç nimf (protonymph, deutonymph, tritonymph) ve erişkin dönem olmak üzere karmaşık bir yaşam döngüsüne sahiptir. Bu aşamalardan sadece larva dönemi hayvan ve insanlarda enfestasyona neden olabilmektedir. Esas olarak balıklar hariç omurgalılarda enfestasyona neden olsa da bazı omurgasızlarda da parazitizm vakaları rapor edilmiştir (2, 10). Nimf ve erişkin dönemleri Collembola, Diptera, Hemiptera ve Lepidoptera gibi yumuşak gövdeli artropodlarda ve bazen de toprakta yaşayan nematodlarla beslenirler (11).

Genellikle sarı ve turuncu arasında değişen renge sahip yaklaşık 200 µm büyüklüğündeki larvalar vejetasyon üzerinde kümelenerek konaklarını beklerler. Konak üzerinde özellikle kulak, baş, koltuk altı, abdomen, genital ve anal bölge çevresi gibi derinin en ince olduğu bölgelerden lenf ve doku sıvılarıyla beslenir. Larvalar şeliserleri ile deriyi delip sitolitik özelliklere sahip tükürüğü epidermise enjekte ederler ve bu sırada konak epidermisinde stylostome olarak da adlandırılan bir besin borusu oluşturarak hem gıda alımını hem de konak dokusuna daha sıkı bir şekilde tutunmayı kolaylaştırırlar (12,13).

Trombikülid akarlar Borreliosis, Ehrlichiosis, Rickettsiosis, Q ateşi ve Hantavirus gibi birçok hastalığa vektörlük yaparak insan ve hayvan sağlığını tehdit etmektedir (2,14,15,16). Bu hastalıklar arasında özellikle de Çalılık tifüsü olarak ta bilinen *Orientia* türlerinin neden olduğu riketsiyal hastalık, bir milyardan fazla insanın enfeksiyon riski altında tehdit eden ve yıllık bir milyonun üzerinde vakaya neden olan, dünya çapında en önemli vektör kaynaklı riketsiyal zoonotik enfeksiyon olarak kabul edilmektedir (17). Önceden sadece tsutsugamushi üçgeni olarak adlandırılan kuzeyde Uzak Doğu Rusya'dan Japonya'ya batıda Pakistan'a ve güneyde Avustralya'ya kadar 8 milyon km2'lik bir alanla sınırlı olduğu düşünülen hastalık (18), Güney Amerika, Orta Doğu ve Afrika'dan elden edilen serolojik kanıtlar neticesinde hastalığın eskiden düşünülenden daha yaygın olduğunu göstermiştir. Enfekte trombikülid akarın ısırmasından yaklaşık 5-10 gün sonra insanlarda ateş, baş ağrısı, döküntü, kas ağrısı, öksürük, lenfadenopati, mide bulantısı, kusma ve karın ağrısını gibi semptomlar belirirken özellikle de akarın ısırdığı bölgede eschar (kabuk) şekillenir (19). Ayrıca Trombikülid akarlarının ısırıklarından kaynaklı ve özellikle 12 yaşından küçük çocuklarda, penis ve skrotum derisinde 1-18 gün arasında süren ödem, kaşıntı, eritem ve idrar yaparken ağrı veya rahatsızlık ile karakterize Yaz Penisi Sendromu/Summer Penile Syndrome olarak adlandırılan rahatsızlığa neden olurlar (20).

Kene, bit, pire ve uyuz etkenlerinin aksine evcil hayvanlarda trombikülid enfestasyonları bildirimi oldukça nadir bir olgu olarak dikkat çekmektedir. Kedi, köpek, koyun, keçi, at, tavuk ve tavşan gibi bazı evcil hayvanlarda *Ericotrombidium*, *Eutrombicula*, *Leptotrombidium*, *Neotrombicula* ve *Straelensia* türlerine ait enfestasyonları rapor edilmiştir (16,21-27). Özellikle keçiler ve insanlar arasındaki trombikülid enfestasyonları birikte seyir gösterebilmektedir. Enfestasyon oranları özellikle yağışlı mevsimlerde artmaktadır (28). Bu enfestasyonlarda genellikle konaklarda çeşitli deri lezyonları, halsizlik, sindirim problemleri, nörolojik işlev bozuklukları, aşırı duyarlılık reaksiyonları ve hatta ölüme bile neden olabileceği bildirilmiştir. Erken ve semptomatik müdahale prognoz için önemlidir. Tedavide piretroidler, Fenilpirazol, Isoxazoline, antipruritikler, antihistaminikler ve kortikosteroidler kullanılır. Tekrarlayan kaşıntılar sonrası olası süperenfeksiyonlara karşı da antibiyotikler kullanılabilir (2,16).

Trombikülid akarlar farklı kültürlerde değişik şekillerde adlandırılmıştır; Amerika'da redbug, Avrupa'da harvest mite, Asya'da Chigger, Avusturalya'da scrub itch mite, Japonya'da

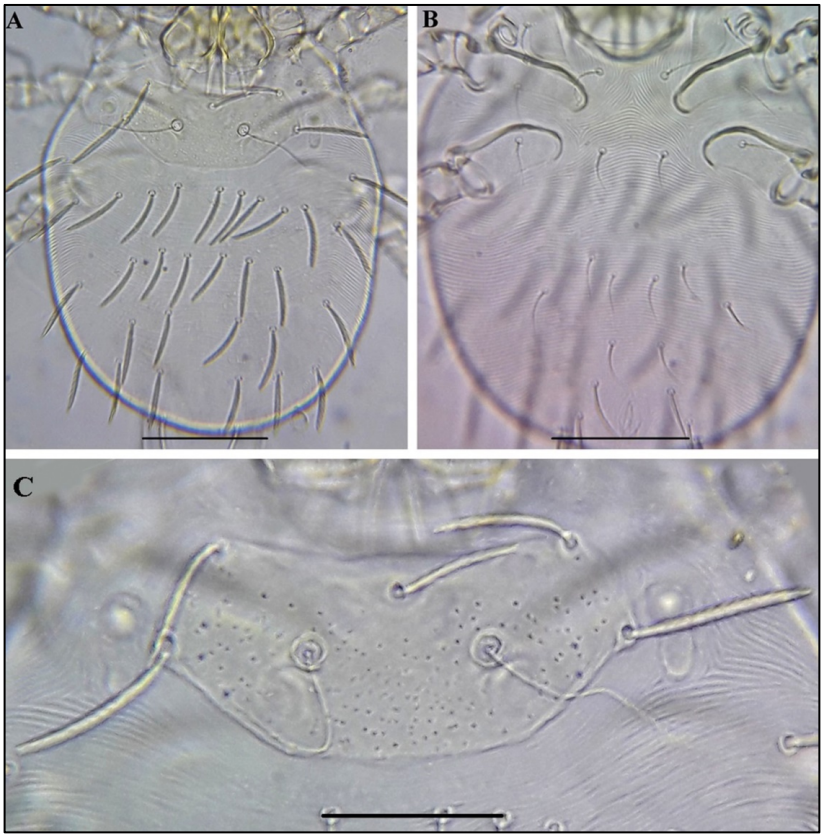
Tsutsugamushi ve kedani (11). Türkiye'de ise literatürde herhangi bir yöresel adlandırma tespit edilememiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Artvin, Sakarya ve Samsun yöresindeki bazı reptillerin ektoparazit faunasının morfolojik ve moleküler tespiti araştırmasının saha çalışmaları sırasında Artvin ili Borçka ilçesi sınırları içerisinde 41°22'39.2"K 41°41'03.5"D koordinatlarında Artvin Kertenkelesi (*Darevskia derjugini* Nikolsky, 1896) ve Kırmızı Karınlı Kertenkele (*Darevskia parvula* Lantz & Cyrén, 1913)'nin sistemik ektoparaziter muayene tabi tutulması ile toplanan akar örnekleri 1,5 ml'lik eppendorf tüplerinde %70'lik etanol ile muhafaza edilmiştir. Daha sonra Parazitoloji Anabilim dalı laboratuvarında mikroskobik teşhis amacıyla laktofenol ile şeffaflandırılıp geçici preparat hazırlanmıştır. Sonrasında ışık mikroskobu (Nikon Eclipse 80i) altında ilgili literatürde geçen anahtara göre tanımlanan akar örneklerinin mikroskoba bütünleşik kamera (MShot Image Analysis System, Mdx4-t) ile fotoğrafları çekilmiştir (29).

BULGULAR

Yapılan mikroskobik inceleme sonrasında Artvin Kertenkelesi ve Kırmızı Karınlı Kertenkelelerinden toplanan akar örneklerinin trombikülid larvaları olduğu anlaşılmış ve ilgili literatürlerde geçen anahtarlara göre *Lacertacarus similis* olarak tanımlanıştır (Şekil 1). Bu çalışmada *Lacertacarus similis* Türkiye'de Artvin Kertenkelesinden (*Darevskia derjugini* Nikolsky, 1896) ilk defa bildirilmiştir.



Şekil 1. *Lacertacarus similis* larvası, **A.** Dorsal, bar: 100µm; **B.** Ventral, bar: 100µm; **C.** Skutum, bar: 50µm.

TARTIŞMA

Trombikulid akarlar, dünya üzerinde 3000'in üzerinde tanımlanmış tür ile Acari sınıfının en büyük ailelerinden biridir (2). Larva formların hayvanlarda enfestasyona neden olmakla beraber insanlarda da 50'den fazla olgunun bildirilmesi bu türlerin zoonotik potansiyelini de göstermektedir. Çoğunlukla insanlarda Trombiculosis olgularına Kuzey ve Güney Amerika'da *Eutrombicula alfreddugesi*, Avrupa'da *Neotrombicula autumnalis* ve Asya'da ise *Leptotrombidium* türleri enfestasyonlara neden olmaktadır (12,20). Ayrıca bazı *Herpetacarus* türlerinin Güney Amerika'da insanlarda enfestasyona neden olduğu ve hatta *Orientia* türlerine vektörlük yaptığı bildirilmektedir (30). Bunların haricinde bazı *Apolonia*, *Euschongastia* ve *Gahrliepia* türlerine ait bildirimler de vardır (20). Türkiye'de ise şu ana kadar Mersin'de bir kadında *Trombiculidae* sp. larvası olarak sadece tek bir insan enfestasyonu rapor edilmiştir (31). Hayvanlarda ise sınırlı sayıda çalışma yapılmış ve bu çalışmalarda memeli, kuş ve sürüngenlerde 47 tür rapor edilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Günümüze kadar Türkiye'de rapor edilmiş Trombikülid türleri

Tür	Konak	Kaynak
Ascoschoengastia latyshevi	*Apodemus mystacinus*	32
Brunehaldia brunehaldi	*Apodemus* (*A*) *flavicollis, A. mystacinus, A. witherbyi, Chionomys nivalis, Meriones tristrami, Mus macedonicus*	32, 33
Brunehaldia bulgarica	*Apodemus* (*A*) *flavicollis, A. witherbyi, Mus musculus*	32,33,34
Brunehaldia curtinae	*Apodemus (Sylvaemus)* sp	32,34
Cheladonta sp.	*Microtus guentheri, Chionomys nivalis, Mus musculus*	32,33
Cheladonta deserticola	*Microtus schidlovskii*	32
Cheladonta flava	*Chionomys nivalis, Microtus schidlovskii*	32
Cheladonta ikaoensis	?	34
Ericotrombidium hasei	?	35
Hirsutiella alpina	*Apodemus mystacinus*	32
Hirsutiella llogorensis	*Apodemus flavicollis*	32,34
Hirsutiella steineri	*Chionomys nivalis, Apodemus* (*A*) *mystacinus, A. ponticus, A. witherbyi, Ch. nivalis, Cricetulus migratorius, Microtus majori*	32,34
Hypotrombidium meleagride	*Meleagris gallopavo*	36
Kepkatrombicula ciliciensis	*Microtus schidlovskii*	32
Kepkatrombicula crinita	*Apodemus* (*A*) *flavicollis, A. witherbyi, Chionomys nivalis*	32
Kepkatrombicula kudryashovae	*Apodemus mystacinus, Microtus guentheri*	32,33
Kepkatrombicula odessana	*Ovis aries*	
Kepkatrombicula serbovae	*Apodemus* (*A*) *mystacinus, A. flavicollis, A. witherbyi, Chionomys nivalis, Microtus* (*M*)*guentheri, M. schidlovskii*	32,33

Kepkatrombicula sayini	*Bos taurus*	36
Kepkatrombicula taurensis	*Chionomys nivalis*	32
Lacertacarus callosus	*Stenodactylus grandiceps, Anatololacerta pelasgiana, Darevskia parvula, Lacerta trilineata,Phoenicolacerta laevis, Podarcis siculus*	37
Lacertacarus graecus	*Lacerta* spp-pitfall tuzak	38
Lacertacarus similis	*Acanthodactylus boskianus, Anatololacerta danfordi, Apathya cappadocica, Asaccus elisae, Cyrtopodion scabrum, Darevskia (D) bendimahiensis, D. clarkorum, D. derjugini*, D. dryada, D. parvula, D. rudis, D. uzzelli, Eremias strauchi, Eumeces schneiderii, Hemidactylus turcicus, Lacerta (L) agilis, L. media, L. trilineata, L. viridis, Ophisops elegans, Podarcis muralis, Stenodactylus grandiceps, Trapelus lessonae*	37,*bu çalışma
Lacertacarus turcicus	*Lacerta* spp-pitfall tuzak	38
Leptotrombidium europaeum	*Apodemus* (*A*) *flavicollis, A. mystacinus, A. uralensis, A. ponticus, Chionomys nivalis, Cricetulus migratorius, Crocidura leucodon, Microtus majori*	32,34
Leptotrombidium hasei	*Crocidura russula*	35
Matacarus demrei	*Ophisops elegans, Asaccus elisae, Eublepharis angramainyu, Lacerta viridis, Podarcis* (*P*) *muralis*	35,37
Matacarus sp	*P. siculus*	37
Miyatrombicula attaliaensis	*Apodemus witherbyi, Microtus schidlovskii*	32
Neotrombicula autumnalis	*Capra hircus, Hemidactylus turcicus, Ixobrychus minutus, Lepus europaeus, Ovis aries*	21,34,35,39,40,41,42
Neotrombicula bolkarensis	*Microtus schidlovskii*	
Neotrombicula delijani	*Apodemus (Sylvaemus)* sp., *Chionomys nivalis, Cricetulus migratorius, Microtus* sp.	32
Neotrombicula heptneri	*Capra hircus*	23
Neotrombicula kizlarsivrisiensis	*Chionomys nivalis*	32
Neotrombicula kolebinovae	*Chionomys nivalis, Microtus schidlovskii*	32
Neotrombicula lazistanica	*Apodemus* (*Sylvaemus*) sp., *Microtus majori*	32
Neotrombicula sympatrica	*Rattus rattus*	33
Neotrombicula tragardhiana	*Crocidura russula*	35
Neotrombicula turkestanica	*Chionomys nivalis, Microtus schidlovskii*	32
Neotrombicula palestinensis	?	34
Neotrombicula scrupulosa	*Apodemus mystacinus, Chionomys nivalis, Microtus majori*	32
Neotrombicula sympatrica	*Apodemus flavicollis, Microtus majori*	32
Neotrombicula vernalis	*Apodemus flavicollis, Chionomys nivalis,*	32,34

	Cricetulus migratorius, Microtus majori	
Neotrombicula vulgaris	*Crocidura suavolens, Apodemus* (*A*) *mystacinus, A. flavicollis, Mus macedonicus*	32,33
Neotrombicula sp	*Anatololacerta pelasgiana*	37
Schoutedenichia anatolica	*Crocidura russula*	35
Schoutedenichia krampitzi	*Microtus guentheri, Apodemus* (*A*) *flavicollis, A. mystacinus*	32,33,34
Schoutedenichia thracica	*Apodemus* (*A*) *flavicollis, A. mystacinus, A. witherbyi, Chionomys nivalis, Microtus schidlovskii*	32
Walchia cognata	*Crocidura russula*	35
Xinjiangsha lyciaensis	*Chionomys nivalis*	32
Xinjiangsha montana	*Microtus majori, Apodemus ponticus*	32
Xinjiangsha tarda	*Microtus majori, Apodemus* (*Sylvaemus*) sp	32
Trombiculidae sp	İnsan	23

Dünyada sürüngenlerde yapılan çeşitli trombikülid akar çalışmalarında *Ancoracarus*, *Ericotrombidium*, *Eutrombicula*, *Lacertacarus*, *Matacarus*, *Microtrombicula*, *Odontacarus*, *Schoengastia* ve *Siseca* türlerine ait enfestasyon bildirimleri yapılmıştır (43-50). Türkiye'de yapılan trombikülid araştırmalarında çoğunlukla küçük memeliler üzerinde durulmuş ayrıca koyun, keçi, sığır, tavşan ve insanda da enfestayon bildirimleri rapor edilmiştir. Sürüngenlerden ise sadece kertenkele türlerinden *Lacertacarus*, *Matacarus* ve *Neotrombicula* enfestasyonları bildirilmiştir (35,37).

Lacertacarus, Trombikülid akarlarının aksine yüksek oranda konak özgüllüğü olan cinslerden biri olmakla beraber şu ana kadar kertenkelelerden yedi tür tanımlanmıştır; *L. callosus*, *L. croaticus*, *L. graecus*, *L. latus*, *L. sardiniensis*, *L. similis* ve *L. turcicus* (49). Bu türlerden *L. callosus*, *L. graecus*, *L. similis* ve *L. turcicus* Türkiye'den bildirilmiştir (35,37).

Matacarus cinsinde ise şu ana kadar yedi tür tanımlanmıştır; *M. agamae*, *M. arabicus*, *M. buretti*, *M. crimeaensis*, *M. demrei*, *M. ediosi* ve *M. maroccanus* (32). Bu türlerden sadece *M. demrei* Türkiye'den *Ophisops elegans*, *Asaccus elisae*, *Eublepharis angramainyu*, *Lacerta viridis* ve *Podarcis muralis* konaklarından rapor edilmiştir (35,37).

Lacertacarus ve *Matacarus* türlerinin aksine *Neotrombicula* türleri çoğunlukla memelilerde ve kuşlarda enfestasyona neden olmakla beraber nadir de olsa sürüngenlerden de enfestasyon bildirimleri vardır (32). Türkiye'den ise ilk olarak *Hemidactylus turcicus*'dan *Neotrombicula autumnalis*, daha sonrasında ise *Anatololacerta pelasgiana*'da *Neotrombicula* sp enfestasyonu rapor edilmiştir (35,37).

Türkiye 139 tür ile (51) zengin bir sürüngen faunasına sahip olmasına rağmen yapılan ektoparazitik çalışmalar sınırlı sayıdadır. Bu çalışmalarda da çoğunlukla keneler üzerinde durulmuş ve 24 farklı sürüngen türünden *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Ixodes* ve *Rhipicephalus* enfestasyonları rapor edilmiştir (37,52,53). Ayrıca bazı sürüngenlerde astigmatik akarlardan Acaridae ailesinden *Acarus farris* ve *Tyrophagus putrescentia*, Glycyphagidae ailesinden *Lepidoglyphus destructor*; mesostigmatik akarlardan Laelaptidae ailesinden *Haemolaelaps* sp., Macronyssidae ailesinden *Ophionyssus* (*O*) *natricis O. saurarum*, ve *Ophionyssus* sp.; prostigmatik akarlardan Anystidae ailesinden *Erythracarus parietinus*, Pterygosomatidae ailesinden *Geckobia* (*G*) *tarantula, G. turkestana, Pimeliaphilus desertus*, *Geckobia* sp., *Hirstiella* sp., Tetranychidae ailesinden ise *Petrobia latens* enfestasyonları bildirilmiştir (37,54-58).

Yapılan bu çalışma sonucunda Türkiye'de daha önce farklı sürüngen türlerinde tespit edilen *Lacertacarus similis*, Artvin Kertenkelesi (*Darevskia derjugini*) için yeni konak kaydı niteliği taşımaktadır. En büyük akar ailelerinden olan ve 3000'in üzerinde türün tanımlandığı bu grup ile ilgili yapılan çalışmalar arttıkça Türkiye'den yeni trombikülid türlerinin bildirimi, konak-parazit ilişkileri veya vektörlükleri ilgili yeni bilgiler ortaya çıkacaktır.

TEŞEKKÜR

Saptanan *Lacertacarus similis*'in konfirmasyonu Dr. Alexandr Stekolnikov (Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia) tarafından yapılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Shatrov AB, Kudryashova NI. Taxonomic ranking of major trombiculid subtaxa with remarks on the evolution of host-parasite relationships (Acariformes: Parasitengona: Trombiculidae). Museum and Institute of Zoology, Polish Academy of Sciences 2008; 58: 279-287.
2. Santibáñez P, Palomar AM, Portillo A, Santibáñez S, Oteo JA. The role of chiggers as human pathogens. An Overview of Tropical Diseases 2015; 173-202.
3. Kudryashova NI.. Chigger mites (Acariformes, Trombiculidae) of east Palaearctics. KMK Scientific Press, Moscow. 1998. [In Russian]
4. da Silveira PSA, de Oliveira Bernardi LF, Pepato AR. New records of the genus *Whartonia* (Acari, Leeuwenhoekiidae) associated with the bat Carollia perspicillata from southeastern Brazil. Check List 2015; 1793.
5. Kalúz S. A new chigger mite (Acari: Trombiculidae) from the Mediterranean. Biologia 2019; 79: 1509-1515.
6. Moniuszko H, Felska M, Mąkol J. Evidence for co-invasion events: different chigger species (Actinotrichida, Trombidioidea: trombiculidae) share a host. Experimental and Applied Acarology 2018; 76: 29-39.
7. Stekolnikov AA. "*Leptotrombidium* (Acari: Trombiculidae) of the World," Zootaxa 2013; 3728: 1–173.
8. Daniel M, Stekolnikov AA. To the fauna of chigger mites (Acari: Trombiculidae) parasitize bats in Cuba. Acarologia 2003; 43: 29-38.
9. Antonovskaia AA. Using DNA Markers in Studies of Chigger Mites (Acariformes, Trombiculidae). Entomological Review 2018; 98: 1351-1368.
10. Zajkowska P, Moniuszko H, Mąkol J. Host-parasite associations between bats (Mammalia: Chiroptera) and chiggers (Trombidiformes: Trombiculidae)—a review and checklist. Museum and Institute of Zoology, Polish Academy of Sciences 2018; 68: 97-178.
11. Chaisiri K. Molecular ecology of chigger mites (Acari: Trombiculidae) and associated bacteria in Thailand. Doktora Tezi. The University of Liverpool. İngiltere. 2006.
12. Burns DA. Diseases caused by arthropods and other noxious animals. Rook's Textbook of Dermatology, 2010; 1: 1-61.
13. Shatrov AB. Stylostome formation in trombiculid mites (Acariformes: Trombiculidae). Experimental and Applied Acarology 2009; 49: 261-280.
14. Kampen H, Schöler A, Metzen M, Oehme R, Hartelt K, Kimmig P, Maier WA. *Neotrombicula autumnalis* (Acari, Trombiculidae) as a vector for *Borrelia burgdorferi* sensu lato?. Experimental and Applied Acarology 2004; 33: 93-102.
15. Mendoza-Roldan JA, Mendoza-Roldan MA, Otranto D. Reptile vector-borne diseases of zoonotic concern. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife 2021; 15: 132–142.
16. Faccini JLH, Santos ACG, Santos SB, Jacinavicius FDC, Bassini-Silva R, Barros-Battesti DM. Trombiculiasis in Domestic Goats and Humans in the State of Maranhão, Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária 2017; 26: 104-109. doi: 10.1590/S1984-29612016088
17. Costa C, Ferrari A, Binazzi R, Beltrame A, Tacconi D, Moro L, Edouard S, Parola P, Buonfrate D, Gobbi F. Imported scrub typhus in Europe: Report of three cases and a literature review. Travel Medicine and Infectious Disease 2021; 42: 102062.
18. Richards AL, Jiang J. Scrub typhus: historic perspective and current status of the worldwide presence of *Orientia* species. Tropical Medicine and Infectious Disease 2020; 5: 1-16.
19. Xu G, Walker DH, Jupiter D, Melby PC, Arcari CM. A review of the global epidemiology of scrub typhus. PLoS Neglected Tropical Diseases 2017; 11: 1-27.
20. Porras-Villamil JF, Javier-Olivera M. Medically important trombiculids: a systematic review of the global distribution and clinical consequences of their bites. Revista Peruana de Investigación en Salud 2021; 5: 67-76.
21. Merdivenci A. Türkiye Parazitleri ve Parazitolojik Yayınları. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, Kutulmuş Matbaası, İstanbul, 1970; 1-324.

22. Kubo M, Sato H, Hattori S, Kuraishi T. Dermatitis associated with infestation of a trombiculid mite, *Leptotrombidiu*m miyajimai, in an Amami Rabbit (*Pentalagus furnessi*). Journal of Wildlife Diseases 2014; *50*: 416-418.
23. Stekolnikov AA. Kar S. A case of domestic goat parasitism by *Neotrombicula heptneri* (Acariformes: Trombiculidae) in Turkey. Acarologia 2015; 55: 355–359.
24. Ramilo DW, Monteiro C, Carreira M, da Fonseca IP, Cardoso L. First report of Neotrombicula inopinata infestation in domestic cats from Portugal. Veterinary Parasitology 2019; 267: 1-3.
25. Ramilo DW, Costa P, Stekolnikov AA, Cláudio JM, Lourenço AM, da Fonseca IP, Cardoso L. First report of *Ericotrombidium ibericense* in domestic dogs. Acta Parasitologica 2021; 66: 253-258.
26. Areso Apesteguía M, Areso Portell JB, Halaihel Kassab N, Gracia Salinas MJ. Severe trombiculiasis in hunting dogs infested with *Neotrombicula inopinata* (Acari: Trombiculidae). Journal of Medical Entomology 2019; 56: 1389-1394.
27. Cousandier G, Bassini-Silva R, Huang-Bastos M, Barros-Battesti DM, Jacinavicius FDC, de Castro LD. First record of *Eutrombicula tinami* (Oudemans, 1910) (Trombidiformes: Trombiculidae) parasitizing a cat in Brazil. Parasitology Research 2021; 120: 337-339.
28. Fitria EZC, Nurdian Y. Projects: Beware of Chiggers Mite in Farm during the Rainy Season: Not Only Matter of Animals. 2017.
29. Schluger EG. Vasilieva IS. A new genus and two new species of chigger mites (Acariformes, Trombiculidae) from the lizards. Parazitologia 1977; 3: 265–268. [In Russian]
30. Weitzel T, Silva-de la Fuente MC, Martínez-Valdebenito C, Stekolnikov AA, Pérez C, Pérez R, Vial C, Abarca K, Acosta-Jamett G. Novel vector of scrub typhus in subantarctic Chile - evidence from human exposure. Clinical Infectious Diseases 2021. doi: 10.1093/cid/ciab748
31. Kaya TI, Yilmaz MA. Dermoscopy confirmed Trombiculidae larva infestation in Turkey. International Journal of Dermatology 2019; 58: 120-121.
32. Stekolnikov AA, Daniel M. Chigger mites (Acari: Trombiculidae) of Turkey. Zootaxa 2012; 3216: 1-104.
33. Açıcı M, Demirtaş S, Gürler AT, Bölükbaş CS, Umur Ş. A Diagnostic Survey of Chigger Mites (Acari: Trombiculidae) of Wild Rodents and Soricomorphs in Turkey. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2021; 27: 123-128.
34. Kepka O. Trombiculidae (Acari) aus der Türkei. II. Zeitschrift für Parasitenkunde 1966; 27: 43-63.
35. Kepka O. Trombiculidae (Acari) aus der Türkei. Zeitschrift für Parasitenkunde 1962; 21: 273-289.
36. Stekolnikov AA. A catalogue of the holotypes of chigger mites (Acariformes: Trombiculidae) at the Natural History Museum of Geneva. Zootaxa 2019; 4620: 1-71.
37. Jabbarpour S. Türkiye'de Dağılış Gösteren Bazı Kertenkelelerde Ektoparazit Yaşayan Akarlar (Arachnida: Acarina). Doktora Tezi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 2016.
38. Kaluz S. Two new chigger mites of the genus *Lacertacarus* (Acari: Prostigmata, Trombiculidae). Zootaxa 2011; 2922: 15-26.
39. Oytun HŞ. Tıbbi Entomoloji (2. baskı). Ankara Üniversitesi. Tıp Fakültesi Yayınları, Güzel İstanbul Matbaası, Ankara, Türkiye.1961.
40. Aksın N, Aksın NE. Elazığ Yöresindeki Yabani tavşanlarda ektoparazit türlerinin yaygınlığı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2002; 26: 67-70.
41. Cakiroglu D, Pekmezci D, Meral Y, Gokalp G, Acici M. Trombiculidae larvae (*Neotrombicula autumnalis*) infestation in a Little Bittern (Ixobrychus minutus) in Turkey. Parasitology Research 2008; 102: 1077-1079.
42. Dik B, Uslu U. Ectoparasites of hares (*Lepus europaeus* Pallas) in Konya Province, Turkey. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences 2018; 42: 65-72.
43. Stekolnikov AA., González-Acuña D. Four new species of chigger mites (Acari: Trombiculidae) of the genus *Eutrombicula* from Chile. International Journal of Acarology 2010; 36: 313-325.
44. Takahashi M, Misumi H. *Siseca todai* (Acari, Trombiculidae): A new species of chigger mite collected from a gekkonid lizard, *Gekko hokouensis* Pope, 1928 on Yonaguni Island, southwestern Okinawa, Japan. Bulletin of the National Museum of Natural Science Series A 2011; 37: 177-183.
45. Takahashi M, Misumi H, Takahashi Y. A new genus and two new species of chigger mites (Acari, Trombiculidae) collected from amphibious sea snakes of Japan. Bulletin of the National Museum of Natural Science Series A 2012; 38: 159–172.
46. Mockett S. A review of the parasitic mites of New Zealand skinks and geckos with new host records. New Zealand Journal of Zoology 2017; 44: 39-48.
47. Corn JL, Mertins JW, Hanson B, Snow S. First reports of ectoparasites collected from wild-caught exotic reptiles in Florida. Journal of Medical Entomology 2014; 48: 94-100.
48. Stekolnikov AA, Pfliegler WP, Sciberras A. Contributions to the fauna of reptilian chiggers (Acari: Trombiculidae) from the Central Mediterranean, with a description of one new species. International Journal of Acarology 2014; 40: 588-594.
49. Kaluz S. 2019. A new chigger mite (Acari: Trombiculidae) from the Mediterranean. Biologia 2019; 74: 1509–1515.
50. Stekolnikov AA. Three new species of chigger mites (Acariformes: Trombiculidae) from the Galápagos Islands. Systematic and Applied Acarology 2021; 26: 325-342.
51. Ilgaz Ç. Türkiye sürüngen faunasının endemizm durumu. Journal of the Institute of Science and Technology 2019; 9: 1243-1252.

52. Eren G, Açıcı M, Öztürk M, Koç Ö. First Record of *Ixodes ricinus* (Acari; Ixodidae) in European Glass Lizard (Pseudopus apodus; Anguidae) and Studies on Ectoparasite in Reptiles from Past to Present in Turkey. Eduvet International Veterinary Science Congress 25-27 June 2021. Proceedings Book 2021; 182-183.
53. Aydın L, Yıldırımhan HS, Uğurtaş İH. Marmara bölgesi'ndeki bazı kertenkele ve kaplumbağa türlerinde kenelerin (Ixodidae) yaygınlığı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2002; 26: 84-86.
54. Kurtdede A, Haydardedeoğlu AE, Kar S. Bir *Boa constrictur*'da *Ophionyssus natricis* Enfeksiyonu ve Sağaltımı. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi 2009; 15: 323.
55. Gazyağcı S, Aktaş MS, Sarı B. The first record of the mite (*Hirstiella* sp.) on a green iguana from Turkey and its therapy with fipronil-a case report. Veterinarski Arhiv 2011; 81: 793-797.
56. Dik B. Türkiye'de Bir Su Yılanında (*Natrix tessellata*, Laurente 1768)(Reptilia: Squamata: Colubridae) ilk *Ophionyssus natricis* (Gervais, 1844) Olgusu. Turkiye Parazitoloji Dergisi, 2012; 36: 112-115.
57. Yipel FA. Bir Yeşil İguana'da Ektoparaziter Enfestasyonun (*Hirstiella* spp.) İvermektin Solüsyonu İle Tedavisi. Kocatepe Veterinary Journal 2014; 7: 85-87.
58. Keskin A. Occurrence of *Ophionyssus natricis* (Acari: Macronyssidae) on the captive corn snake, *Pantherophis guttatus*,(Squamata: Colubridae) in Turkey. Acarological Studies 2021; 3: 89-95.

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01B **SB08** ***11 Ekim 2021 – 18:00-19:00***

Türkiye'nin Farklı Karasularından Avlanmış Deniz Balıklarında Anisakid ve Raphidascaridid Nematodların Yaygınlığının Araştırılması

Neslihan SÜRSAL ŞİMŞEK[1], **Emrah ŞİMŞEK[2]**

[1]Aksaray Üniversitesi / Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, AKSARAY; [2]Erciyes Üniversitesi / Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri ve Hastalıkları AD, KAYSERİ

E-mail: emrhsmsk@hotmail.com

Amaç: Kızıl Deniz ve Hint-Pasifik kökenli balıkların Süveyş Kanalı vasıtasıyla Akdeniz'e olan girişleri Lessepsiyan göç olarak tanımlanmıştır. Son yıllarda, Akdeniz balık faunası bu göç sebebiyle dikkate değer bir şekilde değişmiştir. Türkiye'nin Süveyş Kanalına olan yakınlığına bağlı olarak Ülkemiz sularında tespit edilen yabancı türlerin büyük bir kısmının Kızıl Deniz kökenli olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, Lessepsiyan göçmen balık türlerinin Akdeniz'e girişiyle birlikte Ülkemiz deniz balıklarındaki ascaridoid faunasının değişebileceği hipotez edilmiştir. Projede, Akdeniz, Ege, Karadeniz ve Marmara Denizinden yakalanan ve satışa sunulan bazı balıklarda muhtemel yeni anisakid ve raphidascaridid nematod türlerinin varlığının araştırılması, tespit edilen nematodların morfolojik ve moleküler bazlı tür identifikasyonlarının yapılması ve saptanan parazitlerin halk sağlığı açısından oluşturdukları risklerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Ekim 2020 ve Mart 2021 tarihleri arasında 21 farklı balık türünü kapsayan 750 balık örneklenmiş ve bu balıklar klasik nekropsi, makroskobik/mikroskobik bakı ve UV-press metodu kullanılarak anisakid ve raphidascaridid nematodların varlığı yönünden incelenmiştir. Her bir balık türünden toplanan nematodlar, içerisinde fizyolojik tuzlu su bulunan ayrı ayrı petrilere alınarak doku artıklarından temizlenmiştir. Morfolojik ve moleküler analizlerde kullanılacak nematodlar, steril bistüriler yardımıyla üç parçaya bölünmüş, nematodun ön ve arka ucu morfolojik identifikasyon için laktofenole, orta kısmı ise genomik DNA izolasyonunda kullanılmak üzere %70'lik alkol içerisine alınmıştır. Tüm larvalardan bireysel olarak genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. Ardından ilk olarak nematodların ITS1-5.8-ITS2 (ITS) gen bölgesini amplifiye eden NC5F-NC2R primerleri kullanılarak PCR analizleri gerçekleştirilmiştir. Sonrasında *Anisakis* türlerini belirlemek amacıyla kesim enzimleri kullanılarak ITS gen bölgesinin RFLP analizleri gerçekleştirilmiştir. Morfolojik incelemelerde *Hysterothylacium* sp. olarak identifiye edilen nematodların moleküler olarak tür teşhislerini yapmak ve RFLP profillerine göre tür teşhisi yapılan *Anisakis* türlerinin konfirmasyonunu sağlamak amacıyla ITS gen bölgesi sekanslanmıştır. ITS sekansları elde edilen *Hysterothylacium* izolatlarının intraspesifik nükleotid farklılıklarının belirlenebilmesi amacıyla ise mitochondrial cytochrome oxidase subunit II (*cox2*) gen bölgesini amplifiye eden 211F-210R primerleri kullanılarak PCR analizleri gerçekleştirilmiş ve ardından *cox2* gen bölgesi de sekanslanmıştır. Elde edilen tüm sekanslar Geneious Prime 2020.0.3 genetik yazılımı kullanılarak düzenlenmiş ve analiz edilmiştir.

Bulgular: İncelenen örnekler içerisinde, Ege Denizi'nden; *Phycis blennoides, Merluccius merluccius* ve *Scorpaena scrofa,* Akdeniz'den; *Pagellus erythrinus* ve *Nemipterus randalli*, Karadeniz'den ise; *Merlangius merlangus* olmak üzere 6 farklı balık türünün nematodlarla enfekte olduğu görülmüştür. Çalışmada bulunan nematodlar, morfolojik ön incelemeler sonucunda cins bazında (*Anisakis* sp. ve *Hysterothylacium* sp.) sınıflandırılmıştır. Ege Denizi'nden örneklenen 40 *P. blennoides*'den 3'ü (%7,5) 7 adet ve 40 *M. merluccius*'dan 16'sı (%40) 102 adet larva ile enfekte bulunmuş olup, larvalar *Anisakis* sp. tip I larva olarak identifiye edilmiştir. Yine Ege Denizi'nden örneklenen 40 *S. scrofa*'nın 6'sında (%15) 11 adet larva tespit edilmiş olup, larvalar *Hysterothylacium* sp. olarak identifiye edilmiştir. Akdeniz'den örneklenen Lessepsiyan göçmeni 60 adet *N. randalli*'nin 24'ünün (%40) 78 adet *Hysterothylacium* sp. ile enfekte olduğu görülmüştür. Yine Akdeniz'den örneklenen 40 *P. erythrinus*'dan 5'inin (%12,5) 5 adet *Hysterothylacium* sp. larvasıyla, 3'nün (%7,5) ise 10 adet *Anisakis* sp. tip I larvasıyla enfekte olduğu tespit edilmiştir. Karadeniz'den örneklenen 40 *M. merlangus*'tan 15'i ise (%37,5) 32 adet *Hysterothylacium* sp. larvasıyla enfekte bulunmuştur. Toplam da 72 (%9,6) balığın 245 adet nematodla enfekte olduğu tespit edilmiştir. ITS gen bölgesinin RFLP profillerine göre; *P. blennoides* türünde *A. pegreffii*, *M. merluccius* ve *P. erythrinus* türlerinde ise *A. typica* tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen sekans analizleri sonucunda, *Anisakis* izolatlarımıza ait ITS sekansları GenBank'ta kayıtlı olan referans izolatlarla (*A. pegreffii*: JQ900763, *A. typica*: JQ912690) %100 identik bulunmuş olup, RFLP sonuçlarını doğrulamıştır. Çalışmada bulunan *Hysterothylacium* izolatlarının morfolojik inceleme ve ITS sekans sonuçlarına göre; *S. scrofa*'dan izole edilen larvalar *Hysterothylacium* sp. larval tip IV (dördüncü dönem larva), *M. merlangus*'dan izole edilen larvalar *Hysterothylacium* sp. larval tip VIII (üçüncü dönem larva) ve *P. erythrinus*'dan izole edilen larvalar *H. reliquens* olarak tanımlanmış ve moleküler olarak karakterize edilmiştir. Lessepsiyan göçmen olan *N. randalli*'den izole edilen nematodlar ise *H. tahalassini* (erişkin) olarak identifiye edilmiştir. Her bir larval morfotipe ve türe ait ITS sekansları kendi içlerinde %100 benzerlik göstermiş olup intraspesifik nükleotid farklılığı saptanmamıştır. ITS sekansları elde edilen izolatların aynı zamanda cox2 sekansları da elde edilmiştir. *Cox2* gen bölgesine ait sekans sonuçlarına göre; *Hysterothylacium* sp. larval tip IV izolatları arasındaki intraspesifik nükleotid farklılığı %0,17-0,69 olarak belirlenirken, *Hysterothylacium* sp. larval tip VIII izolatları arasındaki intraspesifik nükleotid farklılığı %1,03-1,2 olarak belirlenmiştir. *Hysterothylacium reliquens* izolatları arasında ise %0,17-0,69 intraspesifik nükleotid farklılığı saptanmıştır. Erişkin *H. thalassini* izolatlarına ait *cox2* sekansları karşılaştırıldığında ise %0,0-0,85 intraspesifik nükleotid farklılığının olduğu görülmüştür.

Sonuç: Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonundan desteklenen TSA-2021-10891 kodlu proje ile; Türkiye sularından yakalanan *P. blennoides* ve *P. erythrinus* balık türlerinde sırasıyla *A. pegreffii* ve *A. typica* türleri moleküler olarak ilk kez karakterize edilmiştir. Yine Türkiye sularından yakalanan *S. scrofa*'da *Hysterothylacium* larval tip IV ve *P. erythrinus*'da *H. reliquens* morfolojik ve moleküler olarak ilk kez identifiye edilmiştir. Bunlara ilaveten Türkiye sularından yakalanan ve Lessepsiyan göçmen olan *N. randalli*'de ise Türkiye ascaridoid faunası için yeni bir tür olan *H. tahalassini* (erişkin) morfolojik ve moleküler olarak ilk kez identifiye edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Anisakis, Hysterothylacium,* Morfotip, Moleküler identifikasyon, ITS, *Cox2*, Lessepsiyan göç, Türkiye

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02 **SB09** ***11 Ekim 2021 – 18:00-19:00***

FAO 27 Balıkçılık Alanından Türkiye'ye İthal Edilen Uskumrularda (*Scomber scombrus*) Bulunan *A. pegreffii* X A. simplex (s.s) Hybrid Genotiplerin (Nematoda: Anisakidae) Mitokondriyal rrnS Geninin Moleküler Karakterizasyonu

Neslihan SÜRSAL ŞİMŞEK[1], Alparslan YILDIRIM[2], Gökmen Zafer PEKMEZCİ[3], Abdullah İNCİ[2], Emrah ŞİMŞEK[4]

[1]Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, AKSARAY; [2]Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ; [3]Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları AD, SAMSUN; [4]Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri ve Hastalıkları AD, KAYSERİ

E-mail: neslihansursal@hotmail.com

Amaç: *Anisakis pegreffii* ve *A. simplex* sensu stricto (s.s) anisakiasisin en yaygın etiyolojik ajanı olarak kabul edilmektedir. Sympatric ve allopatric alanlarda yapılan çalışmalarda bu iki tür arasında hibridizasyonun meydana geldiği ortaya koyulmuştur. Bu çalışmada, ithal uskumrularda (*Scomber scombrus*) *Anisakis* larvalarının araştırılması, larvaların ITS1-5.8-ITS2 (ITS) gen bölgesinin PCR-RFLP ve sekans analizleriyle hibrid izolatların belirlenmesi ve bu izolatların small ribosomal subunit RNA (*rrnS*) gen bölgesinin moleküler karakterizasyonun ortaya koyulması amaçlanmıştır.

Yöntem: FAO 27 balıkçılık alanından Türkiye'ye ithal edilmiş ve satışa sunulan 40 adet uskumru (*Scomber scombrus*) Ocak-Nisan 2021 tarihleri arasında tezgahlardan örneklenmiş ve *Anisakis* larvalarının varlığı yönünden incelenmiştir. Saptanan nematodlar fizyolojik tuzlu su ile temizlendikten sonra, steril bistüriler yardımıyla üç parçaya bölünmüş, nematodun ön ve arka ucu morfolojik identifikasyon için laktofenole, orta kısmı ise genomik DNA (gDNA) izolasyonunda kullanılmak üzere %70'lik alkol içerisine alınmıştır. Tüm larvalardan bireysel gDNA izolasyonu yapılmış ve ardından ITS gen bölgesini amplifiye eden NC5F ve NC2R primerleri ile PCR analizleri gerçekleştirilmiştir. Sonrasında *Anisakis* larvalarının tür teşhisini yapmak için *Hinf*I ve *Hha*I kesim enzimleri kullanılarak ITS gen bölgesine ait amplikonlar RFLP analizlerine tabii tutulmuştur. Aynı zamanda belirlenen hibrid izolatların *rrnS* gen bölgesi amplifiye eden MH3/MH4.5 primerleri ile PCR analizleri gerçekleştirilmiştir. Son basamakta, RFLP sonuçlarını doğrulamak ve filogenetik yapılanmayı ortaya koymak amacıyla *Anisakis* larvalarının ITS ve *rrnS* gen bölgeleri PCR primerleri ile sekanslanmıştır.

Bulgular: Parazitolojik incelemelerde, 32 (%80) adet balığın toplam 128 adet nematod ile enfekte olduğu belirlenmiştir. Morfolojik incelemeler sonucunda, saptanan nematodlar *Anisakis* tip I larva olarak identifiye edilmiştir. ITS gen bölgesinin RFLP profillerine göre (*Hinf* I: ~240 bp, ~300 bp, ~340 bp, ve ~620 bp; *Hha*I: ~420 ve ~530 bp); incelenen 128 larvanın yalnızca 3'ünün hibrid genotip olduğu ortaya koyulmuştur. Kalan 125 larvanın ise *A. simplex* (s.s.) (RFLP profilleri; *Hinf* I: ~240 bp and ~620 bp; *Hha*I: ~420 bp and ~530 bp) olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada bulunan hibrid izolatlara ve *A. simplex* (s.s.) izolatlarına ait ITS sekansları analiz edilmiş ve hibridizasyonun göstergesi olan nükleotidler belirlenmiştir. Kendi içerisinde %100 benzer olan ITS sekanslarımız GenBank'ta bulunan

hibrid izolatlarla %99,6-100 identiklik göstermiştir. Hibrid izolatların (GenBank erişim numaraları: MZ923805-7 ve izolat isimleri; NE-1, NE-2, NE-3) mitokonriyal *rrnS* gen bölgesine ait sekanslar karşılaştırıldığında ise %0,2-0,4 intraspesifik farklılığın olduğu belirlenmiştir. NE-1-3 izolatları, Japonya'da insandan tespit edilmiş ve GenBank'ta tek kayıt olan hibrid izolat (AB831878) ile %99,8-100 oranında benzerlik göstermiştir. Mitokonriyal *rrnS* gen bölgesine ait filogenetik ağaçta ise, tüm hibrid izolatlar, veri setine dahil edilen *A. simplex* izolatları ile kümelenmiştir (Bootstrap değeri: 88).

Sonuç: Bu çalışma ile *A. pegreffii* X *A. simplex* (s.s) hibrid izolatların *rrnS* gen bölgesi için güncel veriler elde edilmiş olup, izolatlara ait sekanslar GenBank'a ikinci kayıt olarak girilmiştir. Elde edilen veriler, hibrid izolatların filogenetik yapılanmalarının ve genetik çeşitliliğinin belirlenmesi üzerine yürütülecek çalışmalarda kullanılabilecektir.

Anahtar Kelimeler: *Anisakis*, Hibrid, Filogenetik analiz, *Scomber scombrus,* FAO 27

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01B **SB10** ***11 Ekim 2021 – 18:00-19:00***

İşgalci *Aedes* Sivrisinek Türlerinin Türkiye'deki Güncel Durumları

Berna DEMİRCİ

Kafkas Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, KARS

E-mail: demirciberna@kau.edu.tr

Sivrisinekler Diptera takımı Nematocera alttakımı ve Culicidae ailesi içerisinde yer alan, günümüzde dünya genelinde toplam 3,585 tür ile tanımlanmış oldukça geniş bir gruptur ve bakteri, virüs, protozoon ve nematodlar içerisinde yer alan birçok tehlikeli patojene vektörlük yaptıklarından dolayı artropod türleri arasında en tehlikeli vektör türler olarak konumlandırılmışlardır. Özellikle *Anopheles, Aedes*, ve *Culex* cinsleri içerisinde yer alan vektör türlerle bulaşan sıtma, filariasis, deng, sarı humma, zika, chikungunya, japon ensefaliti ve Batı Nil ateşi gibi hastalıklar tüm dünyada halk sağlığını ciddi şekilde etkilemektedir. *Aedes* cinsi sivrisinekler ise özellikle işgalci yapıları ve zika, deng humması vs. gibi medikal olarak oldukça önemli hastalıkların bulaşına sebep olmalarından dolayı dikkat çekmektedirler. Türkiye'de şu ana kadar *Aedes albopictus, Aedes aegypti* ve *Aedes cretinus* olmak üzere toplam üç tane işgalci Aedes türünün varlığı tespit edilmiştir. *Aedes albopictus* ve *Aedes aegypti* birçok arbovirüsü taşıyan çok önemli vektör türlerdir. Türkiye'de *Aedes albopictus* yumurtaları ilk defa 2011 yılında Türkiye'nin kuzeybatısında bulunan Trakya'da tespit edilmiştir. 2015 yılında ise yapılan çalışmalarla, *Aedes albopictus*'un yayılımını genişlettiği ortaya çıkarılmış ve *Aedes aegypti* türü de Türkiye'nin kuzeydoğusunda ilk defa tespit edilmiştir. 2015-2019 yılları arasında yapılan sürveyans çalışmaları da özellikle *Aedes albopictus* türünün ülke genelinde her yıl yayılımını daha da genişletirken *Aedes aegypti* türünün yayılımının Karadeniz Bölgesi ile sınırlı kaldığını ortaya çıkarmıştır. *Aedes cretinus* türü ise yayılımı sadece Akdeniz Bölgesi ile sınırlı olan ve vektörlük özelliği çok fazla bilinmeyen ancak son dönemlerde Avrupa'da yayılımın artması ve *Aedes albopictus* ile olan yakın benzerliği ile dikkat çekmeye başlamış bir türdür. Tür ilk defa 1997 yılında Türkiye'de Belek/Antalya'da tespit edilmişken, 2020 yılında İstanbul'da tekrar bulunmuştur. Türkiye'de şimdiye kadar işgalci *Aedes* türlerinin taşıyıcılık yaptığı deng, sarı humma, chikungunya veya zika virüsleri kaynaklı herhangi bir yerli bulaş bildirilmemiş olsa da dış kaynaklı bulaşımların tespiti, vektör türlerin varlığı ve uygun iklim koşullarından dolayı ülkeyi bu hastalıklar için riskli bir konuma sokmakta ve bu türlerin yayılımlarının takip edilmesinin önemini ortaya çıkarmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Aedes*, işgalci türler, vektör

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 01B **SB11** ***11 Ekim 2021 – 18:00-19:00***

At Çiftliklerinden Toplanan Sivrisinek (Diptera: Culicidae) Türleri Üzerine Araştırmalar

Hilal BEDİR[1], **Ahmet DENİZ[1]**, Çağla KORKMAZ[2], Mesut YİĞİT[3], Neriman MOR[1], Mükremin Özkan ARSLAN[1], Zati VATANSEVER[3]

[1]Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, KARS; [2]Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü, ANKARA; [3]Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, KARS, Kars

E-mail: bedirhilal@gmail.com

Amaç: Sivrisinekler, birçok hastalık etmeninin insanlara ve hayvanlara bulaşmasından sorumlu vektör organizmalardır. Sivrisinekler aracılığıyla bulaştırılan hastalıkların bulaşma odaklarında bulunan sivrisinek vektör türlerinin tanımlanması, bulaşma eko-epidemiyolojisini anlamak ve vektör kaynaklı hastalıkların bulaşmasını azaltan önleme ve kontrol stratejileri önermek ve uygulamak için önemlidir. Türkiye'de at yetiştiriciliği yapılan çiftliklerde yayılış gösteren sivrisinek türleri ve olası vektörlükleri ili ilgili bilgi yetersizliği, bu alanlarda ayrıntılı bir şekilde araştırılma yapılmasını gerektirmektedir. Bu çalışma, söz konusu bilgi eksikliklerinin giderilmesine katkıda bulunulması amacıyla, at yetiştiriciliği yapılan çiftliklerden ve aşım istasyonlarından örneklenen sivrisinek türlerinin belirlenmesi için yapılmıştır.

Yöntem: 2019 yılında Şanlıurfa Hipodromu, Diyarbakır Hipodromu, Adana Yeşiloba Hipodromu, İstanbul Veliefendi Hipodromu, Elazığ Hipodromu, Bursa/Karacabey Pansiyon Hara ve 2021 yılında Bursa Karacabey Pansiyon Hara/İdman Pisti ve İzmit/Merkez Aşım İstasyonlarından sivrisinekler toplandı. Sivrisineklerin beslenme aktivitelerine göre CO2'li ışık tuzakları kuruldu ve saat 18:00-07:00 arasında çalıştırıldı. Koordinat, yükseklik ve çevresel veriler kaydedildi.

Bulgular: Toplamda 8 sivrisinek türüne ait 3,142 birey örneklenmiştir. En baskın tür *Culex pipiens* (n: 2,829) ve sırasıyla; *Aedes caspius* (n: 255), *Culex*. sp (n: 61), *Anopheles maculipennis* s.l. (n: 15), *Culex theileri* (n: 13), *Aedes albopictus* (n:7), *Anopheles hyrcanus* (n: 1) ve *Culiseta subocherea* (n: 1) olarak tanımlanmıştır.

Sonuç: Sivrisinek türleri üzerine yapılan bu çalışmanın ileride yapılacak çalışmalar için faydalı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Sivrisinek, Morfolojik Tür Tayini, Türkiye

Artropod Koruyucu Antijeni Akirin'in *Anopheles sacharovi* Nesillerinde Moleküler Karakterizasyonu ve Ekspresyon Analizleri

Önder DÜZLÜ[1,2], Alparslan YILDIRIM[1,2], Fatih Mehmet ŞİMŞEK[3], Arif ÇİLOGLU[1,2], Osman İBİŞ[2,4], Sadullah USLUĞ[1], Sümeyye AYGÜN[1], Nesrin DELİBAŞI KÖKÇÜ[1], Abdullah İNCİ[1,2]

[1]Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ; [2]Erciyes Üniversitesi, Vektörler ve Vektörlerle Bulaşan Hastalıklar Uygulama ve Araştırma Merkezi, KAYSERİ; [3]Adnan Menderes Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ekoloji AD, AYDIN; [4]Erciyes Üniversitesi, Seyrani Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Hayvansal Biyoteknoloji AD, KAYSERİ

E-mail: onderduzlu@erciyes.edu.tr

Amaç: Akirin (AKR)/Subolesin (SUB) ortholog proteinlerini kodlayan genlerin, artropodlar arasında korunmuş bir yapıya sahip olduğu ifade edilmekte olup kodladıkları bu proteinler farklı biyolojik proseslerin regülasyonunda önemli rol oynarlar. Başta sivrisinek ve bazı kene türleri olmak üzere AKR/SUB proteinleri üzerine yapılan çalışmalarda, kan emen ektoparazitlerin fertilitelerinde ve hayatta kalma oranlarında azalma görüldüğü ve dolayısıyla vektör kaynaklı patojenlere bağlı enfeksiyon oranlarının da düştüğü gözlemlenmiştir. Günümüze kadar, *Plasmodium vivax* sıtmasının ana vektörü olan *Anopheles sacharovi*'de potansiyel aşı adayı olarak nitelenen AKR'nin üzerine herhangi bir veriye rastlanmamıştır. Bu çalışmada, AKR antijeni kodlayan genin moleküler yapısının *An. sacharovi* nesillerinde belirlenmesi, farklı artropod türlerinden günümüze kadar karakterize edilmiş olan ortologlarıyla filogenetik ilişkilerinin ortaya çıkarılması, potansiyel aşı adayı olarak gösterilen bu proteinin bakteriyel ekspresyon vektöründe rekombinant olarak elde edilerek protein karakteriasyonunun yapılması ve *An. sacharovi*'nin farklı gelişim evreleri ile çeşitli dokularında ifade düzeylerinin karşılaştırmalı olarak ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Kayseri, Adana, Şanlıurfa, Aydın, Muğla ve Antalya yörelerinden toplanarak morfolojik ve moleküler yöntemlerle *An. sacharovi* olarak identifiye edilen ergin örneklerden total RNA izolasyonu yapılarak cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. cDNA izolatları uyugun plazmid vektöre klonlanarak rekombinant plazmid izolasyonu gerçekleştirilmiş ve sonrasında rekombinant plazmid DNA'lar sekanslanarak *An. sacharovi* AKR nükleotid dizileri elde edilmiştir. Nükleotid ve kodladıkları amino asit dizileri in-silico analizlere tabii tutulup filogenetik ve protein karakterizasyonları sağlanmıştır. Ayrıca An. sacharovi AKR geni uygun ekspresyon vektörüne klonlanarak rekombinant plazmid elde edilmiş ve BL21 *E. coli* hücrelerinde AKR proteini eksprese edilerek proteinin SDS-PAGE ve Western Blot analizleri yapılmıştır. AKR gen sekansları içerisinden özgün olarak dizayn edilen primerlerle SybrGreen tabanlı qPCR'da insektaryumda oluşturulan *An. sacharovi* hattından temin edilen gelişim dönemleri ve ergin dişilere ait tükürük bezi, orta bağırsak ve abdomen karkasları (fat body) gibi dokularında AKR'nin transkripsiyonel düzeylerinin karşılaştırmalı olarak belirlenmesi için analizler gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Haplotip analizlerinde incelemesi yapılan 40 izolata ait AKR sekanslarının 7 haplotip (AsacAkiH1-7, Aksesyon No:MW470945-951) içerisine dağıldığı belirlenmiştir. Karakterize edilen haplotiplerin 2 haplogrupta kümelendiği görülmüş olup iki haplotip arasında %1,17±0,33 farklılık olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada belirlenen *An. sacharovi* haplotiplerine ait AKR amino asit sekanslarının %99,3 oranında identik olduğu belirlenirken *Anopheles* soyundaki diğer türlerle benzerlik oranı ortalama %87,6 olarak tespit edilmiştir. AKR sekanslarının GenBank'ta mevcut diğer sivrisinek (*Culex* spp., *Aedes* spp.) ve böcek türlerine (*Stomoxys* spp., *Lucilia* spp., *Musca* spp., *Hermatia* spp., *Drosophila* spp.) ait AKR sekanslarıyla yapılan çoklu hizalama analizlerinde %27,2-60,4 oranında interspesifik nükleotid farklılıkları saptanmıştır. Bu farklılıklar temelinde oluşturulan filogenetik ağaç üzerinde AKR sekanslarının tür bazlı olarak monofiletik karakterde çözünürlük sağladığı ve farklı böcek türlerinin yüksek boostrap destekleri ile kendi soyları içerisinde küme oluşturdukları belirlenmiştir. In-silico analizlerde, *An. sacharovi* AKR amino asit zincirinin 23,631 kDA büyüklüğünde bir proteini sentezlediği belirlenmiştir. *An. sacharovi* AKR amino asit zincirinin sinyal peptid içermediği ve sitoplazmik bir protein sentezlediği tespit edilmiştir. İkincil yapı analizlerinde AKR amino asit zincirinin 49.8% alpha-helix, 5.7% beta-strand ve 25.6% random coil bölgelere sahip olan bir proteini kodladığı belirlenmiştir. Ayrıca AKR amino asit zincirinde uzunlukları 6 ila 27 amino asit arasında değişen toplam 7 antijenik bölge belirlenmiş olup, bu bölgelerin antijenik skorları da 1.000'in üzerinde tespit edilmiştir. Rekombinant akirin'in SDS-PAGE jel üzerinde yaklaşık 27 kDa büyüklüğünde olduğu belirlenmiş ve bu sonucun in-silico analizlerle uyumlu olduğu görülmüştür. Western Blot analizlerinde, 6xHis ile işaretli rekombinant AKR füzyon proteininin Anti-His G-HRP antikoru ile PVDF membran üzerinde kemolüminesans görüntülemede hedef büyüklükte spesifik reaksiyon verdiği tespit edilmiş ve immun reaktif olduğu gösterilmiştir. Akirinin ekspresyon analizlerinde tüm gelişim dönemleri ve dokularda ifade olduğu, ve en yüksek ifadenin ergin dişi nesillerde ve abdomen karkası (fat body) dokusunda olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: TÜBİTAK tarafından 119O968 kod numarasıyla desteklenen bu çalışma ile AKR proteinlerini kodlayan genlerin moleküler yapısı *An. sacharovi* nesillerinde Dünyada ilk kez belirlenmiş, farklı artropod türlerindeki ortologlarıyla filogenetik ilişkileri ortaya çıkarılmış ve AKR antijeninin ekspresyon profilleri ve immun reaktiviteleri üzerine özgün çıktılar elde edilmiştir. Elde edilen çıktılar, *An. sacharovi* popülasyonları ve vektörlük açısından risk oluşturdukları *P. vivax* sıtması ve diğer ilgili enfeksiyözlerle biyoteknolojik mücadele noktasında katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Anopheles sacharovi*, akirin, moleküler karakterizasyon, ekspresyon analizleri

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02 *12 Ekim 2021 – 15:30 – 17:00*

Oturum Başkanları:
M. Özkan ARSLAN / Süleyman AYPAK

SB13. Alveolar Echinococcosis Riski Kırsalda mı Yoksa Şehirde mi Daha Fazla?
Hamza AVCIOĞLU, **Muzaffer AKYÜZ**, Rıdvan KIRMAN, İbrahim BALKAYA, Esin GÜVEN

SB14. İnsan ve Hayvan Kaynaklı *Echinococcus granulosus sensu lato* Dizilerinin Filogenetik Analizi
Ceylan POLAT, Serra ÖRSTEN

SB15. *Fasciola hepatica* Seropozitif Hastalarda Bazı Antioksidan Enzim ve Oksidatif Stres Markırlarının Değerlendirilmesi
Zeynep CENGİZ, Hasan YILMAZ, Yunus Emre BEYHAN, Abdurrahman EKİCİ, **Ahmed HALİDİ**, Mutalip ÇİÇEK

SB16. *Toxocara canis*'in İnorganik Pyrophosphatase Antijeninin Moleküler Karakterizasyonu ve *in-vivo* Fare Modelinde Ön Aşı Çalışmaları
Gamze YETİŞMİŞ, Alparslan YILDIRIM

SB17. Çiğ Sütlerde *Toxocara vitulorum*'un Tanısında SyberGreen Tabanlı Real Time PCR Metodolojisinin Geliştirilmesi ve Etkinliği
Nesrin DELİBAŞI KÖKÇÜ, Alparslan YILDIRIM, Sümeyye AYGÜN, Gamze YETİŞMİŞ, Önder DÜZLÜ, Arif ÇİLOGLU, Zuhal ÖNDER, Abdullah İNCİ

SB18. Detection of Protozoan Parasites in Wastewater by Molecular Methods in Corum Province
Sabiha AYDOGDU, Djursun KARASARTOVA, Gönül ARSLAN AKVERAN, Nezahat KOŞAR, Lihua XIAO, Aysegül TAYLAN ÖZKAN

SB19. Investigation of Parasite Contamination in Raw Vegetables Consumed in Çorum by Microscopic and Molecular Methods
Sabiha AYDOGDU, Djursun KARASARTOVA, Gönül ARSLAN AKVERAN, Nezahat KOŞAR, Ayşe Semra GÜRESER, Meral AYDENİZÖZ, Aysegül TAYLAN ÖZKAN

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02 **SB13** ***12 Ekim 2021 – 15:30-17:00***

Alveolar Echinococcosis Riski Kırsalda mı Yoksa Şehirde mi Daha Fazla?

Hamza AVCIOĞLU, **Muzaffer AKYÜZ**, Rıdvan KIRMAN, İbrahim BALKAYA, Esin GÜVEN

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ERZURUM

E-mail: muzaffer.akyuz@atauni.edu.tr

Amaç: *Echinococcus multilocularis* türü cestodun yol açtığı alveolar echinoccocosis (AE)'in yaşamsal dinamiği büyük oranda kırmızı tilki ve tarla faresi arasındaki ilişkiye bağlıdır. Ayrıca çakal, kurt, yabani kediler ve evcil köpekler de hastalığın yayılmasında etkili olabilmektedir. Türkiye, WHO/OIE verilerine göre insan vakaları bakımından dünyada birkaç yüksek endemik ülkeden birisi olarak gösterilmekte ve insan vakalarının büyük oranda doğu illerine ait olduğu bilinmektedir. Bu nedenlerden dolayı sunulacak olan bu çalışmada Erzurum ve yöresinde *E. multilocularis*'in son (tilki, kurt, vaşak ve köpek) ve ara (tarla fareleri) konaklar üzerinde yürütülen araştırmaların sonuçları dikkate alınarak hastalığın yayılmasındaki dinamiklerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Araştırma sahası olan Erzurum ili sınırları içerisinde 50 adet tilki, 2 adet kurt ve 2 adet vaşak karkası toplanarak nekropsi yöntemi ile erişkin *E. multilocularis* yönünden incelenmiştir. Ayrıca 600 adet tilki ve 446 adet sokak köpeği dışkısı da mikroskobik ve moleküler yöntemler ile incelenmiştir. İlin kırsal ve kentsel bölgelerinde son ve ara konak enfektivitesi esas alınarak AE'nin yayılmasına ilişkin risk durumu değerlendirilmiştir.

Bulgular: İncelenen tilki karkaslarında %42 (21/50), kurt karkaslarında %50 (1/2) ve vaşak karkaslarında ise %50 (1/2) oranında erişkin *E. multilocularis* tespit edilmiştir. Dışkı örneklerinin incelenmesinde ise tilkilerde %10,5 (63/600) ve köpeklerde %3,58 (16/446) oranında *E. multilocularis* varlığı saptanmıştır. Tilkilerdeki enfeksiyonun yoğunluğu hem karkas hem de dışkı örneklerinde merkezi ilçelerde, periferdeki ilçelere kıyasla daha yüksek oranda bulunmuştur. Benzer şekilde kurt ve vaşak karkasları şehir merkezine yakın yerlerden elde edilmiştir. Bunların yanı sıra; ara konak tarla farelerinde %1 (5/498) oranındaki AE pozitifliği merkezi ilçelerde tespit edilmiştir.

Sonuç: AE için endemik bölge olan Erzurum ilindeki bu veriler; silvatik bir siklusa sahip olduğu düşünülen AE'in kırsal bölgelerden ziyade şehir merkezine yakın alanlarda daha yaygın olduğunu göstermiştir. Bu durumun hastalığın asıl konağı olan tilkilerin insanların yaşam alanlarına uyum sağlayabildiği ayrıca kurt ve vaşak gibi yabani karnivorların şehir merkezine yakın alanlarda kontaminasyona sebep olduğu sonucunu doğurmaktadır. Ayrıca sinantropik yaşama sahip sokak köpeklerinin E. multilocularis ile enfekte bulunması AE'in kırsaldan şehire taşınmasında bir köprü görevi üstlendiklerini, enfekte köpeklerinin şehirlerarası hareketlerinin ise hastalığın daha az veya hiç görülmediği bölgelere taşınmasında ise ana bir kaynak olabileceğini düşündürmektedir. Tüm bu veriler ışığında, AE'in kırsal yaşamdaki sınırlarını aşıp şehir hayatına uyum sağladığı ve bu durumun insanlar için düşünülenden de büyük bir risk taşıdığı kanaatine varılmıştır. Ülkemiz için önemli bir halk sağlığı problemi olan AE'nin kontrolünde mücadelenin sadece kırsalda değil, kentlerde de bu hususlar göz önünde bulundurularak yürütülmesinin gerekliliği önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Alveolar echinoccocosis, *Echinococcus multilocularis*, Kırsal, Şehir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02 **SB14** ***00 Ekim 2021 – 00:00-00:00***

İnsan ve Hayvan Kaynaklı *Echinococcus granulosus sensu lato* Dizilerinin Filogenetik Analizi

Ceylan POLAT[1], Serra ÖRSTEN[2]

[1]Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, ANKARA;
[2]Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, ANKARA

E-mail: ceylanpolat88@gmail.com

Amaç: Kistik ekinokokkoz, *Echinococcus granulosus sensu lato*'nun larva formunun ara konaklarda ve insanlarda neden olduğu zoonotik bir enfeksiyondur. Dünya çapında geniş bir dağılım göstermekte olup, özellikle kırsal alanlarda hayvancılıkla uğraşan ve köpeklerle yakın temasta bulunan kişilerde daha sık rastlanmaktadır. *E. granulosus s.l.* genetik olarak yüksek çeşitliliğe sahip olup, konak özgüllüğü, hastalığın kliniği ve coğrafi dağılım gibi özellikler ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Farklı konaklarda *E. granulosus s.l.* genotiplerinin sıklığı ve dağılımının bilinmesi, epidemiyolojik çalışmalar ve kontrol stratejilerinin planlanması için önemlidir. Bu çalışmanın amacı, Türkiye'de insan kaynaklı *E. granulosus s.l.* dizileri ile GenBank'da bulunan hayvan kaynaklı dizilerin filogenetik analizini yaparak dolaşımda olan genotip/haplotipleri belirlemektir.

Yöntem: Çalışmada, *E. granulosus s.l.*'nun COX1 genine ait diziler kullanıldı. Veri seti, ekibimiz tarafından saptanan insan kaynaklı izolatlara ait diziler, GenBank'tan erişilen ve hayvan kaynaklı olduğu belirtilmiş olan Türkiye'den bildirilen diziler ve *E. granulosus sensu stricto, E. equinus, E. ortleppi* ve *E. canadensis* referans dizilerinden oluşturuldu. Filogenetik ağaç, MEGA X yazılımı kullanılarak "maximum likelihood" yöntemi ile yapıldı. Dizilerin birbirleri ile ilişkileri değerlendirildi.

Bulgular: Kısmi COX1 geni dizilerinin 338 baz çiftlik bölgesi için filogenetik analizi yapıldı. İnsan kaynaklı 155 izolattan 150'sinin *E. granulosus s.s.* ve beşinin *E. canadensis* türleri ile uyumlu oldukları belirlendi. Analize dahil edilen 36 hayvan kaynaklı dizinin, *E. granulosus s.s.* ile uyum gösterdiği ve insan kaynaklı diziler ile ortak haplotipler olduğu tespit edildi.

Sonuç: Hayvan kaynaklı izolatlardan elde edilen belirli haplotiplerin insanlarda daha sık rastlanması, bilinen ara konaklar olan koyun ve sığırların yanı sıra katır, yaban domuzu ve kedilerinde enfeksiyon zincirinin devamını sağlamadaki etkisini göstermektedir. Moleküler epidemiyolojik veri ile o bölgelerde bulaşa neden olan insan davranışlarının (kontrolsüz hayvan kesimi, başıboş köpek vb.) belirlenerek, kontrol çalışmaları için ana hedefi oluşturması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Echinococcus granulosus*, kistik ekinokokkoz, filogenetik analiz

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02 **SB15** ***00 Ekim 2021 – 00:00-00:00***

Fasciola hepatica Seropozitif Hastalarda Bazı Antioksidan Enzim ve Oksidatif Stres Markırlarının Değerlendirilmesi

Zeynep CENGİZ[1], Hasan YILMAZ[1], Yunus Emre BEYHAN[1], Abdurrahman EKİCİ[1], **Ahmed HALİDİ[2]**, Muttalip ÇİÇEK[3]

[1]Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, VAN; [2]Muş Alparslan Üniversitesi, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü Tıbbi Laboratuvar Teknikleri, MUŞ; [3]Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, KIRŞEHİR

E-mail: g.sarisu@alparslan.edu.tr

Fasciola hepatica, özellikle çift tırnaklı hayvanlarda sık rastlanan, insanlarda ise nadiren görülen hepatik bir parazittir. *F. hepatica*'nın genç erişkinlerinin konağın karaciğerine göçü sırasında ve sonrasında hücre içinde, membran lipit peroksidasyonunun arttırılması ve mikrozomal ilaç metabolize edici mono-oksijenaz sisteminin belirgin bir şekilde baskılanması gibi kimyasal değişiklikler meydana gelebilmektedir. Bu çalışmanın amacı *F. hepatica* ile enfekte hastalarda süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT) ve malondialdehit (MDA) düzeyini belirlemek ve bu hastalarda belirtilen parametrelerde farklılık meydana gelip gelmediğini ortaya koymaktır. Bu çalışma 01.11.2016-29.03.2019 tarihleri arasında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Parazitoloji Laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmada hasta grubu serolojik değerlendirme sonucunda *F. hepatica* pozitif bulunan 140 hastadan; kontrol grubu ise bu parazit yönünden negatif bulunan ve başka herhangi bir hastalığı bulunmayan 140 sağlıklı kişiden oluşturulmuştur. Hasta ve kontrol grubundan alınan kan örneklerinde fascioliasis pozitifliğini belirlemek için ELISA yöntemi (DRG Diagnostics; *F. hepatica* IgG ELISA) kullanılmıştır. Yine ELISA yöntemi (YLbiont, Shanghai ve Elabscience, USA) ile SOD, CAT, GPx ve MDA düzeyleri değerlendirilmiştir. Yaptığımız bu çalışmada *F. hepatica* ile enfekte olan hasta grubundaki 140 hastanın %43,6'sında CAT (p=0.001), %35'inde GPx (p=0.001), %12,9'unda SOD (p=0.002), %90,7'sinde MDA (p=0.001) pozitifliği saptanmıştır. CAT, GPx ve SOD pozitif hastalarda, MDA da pozitif bulunmuştur.

Sonuç olarak; çalışmamızda fascioliasisli hastalarda MDA'nın yüksek oranda saptanmış olması oksidatif stres meydana geldiğini göstermiştir. Ayrıca değerlendirdiğimiz dört parametrenin pozitifliği bakımından hasta ve kontrol grubu arasında istatistik olarak anlamlı fark olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz, malondialdehit, fascioliasis, insan

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02 **SB16** ***00 Ekim 2021 – 00:00-00:00***

Toxocara canis'in İnorganik Pyrophosphatase Antijeninin Moleküler Karakterizasyonu ve *in-vivo* Fare Modelinde Ön Aşı Çalışmaları

Gamze YETİŞMİŞ, Alparslan YILDIRIM

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-mail: gamzeyet@hotmail.com

Amaç: İnorganik pirofosfataz (PYP), inorganik pirofosfatın (PPİ) orto-fosfata hidrolizini katalize eden bir enzim olup sitozolik enzimler sınıfında yer alır. Canlı hücreler arasında yaygın olarak dağılan, enerji metabolizması, yağ metabolizması ve bazı biyosentetik reaksiyonlarda işlev gören bir protein olan İnorganik Pirofosfataz, prokaryotlar, mantarlar, nematodlar ve bitkilerin (tütün, patates gibi) büyüme ve gelişmeleri için önemli enzimlerden birisidir. Parazitik nematodların da dahil olduğu çeşitli organizmaların yaşam sürecinde Pirofosfatazın bu önemli rolleri sebebiyle farmasötik ve aşı geliştirme çalışmalarında hedef proteinlerden birisi olmuştur. *Toxocara canis* medikal ve veteriner önemi yüksek olan zoonotik parazitlerin en önemlilerinden birisidir. Son yıllarda *T. canis*'e karşı biyoteknolojik aşı ve ilaç geliştirme çalışmalarının önem kazandığı görülmekle birlikte aşılar ve / veya kemoterapötik ajanlar için potansiyel hedef antijenler üzerine araştırma açığı bulunmaktadır. Bu çalışmada, nematodlar ve diğer birçok ökaryotik organizma için metabolik önemi yüksek olan İnorganik Pirofosfataz'ı kodlayan komple gen bölgesinin *T. canis* nesillerinde ilk kez moleküler karakterizasyonunun sağlanması, klonlama ile rekombinant proteinin ekspresyon analizlerinin gerçekleştirilmesi ve *in-vivo* fare modelinde immun uyarım ve aşı etkinliği üzerine ön verilerin elde edilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmanın ilk basamağında ergin *Toxocara canis* nesillerinden total RNA izolasyonu ve sonrasında cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. İnorganik Pirofosfataz enzimini kodlayan Tc-PYP gen bölgesinin açık okuma çerçevesi (ORF) cDNA kalıplarında spesifik primerlerle PCR'da çoğaltılmıştır. Elde edilen jel pürifiye amplikonlar uygun plazmid vektöre klonlanmış ve transformasyon basamaklarından sonra rekombinant plazmidler elde edilmiştir. Rekombinant plazmid (rTc-PYP) izolatları sanger sekanslama platformunda çift yönlü olarak sekanslanmış ve biyoinformatik araçlarla PYP geninin ORF nükleotid sekansları elde edilmiştir. *T. canis* ile GenBank'ta mevcut yakın takson türlerine ait PYP nükleotid ve amino asit dizilimleri çeşitli biyoinformatik araçlar ve uygun modellerle işlenerek filogenetik ilişkiler ve protein özellikleri ortaya çıkarılmıştır. rTc-PYP proteinin elde edilmesi için amino asit sekansları temelinde bakteriyel ekspresyon sisteminde optimum ifadenin sağlanabilmesi amacıyla nükleotid sekanslarının kodon optimizasyonu yapılmış ve GenScript firması üzerinde kodon optimize gen fragmentini içeren rTc-PYP-Pet32a plazmiti sentezletilmiştir. Bu rekombinant plazmitler *E. coli* BL21 hücrelerine transforme edilerek proteinin ekspresyonu ve sonrasında da afinite kromotografide saflaştırılması sağlanmıştır. Ekspresyon etkinliği ve validasyonu ile immun reaktivite analizleri SDS-PAGE ve Western Blot ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada ayrıca aşı

etkinlik değerlendirmeleri için oluşturulan BALB-c fare gruplarında *in-vivo* deneysel immunizasyon ve çelınç çalışmaları yürütülmüş ve bazı ön veriler elde edilmiştir.

Bulgular: Çalışmada elde edilen Tc- PYP geninin ORF sekanslarının 1080 bp uzunluğunda olduğu ve 360 aminoasit zinciri içeren 40,5 kDa büyüklüğünde bir proteini kodladığı belirlenmiştir. Sekans analizine alınan toplam 10 ergin *T. canis* izolatının PYP sekanslarının genetik çeşitlilik analizinde ilgili genin yüksek düzeyde korunmuş olduğu (%99,8 identiklik) belirlenmiş olup karakterize edilen PYP sekansları ilk veriler olarak GenBank'a kaydedilmiştir (Aksesyon no: MT090741-2). Tc-PYP nükleotid sekanslarının filogenetik analizinde Ascaris suum (AB091401) ve Baylisascaris schroederi (GQ859591) PYP sekansları ile birlikte kümelendiği belirlenmiş olup Tc-PYP ile diğer iki ascarit türü arasında sırasıyla ortalama %19,8 ve %19,2 genetik farklılık belirlenmiştir. Tc-PYP proteininin 18 aa uzunluğunda sinyal peptid bölgesi içerdiği belirlenmiştir. Sekonder yapı tahmin analizlerinde Tc-PYP proteinin nonstoplazmik tek bir domaine sahip olduğu, ayrıca %41,9 alpha-helix; %19,4 beta-strand ve %19,7'de random coil bölgeleri içerdiği tespit edilmiştir. Tc-PYP proteininin antijenik yapı analizlerinde uzunluğu 7-17 aa ve antijenik skoru da 1046-1233 arasında değişen toplam 18 antijenik bölgenin varlığı saptanmıştır. Kodon optimizasyonu sağlanarak Pet32a ekspresyon vektörüne yerleştirilen Tc-PYP ORF gen bölgesini içeren rekombinant plazmitin (rTc-PYP) Bl21 E. coli hücrelerine transformasyonu ve ekspresyonunu takip eden analizlerde SDS-PAGE'de ilgili proteinin insoluble karakterde ve in-silico sonuçlarına paralel olarak yaklaşık 40 kDa büyüklüğünde olduğu tespit edilmiştir. Anti-HisG antikoru ile yapılan Western-Blot analizlerinde protein büyüklüğü konfirme edilmiş ve rTc-PYP immun reaktif olduğu belirlenmiştir. rTc-PYP antijeni ile immunize edilen farelerde 2. booster sonrası 6. haftada alınan serum örnekleri ile gerçekleştirilen western Blot analizlerinde ilgili antijenin yüksek immunojenik karakterde olduğu tespit edilmiştir. Balb-c farelerde yürütülen immunizasyon ve çelınç denemelerinin tamamlanan histopatolojik analiz sonuçlarına göre rTc-PYP antijeni ile aşılanmış farelerde hedef organlar olarak belirlenen karaciğer, akciğer ve beyin dokularında kontrol gruplarına kıyasla doku deformasyonunun daha düşük düzeyde olduğu ve göç yollarındaki rejenerasyonun daha hızlı şekillendiği tespit edilmiştir.

Sonuç: Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2020-10142 kodlu doktora tez projesiyle desteklenen bu çalışmada dünya çapında yaygınlık gösteren, zoonotik önemi yüksek olmasına karşın ihmal edilen hastalıklar arasında yer alan *Toxocara canis*'in aşı adayı inorganik pirofosfataz antijeninin genetik ve protein yapısı ilk kez karakterize edilerek moleküler bilgi birikimine kazandırılmıştır. Çalışma ile ayrıca, ilgili antijenin *in-vivo* fare modelinde immunojenitesi ve aşı adayı olarak koruyucu potansiyeli üzerine de öncül sonuçlar elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyoteknolojik aşı, ekspresyon, inorganik pirofosfataz, *Toxocara canis*

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02 **SB17** ***00 Ekim 2021 – 00:00-00:00***

Çiğ Sütlerde *Toxocara vitulorum*'un Tanısında SyberGreen Tabanlı Real time PCR Metodolojisinin Geliştirilmesi ve Etkinliği

Nesrin DELİBAŞI KÖKÇÜ[1], Alparslan YILDIRIM[2], Sümeyye AYGÜN[2], Gamze YETİŞMİŞ[2], Önder DÜZLÜ[2], Arif ÇİLOGLU[2], Zuhal ÖNDER[2], Abdullah İNCİ[2]

[1]Kapadokya Üniversitesi, Kapadokya Meslek Yüksek Okulu, NEVŞEHİR; [2]Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-mail: nesrin.kokcu@kapadokya.edu.tr

Amaç: *Toxocara vitulorum* başta neonatal buzağılar olmak üzere sığırların ince bağırsaklarını enfekte eden bir Ascarid nematod olup, parazitin postnatal bulaşmasında süt ana enfeksiyon yoludur. Çiğ sütlerde parazit larvalarının optimum ve efektif tanısı, hem parazitle ilgili risk faktörlerinin belirlenmesi hem de olası zoonotik bulaşma açısından oldukça önemlidir. Bu çalışmada çiğ süt örneklerinde *T. vitulorum* larvalarının etkin ve kantitatif tanısı amacıyla SYBR green tabanlı real time PCR (qPCR) geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmanın ilk basamağında *T. vitulorum*'un ribozomal ITS-2 gen sekansları hem anabilim dalındaki izolatlara ait sekanslar hem de GenBank veri tabanındaki sekanslar üzerinde optimum özellikte primer dizaynı yapılmış ve sentezletilmiştir. Primerlerin efektifliği ve özgünlüğü referans izolatlara ait gDNA'lar kullanılarak kontrol edilmiştir. Sonraki basamakta *T. vitulorum* ITS-2 gen bölgesi amplikonları plasmid vektöre klonlanmış ve rekombinant plazmid izolasyonu yapılmıştır. Rekombinant plazmid DNA'nın çeşitli dilüsyonları hazırlanarak SYBR green tabanlı qPCR'da duyarlılık ve etkinlik analizleri gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen qPCR metodolojisinin duyarlılığı ayrıca *T. vitulorum* larvaları ile farklı oranlarda (1, 5, 10, 20, 50 larva/10 ml süt milk örneği) deneysel kontamine süt örneklerinden elde edilen gDNA izolatları üzerinde de değerlendirilmiştir.

Bulgular: Diğer askarit türlerine ait gDNA'lar kullanılarak gerçekleştirilen özgünlük değerlendirmelerinde yeni geliştirilen qPCR yönteminin *T. vitulorum*'un saptanmasında spesifik olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonuçları önerilen hedef ITS2 bölgesinin mikrolitrede 2×10^7'den 2×10^1 plasmid kopyasına kadar efektif olarak amplifiye olduğunu göstermiş olup yöntemin etkinliği %96,9, R^2 değeri 0,999 ve slope değeri de -3.398 olarak belirlenmiştir. Ayrıca deneysel kontamine süt örneklerine ait gDNA izolatları üzerinde gerçekleştirilen duyarlılık analizlerinde geliştirilen qPCR metodolojisinin en düşük larva sayısına kadar parazitin DNA'sını saptadığı tespit edilmiştir.

Sonuç: Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından THD-2021-10945 kodlu proje ile desteklenen bu çalışma ile çiğ sütlerde *T. vitulorum* larvasının kantitatif olarak saptanması için yeni ve özgün bir moleküler yaklaşım geliştirilmiştir. Geliştirilen qPCR metodolojisinin *T. vitulorum* üzerine epidemiyolojik araştırmaların yanı sıra halk sağlığı açısından çiğ sütlerin risk değerlendirmelerinde de kullanışlı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Toxocara vitulorum*, çiğ süt, moleküler tanı, qPCR

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02 **SB18** ***00 Ekim 2021 – 00:00-00:00***

Detection of Protozoan Parasites in Wastewater by Molecular Methods in Corum Province

Sabiha AYDOGDU[1], Djursun KARASARTOVA[2], Gönül ARSLAN AKVERAN[3], Nezahat KOŞAR[2], Lihua XIAO[4], Aysegül TAYLAN ÖZKAN[5]

[1]Department of Nutrition and Dietetics, Faculty of Health Sciences, Hitit University, ÇORUM, TURKEY; [2]Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Hitit University, ÇORUM, TURKEY; [3]Department of Food Processing, Alaca Avni Celik Vocational School, Hitit University, ÇORUM, TURKEY; [4]South China Agricultural University, College of Veterinary Medicine, GUANGZHOU, CHINA; [5]Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, TOBB University of Economics and Technology, ANKARA, TURKEY

E-mail: sabihaaydogdu@hitit.edu.tr

Aim: Monitoring of pathogens in untreated wastewater has gained importance today. By investigating the pathogens in untreated wastewater with molecular methods and identifying their genotypes and subtypes, the characteristic features of transmission in the community and molecular surveillance of strains can be determined. In our country, protozoan parasites were frequently investigated in feces and surface water samples by simple conventional methods. Although there are many studies on the prevalence of these protozoa, data on their molecular epidemiology are limited. The aim of the study was to determine the prevalence and genotypes-subtypes of *Cryptosporidium, Giardia, Blastocystis*, *Entamoeba* and *Toxoplasma* species in wastewater samples collected from Corum, Turkey.

Methods: Untreated wastewater samples were collected from Çorum Municipality Waste Water Treatment Plant once a week for 32 weeks, between October 2019 and May 2020. Genomic DNAs were extracted to determine genotypic characteristics and the presence of parasites in wastewater samples was investigated by conventional and nested-PCR methods. The results obtained were confirmed by sequence analysis.

Results: *Blastocystis* sp., *Giardia intestinalis* Assemblages A and *Cryptosporidium parvum* were detected 24 (75%), 9 (28,125%) and 2 (6.25%) respectively in 32 samples while *Entamoeba* and *Toxoplasma* species were not detected. Mixed subtypes were detected all of positive samples for Blastocystis sp. and all of the samples (24) were positive for ST1. ST3 (23) and ST2 (20) were the other prevalant subtypes. Neither ST5 and ST7 were detected. The incidence of parasites increased in April and May.

Conclusion: There are only a few study indicating the presence of protozoons in wastewater samples by molecular methods in Turkey. *C. parvum* was detected at a lower rate than expected in our study. Although *G. intestinalis* Assemblages B is common worldwide, only *G. intestinalis* Assemblage A was detected but it is compatible with the data of our country. This is the first study on the investigation and subtype identification of Blastocystis sp., *Entamoeba* and *Toxoplasma* in wastewater samples in Turkey. As a result, our study revealed the dominant types of these protozoa in our province. Further molecular studies are needed in this regard.

Anahtar Kelimeler: PCR, protozoan parasites, wastewater

Bu çalışma Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından SAGBF19001.19.002 proje numaralı "Çorum İli'nde Atık Suların Moleküler Epidemiyolojik Analizi Yoluyla Parazit Hastalıklarının Toplum Tabanlı Değerlendirilmesi" konusu ile ilgili olup, ilgili birimce desteklenmiştir.

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 02 **SB19** ***00 Ekim 2021 – 00:00-00:00***

Investigation of Parasite Contamination in Raw Vegetables Consumed in Çorum by Microscopic and Molecular Methods

Sabiha AYDOGDU[1], Djursun KARASARTOVA[2], Gönül ARSLAN AKVERAN3, Nezahat KOŞAR[2], Ayşe Semra GÜRESER[2], Meral AYDENİZÖZ[5], Aysegül TAYLAN ÖZKAN[6]

[1]Department of Nutrition and Dietetics, Faculty of Health Sciences, Hitit University, ÇORUM, TURKEY; [2]Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Hitit University, ÇORUM, TURKEY; [3]Department of Food Processing, Alaca Avni Celik Vocational School, Hitit University, ÇORUM, TURKEY [4]Laboratory of Microbiology, Erbaa State Hospital, TOKAT, TURKEY; [5]Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Kırıkkale University, KIRIKKALE, TURKEY; [6]Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, TOBB University of Economics and Technology, ANKARA, TURKEY

E-mail: sabihaaydogdu@hitit.edu.tr

Aim: Intestinal parasitic infections can be transmitted via the fecal-oral way by eating intrinsically contaminated food or via uptake of free-living parasitic stages from the environment. In this study, the prevalence of parasitic contamination on raw consumed vegetables which are sold in bazaar and used as salad material was determined; it was aimed to see the status of important potential parasitic infections caused from raw vegetables in Corum province by molecular and microscopic methods.

Methods: A total of 80 samples of raw vegetables, including tomatoes (10), peppers (10), cucumbers (10), lettuce (10), parsley (10), green onions (10), arugula (10) and carrots (10), which grow on the field were collected randomly from sellers in public bazaar of Corum, Turkey. The samples were transported to the laboratory for analysis in sterile nylon bags. Each raw vegetable sample was weighted (100 g) into sterile plastic bags and washed with physiological saline solution (250 ml) and the washing water/saline was left for about 24 h for sedimentation. The top water was discarded and 12 ml of the remaining washing water centrifuged at 2,000g for 15 min. The supernatant was discarded and the sediment carefully collected. Half of the samples were agitated gently by hand for dispersion of cysts and eggs, and then examined in native, Lugol and modified Kinyoun's stain by light microscopy. The rest of samples were used for DNA extraction and the presence of Cryptosporidium, Giardia, Entamoeba and Blastocystis sp. in these samples was investigated by molecular methods.

Results: A total of 80 raw vegetables were examined, of which 27.5% (22/80) were contaminated with different intestinal parasites. Parasitic contamination was detected on raw lettuce, parsley, arugula, green onions, carrots, cucumber and tomatoes. Lettuce (7/10) was the most commonly contaminated vegetable while peppers were not contaminated. The identified protozoans and helminthes were *Eimeria* spp. 8.75% (7), Nematodes larvae 7.5% (6), *Blastocystis* sp. 7.5% (6), *Strongyloides* larvae 2.5% (2), *Ascaris* egg 1.25% (1) and *Dicrocoelium* egg 1.25% (1) by light microscopy. *Blastocystis hominis* ST1

15% (12), *Cryptosporidium parvum* 3.75% (3) and *Giardia intestinalis* Assemblages A 1.25% (1) were detected by nested PCR and confirmed by sequencing while *Entamoeba* was not detected.

Conclusion: There are few studies on parasitic contamination in vegetables in Turkey. However, no study has been conducted on this subject in Çorum. This study is the first study to illuminate the situation of the region. In this study, it was stated that the potential of carrying disease from raw consumed salads emerged. The results of this study showed that vegetables in the Çorum bazaars are contaminated with some parasites and may be a health risk to raw vegetable consumers. Washing procedures before eating raw vegetables regardless of the humans sanitation should be performed to avoid transmission of intestinal parasites.

Anahtar Kelimeler: Bazaar, parasitic contamination, vegetables

Bu çalışma HİTİT ÜNİVERSİTESİ Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından TIP19001.20.002 proje nolu ''Çorum'da salata malzemesi olarak kullanılan çiğ sebzelerde parazit kontaminasyonun araştırılması'' konusu ile ilgili olup, ilgili birimce desteklenmiştir.

SALON A

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03 ***12 Ekim 2021 – 15:30 – 17:00***

Oturum Başkanları:
Ahmet ÖZBİLGİN / Muttalip ÇİÇEK

SB20. Oküler Toxoplasmosis Ön Tanılı Hastalarda Gözyaşı ve Serumda *Toxoplasma gondii* Antijen ve Antikorlarının Araştırılması
Ozan YAMAN

SB21. *Toxoplasma gondii* ile Enfekte BeWo Hücre Hattında Timokinonun Antiparazitik Etkisinin Araştırılması
Merve YÜRÜK, Eda SİVCAN, Ozan YAMAN, Emrah ERDOĞAN

SB22. *Toxoplasma gondii* ile Deneysel Enfekte BeWo Hücre Hattında Eksozomların Karakterizasyonu
Abdullah İNCİ, **Merve YÜRÜK**, Alparslan YILDIRIM, Mahmodul Hasan SOHEL, Eda SİVCAN, Gupse Kübra KARADEMİR

SB23. Giardiasis Tanılı Hastalardan İzole Edilen *Giardia intestinalis* Suşlarının Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) Yöntemi İle Genotiplerinin Araştırılması
Nurdan GÜNGÖR, Erdener BALIKÇI

SB24. Inflamatuvar Bağırsak Hastalıklarında Parazitler Sebep mi, Sonuç mu?
Tuğba ERTOP, Orçun ZORBOZAN, Nalan GÜLŞEN ÜNAL, Nevin TURGAY

SB25. Molecular Determination of *Toxoplasma gondii* in milk of livestock in Çorum, Turkay
Gonul ARSLAN-AKVERAN, Djursun KARASARTOVA, Sabiha AYDOGDU, Nezahat KOSAR, Arzu COMBA, Ayse Semra GURESER, Aysegul TAYLAN-OZKAN

SB26. Mt-CO1 Gen Markerleri Kullanılarak *Ligula intestinalis*'in Filogenetik Analizi ve Haplotip Çeşitliliğinin in-silico Olarak Belirlenmesi
Muhammed SELÇUK, Figen ÇELİK, Sami ŞİMŞEK, Haroon AHMED, Harun KESİK, Şeyma GÜNYAKTI KILINÇ

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03 **SB20** ***12 Ekim 2021 – 15:30-17:00***
Salon A

Oküler Toxoplasmosis Ön Tanılı Hastalarda Gözyaşı ve Serumda *Toxoplasma gondii* Antijen ve Antikorlarının Araştırılması

Ozan YAMAN

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD., Kayseri, Türkiye.

E-mail: ozanyaman@erciyes.edu.tr

TAM METİN

ÖZET

Amaç: Toxoplazmosis, Sporozoa sınıfından zorunlu hücre içi paraziti olan *Toxoplasma gondii*'nin (*T.gondii*) neden olduğu bir enfeksiyondur ve immün sağlıklı insanlarda fokal nekrotizan retinitin en sık sebebidir. Hastalığın tanısı klinik bulgulara dayanarak konulabilse de özellikle lezyonların atipik olduğu durumlarda laboratuvar tanı ile doğrulama gerekmektedir. Bu çalışmadaki amacımız oküler toxoplasmosis ön tanılı hastalarda serumda *T.gondii* antikorlarının araştırılmasının yanında gözyaşında antikor ve antijenlerini araştırıp, bunların hastalığın tanısındaki değerleri üzerinde durmaktır.

Yöntemler: Erciyes Üniversitesi Gevher Nesibe Hastanesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'na başvurup oküler toxoplasmosis ön tanısı konulan 45 hastadan ve kontrol grubu olarak göz bulguları bulunmayan 20 gönüllüden alınan gözyaşı ve serum örneği çalışmaya alındı. Hasta ve kontrol grubundan alınan gözyaşı ve serum örneklerinin her birinde ELISA ile anti-*T.gondii* IgG, IgM ve IgA araştırıldı. Anti-*T.gondii* IgG pozitif bulunan serum örneklerinde IgG antikoru aviditesini belirlemek üzere ELISA IgG Avidite testi uygulandı. Ayrıca gözyaşı örneklerinde Direkt Floresan Antikor (DFA) testi ile *T.gondii* takizoitleri araştırıldı.

Bulgular: Hasta grubuna ait serumların 31'inde (%69) anti-*T.gondii* IgG, 1'inde (%2) IgM ve yine 1'inde (%2) IgA pozitifliği; gözyaşı örneklerinde ise 2'sinde (%4) IgG, 1'inde (%2) IgM, 37'sinde (%82) ise IgA pozitifliği bulunmuştur. Kontrol grubu serum örneklerinden 7'sinde (%35) anti-IgG pozitifliği saptanırken, IgM ve IgA antikorları örneklerin tümünde negatif bulunmuştur. Aynı grubun gözyaşı örneklerinin sadece 3'ünde (%15) anti-*T.gondii* IgA pozitifliği görülmüş, IgG ve IgM antikorları ise tüm örneklerde negatif olarak değerlendirilmiştir. Çalışmaya alınan gözyaşı örneklerinin hiçbirinde DFA ile *T.gondii* takizoitleri saptanmamıştır.

Sonuç: İmmün sağlıklı bireylerde lokal antikor üretiminin belirlenmesinde iyi sonuçlar verdiği bilinen serolojik yöntemlerin oküler toxoplasmosisin tanısında alışılagelmiş ve invaziv olarak elde edilen aköz hümör örneklerinde kullanılmasının yerine gözyaşı örneklerinde kullanılmasının isabetli olacağı ve ayrıca bu hipotezi destekleyici daha geniş tabanlı çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Toxoplasma gondii*, ELISA, oküler toxoplasmosis, gözyaşı

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2004/2657 numaralı proje ile desteklenmiş ve Ozan YAMAN'ın Tıpta Uzmanlık tezinden özetlenmiştir.

Investigation of *Toxoplasma* Antigen and Antibodies in Tears and Serum in Patients with Prediagnosed Ocular Toxoplasmosis

SUMMARY

Aim: Toxoplasmosis is an infection caused by *Toxoplasma gondii* (*T.gondii*), an obligate intracellular parasite of the Sporozoa class, and is the most common cause of focal necrotizing retinitis in immunocompetent humans. Although, it is possible diagnosis of the disease according to the clinical findings, it need to be use confirmation with laboratory findings to get a definite diagnose in certain cases such as when the atypical lesions are present. In the present study, our aim was to investigate the *T.gondii* antibody levels in sera and in addition, evaluate the antigen and antibody levels in tears of the patients with previous diagnosed as ocular toxoplasmosis and identified the importance of their presency in the diagnosis of the disease.

Methods: This investigation was carried out on serum and tear samples of 45 patients with ocular toxoplasmosis and 20 healthy voluntary controls who were applied Ophthalmology Department of Erciyes University Gevher Nesibe Hospital. Anti-*T.gondii*, IgG, IgM and IgA levels were measured in each serum and tear samples with ELISA. ELISA IgG avidity test was applied to serum samples of *T.gondii* IgG positive patients for the investigation of IgG avidity. In addition, *T.gondii* tachyzoites were identified in both patients and controls' tear samples using DFA test.

Findings: The anti-*T.gondii* IgG, IgM and IgA were found to be positive in 31(69%), 1(2%) and 1(2%) sera of patients' samples respectively. In addition; IgG, IgM and IgA positivity were found to be in 2(4%), 1(2%) and 37(82%) tear samples of patients, respectively. Anti-*T.gondii* IgG was only found to be positive in 7(35%) sera of controls, IgM and IgA antibodies were found negative in serum sample of all controls. In addition, IgA was found to be positive in just 3(15%) tear samples of controls whereas IgG and IgM antibodies were found to be negative in tear samples of all controls. *T.gondii* tachyzoites were not found in none of tear samples with DFA.

Conclusion: Serologic methods which was known take obtained good results for determining local antibody production in immunocompotent individuals maybe avaible using aqueous humor instead of tears. Furthermore we thought that, it must be done more detailed studies supporting this hypothesis for the diagnosis of ocular toxoplasmosis.

Key words: *Toxoplasma gondii*, ELISA, ocular toxoplasmosis, tear.

GİRİŞ

Toxoplasmosis, Sporozoa sınıfından zorunlu bir hücre içi paraziti olan *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) tarafından oluşturulan bir enfeksiyondur. Diyet alışkanlıkları, iklim ve hijyene bağlı olarak değişmekle birlikte insanların yaklaşık %50'si bu parazit ile enfektedir.

Sağlıklı insanlarda fokal nekrotizan retinitin en sık sebebi toxoplasmosistir. Edinsel sistemik toxoplasmosis olgularının %1-21'inde nekrotizan toxoplasmik korioretinit geliştiği bildirilmiştir. Çoğu *T.gondii* enfeksiyonu, konjenital olarak alınarak retinada kistik formda kalan mikroorganizmalar tarafından oluşturulur (1).

Enfekte yenidoğanların %70 kadarı doğumda asemptomatik olup, sadece %10'u göz tutulumu gösterse de asemptomatiklerin bir kısmında ileri yaşlarda koryoretinit gelişebilmektedir. Eski

koryoretinit skarına rastlanmayan, vitritis, periferik retinit, retina vasküliti, yaygın intraretinal hemoraji gibi tipik *Toxoplasma* retinitine benzemeyen bir tablo ile gelen, tedaviye cevap vermeyen ve/veya immün yetmezlikleri olan kişilerde klinik görünüm karışabilir. Bu gibi durumlarda göz içi sıvılarının değerlendirilmesi gerekir. Retinokoroidit sebebi olabilecek bakteriler, riketsiyalar, virüsler, mantarlar gibi infeksiyöz veya noninfeksiyöz diğer sebepler (örnek: iskemik retinopati ve neoplaziler: punktat iç koroidopati, diffüz tek taraflı subakut nöroretinit) ayırıcı tanıda göz önünde bulundurulmalıdır (2).

Göz kapalı bir sistem yapısında olduğu için lokal inokülasyon olmadıkça sistemik bir hastalık olan toxoplasmosis tanısında serolojinin yeri inkâr edilemez. Klasik verilerde serolojik testlerin negatif olması toxoplasmosis tanısını ortadan kaldırır denilmekle beraber Remington, şüpheli durumlarda lokal antikor aranmasının veya göz içi sıvılarında PCR yapılmasının yararlı olacağını savunmaktadır (3). Ancak bu gibi durumlarda, konuyla uğraşan oftalmologların, tipik *Toxoplasma* korioretiniti düşündükleri hastalara genellikle ampirik toxoplasmosis tedavisi uygulamayı tercih ettikleri, oküler parasentez gibi invaziv yöntemleri olası riskleri dolayısıyla seyrek olarak kullandıkları bilinmektedir. Bu tip olgularda destekleyici tanı yöntemlerinin gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

Bu çalışmadaki amacımız oküler toxoplasmosis ön tanılı hastalarda, *T.gondii* antikorlarının serumda araştırılmasının yanında gözyaşında antikor ve antijenleri araştırıp, bunların hastalığın tanısındaki değerleri üzerinde durmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada Erciyes Üniversitesi Gevher Nesibe Hastanesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'na başvurup oküler toxoplasmosis ön tanısı konulan 45 hastadan ve kontrol grubu olarak göz bulguları bulunmayan 20 gönüllünün gözünden kapiller tüp yöntemiyle alınan gözyaşı ve ön koldan alınan 5 cc kandan ayrılan serum örnekleri numaralandırılarak çalışılıncaya kadar -70 °C'de saklanmıştır.

Çalışmaya alınan serum ve gözyaşı örneklerinde *T. gondii*'ye spesifik IgG ve IgM antikorlarının varlığını araştırmak için Meddens (Meddens Diagnostics Brummen, The Netherlands) firmasının, IgA antikorlarının varlığını araştırmak için de IBL (IBL, Hamburg, Germany) firmasının ELISA kitleri kullanılmıştır. Anti-*T. gondii* IgG ELISA testi ile pozitif bulunan serum örneklerinde IgG avidite değerlerinin saptanması için Euroimmun (Euroimmun AG, Luebeck -Germany) firmasının IgG ELISA Avidite kitinden faydalanılmıştır. Testler üretici firmaların direktifleri doğrultusunda çalışılmıştır.

Gözyaşı örneklerinde olası *T. gondii* takizoitlerini saptamak amacıyla Cellabs (Cellabs Pty Ltd. Brookvale, Australia) firmasının direkt immunfloresan kiti kullanılmıştır. Gözyaşları 600 devir/dk'da 10 dk. santrifüj edilmiş ve tüpün dip kısmından alınan solüsyon teflon kaplı lama damlatılıp kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan preparat üzerine soğuk aseton konulmuş (-20 °C) ve 5 dakika beklenip dökülmüş, fiksasyon sağlanmıştır. Fikse edilen preparatlardaki her bir alana floresan işaretli monoklonal antikor içeren reaktif konulduktan sonra nemlendirilmiş kaplarda oda ısısında inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda distile su ile yıkanan preparatlar kurutulmuş ve kapatma solüsyonu damlatılarak lamel kapatılarak floresan mikroskobunda 450 nm dalga boylu filtre kullanılarak x40'lık objektifle incelenmiştir. Preparatlarda parlak yeşil renk veren hilal veya oval görünümlü 3-7 µm büyüklüğünde *T. gondii* takizoitlerinin görülmesi pozitif, görülmemesi negatif olarak değerlendirilmiştir.

İstatistiksel veri analizi, SPSS versiyon 11 yazılımı ile yapılmıştır. Tanımlayıcı özellikler sıklık ve yüzdeler kullanılarak verilmiştir.

BULGULAR

14 Mart 2004 – 14 Kasım 2005 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'na başvuran ve oküler toxoplasmosis ön tanısı alan 45 hasta ve herhangi bir göz şikayeti bulunmayan 20 sağlıklı gönüllüye ait serum ve gözyaşı örnekleri çalışmaya alınmıştır. Hasta grubunun 28'i (%62) kadın, 17'si (%38) erkek ve yaş ortalaması 24.06 iken; kontrol grubunun 12'si (%60) kadın, 8'i (%40) erkek ve yaş ortalaması 26.01 idi.

Yaş grupları açısından değerlendirildiğinde; hastaların 20'sinin (%44) 0-20 yaş arasında, 19'unun (%42) 21-40 yaş arasında ve kalan 6'sının (%14) ise 40 yaş üstünde; kontrol grubunun ise, 5'inin (%25) 0-20 yaş arası, 12'sinin (%60) 21-40 yaş arası ve 3'ünün (%15) 40 yaş üstünde olduğu görülmüştür.

Çalışmaya dahil edilen toplam 65 kişiden alınan serum örneğinde, ELISA ile anti-*Toxoplasma* IgG araştırılmıştır. Hasta grubuna ait 45 serum örneğinin 31'inin (%69) pozitif 14'ünün (%31) ise negatif; kontrol grubuna ait 20 serum örneğinin 7'si (%35) pozitif 13'ü (%65) ise negatif olarak belirlenmiştir. Hastalarla kontrollerin serumda anti-*T.gondii* IgG pozitifliği karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0.05$).

Anti-*T.gondii* IgG sonucu hasta grubunda pozitif çıkan 31 serum örneğinde daha sonra *T.gondii* IgG avidite testi ile IgG avidite indeksi araştırılmıştır. Bu test ile kit prosedürüne göre, avidite indeksi %60 ve üzerinde olanlar yüksek avidite, %40-60 arasında olanlar şüpheli sınırlar içinde ve %40 altında olanlar ise düşük avidite olarak değerlendirilmiştir. Test sonucunda serumların 1'i (%3.23) düşük, 8'i (%25,8) şüpheli sınırlar içinde, 22'sinin (%70,97) ise yüksek aviditeye sahip olduğu saptanmıştır.

Hasta ve kontrol grubunda yer alan bireylere ait serum örneklerinde ELISA ile anti-*T.gondii* IgM antikorları araştırılmıştır. Test sonucunda, sadece hasta grubunda yer alan 1 (%2,22) örnekte pozitiflik saptanmış, kontrol grubunda yer alan örneklerin ise tamamı negatif bulunmuştur. Yapılan istatistik hesaplamada, aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$). Anti-*T.gondii* IgM pozitif olan hastanın serum anti-*T.gondii* IgG'sinin de pozitif ve aviditesinin ise %48 olduğu, aynı zamanda gözyaşında anti-*T.gondii* IgG ve IgA'sının da pozitif olduğu tespit edilmiş ve olgu yakınlarda kazanılmış *T.gondii* enfeksiyonu olarak değerlendirilmiştir.

Serum örneklerinde ELISA ile anti-*T.gondii* IgA antikorları da araştırılmıştır. Test sonucu hasta grubunda yer alan 1 (%2.22) serum örneğinde pozitiflik saptanmış, hasta ve kontrol grubunda yer alan diğer örnekler ise negatif olarak belirlenmiştir. Ayrıca, yapılan istatistik hesaplamada, aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$). Hasta ve kontrol grubunda serum örneklerinde anti-*T.gondii* IgG, IgM ve IgA sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Hasta ve Kontrol grubunda serum örneklerinde anti-*T. gondii* antikorları

Serum Örneklerinde		Anti-*T. gondii* IgG	Anti-*T. gondii* IgM	Anti-*T. gondii* IgA
Hasta Grubu	Pozitif	31	1	1
	Negatif	14	44	44
Kontrol Grubu	Pozitif	7	0	0
	Negatif	13	20	20

Çalışmadaki toplam 65 kişiden alınan gözyaşı örneğinde ELISA ile anti-*T.gondii* IgG antikorları araştırılmıştır. Test sonucunda hasta grubunda yer alan 2 (%4,44) örnekte pozitif sonuç belirlenirken, hasta ve kontrol grubundaki diğer örnekler negatif olarak değerlendirilmiştir. Yapılan istatistik hesaplamada, hasta ve kontrol grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).

Hasta ve kontrol grubunda yer alan bireylere ait gözyaşı örneklerinde ELISA ile anti-*T.gondii* IgM antikorları araştırılmıştır. Test sonucunda sadece hasta grubunda yer alan 1 (%2.22) örnekte sınır değerde bir pozitiflik saptanırken, kontrol grubunda yer alan örneklerin tamamı negatif bulunmuş ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$). Pozitif bulunan hastanın serum anti-*T.gondii* IgG'si de pozitif olup aviditesinin %71 olduğu görülmüştür.

Gözyaşı örneklerinde ayrıca, ELISA ile anti-*T.gondii* IgA antikorları da araştırılmıştır. Bu testte, test prosedürüne göre, cut-off ortalamasının 1,1 katı ve üstü olan sonuçlar pozitif, 0.9-1.1 arası olan sonuçlar şüpheli, 0.9 katından az olan sonuçlar ise negatif olarak değerlendirilmiştir. Test sonucu, hasta grubuna ait gözyaşı örneklerinin 37'si (%82,22) pozitif, 8'i (%17,77) negatif; kontrol grubunun ise 3'ünün (%15) pozitif, 17'sinin (%85) negatif olduğu saptanmıştır. Kontrol grubu ile hasta grubu arasındaki gözyaşı IgA pozitiflik farkının istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). Hasta ve kontrol grubunda gözyaşı örneklerinde anti-*T.gondii* IgG, IgM ve IgA sonuçları Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Hasta ve Kontrol grubunda gözyaşı örneklerinde anti-*T. gondii* antikorları

Gözyaşı Örneklerinde		**Anti-*T. gondii* IgG**	**Anti-*T. gondii* IgM**	**Anti-*T. gondii* IgA**
Hasta Grubu	Pozitif	2	1	37
	Negatif	43	44	8
Kontrol Grubu	Pozitif	0	0	3
	Negatif	20	20	17

Ayrıca, gözyaşı örneklerinde fluoresan mikroskobunda 450 nm dalga boyu filtre kullanılarak DFA kiti ile *T.gondii* takizoitleri araştırılmış; hazırlanan preparatların hiçbirisinde fluoresan veren, hilal veya oval görünümlü, 3-7 µm büyüklüğünde *T.gondii* takizoitlerine rastlanmadığından bütün örnekler negatif olarak değerlendirilmiştir. Hastaların yaş, cins, klinik bulguları ve serum ve gözyaşı örneklerindeki seroloji sonuçları Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Hasta grubunda yer alan bireylerin yaş, cinsiyet, klinik bulguları ve seroloji sonuçları

No	**Yaş/ Cins**	**Klinik Bulgular**	**Serum IgG (I.U.)**	**Serum IgM**	**Serum IgA**	**Gözyaşı IgG**	**Gözyaşı IgM**	**Gözyaşı IgA**	**Avidite Indeksi**
1	6/K	Sağ *Toxoplasma* korioretiniti?	214	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	%71
2	21/K	Sağ görme bozukluğu	204	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%70
3	52/K	Sol görme bozukluğu	188	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%66
4	30/K	Görme bozukluğu	250	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%95
5	7/K	Sağ, solda Toxoplasma korioretiniti?	236	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%80
6	26/K	Üveit	63	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%49
7	2/E	Şaşılık	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	-
8	72/E	Fundusda Oküler toxoplasmosis?	40	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%65
9	17/E	Sağ, solda Toxoplasma korioretiniti?	93	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%77
10	4/K	Görme bozukluğu	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	-

11	25/K	Sağ Toxoplasma korioretiniti?	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	-
12	24/K	Sağda korioretinit skarı, nüks?	86	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%60
13	28/K	Sağ Toxoplasma korioretiniti?	186	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%79
14	56/E	Görme bozukluğu	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	-
15	28/K	Rekürren üveit	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	-
16	13/K	Sağ, sol Toxoplasma korioretiniti?	223	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%54
17	31/K	Göz ağrısı, görme bozukluğu	112	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%72
18	20/K	Sol gözde görme bozukluğu	88	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%61
19	45/K	Sol gözde görme bozukluğu	218	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%68
20	13/K	Görme bozukluğu	250	Pozitif	Pozitif	24	Negatif	Pozitif	%48
21	40/E	Sol Toxoplasma korioretiniti?	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	-
22	14/K	Üveit	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	-
23	16/E	Sol Toxoplasma korioretiniti?	130	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%55
24	14/E	Görme bozukluğu, katarakt	161	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%67
25	24/E	Görme bozukluğu	96	Negatif	Negatif	20	Negatif	Pozitif	%68
26	30/K	Görme bozukluğu	186	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%68
27	30/K	Anterior Üveit,	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	-
28	15/K	Görme bozukluğu	48	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%44
29	8/K	Sol retrobulber nörit,	198	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	%66
30	34/E	Görme bozukluğu	185	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%49
31	35/E	Görme bozukluğu	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	-
32	26/K	Üveit	102	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%71
33	14/K	Solda T.gondii korioretiniti?	43	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%80
34	48/K	Solda Toxoplasma korioretiniti?	137	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%37
35	12/E	SoldaToxoplasma korioretiniti?	250	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%75
36	4/K	Görme bozukluğu	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	-
37	10/K	Sol gözde görme bozukluğu	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	-
38	30/E	Sol gözde makulada sızdırma	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	-
39	11/E	Solda Toxoplasma korioretiniti?	180	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%72
40	44/K	Görme bozukluğu	197	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%72
41	35/E	Görme bozukluğu	48	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%47
42	3/E	Bilateral katarakt	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	-
43	16/K	Konjenital toxoplasmosis sekel?	68	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%50
44	28/E	Üveit	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	-
45	40/E	Görme bozukluğu	207	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	%62

TARTIŞMA

Toxoplasma gondii tüm dünyada hem immunsuprese, hem de immunkopetan kişilerde korioretinit vakalarının önemli bir nedenidir. Birçok *Toxoplasma* korioretiniti, konjenital toxoplasmosisin ileri dönem sekeli olarak ortaya çıkmaktadır. Konjenital enfekte bireyler doğumda sıklıkla asemptomatik olduğu halde göz bulguları hayatın 2. ve 3. dekatlarında ortaya çıkabilmektedir (4).

Oküler toxoplasmosiste klinik bulgular değişkenlik gösterebilir; bazı hastalarda orta dereceli bir enflamasyon görülürken, bir kısım hastada şiddetli üveite bağlı gelişen görme kaybı oluşabilir (5). Oküler toxoplasmosis genellikle hastalığın yinelemesi sonucu ortaya çıkar. Tedavi edilmemiş konjenital enfekte bireylerin %82'sinden fazlasında adölesan çağa ulaştıklarında retinal lezyonların gelişebildiği bildirilmiştir (6). Postnatal, kazanılmış *T.gondii* enfeksiyonunda oküler tutulumun çok daha az oranda görüldüğü ve prevalansın %1 ile %3 arasında olduğu iddia edilmiştir (7).

Perkins (7), *T.gondii* prevalansının yaşla birlikte artmasına karşın, oküler hastalıkta bu durumun görülmediğini, hastalığın genellikle hayatın 2. veya 3. dekatlarında ortaya çıktığını bildirmiş ve oküler toxoplasmosisin kazanılmış enfeksiyon sonrası gelişmesi halinde oküler hastalığın oranının da yaşla birlikte artması gerektiğini vurgulamıştır. Güney Brezilya'da yer alan Erechim bölgesinde neredeyse tüm bireylerin seropozitif olduğu, yüksek oranda oküler hastalık görüldüğü, bu bölgede yaşayan insanların yaklaşık %18'inde retinokoroidal skarların bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca Brezilya'da, Perkins'in iddialarının aksine oküler hastalık oranının yaş ile birlikte arttığı da gösterilmiştir (1). Bizim çalışmamızda da hastaların 20'sinin (%44) 0-20 yaş arasında, 19'unun (%42) 21-40 yaş arasında ve kalan 6'sının (%14) ise 40 yaş üstünde, yaş ortalamasının 26.01 olduğu ve Perkins'in veriyle uyumlu olduğu görülmüştür.

Serolojik testler, toxoplasmosisin laboratuvar tanısında temel araçlardır. Kazanılmış *T.gondii* enfeksiyonunda, düşük aviditeli IgG bir hafta sonra yükselmeye başlar. Sonrasında antikor titresi azalır ve yüksek aviditeli IgG yıllar boyunca saptanabilir. Yakınlarda oluşmuş *T.gondii* enfeksiyonunda serum IgA, IgM ve IgE yükselişi görülür. Oküler toxoplasmosiste ayrıca; IgM yokluğunda, IgG genellikle düşük konsantrasyonda saptanır (8).

Oküler toxoplasmosis tanısında, kanda anti-*T.gondii* IgG saptanması değerlidir. Bununla birlikte enfeksiyon tüm dünya genelinde yaygındır ve birçok erişkinde görme bozukluğu olmadan IgG pozitifliği görülmektedir. Bu yüzden tek başına IgG pozitifliği, göz bulgularının *T.gondii*'ye bağlı gelişmiş olduğunu ispat etmez (9). Günümüzde oküler toxoplasmosis tanısında klinik bulguları serolojik yöntemlerle doğrulamanın en iyi yolunun lokal spesifik antikor oluşumunun saptanması olduğu bildirilmiştir. (5).

Yeni kazanılmış *T.gondii enfeksi*yonunda serum IgM antikorları yükselir, fakat bu yükseklik bazı vakalarda bir sene sonrasında bile devam edebilir. Reaktivasyon gelişmesi durumunda IgM pozitifliğinin gelişmediği Ongkosuwito ve ark. (8) tarafından bildirilmiş, fakat Gomes-Marin ve ark. (4), rekürrens durumunda IgM saptanmasının mümkün olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bazı araştırıcılar, oküler toxoplasmosis hastalarının klinik bulgular ortaya çıkmasından çok daha önce parazitle enfekte olduğunu ve bu yüzden de IgM pozitifliği görülme ihtimalinin düşük bulunduğunu bildirmişlerdir (10). Bizim çalışmamızda da hastalardan sadece birinin serum, bir diğerinin ise gözyaşı örneğinde ELISA ile *T.gondii spesifi*k IgM pozitifliği saptandı, elde ettiğimiz sonuç bu varsayımı desteklemektedir (Tablo 3).

Yapılan bir çalışmada akut veya kronik oküler toxoplasmosisli 28 hastanın serumunda anti *T.gondii* IgM, IgA ve IgE araştırılmış, rekürrens sırasında bu antikorların serumda bulunabileceği sonucuna varılmıştır (4). Bizim çalışmamızda elde edilen bulgulara göre; 20 nolu hastada serumda IgG, IgM ve IgA, gözyaşında ise IgG ve IgA pozitifliği saptanmış ve bu bulgular her ne kadar rekürrensi düşündürse de hastanın *Toxoplasma* IgG avidite değerinin %48 olması bu şüpheden uzaklaşılmasına sebep olmuştur.

Holliman ve ark. (11), enfeksiyonun kronik döneminde olduğu gibi reaktivasyon veya re-enfeksiyonda da IgG avidite değerlerinin yüksek kalmaya devam ettiğine işaret etmişlerdir. Bizim çalışmamızda; IgG'si pozitif olan hastalardan sadece biri dışındakilerde yüksek avidite sonucunun elde edilmesi, oküler toxoplasmosisin enfeksiyonun reaktivasyonu sonucu gelişmiş bile olsa da avidite değerlerinin yüksek kalmaya devam ettiği hipotezini desteklemektedir.

Serumda *T.gondii* spesifik IgA araştırılması da oküler toxoplasmosis tanısında göz önünde bulundurulması gereken önemli bir serolojik yöntemdir. Ronday ve ark. (12), kesin oküler toxoplasmosis tanısı konmuş hastalarda %16 oranında IgA antikoru pozitifliği saptamış, hastalık bulunmayan kontrol grubundaki bireylerin hepsinin negatif olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise oküler toxoplasmosis şüpheli hastaların 1'inin (%2.22) serumunda IgA pozitifliği saptanırken, kontrol grubunun tamamının negatif olduğu belirlenmiştir. Elde edilen düşük oranın bizim hasta grubumuzun Ronday ve ark. (12) 'nin çalışma grubu olan kesin oküler toxoplasmosis tanısı alanlardan değil, ön tanılı hastalardan oluşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Gastrointestinal sistem, *T.gondii*'nin *vü*cuda giriş yoludur. Parazitin konakta karşılaştığı ilk immünolojik bariyer mukozal immün sistemdir (MIS). Bu bariyerin hümoral yeteneği sIgA tarafından simgelenir. Mack ve McLeod (13), akut ve kronik enfeksiyonu olan kadınların sütlerinde koruyucu anti-*T.gondii* sIgA *va*rlığını göstermişler ve bunun akut enfeksiyonla, genel mukozal immün cevabın aynı zamanda meydana geldiğine işaret ettiğini vurgulamışlardır. Mack ve McLeod'un sonuçlarının aksine diğer araştırmacılar mukozal salgılarda *Toxoplasma*-spesifik IgA antikorlarının akut ve kronik dönemdeki enfekte bireylerin hepsinde mevcut olmadığını, bunun yanında bazen seronegatif bireylerin tükürüklerinde dahi saptanabileceğini göstermişlerdir (14). Çalışmamızda 8 hastada serumda IgG negatifken, bu hastalara ait gözyaşı örneklerinde IgA pozitifliği saptamamız bu hipotezi desteklemektedir.

Lynch ve ark. (9) yaptıkları bir çalışmada, gözyaşı ve serumda *T.gondii*'ye spesifik antikorları araştırmışlar ve aktif posterior üveiti olan hastalarda kontrol grubuna oranla IgG antikorlarının absorbans değerlerini daha yüksek bulmalarına karşın aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını saptamışlardır (P=0.082). ELISA ile serumda IgA absorbansı aktif posterior üveiti bulunan hastalarda kontrol grubuna oranla yüksek (P=0.04), gözyaşındaki sIgA da benzer şekilde aktif üveiti olan hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (P=0.007). Çalışmaya alınan 25 aktif posterior üveitli hastanın tamamının serumunda anti-*T.gondii* IgA saptanırken, bu hastaların 21'inde gözyaşında sIgA (%84) pozitif bulunmuş ve yalnızca 4 (%16) hasta negatif olarak değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda yer alan 50 kişinin ise, 11'inin (%22) gözyaşında, altısının ise serumunda IgA pozitifliği saptanmıştır. Hastaların hiçbirisinde *T.gondii* spesifik IgM pozitifliğine rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda, oküler toxoplasmosis şüpheli 45 hastanın 2'sinin (%4.44) serumunda anti-*T.gondii* IgA saptanırken, 37 (%82.22)'sinin gözyaşında sIgA pozitif bulunmuştur. Gözyaşı IgA sonuçlarımız Lynch ve ark. (9)'nin elde ettikleri sonuçlarla uyumluluk gösterirken, serumda alınan sonuçlar uyumluluk göstermemiştir. Bu farklılığın, diğer araştırıcıların hasta grupları her ne kadar kesin tanı almış toxoplasmosisli hastalardan oluşmasa da bizim hasta grubumuza göre oküler toxoplasmosis olma ihtimalinin daha yüksek olduğu spesifik bir hasta grubu olması ve hastaların hepsinin göz lezyonlarının aktif dönemde olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Labalette ve ark. (15), 50 yaş üzeri oküler toxoplasmosisli 27 hastada, anti-*T.gondii* IgG, IgM ve IgA lokal antikor üretimini belirlemek amacıyla serum ve aköz hümör örneklerini ELISA ve ISAGA ile incelemişler; 24 (%89) hastada IgG, 17 (%63) hastada IgA ve 3 (%11) hastada IgM pozitifliğini saptarlarken, 12 (%44) hastada ise aköz hümörde PCR ile *T.gondii* DNA'sını pozitif olarak belirlediklerini bildirmişlerdir. Sonuç olarak, aköz hümörde immunocapture testler ile antikor ve beraberinde PCR ile *T.gondii* DNA'sinin araştırılmasının geniş oküler lezyonu bulunan atipik olgularda toxoplasmik enfeksiyonun tanısına faydalı

olduğu vurgulanmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlarla bizim çalışmamızda elde edilen serumda IgG pozitifliği (%69) uyumluluk göstermektedir.

SONUÇ

Günümüzde, oküler toxoplasmosisin tanısında birçok yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan hücre kültürü yönteminin özellikle az miktarda materyal bulunması durumunda duyarsız olduğu, sonuç almanın günler hatta haftalar gerektirdiği; PCR'nin farklı biyolojik örneklerde *T.gondii* DNA'sını saptayan hızlı bir yöntem olmasına rağmen kan hariç incelenecek birçok örneğin ancak invaziv yöntemlerle elde edilebileceği ve oküler toxoplasmosisli hastaların ancak 1/3'ünde de pozitifliği saptayabildiği bilinmektedir. Oküler toxoplasmosiste klinik bulgularla tanı konulması durumunda, bulgular değişkenlik gösterebileceğinden dolayı yanlış tanı ihtimali artmakta, spesifik *Toxoplasma* tedavisinin gecikmesine bağlı olarak aslında önlenebilecek olan retina fonksiyonlarında azalmanın önüne geçilemeyeceği ve *Toxoplasma* ile enfekte olmayan bir hastaya verilecek gereksiz medikal tedavi yüzünden de toksik yan etkilere maruz kalmasına yol açabileceği bir gerçektir.

Bütün bu gerçekler ışığında, immün sağlıklı bireylerde lokal antikor üretiminin belirlenmesinde iyi sonuçlar verdiği bilinen serolojik yöntemlerin oküler toxoplasmosis tanısında alışılagelmiş ve invaziv olarak elde edilen aköz hümör örneklerinde kullanılmasının yerine gözyaşı örneklerinde kullanılmasının isabetli olabileceği ve bu hipotezi destekleyici daha geniş tabanlı çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Holland GN, Muccioli C, Silveira C, Weisz JM, Belfort R, O'Connor GR. Intraocular inflammatory reactions without focal necrotizing retinochoroiditis in patients with acquired systemic toxoplasmosis. Am. J. Ophthalmol, 1999; (128): 413-420.
2. Gass JDM, Toksoplasmosis retinitis. Stereoscopic atlas of macular disease. Diagnosis and treatment.ed. 4.St Louis, CV Mosby, 1997; pp.614-622.
3. Remington JS, Desmont G, Toxoplasmosis. Remington JS, Iein JO, eds. Infectious Diseases of Fetus and Newborn Infant 3th. Ed. Philadelphia, W B. Saunders, 1990; p.89.
4. Gomez_Marin J, Montoya M, Osorio J, et al. Frequency of spesific anti-Toxoplasma IgM, IgA and IgE in Colombian patients with acute and chronic ocular toxoplasmosis. Mem. Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janerio, 2000; 95 (1):89-94.
5. Villard O, Filisetti D, Roch-Deries F, Garweg J, Flament J, Candolfi E, Comprasion of enzym-linked immunosorbent assay, immunoblotting and PCR for diagnosis of toxoplasmic chorioretinitis. American Society for Microbiology. 2003;(41):3537-3541.
6. Kump LI, Androudi SN, Foster CS. Ocular toxoplasmosis in pregnancy. Clinical and Experimental Ophthalmology 2005; (33): 455-460.
7. Perkins ES, Ocular toxoplasmosis. Br J Ophtalmol 1973;(57):1-17.
8. Ongkosuwito JW, Bosch-Driesten EH, Kijlstra A, Rothova A, Serologic Evaluation of Patients With Primary and Recurrent Ocular Toxoplasmosis for Evidence of Recent Infection, Am J Ophtalmol 1999;(128):407-412.
9. Lynch MI, F, Corderio F, Ferreira S, Ximenes R, Orefice F, Malagueno E. Lacrimal secretory IgA in active posterior uveitis induced by *Toxoplasma gondii* Mem. Inst Oswaldo Cruz 2004;99(8):861-864.
10. Oréfice F, Bonfioli A. Toxoplasmose. In F Oréfice, Uveíte Clínica e Cirúrgica, Cultura Médica, Rio de Janeiro, 2000; pp. 620-678.
11. Holliman RE, Raymond R, Renton N, Johnson JD, The diagnosis of toxoplasmosis using IgG avidity Epidemiol Infect 1994;(112):399-408.
12. Ronday MJH, Ongkosuwito JV, Rothova A, Kiljastra A. Intraocular Anti-Toxoplasma gondii IgA antibody Production in patients with ocular toxoplasmosis. Am J Ophthalmol 1999;(127): 294-300.
13. Mack DG, McLeod R, Human T.gondii-specific secretory immunoglobolin A reduces T.gondii infection of enterocytes in vitro. J.Clin Invest 1992;(90): 2585-2592.
14. Meek B, Klaren VNA, Haeringen NJ, Kijlstra A, Peek R, IgA antibodies to Toxoplasma gondii in human tears. Invest Ophthalmol 2000;(41): 2584-2590.
15. Labalette P, Delhaes L, Margaron F, Fortier B, Rouland JF, Ocular toxoplasmosis after the fifth decade. Am J Ophthalmol 2002;(133): 506-515.

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03 **SB21** ***12 Ekim 2021 – 15:30-17:00***
Salon A

Toxoplasma gondii ile Enfekte BeWo Hücre Hattında Timokinonun Antiparazitik Etkisinin Araştırılması

Merve YÜRÜK, Eda SİVCAN, Ozan YAMAN, Emrah ERDOĞAN

Erciyes Üniversitesi Tıbbi Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-posta: yuruk_merve@hotmail.com

Amaç: Sıcakkanlı tüm omurgalıları enfekte edebilen zorunlu hücre içi bir protozoon parazit olan *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), sağlık açısından önemli olduğu kadar ekonomik açıdan da önemlidir. Bu nedenle, toksoplasmozis tedavisinde yüksek etkinlikli ve düşük toksisiteli ilaçlar gereklidir. Bu proje ile *T. gondii* ile enfekte bewo hücre hattında timokinonun (TK) antiparazitik etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: BeWo hücre kültürü, *T. gondii* kültürü ve *T. gondii*-BeWo ortak kültürü olmak üzere deney grupları oluşturulmuştur. Çalışmada RPMI-1640 besiyerinde, 25 cm2'lik flasklarda HeLa hücrelerinin çoğaltma işlemi yapılmıştır. Flasklarda %80-100 doluluk görüldüğünde deneye başlanmıştır. Takizoitlerin üretimi sağlandıktan sonra 1:5 (hücreler:takizoitler) oranında enfeksiyon yapılmıştır. Enfeksiyondan hemen önce timokinon DMSO içinde, primetamin laktik asit içinde, spiramisin etanol içinde ve sülfadiazin ise 1 M NaOH içinde 100, 50, 25, 12.5, 10, 7.5, 5, 2.5 mM aralığındaki konsantrasyonlarında çözdürülmüş ve enfekte edilen hücrelere eklenmiştir. Sitotoksite testi (MTS), morfoloji deneyi (Giemza boyama) ve canlılık deneyleri (tripan blue deneyi) ile T.gondii'nin antiparaziter ilaçlara ve TK'ya karşı duyarlılığı belirlenmiştir. MTS ölçüm sonrasında Prism 8.0 istatistik programı kullanılarak EC50 (maksimum cevabın yarısını vermek için gerekli ilaç konsantrasyonu) ve R2 değerleri belirlenmiştir. Uygun ilaç konsantrasyonlarının parazit üzerindeki öldürücü etkinliğinin belirlenmesi için 24., 48., 72. ve 96. saatlerde üç deney grubundan gün aşırı toplanan örneklerin RNA izolasyonu yapılarak cDNA'ları sentezlenmiş ve Real Time PCR (RT-QPCR) analizleri yapılmıştır.

Bulgular: TK'nun etkinliği giemza ve tripan mavisi boyama yöntemleri ile incelenerek, 10 mM konsantrasyonunun Hela hücrelerinin morfolojilerini bozmadan (%95 canlılık) takizoitlerin %50'sini öldürdüğü mikroskobik gözlem ve ölçümlerle tespit edilmiştir. MTS testi ile belirlenen uygun konsantrasyonun ise hesaplanan EC50 değerine göre 19 mM olduğu ve bu durumun diğer iki test sonucu ile de paralel olduğu tespit edilmiştir. TK etkinliğini karşılaştırmak için kullanılan diğer ilaçların (primetamin, spiramisin, sülfadiazin) giemza ve tripan mavisi boyama ile 25 ve 50 mM konsantrasyonlarında %90-100 oranında canlılık ve morfolojik olarak bozulmamış HeLa hücreleri ile %50 oranında takizoit ölümü tespit edilmiştir. RT-QPCR yöntemi ile hesaplanan canlı parazit yüküne göre; 19 mM TK eklenmiş besi yeri ilaveli hücrelerde enfeksiyonun ilk 24 saatinde primetamin ve sülfadiazin ilaveli ortamdan daha yüksek öldürücülüğünün olduğu spiramisin ile de benzer etki

gösterdiği tespit edilmiştir. Enfeksiyonun 48., 72. ve 96. saatlerinde TK'nın diğer üç ilaçla etkinliğinin benzer olduğu ve takizoitler üzerindeki öldürücülüğünün azalarak devam ettiği belirlenmiştir.

Sonuç: Piyasada mevcut olarak toksoplasmosis tedavisinde kullanılan bu ilaçlarla TK karşılaştırıldığında daha düşük konsantrasyonlarının hücresel boyutta daha az zararla etkin olduğu tespit edilmiştir. *T. gondii*'nin bradizoit ve ookist yapılarına karşı TK'nın muhtemel antiparazitik etkilerinin incelenmesinin gerektiği ve dolayısıyla toksoplasmozis tedavisinde daha az yan etkisi olacağı düşünülen TK'nın yeni bir preparat olarak kullanılmasına yönelik ileri çalışmaların yapılması gerektiği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: *Toxoplasma gondii*, BeWo, Timokinonun, Sitotoksisite, Antiparazitik Etki, Antiparazitik ilaçlar

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03 **SB22** ***12 Ekim 2021 – 15:30-17:00***
Salon A

Toxoplasma gondii ile Deneysel Enfekte BeWo Hücre Hattında Eksozomların Karakterizasyonu

Abdullah İNCİ[1], **Merve YÜRÜK[2]**, Alparslan YILDIRIM[1], Mahmodul Hasan SOHEL[3], Eda SİVCAN[2], Gupse Kübra KARADEMİR[1]

[1]Erciyes Üniversitesi Veteriner Parazitoloji AD, KAYSERİ; [2]Erciyes Üniversitesi Tıbbi Parazitoloji AD, KAYSERİ; 3Erciyes Üniversitesi Veteriner Genetik AD, KAYSERİ

E-posta: yuruk_merve@hotmail.com

AMAÇ: Toksoplasmozis, zorunlu hücre içi protozoon parazit *Toxoplasma gondii*'nin neden olduğu yaygın bir hastalıktır. *T. gondii*, immun sistemi baskılanmış kişiler ve hamilelerde fetusta ciddi anomalilere ve ölümcül toksoplazmik ensefalite sebep olabilen bir protozoon parazittir. Dünya çapında, *T. gondii* ile enfeksiyon riski tüm gebelerin %0,1-1'i kadardır. Hamilelik sırasında, takizoitler plasental bariyeri oluşturan trofoblast hücrelerini geçtiğinde fetal bulaşma meydana gelir. Ayrıca, konaktaki kronik veya akut enfeksiyonun, *T. gondii* suş tipleri ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Tip 1 suşu, Tip 2 ve Tip 3 suşlarından daha virülenttir. Toxoplasma gondii enfeksiyonu sırasında spesifik genlerin regülasyonu ve ekspresyonunda eksozomal miRNA'lar posttranskripsiyonel düzenleyiciler olarak oldukça önemli fonksiyonlara sahiptir. Eksozomal miRNA'ların çeşitli fizyopatolojik durumlarda önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada; T. gondii enfeksiyonunda eksozomal miRNA'lar ve fonksiyonlarının araştırıldığı Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TOA-2020-10054 kodla desteklenen ve yürütülmekte olan projenin ilk basamağı; *T. gondii*'nin virülent suşu tip 1 takizoitler ile plasental hücrelerin enfeksiyonu sırasında salgılanan eksozom benzeri veziküllerin karakterizasyonu üzerine çalışma sonuçları özetlenmiştir.

Yöntemler: Çalışmada BeWo hücreleri, *T. gondii* takizoitleri ve takizoitlerle enfekte edilen BeWo hücreleri olmak üzere oluşturulan deney grupları optimal koşullarda kültive edilmiştir. Her deney grubunda üç replikasyon yapılmıştır. Eksozom benzeri veziküller saflaştırılmak üzere 131.000xg'de 90 dakika boyunca ultrasantrifüjleme ile kültür ortamından izole edilmiştir. Ultra santrifüjleme sonrası elde edilen eksozom benzeri veziküller nanopartikül izleme (NTA) ve transmisyon-taramalı elektron mikroskop (TSEM) analizlerinde kullanılmıştır. Nanopartikül yakalama analizlerinde NanoSight NS300 cihazının kanalları ultra saflıkta su ile yıkanmış ve ardında 500 µl örneğin 300 µl'si enjeksiyon sisteminden geçirilmiştir. TSEM analizleri için ise görüntüleme öncesi bakır plakalar hazırlanmıştır. Bunun için örnekler ile kaplanan bakır plakalar önce paraformaldehit ile muamele edilmiş, üçer kere ddH2O ile yıkama yapılmış ve sonra urasil asetat ile muamele edilmiştir. Bakır plakalar kurutma kağıdı üzerinde kurutularak SEM ile görüntülenmiştir. Eksozom-spesifik markör proteinler olan CD63 kullanılarak western blotlanması analizleri gerçekleştirilmiştir.

Bulgular NTA yöntemiyle yapılan ölçümlerde *Toksoplasma* takizoitleri ile enfekte BeWo hücrelerinden izole edilen $6.52x10^9$+/- $5.39x10^8$ particles/ml sayıda vezikülün ortama 125.6 +/- 6.0 nm, takizoit

kültüründen izole edilen 2.96x10^8 particles/ml sayıda vezikülün ortalama 176+/-0.0 nm ve BeWo hücrelerinden izole edilen 2.05x10^8 particles/ml sayıda vezikülün ortalama 222.9+/-0.0 nm büyüklüklerinde zeta potansiyeli verdiği tespit edilmiştir. TSEM ile incelenen plakalarda görüntülenen ve agrege olmayan düzgün yüzeyli veziküllerin olduğu görüntülenmiştir. Western blot incelemeleriyle, eksozom markörü olan CD63'ün hem takizoitler ile enfekte olmuş BeWo hücrelerinin eksozomlarında hem de saf takizoit ve BeWo hücrelerinin kültürlerinden izole edilen eksozomlarda eksprese edildiği gösterilmiştir.

Sonuç: Bu çalışma ile *T. gondii* ile enfekte plasenta hücrelerinde eksozomların karakterizasyonu ilk kez gerçekleştirilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Toxoplasma gondii*, BeWo hücre hattı, eksozom

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03 **SB23** ***12 Ekim 2021 – 15:30-17:00***
Salon A

Giardiasis Tanılı Hastalardan İzole Edilen *Giardia intestinalis* Suşlarının Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) Yöntemi İle Genotiplerinin Araştırılması

Nurdan GÜNGÖR, Erdener BALIKÇI

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji AD, KOCAELİ

E-mail: gungornurdan@yandex.com

Amaç: Bu çalışmada; Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına parazit şüphesi ile gönderilen ve giardiasis tanısı konulan hastaların dışkı örneklerinde saptanan, *Giardia intestinalis* (*G. intestinalis*) suşlarının genotiplerinin belirlenmesi ve bölgesel olarak hangi genotipin yaygın olduğunun saptanması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışma için Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan (Karar No: KÜ GOKAEK 2020/17 Proje No: 2020/10 Tarih: 21/01/2020) onay alınmıştır. Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Şubat 2020 - Aralık 2020 tarihleri arasında parazit şüphesi ile gönderilen 1356 dışkı örneğinden nativ Lugol ve formol etil asetat çöktürme yöntemleri kullanılarak hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda incelendi. Giardia intestinalis belirlenen dışkı örnekleri 180-220 mg'lık porsiyonlar halinde DNA izole edilene kadar -80oC'de saklandı. QIAamp Fast DNA Stool Mini Kiti ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda DNA izolasyonu yapıldı. Beta giardin (β-giardin) gen bölgesinin 753 bp'lık uzun parçası G7 ve G759 primerleri kullanılarak PCR ile çoğaltıldı. PCR ürünleri, %3'luk jel hazırlanarak jel elektroforezde, 90 voltta 500 mA'de 40 dk. yürütüldü ve ultraviyole (UV) ışık altında görüntülendi. PCR analizinde β-giardin gen bölgesi pozitif olarak belirlenen örneklerin PCR ürünleri, RFLP için 37°C'de 4 saat HaeIII (BsuRI) restriksiyon enzimi ile muamele edilerek %3'luk jel'de, 90 voltta, 500 mA'de 40 dk. yürütüldü ve UV altında görüntülendi.

Bulgular: Parazit şüphesi ile gönderilen 1356 dışkı örneğinin mikroskobik inceleme sonucunda 36'sı *Giardia intestinalis* pozitif saptanmıştır. Hastaların 12'si kadın (%33,3) 24'ü erkektir (%66,7). 0-10 yaş arasında 3 (%8,3), 11-17 yaş arasında 9 (%25), 18-30 yaş arasında 12 (%33,3), 31-44 yaş arasında 7 (%19,4) ve 45 ve 45 yaş üstü 5 hasta (%13,9) bulunmaktadır. Hastaların dışkı örneklerinin mikroskobik incelenmesinde, 30 hastada *G. intestinalis*'in sadece kist formu, 6 hasta da ise hem kist hem de trofozoit form görülmüştür. Çalışmaya dahil edilen hastaların 35'i semptomatik, 1'i asemptomatiktir. Hastaların dışkı örneklerinin PCR-RFLP sonucunda; semptomatik 35 hastanın 29'unda B genotipi (%80,6), 6'sında A genotipi, (%16,7) asemptomatik bir hastada ise A genotipi (%2,7) saptanmıştır. *G. intestinalis* pozitifliğinin yaş, cinsiyet ve klinik belirtiye göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ($p>0,05$) belirlenmemiştir.

Sonuç: Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (Proje No: TYL-2020-2151) desteklenen bu çalışmada; Kocaeli ilinde *G. intestinalis* izolatlarının genotipleri hakkında bilgi sahibi olunmuş ve gelecekte yapılacak çalışmalara yeni veriler sağlamıştır. Türkiye'de *G. intestinalis*'in

genotipi ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, A genotipinin B genotipine göre daha çok olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan bu çalışmada B genotipini, A genotipine göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Türkiye'nin en büyük sanayi şehirlerinden biri olan Kocaeli ili her yıl farklı bölgelerden göç almaktadır. Bu nedenle Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesine çok farklı bölgelerden hasta başvurmaktadır. Hastanemizde 2015 yılında yapılan çalışmada A genotipi baskın olarak görülmesine rağmen bu çalışmada B genotipinin dominant olarak belirlenmesinin, yıllar içerisinde göç olaylarına bağlı olarak Kocaeli ilinde oluşan demografik değişikliklerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Beta giardin, *Giardia intestinalis*, Giardiasis, İnsan, PCR-RFLP

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03 **SB24** ***12 Ekim 2021 – 15:30-17:00***
Salon A

İnflamatuvar Bağırsak Hastalıklarında Parazitler Sebep mi, Sonuç mu?

Tuğba ERTOP[1], Orçun ZORBOZAN[1], Nalan GÜLŞEN ÜNAL[2], Nevin TURGAY[1]

[1]Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, İZMİR;
[2]Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD, İZMİR

E-mail: tugbacakiroglu@gmail.com

Amaç: İnflamatuar bağırsak hastalıkları (İBH), Crohn Hastalığı (CH) ve Ülseratif Kolit (ÜK) olmak üzere iki temel alt tipi olan, etyopatogenezde genetik, çevresel ve immünolojik olayların rol oynadığı kronik otoimüun hastalıklardır. Dünya çapında ÜK ve CH prevalansları sırasıyla %0.008-0.015, %0.001-0.005 olarak bildirilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde hala önemli sağlık sorunlarına neden olan paraziter enfeksiyonların İBH ile olan birliktelikleri ve bağırsak sağlığındaki rolleri üzerine çalışmalar bulunmakta olup, özellikle bazı intestinal parazitlerin mikrobiyotadaki varlığı konağın immün yanıtını etkileyip, otoimmün hastalıkların ortaya çıkmasına ya da alevlenmelere neden olabilmektedir (1-3).

Çalışmamızın amacı, İBH olan ve olmayan hastalarda saptanan gastrointestinal sistem (GİS) parazitlerinin hastalıklarla olan ilişkisinin sorgulanmasıdır.

Yöntem: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde, Parazitoloji Direkt Tanı Laboratuvarına 1 Ocak 2018 - 31 Aralık 2019 tarihleri arasında Gastroenteroloji Bilim Dalından, GİS yakınmaları ile parazit araştırılması amacıyla gönderilen 634 dışkı örneği retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Dışkı inceleme sonuçları, başvuran hastaların tanılarına göre gruplandırılmıştır. Dışkı inceleme sonuçlarında parazit varlığı ve tespit edilen parazitin türü not edilmiştir. İBH tanısı olan ve olmayan gruplar arasındaki parazit sıklıkları karşılaştırılmıştır.

Bulgular: İncelenen 631 örneğin 154'sinde İBH olup, pozitif olguların 42'inde (%27,2) parazit varlığı tespit edilmiştir. İBH olmayan 477 kişinin ise 131'inde (%27,4) parazit varlığı tespit edilmiştir. Parazit türlerinin tanı gruplarına göre dağılımı tabloda gösterilmiştir (Tablo 1).

Sonuç: Sağlıklı mikrobiyotaya sahip bireylerde sıklıkla saptanan Blastocystis spp.'nin, İBH olan hastalarda nadir görüldüğü (5, 6, 7), buna karşılık *Cryptosporidium* spp. enfeksiyonuna sekonder Crohn atağı geçiren vakalar bulunduğu bildirilmektedir (8). Çalışmamızda İBH tanısı olan ve olmayan hastalar arasında *Cryptosporidium* spp. ve *Blastocystis* spp. sıklıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (tablo 1). Ancak semptomatik veya asemptomatik seyredebilen *Entamoeba histolytica*'nın özellikle İBH'lı hastalarda semptomlarla seyrettiği görülürken, İBH'lı olmayan grupta *E. histolytica* tanısı alan hasta olmaması dikkat çekicidir.

Paraziter enfeksiyonların az gelişmiş ülkelerde sık görülmesine karşı, bu ülkelerde otoimmün hastalıkların daha nadir görüldüğünü belirten hijyen hipotezinde de vurgulandığı gibi, intestinal parazitlerin varlığı ve bağırsak sağlığı arasındaki ilişki, mikrobiyota içerisine kolonize olan parazitin türüne, parazit yüküne (yoğunluğuna) ve konak olan hastanın immün sisteminin etkinliğine göre değişiklikler göstermektedir.

Sonuç olarak, çalışma bulguları değerlendirildiğinde, konağa özgü faktörlerin yanında, parazite özgü faktörlerin de bağırsak sağlığında belirleyici olabileceği unutulmamalıdır.

Tablo 1: Parazit türlerinin tanı gruplarına göre dağılımı

	Başvuru Sayısı	Parazit Tespit Edilen	*Cryptosporidium* spp.	*Blastocystis* spp.	*Entamoeba histolytica/dispar*	*Giardia intestinalis*	*Entamoeba coli*	*Enterobius vermicularis*	*Taenia* spp.	Karma
İBH Tanısı Var	157	45	17	6	14	0	3	0	0	2
İBH Tanısı Yok	477	131	74	43	0	1	0	6	1	6
p* değeri		0.77	0.29	0.08	-**	-	-	-	-	0.98

* $p<0.05$ anlamlılık sınırı olarak kabul edildi. ** Yeterli pozitif örnek sayısı olmaması nedeniyle istatistiksel analiz uygulanamadı

Kaynaklar:

1. Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: pathogenesis. World J Gastroenterol. 2014;20(1):91-9.
2. Mohammadi R, Hosseini-Safa A, Ehsani Ardakani MJ, Rostami-Nejad M. The relationship between intestinal parasites and some immune-mediated intestinal conditions. Gastroenterol Hepatol Bed Bench 2015;8(2):123-31.
3. Christophe A, Even G, Cian A, et al. Colonization with the enteric protozoa Blastocystis is associated with increased diversity of human gut bacterial microbiota. Scientific Reports. 2016:6;25255.
4. Petersen, A. M. et al. Active ulcerative colitis associated with low prevalence of Blastocystis and Dientamoeba fragilis infection. Scand J Gastroenterology 2013; 48, 638–9.
5. Rossen, NG, Bart.a, Verhaar.N et al. Low prevalence of Blastocystis sp. in active ulcerative colitis patients. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2015; 34, 1039–44.
6. Agnew M, Kottapalli A, Kottapalli V. Postinfectious Inflammatory Syndrome following Cryptosporidium Infection. Case Rep Gastroenterol 2021;15:772–8.

Anahtar kelimeler: İnflamatuvar bağırsak hastalıkları, *Cryptosporidium, Entamoeba, Blastocystis*

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03 **SB25** ***12 Ekim 2021 – 15:30-17:00***
Salon A

Molecular Determination of *Toxoplasma gondii* in Milk of Livestock in Corum, Turkey

Gonul ARSLAN-AKVERAN[1], Djursun KARASARTOVA[2], Sabiha AYDOGDU[3], Nezahat KOSAR[2], Arzu COMBA[4], Ayse Semra GURESER[2], Aysegul TAYLAN-OZKAN[2,5]

[1]Department of Food Processing, Alaca Avni Celik Vocational School, Hitit University, CORUM, TURKEY; [2]Department of Medical Microbiology, Hitit University, CORUM, TURKEY; [3]Department of Nutrition and Dietetics, Faculty of Health Science, Hitit University, CORUM, TURKEY; [4]Department of Laboratory Technology, Technical Sciences Vocational School, Hitit University, CORUM, TURKEY; [5]Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, TOBB University of Economics and Technology, ANKARA, TURKEY

E-mail: gonul.aarslan@gmail.com

Aim: *Toxoplasma gondii* is an obligate intracellular apicomplexan parasite protozoan, spreading worldwide and it can infect almost all vertebrate animals. It causes toxoplasmosis which is a zoonotic disease of great importance in terms of medicine, veterinary medicine and public health. In this study, it is aimed to reveal the molecular prevalence of *T. gondii* in milk samples of livestock in Corum, Turkey.

Method: Milk samples were collected from 30 cows, 30 sheep and 30 goats raised in small farms in villages of Corum Province in Turkey between July 2019 and July 2020. DNAs extracted from these milk samples were amplified by nested PCR method using Re1F, Re2R, Re2F, Re2R primers derived from the RE gene.

Result: While no positivity was detected in the milk samples of sheep and cows, 5/30 of *T. gondii* DNA in goat milk was detected as positive by PCR. Livestock farming is important in the study area, Corum. It was aimed to draw attention to the potential danger of milk-borne toxoplasma infection in a new area and to contribute to the understanding of the epidemiology of this disease. It is important to reveal risk factors for the zoonotic disease such as toxoplasmosis and to develop protection plans for public health. As a result, in accordance with the literature, it can be said that the direct consumption of goat milk and/or goat milk products prepared without heat treatment are more risky in terms of toxoplasmosis.

Key words: *Toxoplasma gondii*, Corum, nested PCR, Livestock

Acknowledgements: *This study was supported by Scientific Research Unit, Hitit University (ALACA19002.19.001)*

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 03 **SB26** ***12 Ekim 2021 – 15:30-17:00***
Salon A

Mt-CO1 Gen Markerleri Kullanılarak *Ligula intestinalis*'in Filogenetik Analizi ve Haplotip Çeşitliliğinin in-silico Olarak Belirlenmesi

Muhammed Ahmed SELÇUK[1,2], Figen ÇELİK[2], Sami ŞİMŞEK[2], Haroon AHMED[3], Harun Kaya KESİK[4], Şeyma GÜNYAKTI KILINÇ[4]

[1]Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, SİİRT; [2]Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ELAZIĞ; [3]Department of Biosciences, COMSATS University Islamabad (CUI), ISLAMABAD, PAKISTAN; [4]Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, BİNGÖL

E-mail: ahmed.selcuk@siirt.edu.tr

Ligula intestinalis dünyanın farklı ülkelerinde tatlı su balıklarını etkileyen bir sestoddur. Bu çalışma ile farklı ülkelerden NCBI veri tabanına gönderilen mitokondriyal sitokrom c oksidaz subunit 1 (mt-CO1) gen sekanslarının filogenetik analizini, genetik ve haplotip çeşitliliğini in-silico analiz kullanarak ortaya koymayı amaçlamıştır. Biyoinformatik analizler için NCBI'den elde edilen *L. intestinalis*'in 105 adet mt-CO1 (371 bp) gen sekansları kullanılmıştır. Diziler hizalandıktan sonra filogenetik ve haplotip analizine tabi tutuldu. *Ligula intestinalis*'in haplotip analizi sonucunda 13 farklı ülkeden 38 haplotipin varlığı gösterildi. Hap_24, elde edilen haplotip ağının %44,76'sını oluşturmaktaydı. Haplotipler arası nükleotidlerdeki değişiklikler 1-84 farklı noktada meydana geldiği görüldü. Çin ve Türkiye'deki izolatlarda 0,59761 ile en yüksek fiksasyon indeksi (Fst) gözlenirken, en düşük (-0,10526) Rusya ve Türkiye arasında bulundu. Bu çalışma, *L. intestinalis*'in dünya çapında epidemiyolojisi, ekolojik yönleri, dağılım modeli, bulaşma dinamikleri ve popülasyon dağılımı hakkında gelecekte yapılacak çalışmalar için bir model olma niteliğindedir.

Anahtar Kelimeler: Genetik varyasyon, in-silico analiz, *Ligula intestinalis*, mt-CO1.

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 04 *13 Ekim 2021 – 11:30 – 12:30*

Oturum Başkanları:
Hasan EREN / Hatice ERTABAKLAR

SB27. Trends in Pediculicide Usage in Turkey
Sabiha AYDOĞDU, Emrah BİLGENER, Kosta Y. MUMCUOĞLU, Aysegül TAYLAN ÖZKAN

SB28. Kırşehir Yöresinde Hayvan Barınaklarından Toplanan Pulex irritans'ın mt-COI DNA barkodlaması ile filogenetik karakterizasyonu
Nuri ERCAN, Abdullah İNCİ, Zuhal ÖNDER, Gamze YETİŞMİŞ, Önder DÜZLÜ, Arif ÇİLOĞLU, Mübeccel ATELGE, Alparslan YILDIRIM

SB29. Türkiye'de bir kobay (*Cavia porcellus*)'da *Chirodiscoides caviae* enfestasyonu ve Fipronil ile tedavisi
Meral AYDENİZÖZ, Sami GÖKPINAR

SB30. Pediatrik hidatik kist izolatlarının moleküler karakterizasyonu, haplotiplerinin belirlenmesi ve Türkiye'de pediatrik vakalarda Echinococcus canadensis'in (G6/G7) ilk bildirimi
Ünal BAKAL, **Figen ÇELİK**, Sami ŞİMŞEK, Harun Kaya KESİK, Şeyma GÜNYAKTI KILINÇ

SB31. Morgellons hastalığı ve Borrelia burgdorferi ilişkisi: Olgu Sunumu
Murat HÖKELEK, **Erdener BALIKÇI**, Gamze ALÇİ, Nurdan GÜNGÖR, Eda YAZICI ÖZÇELİK, Fetiye KOLAYLI

SB32. Blefarit Etkeni Olarak Demodex folliculorum: Olgu Sunumu
Handan GENEZ, Elif OKUMUŞ, **Erdener BALIKÇI,** Fetiye KOLAYLI, Murat HÖKELEK

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 04 **SB27** ***13 Ekim 2021 – 11:30-12:30***

Trends in Pediculicide Usage in Turkey

Sabiha AYDOĞDU[1], Emrah BİLGENER[2], Kosta Y. MUMCUOĞLU[3], Ayşegül TAYLAN ÖZKAN[4]

[1]Department of Nutrition and Dietetics, Faculty of Health Sciences, Hitit University, ÇORUM, TURKEY;
[2]Department of Health Management, Faculty of Health Science, Hitit University, ÇORUM, TURKEY;
[3]Parasitology Unit, Department of Microbiology and Molecular Genetics, The Kuvin Center for the Study of Infectious and Tropical Diseases, The Hebrew University-Hadassah Medical School, JERUSALEM, ISRAEL;
[4]Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, TOBB University of Economics and Technology, ANKARA, TURKEY

E-mail: sabihaaydogdu@hitit.edu.tr

Aim: Head louse infestation caused by *Pediculus humanus capitis* is a serious public health problem all over the world. Increased prevalence of infestations over the years causes an increase in treatment-related costs and the development of resistance to pediculicides. In this study, it was aimed to evaluate the sales of pediculicides in Turkey, the treatment trends, the preference for given products, and the possible development of resistance over a 5-year period (2015-2019).

Methods: Data regarding products which were sold with prescription and with the permission of the Ministry of Health of the Republic of Turkey, were formally requested from the IQVIA-Turkey Office/Intercontinental Medical Statistics (IMS) database and the relevant companies. Annual sales units of pharmacologically (permethrin, sumithrin, and pyrethrin plus piperonyl butoxide) and physically (dimethicone) active pediculicides were included (, but not products based on plant extracts and which do not have the permission to be sold as pediculicides). A cost-analysis was made according to sale prices in a given year.

Results: In 2015, a total of 2,452,846 units of pediculicides were sold, while their sales decreased to 2,146,856 units in 2019. With 4,365,578 units (38.7%) sumithrin-based products were the most sold pediculicides, followed by dimethicone-based ones with 4,034,141 units (35.7%), and pyrethrins plus piperonyl butoxide with 342,083 units (3%). While the consumption of pyrethrin-, permethrin- and sumithrin-based pediculicides decreases over the years, the consumption of physically acting products containing dimethicone has increased. The overall price of pediculicides for the consumer during the last five years increased by 2.27 times, mainly due to the high inflation rate in the country.

Conclusion: Since pediculosis is not reportable in Turkey, the prevalence of head louse infestation, the treatment modalities and the effectiveness of these products are poorly known. There are many indications that local lice became resistant to pyrethrin- and pyrethroid-based products, which would explain the decrease in their sales, while dimethicone based products are gaining popularity and there are reasons to believe that this trend will continue also in the future.

Anahtar Kelimeler: Head lice, pediculicide, resistance

Kırşehir Yöresinde Hayvan Barınaklarından Toplanan *Pulex irritans*'ın mt-COI DNA Barkodlaması ile Filogenetik Karakterizasyonu

Nuri ERCAN[1], Abdullah İNCİ[2], Zuhal ÖNDER[2], Gamze YETİŞMİŞ[2], Önder DÜZLÜ[2], Arif ÇİLOĞLU[2], Mübeccel ATELGE[3], Alparslan YILDIRIM[2]

[1]Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi, KIRŞEHİR; [2]Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ; [3]Kastamonu Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KASTAMONU

E-mail: nuri.ercan@ahievran.edu.tr

Amaç: Bu çalışmada, Kırşehir yöresinde çeşitli hayvan barınaklarında enfeste hayvanların üzerinden veya barınak içerisinden toplanan pirelerin morfolojik identifikasyonunu takiben mt-COI DNA barkodlamalarının yapılarak filogenetik karakterizasyonlarını ortaya çıkarmak amaçlanmıştır.

Yöntem: Pire örneklemleri 2021 yılının Mayıs-Temmuz ayları arasında Kırşehir yöresindeki koyun ağılları ile ağıl çevresinde bulunan kedi ve köpek barınaklarında gerçekleştirilmiştir. Enfeste hayvanların üzerinde veya barınak içerisinde belirlenen pireler toplanarak %70 etanol içerisine aktarılmış ve soğuk zincirde laboratuvara intikal ettirilmiştir. Pire örnekleri laboratuvarda stero-mikroskop altında incelenerek morfolojik karakterlere göre tür teşhisleri sağlanmıştır. Morfolojik tür teşhislerini takiben örneklerden elde edilen genomik DNA izolatlarında mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (mt-COI) barkod gen bölgesi universal primerler ile PCR'da amplifiye edilmiştir. Elde edilen amplikonların çift yönlü sekanslamaları sağlanmış ve DeNovo analizleri ile izolatlara ait konsensüs sekanslar elde edilmiştir. Elde edilen COI sekansları blastn analizlerine tabi tutularak moleküler tür konfirmasyonları sağlanmış ve filogenetik analizler için GenBank veri tabanındaki farklı ülkelerden rapor edilmiş *P. irritans* ve diğer pire türlerine ait izolatları da içeren veri seti oluşturularak nükleotid dizilerindeki polimorfizmlere en uygun filogenetik ağaç olasılığı Maximum Likelihood (ML) analizi ile yapılmıştır. Maximum Likelihood analizlerinde sekans değişimi için en uygun model en düşük AIC (Akaike Information Criteria) değerine sahip model filogenetik ağaç belirlenmesinde kullanılmıştır. Ayrıca oluşturulan filogenetik ağaçların güvenilirlikleri 1000 tekrarlı Bootstrap testi ile de denetlenmiştir.

Bulgular: Araştırma süresince örnekleme bölgelerinden toplam 40 adet pire örneği toplanmıştır. Toplanan pire örneklerinin mikroskobik incelemelerde morfolojik özelliklerine göre tamamı (28 dişi, 12 erkek) *P. irritans* olarak teşhis edilmiştir. Tüm örneklerin barkod COI gen bölgesi gDNA izolatlarında başarı ile amplifiye edilmiş ve amplikonların sekanslanması ile kalite skoru yüksek nükleotid dizileri elde edilmiştir. Konsensüs sekansların blastn analizleri sonucu tüm örneklerin *P. irritans* olduğu moleküler olarak konfirme edilmiştir. Sekanslanan izolatların genetik analizlerinde aralarında %0,5 farklılık bulunan iki haplotip [PirrTC1 (GenBank aksesyon, MZ853940): 22 örnek; PirrTC2 (GenBank aksesyon, MZ853941): 18 örnek] içinde dağıldığı tespit edilmiştir. Filogenetik analizlerde karakterize edilen *P. irritans* sekanslarının Türkiye izolatlarını da içeren Asya ve Avrupa'dan rapor edilmiş izolatlarla birlikte haplogrup oluşturduğu belirlenmiştir. Veri setinin analizi sonucu belirlenen haplogrubun yanı sıra biri İspanya'dan diğeri ise Arjantin'den olmak üzere

iki haplogrubun daha varlığı tespit edilmiş ve bu haplogruplar arasında %5 ila %9 arasında değişen genetik farklılık görülmüştür. COI barkod bölgesi filogenetik analiz sonuçları ayrıca *P. irritans*'ın diğer pire türleri arasında en yakın ilişkiyi *Echidnophaga* türleri ile gösterdiğini de ortaya koymuştur.

Sonuç: Bu çalışma ile ülkemiz üzerinde sınırlı genetik veri bulunan *P. irritans* için mt-COI DNA barkod sekansları temelinde özgün filogenetik sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca araştırma çıktıları genetik çeşitlik temelinde *P. irritans*'ın moleküler epidemiyolojisine bilimsel katkı sağlamıştır. Artropodlar içerisinde vektörlük potansiyelleri de göz önüne alındığında önemli bir grup olan pire türlerinin genetik çeşitliliği üzerine farklı coğrafik bölgelerden kapsamlı moleküler çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Pulex irritans*, mt-COI DNA, barkodlama, filogenetik karakterizasyon, Türkiye

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 04 **SB29** ***13 Ekim 2021 – 11:30-12:30***

Türkiye'de bir kobay (*Cavia porcellus*)'da *Chirodiscoides caviae* enfestasyonu ve Fipronil ile tedavisi

Meral AYDENİZÖZ, Sami GÖKPINAR

Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KIRIKKALE

E-mail: meralaydenizoz@hotmail.com

Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na aynı fakültenin bir öğrencisi tarafından tüyleri üzerinde çok sayıda siyah renkli akarların bulunduğu şikâyeti ile 3-4 aylık erkek bir kobay getirilmiştir. Mikroskobik muayene sonucu bu akarın *Chirodiscoides caviae* olduğu belirlenmiştir.

Bu olgu Türkiye'de ilk kez bildirilmiştir. Hayvan fipronil ile tedavi edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Cavia porcellus, Chirodiscoides caviae*, fipronil, kobay, tüy akarı, Kırıkkale, Türkiye

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 04 **SB30** ***13 Ekim 2021 – 11:30-12:30***

Pediatrik Hidatik Kist İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu, Haplotiplerinin Belirlenmesi ve Türkiye'de Pediatrik Vakalarda *Echinococcus canadensis*'in (G6/G7) İlk Bildirimi

Ünal BAKAL[1], **Figen ÇELİK[2]**, Sami ŞİMŞEK[2*], Harun Kaya KESİK[3], Şeyma GÜNYAKTI KILINÇ[3]

[1]Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi AD, ELAZIĞ; [2]Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ELAZIĞ; [3]Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, BİNGÖL

E-mail: f.celik@firat.edu.tr

Amaç: Kistik Ekinokokkozis, *E. granulosus sensu lato*'nun neden olduğu zoonotik bir hastalıktır. Bu çalışmada Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Cerrahi Kliniği'nde hidatik kist tanısı ile ameliyatı yapılan pediatrik hastalardan toplanan hidatik kist örneklerinin moleküler karakterizasyonunu ve haplotiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu amaçla, Elazığ (biri Suriye'li mülteci olmak üzere 11 vaka) ve Muş (altı vaka) kökenli 17 pediatrik hidatik kist örneğinin moleküler karakterizasyonu yapıldı. Yaşları 6-16 arasında değişen vakalar açık cerrahi ile opere edildi ve moleküler analizler için kistlerin germinal membranları ayrılarak %70'lik ethanol içinde kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı. Genomik DNA izolasyonu sonrası 875 bp uzunluğundaki mt-CO1 gen bölgesi bütün örneklerde PCR ile çoğaltılıp tek yönlü sekans analizi yaptırıldı. Eş zamanlı olarak *E. granulosus sensu stricto*'nun mt-CO1 genine ait Genbank'ta yayınlanmış sekanslar ile haplotip analizi gerçekleştirildi.

Bulgular: BLAST analizleri neticesinde 17 sekansın 16'sı *E. granulosus s.s.* ile eşleşirken bir vakada *E. canadensis* (G6/G7) tespit edildi. *E. granulosus s.s.*'nun mt-CO1 gen bölgesine ait sekanslar (n=16) ve yayınlanmış referans diziler (Çin n=35, Moğolistan n=11, Rusya n=6, Etiyopya n=6, İran n=2) kullanılarak gerçekleştirilen haplotip analizi neticesinde toplam 58 haplotip belirlendi. Ağ, diğer haplotiplerden 1-15 aşamalı mutasyonla ayrılan ve 76 izolatın 11'inde (%14.5) merkezi olarak konumlanmış bir ana haplotip (Hap07) bulunmaktaydı. Bu ana haplotip içinde Türkiye'den sadece bir insan izolatı (1/11) vardı. Bu haplotipteki diğer izolatlar Moğolistan (n=7), Çin (n=2) ve Rusya'ya (n=1) aitti. Bu çalışmada elde edilen Türkiye izolatlarından üçü ikinci ana haplotipte yer alırken, diğer 9 izolat ise tekli haplotipleri oluşturmaktaydı.

Sonuç: Bu çalışma ile Türkiye'de ilk kez pediatrik bir vakada *E. canadensis* (G6/G7) tespit edilmiştir. İzolatların %94,1'inin *E. granulosus s.s.* olarak tanımlanmasına rağmen farklı haplotiplerin elde edilmesi, insanlarda tür içi varyasyonların devam ettiğini göstermektedir. Bu nedenle kontrol önlemleri alınırken *E. granulosus s.s.* ve *E. canadensis* (G6/G7) gibi farklı türlerdeki haplotip farklılıkları dikkate alınmalıdır.

Anahtar kelimeler: *Echinococcus granulosus sensu stricto, Echinococcus canadensis* (G6/G7), pediatrik kist hidatik, haplotip analizi.

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 04 **SB31** ***13 Ekim 2021 – 11:30-12:30***

Morgellons Hastalığı ve *Borrelia burgdorferi* ilişkisi: Olgu Sunumu

Murat HÖKELEK[1], **Erdener BALIKÇI[1]**, Gamze ALÇİ[2], Nurdan GÜNGÖR[2], Eda YAZICI ÖZÇELİK[2], Fetiye KOLAYLI[1]

[1]Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji AD, KOCAELİ;
[2]Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji AD, KOCAELİ

E-mail: erdener-b@hotmail.com

TAM METİN

Amaç: Morgellons hastalığı (MH); etiyolojisi bilinmeyen, nadir görülen, güçten düşürücü, kutanöz bir hastalıktır. Lyme hastalığı (LH) ise *Borrelia burgdorferi*'nin neden olduğu kene kaynaklı multisistemik enfeksiyondur. Borreliosis olarak da bilinen bu enfeksiyon, Amerika ve Avrupa'da eklembacaklılarla bulaşan en yaygın hastalıklardan biridir. CDC verilerine göre Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl yaklaşık 300.000 kişinin Lyme hastalığına yakalandığı tahmin edilmektedir. Ülkemizde bildirimi zorunlu olan önemli bir zoonotik hastalık olmasına rağmen yeterli epidemiyolojik çalışma bulunmamaktadır. En yaygın klinik belirtisi kenenin ısırdığı bölgede gelişen eritema migrans cilt lezyonudur. Eritema migransa genellikle halsizlik, yorgunluk, baş ağrısı, eklem ağrısı, miyalji, ateş ve bölgesel lenfadenopati eşlik etmektedir. Tedavi edilmediğinde sinir sistemi, kalp ve eklemler dahil olmak üzere diğer organları etkilemektedir. Tanı genelde iki aşamalı serolojik testin, klinik ve epidemiyolojik öykü ile desteklenmesiyle konulur. Serolojik test olarak ilk aşamada ELISA veya IFA ile Borrelia IgM ve IgG pozitifliği saptanıp, ikinci aşamada Western Blot (WB) ile doğrulama yapılır. Serolojik testlerin dışında polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) gibi moleküler tabanlı testlerin kullanımı duyarlılığın düşük olması sebebiyle uzun yıllar kullanılmamıştır. Ancak günümüzde DNA ekstraksiyonu ve amplifikasyonu gibi moleküler tekniklerdeki güncel gelişmeler sayesinde PZR testinin duyarlılığı artış göstermektedir. Daha önce ABD ve Avrupa'dan vaka bildirimlerinde MH'ya sahip olan hastaların deri örneklerinden *Borrelia* spp. DNA'sı saptandığı bildirilmiştir. Morgellons lezyonlarının gelişiminde genetik faktörlerin yanı sıra *Borrelia* spp. spiroketlerinin de etkisi olduğu düşünülmektedir. Morgellons'un ayırt edici tanısal özelliği; cildin altında, içine gömülü veya deriden çıkıntı yapan filamentler ve kendiliğinden ortaya çıkan ülseratif deri lezyonlarıdır. Karakteristik filamentler mikroskobiktir ve görsel olarak tekstil liflerine benzemektedir. Filamentler; beyaz, siyah, kırmızı, mavi, yeşil veya parlak renkte görülmektedirler. Lyme hastalığına benzer şekilde eklem ağrısı, yorgunluk, nöropati gibi belirtiler bulunmaktadır. Bu nedenle Morgellons hastalarında Borrelia spp. ayırıcı tanısı önemlidir. Bu olgu bildiriminde Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde MH tanısı alan, serolojik ve moleküler testler ile doğrulanan LH olgusu sunularak, ayırıcı tanıdaki öneminin vurgulanması amaçlanmıştır.

Olgu: Elli iki yaşında kadın hasta, iki yıldır mevcut olan ciltte döküntü, kaşıntı, kızarıklık, derisinde zaman zaman terleme ile ortaya çıkan iplikçik benzeri cisimlerin (Şekil 1) ortaya çıkması şikayetleri ile 8 Nisan 2021 tarihinde hastanemize başvurdu. Yapılan muayenede kol arka alt kısmı ve sırt

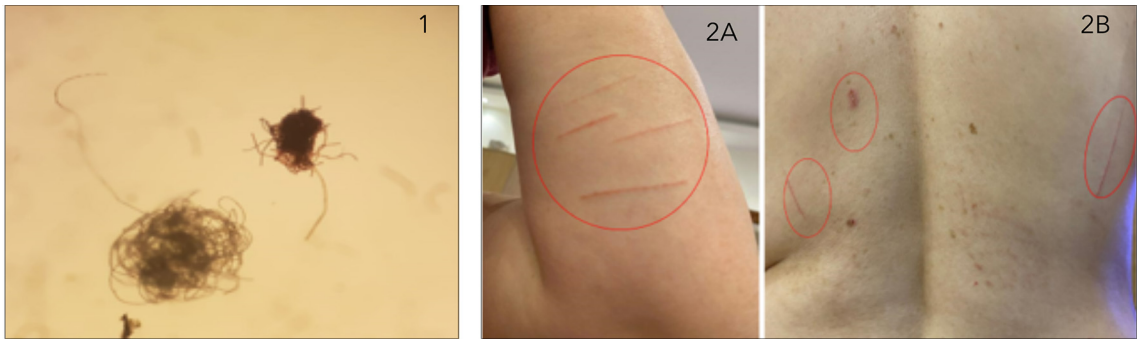
bölgesinde eritemli, belirgin sınırlı, lineer çizgilenmeler, tüm vücutta yaygın döküntüler izlendi (Şekil 2). Diğer fizik muayene bulguları olağandı. İlk olarak 1,5 yıl önce vücutta kaşıntı nedeniyle başvurduğu sağlık kuruluşu tarafından gale (uyuz) tanısı ile tedavi almıştı. Ancak yakınmalarında gerileme olmaması üzerine farklı merkezlerde değerlendirilen hastaya sanrısal parazitizm düşünülerek psikiyatri polikliniğine başvurması önerilmişti. Hastanın soy geçmişinde özellik saptanmadı. Öyküsünde evinin bahçesinde iki yıl önce bacaklarını böceklerin ısırdığını fakat kene ısırığı hatırlamadığını, o dönemde bacaklarında oluşan kızarıklıkların zamanla geçtiğini ifade etti. Mikrobiyolojik inceleme için serum örneği alındı. Cilt döküntülerinden biyopsi örneği alınmak üzere hasta Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji polikliniğine yönlendirildi.

Yöntem: Dermatoloji polikliniğinde alınan biyopsi materyalinin bir kısmı moleküler yöntem için ayrıldı, daha sonra histopatolojik incelemeye gönderildi. Lezyonlardan deri kazıntı örnekleri alınarak Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarında %10'luk KOH ile incelendi. Serum örneğinden ELISA yöntemi ile *B. burgdorferi* IgM ve IgG çalışıldı. Araştırma laboratuvarımızda hasta biyopsi örneğinden *B. burgdorferi* OspA (dış yüzey protein-A'yı kodlayan primer çifti)'yı hedefleyen PZR çalışıldı.

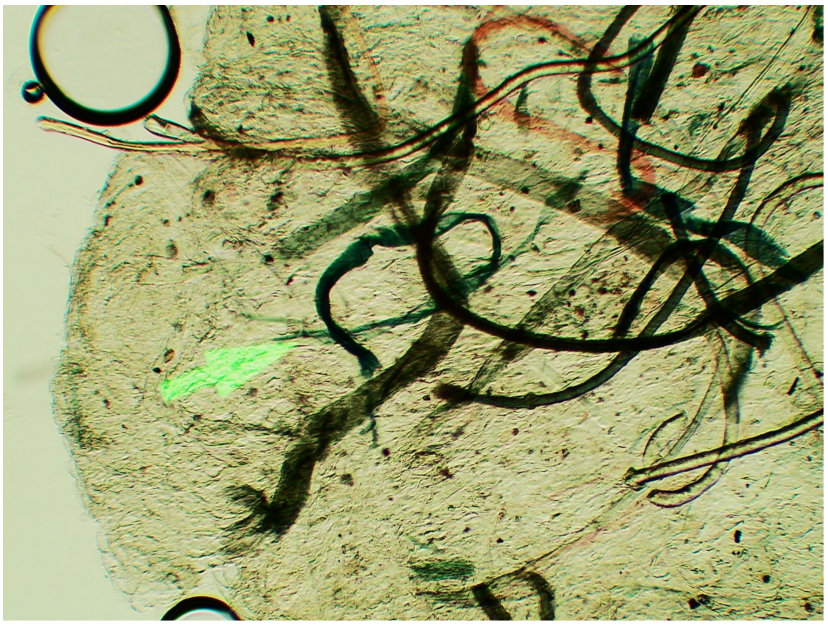
Bulgular: Mikroskobik görüntülerde çok sayıda ve farklı renklerde fibrinler görülmesi nedeniyle MH tanısı konuldu (Şekil 3). Histopatolojik inceleme sonucu dermatit olarak rapor edildi. Serolojik test sonucunda ELISA IgG pozitif olarak belirlendi. Yapılan moleküler testte *B. burgdorferi* ospA PZR sonucu pozitif olarak saptandı (Şekil 4).

Sonuç: Mevcut kliniği ve laboratuvar sonuçlarıyla *B. burgdorferi*'nin neden olduğu Lyme tanısı konulan hastaya üç hafta süreyle oral 2x100 mg/gün doksisiklin tedavisi başlandı. Takiplerinde ELISA IgG sonucunun negatifleştiği saptandı. Hastanın lezyonlarında tedavi sonrası gerileme oldu. Ancak tamamen kaybolmadı. Küresel iklim değişikliği, kene vektörlerinin coğrafik dağılımındaki yelpazesini genişleterek, LH'ın önümüzdeki yıllarda önemli bir sağlık sorunu olmaya devam edeceğini düşündürmektedir. Morgellons tanısı konulan hastalarda *Borrelia* spp. varlığı da düşünülmeli, serolojik ve moleküler testlerle doğrulanmalıdır. MH'nin LH süreci ile ilişkisini açığa kavuşturmak için daha fazla deneysel ve klinik araştırmaya gereksinim vardır.

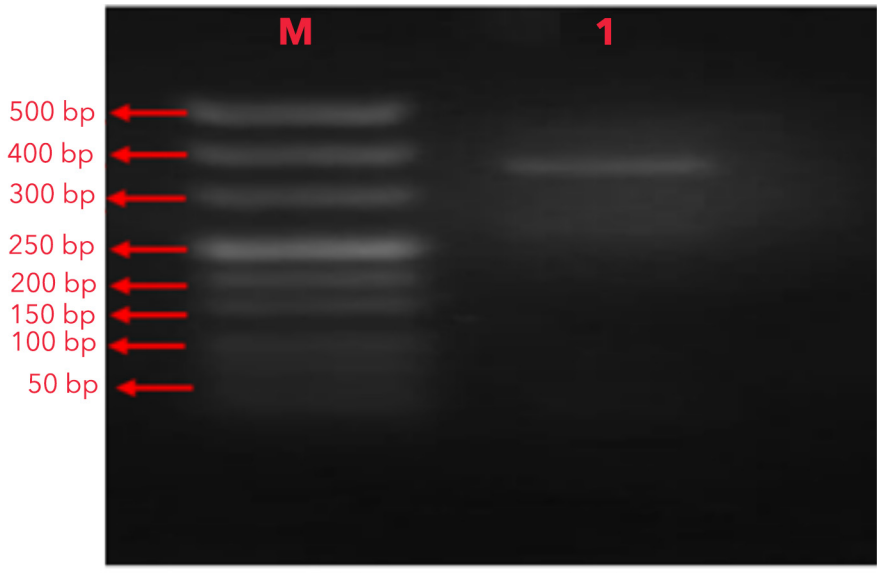
Anahtar kelimeler: *Borrelia burgdorferi*, PZR, Morgellons hastalığı, Lyme hastalığı



Şekil 1. Hastadan elde edilen döküntü ve iplikçik benzeri cisimler(x4). **2A.** Kol arka alt kısım ve **2B**. Sırtta izlenen lezyonlar.



Şekil 3. Deri kazıntı örneğinin mikroskobik görüntüsü (x40) (%10 KOH ile).



M: Marker 1: Genomik DNA

Şekil 4. PZR Jel elektroforez görüntüsü.

.

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 04 **SB32** ***13 Ekim 2021 – 11:30-12:30***

Blefarit Etkeni Olarak *Demodex folliculorum*: Olgu Sunumu

Handan GENEZ[1], Elif OKUMUŞ[2], **Erdener BALIKÇI[1]**, Fetiye KOLAYLI[1], Murat HÖKELEK[1]

[1]Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji AD, KOCAELİ;
[2]Batman Eğitim ve Araştırma Hastanesi, BATMAN

E-mail: erdener-b@hotmail.com

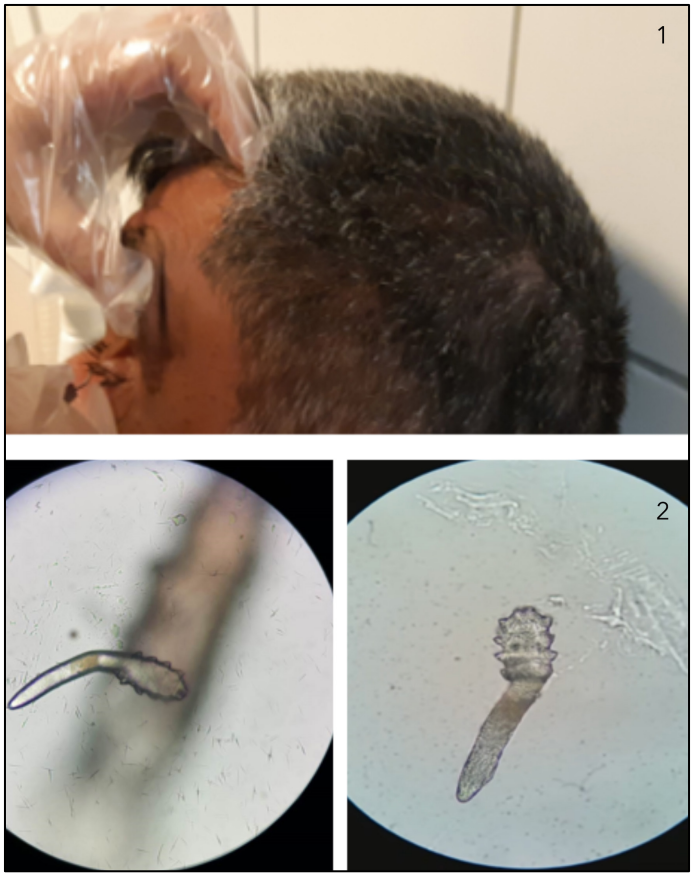
TAM METİN

Amaç: *Demodex* türleri, insan cildinde en sık rastlanılan mikroskobik ektoparazitlerdir. Akarların Demodicidae ailesinin *Demodex* cinsinde bulunmaktadırlar. İnsanlarda etken iki türden uzun olan *Demodex folliculorum*, kısa olan ise *Demodex brevis* olarak adlandırılmıştır (1). İnsan vücudunda yüzde; alın, yanaklar, kirpik dipleri, burun ve nazolabial bölgede; seyrek olarak boyun, baş saçlı derisi, kulak, göğüs, meme başı ve genital bölgelerde kıl foliküllerine ve yağ bezelerine yerleşir. D. folliculorum daha çok ciltte görülürken, *D. brevis* genellikle kirpik diplerinde yerleşim göstermektedir (2). *D. folliculorum*'a daha yaygın rastlanmaktadır (3). *Demodex* türleri, insandan insana yakın temas ile bulaşmaktadır. Yaz aylarında sebum üretimi arttığından daha fazla görülmektedirler. Ayrıca yağlı cilde sahip kişilerde daha sık saptanmaktadır. Erişkin *D. folliculorum* 0,3-0,4 mm, D. brevis ise 0,15-0,2 mm uzunluğundadır. Birleşik iki parçadan oluşan yarı saydam, uzun bir gövdeye sahiptirler. Sekiz adet kısa ve parçalı bacak, birinci vücut bölümüne bağlıdır. Yaşla birlikte prevalansında artış saptanmıştır (4). *Demodex* türleri için özellikle sayıca arttığı durumlarda patojen olduğu görüşü hakimdir. Yapılan çalışmalarda akne, perioral dermatit, blefarit ve folikülit gibi hastalıklara neden olduğu bildirilmiştir (5,6). Tanı için örnek alımında selofan bant, standart yüzeyel deri biyopsisi, deri kazıntısı gibi yöntemlerden faydalanılmaktadır. Blefaritli hastalarda, epile edilen kirpikler kullanılır. Ardından alınan örnek 100x büyütmede ışık mikroskobunda incelenir (7). Olgu sunumunun amacı özellikle tedaviye dirençli kronik blefarit olgularında, *Demodex* türlerinin ayırıcı tanıda akılda tutulması gerekliliğini vurgulamaktır.

Olgu: 53 yaşında erkek hasta, sol gözde daha baskın olmak üzere her iki gözde 2 yıldır süren kızarıklık ve batma hissi nedeniyle Kocaeli Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Polikliniği'ne başvurmuştur. Hastanın bilinen ek hastalığı bulunmamaktadır. Hastanın biyokimya değerleri incelendiğinde; CRP:14,24 (Referans Değer <5), WBC: 11,34 (Referans Değer 3.6-10,2) Bazofil: 0,104 (Referans Değer 0-0,1), Eozinofil: 0.111 (Referans Değer 0-0,5) olarak saptanmıştır. Otoimmun hastalıklar açısından ANA, AMA ve ANCA otoantikorları test edilmiş ve negatif olarak saptanmıştır. Hasta önceki başvurularında reçete edilen, steroid etkin maddeli göz damlası, fusidik asit etkin maddeli göz damlası ve doksisiklin içeren oral kapsül kullanmış ancak semptomlarda değişiklik izlenmemiştir. Kocaeli Universitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Parazitoloji Birimi'ne yönlendirilen hastanın sol göz kapağından epilasyon yöntemi ile alınan kirpikte *Demodex* türleri varlığı araştırılmıştır (Şekil 1). Alınan kirpik bekletilmeden ışık mikroskobunda 100x büyütmede incelendiğinde hareketli *Demodex* sp. görülmüş, tür ayrımı yapılarak *D. folliculorum* olduğu saptanmıştır (Şekil 2).

Tartışma: Blefarit göz kapağının kenarının ve kirpik diplerinin enflamasyonudur. Kızarıklık, yanma, batma ve kaşıntı sık görülen bulgulardandır. Etiyopatogenezi multifaktöriyeldir. Bakteriyel enfeksiyonlar, *Demodex* enfestasyonu, seboreik dermatit gibi nedenler sorumlu tutulmaktadır. Uytterbroeck ve arkadaşları, blefarit ile *D. folliculorum* varlığı arasındaki ilişkiyi incelemişler ve blefaritli hastaların %51'inde *D. folliculorum* saptanırken, kontrol grubunun %25'inde *D. folliculorum* tespit etmişlerdir. Sümer ve ark. ise kronik blefaritli hastalarda *Demodex* türleri görülme sıklığının %62,9 olduğunu saptamışlardır (8). Kabataş ve ark. *Demodex* türlerini araştırdıkları çalışmalarında, blefariti olan hastalarda kontrol grubuna göre çok daha fazla oranda tespit etmişlerdir (9). Yapılan çalışmalar *Demodex* türlerinin blefarit etyolojisinde önemli yeri olduğunu göstermektedir. Demodikozise bağlı blefarit için tedavi seçenekleri sınırlıdır. İvermektinin topikal cilt kremlerinin bulunmasına karşın göz için kullanılabilecek preparatı bulunmamaktadır (10). Bu nedenle sunulan olguda tedaviye önceki ilaçları ile devam edilmiş ve daha sonra kontrole çağırılmıştır. Ancak hasta tekrar başvurmamıştır.

Sonuç: *Demodex* enfestasyonu tanısı alan olgularda *Demodex* türlerinin blefarit olgularında ilk aşamada rutin olarak aranması ayırıcı tanı açısından faydalı olacaktır. Bu olgular için gözde uygulanabilecek yeni antiparaziter tedavi seçeneklerinin araştırılması gerekmektedir.



Şekil 1. Kirpik epilasyonu yöntemi; **2.** Kirpikten alınan örnekte *Demodex folliculorum* (40x büyütme)

Anahtar kelimeler: *Demodex* spp., blefarit, tanı yöntemleri

Kaynaklar

1. Lacey N, Kavanagh K, Tseng SC. Under the lash: Demodex mites in human diseases. Biochem (Lond) 2009; 31:2–6
2. Kemal M, Sümer Z, Toker MI, Erdoğan H, Topalkara A, Akbulut M. The prevalence of Demodex folliculorum in blepharitis patients and the normal population.
3. Wesolowska M, Knysz B, Reich A, Blazejewska D, Czarnecki M, Gladysz A, et al. Prevalence of Demodex spp. in eyelash follicles in different populations. Arch Med Sci 2014; 10: 319-24.
4. Miman Ö., Saygı G. (2018), Temel Tıbbi Parazitoloji,1. Baskı, İstanbul
5. Demmler M, De Kaspar H M, Mohring C, Klauss V. Blepharitis. Demodex folliculorum, associated pathogen spectrum and specific therapy. Ophthalmologe. 1997; 94: 191–196
6. Czepita D, Kuźna-Grygiel W, Kosik-Bogacka D. Investigations on the occurrence as well as the role of Demodex folliculorum and Demodex brevis in the pathogenesis of blepharitis. Klin Oczna. 2005; 107:80–2.
7. Aycan ÖM, Otlu GH, Karamn Ü, Daldal N, Atambay M. Çeşitli hasta ve yaş gruplarında Demodex sp. görülme sıklığı. Turkiye Parazitol Derg 2007; 31:115-8.
8. Sümer Z, Arıcı MK, Topalkara A, Özçelik S, Yıldırım S. Prevalence of Demodex folliculorum in Patients With Chronic Blepharitis. C.Ü. Tıp Fak Derg 2000; 22: 69-72.
9. Kabataş N, Doğan AS, Kabataş EU, Acar M, Biçer T, Gürdal C. The Effect of Demodex Infestation on Blepharitis and the Ocular Symptoms. Eye Contact Lens 2017; 43: 64-7.
10. Ebbelaar CCF, Venema AW, Van Dijk MR. Topical Ivermectin in the Treatment of Papulopustular Rosacea: A Systematic Review of Evidence and Clinical Guideline Recommendations. Dermatol Ther (Heidelb). 2018;8(3):379-387.

SALON A

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05 ***13 Ekim 2021 – 11:30 – 12:30***

Oturum Başkanları:
Zati VATANSEVER / Erdener BALIKÇI

SB33. Deri Lezyonunda *Enterobius vermicularis* Saptanan Bir Olgu
Ahmet ÖZKEKLİKÇİ

SB34. Echinococcus granulosus metacestodlarında diagnostik antijen P29'un moleküler karakterizasyonu, gen ekspresyonu ve immun reaktivitesi
Gözde ŞAHİNGÖZ DEMİRPOLAT, Alparslan YILDIRIM

SB35. İzmir yöresindeki ithal sığırlarda Neospora caninum enfeksiyonunun seroprevalans
Halil LİMONCU, Metin PEKAĞIRBAŞ, Hakan KANLIOĞLU, Heycan AYDIN, Beril KOÇ, Tülin KARAGENÇ, Hüseyin Bilgin BİLGİÇ

SB36. Cryptosporidium' un LAMP ile tanısında floresan ve kolorimetrik LAMP kitlerinin karşılaştırılması
Muhammet KARAKAVUK

SB37. Türkiye'de farklı kemirgen türlerinde kapillarial hepatitis varlığının araştırılması
Ali Tümay GÜRLER, Cenk BÖLÜKBAŞ, Sadık DEMİRTAŞ, Öykü BARILI, **Mehmet ÖZTÜRK**, Sinem İNAL, Mustafa AÇICI, Şinasi UMUR

SB38. Silybum marianum Çekirdeği Yağının in vitro Antileishmanial Etkisi
İbrahim YILDIZ

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05 **SB33** ***13 Ekim 2021 – 11:30-12:30***
Salon A

Deri Lezyonunda *Enterobius vermicularis* Saptanan Bir Olgu

Ahmet ÖZKEKLİKÇİ

Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, GAZİANTEP

E-mail: ozkeklikci@hotmail.com

Enterobius vermicularis asıl yerleşim yeri olan ileumun son kısmı ve kalın barsak dışında nadir olarak görülmektedir. 20 yıl önce ateşli silah yaralanması geçiren ve kronik yaraları olan 38 yaşındaki erkek hastanın gluteal bölgesi üst tarafındaki deri lezyonunda *Enterobius vermicularis* saptanmıştır. Parazitin olağandışı hareket ve yerleşimleri ciddi risklere yol açabilmektedir. Çalışmamızda gluteal bölgedeki deri lezyonunda *Enterobius vermicularis* saptanan bu olgunun sunulması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Enterobius vermicularis*, atipik yerleşim, deri

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05 **SB34** ***13 Ekim 2021 – 11:30-12:30***
Salon A

Echinococcus granulosus Metacestodlarında Diagnostik Antijen P29'un Moleküler Karakterizasyonu, Gen Ekspresyonu ve İmmun Reaktivitesi

Gözde ŞAHİNGÖZ DEMİRPOLAT[1], Alparslan YILDIRIM[2]

[1]Yozgat Bozok Üniversitesi Boğazlıyan Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, YOZGAT;
[2]Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-mail: gozde.demirpolat@bozok.edu.tr

Amaç: Bu çalışmada *E. granulosus* için önemli bir diagnostik antijen olarak nitelenen Eg.P29'u kodlayan gen bölgesinin İç Anadolu Yöresinde koyun ve sığırlardan elde edilen kist hidatiklerde ve kist sıvısı ile protoskolekslerden identifiye edilen Eg.P29 antijenini kodlayan genin moleküler karakterizasyonunun sağlanması, klonlama ile rekombinant proteinin ekspresyon analizlerinin gerçekleştirilmesi ve in-vivo fare modelinde immun uyarım etkinliği üzerine ön verilerin elde edilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: İç Anadolu yöresinde çeşitli illerdeki mezbahalarda kesimi yapılan koyun ve sığırlar takip edilerek hidatid kistle enfekte organların (karaciğer ve akciğer) kist bulunan dokuları alınarak steril ortamda ve soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiştir. Toplam 10 Hidatid kistin [8 koyun (4 akciğer, 4 karaciğer); 2 sığır (karaciğer)] membranından alınan doku parçalarından eş zamanlı olarak genomik DNA (gDNA) ve total RNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. *E. granulosus* genotipik profillerinin belirlenmesi için gDNA izolatlarının mitokondriyal parsiyel cox1 gen bölgesi genel primerlerle PCR'da amplifiye edilmiş ve sonrasında pürifiye edilen amplikonlar sanger sekanslama platformunda çift yönlü olarak sekanslanmıştır. Belirlenen izolatlara ait konsensüs sekanslar GenBank veri tabanındaki referans izolatlara ait sekanslarla biyoinformatik araçlar üzerinden kıyaslanarak genotiplendirmeleri gerçekleştirilmiştir. Genotiplendirme sonuçları temelinde belirlenen izolatlara ait total RNA'lardan cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. P29 proteinini kodlayan gen bölgesinin açık okuma çerçevesi (ORF) cDNA kalıplarında spesifik primerlerle PCR'da çoğaltılmıştır. Elde edilen jel pürifiye amplikonlar uygun plazmid vektöre klonlanmış ve transformasyon basamaklarından sonra rekombinant plazmidler elde edilmiştir. Rekombinant plazmid (rEg.P29) izolatları sanger sekanslama platformunda çift yönlü olarak sekanslanmış ve biyoinformatik araçlarla P29 geninin ORF nükleotid sekansları elde edilmiştir. GenBank'ta mevcut *E. granulosus* genotiplerine ait P29 nükleotid ve amino asit dizilimleri çeşitli biyoinformatik araçlar ve uygun modellerle işlenerek genetik ilişkiler ve protein özellikleri ortaya çıkarılmıştır. rEg.P29 proteinin elde edilmesi için amino asit sekansları temelinde bakteriyel ekspresyon sisteminde optimum ifadenin sağlanabilmesi amacıyla nükleotid sekanslarının kodon optimizasyonu yapılmış ve GenScript firması üzerinde kodon optimize gen fragmentini içeren rEg-P29-Pet32a plazmiti sentezletilmiştir. Bu rekombinant plazmidler *E. coli* BL21 hücrelerine transforme edilerek proteinin ekspresyonu ve sonrasında da afinite kromotografide saflaştırılması sağlanmıştır. Ekspresyon etkinliği ve validasyonu ile immun reaktivite analizleri SDS-PAGE ve Western Blot ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada ayrıca immunojenik etkinlik değerlendirmeleri için

BALB-c farelerde in-vivo deneysel immunizasyon çalışmaları yürütülmüş ve immun uyarım üzerine veriler Western Blot analizleriyle elde edilmiştir.

Bulgular: Çalışmada sığır ve koyunlardan elde edilen izolatlara ait cox1 sekanslarının analizi sonucu 9 izolatın G1 genotipine ait olduğu koyun akciğerinden elde edilen bir izolatın ise G3 genotipinde bulunduğu tespit edilmiştir. İlgili 10 izolata ait cDNA'ların P29 gen bölgesi PCR analizlerinde hedef büyüklükte amplikonlar elde edilmiştir. Eg. P29 geninin ORF sekanslarının 717 bp uzunluğunda olduğu ve 238 aminoasit zinciri içeren 27,1 kDa büyüklüğünde bir proteini kodladığı belirlenmiştir. Sekans analizine alınan toplam 10 izolatın P29 sekanslarının genetik çeşitlilik analizinde ilgili genin yüksek düzeyde korunmuş olduğu (%99,7 identiklik) belirlenmiş olup karakterize edilen P29 sekansları özgün veriler olarak GenBank'a kaydedilmiştir (Aksesyon no: MT090739-40). Karakterize edilen Eg.P29 nükleotid sekanslarının genetik çeşitlilik analizlerinde *E. granulosus* sensu stricto (G1-G3 kompleks) P29 sekansları ile birlikte kümelendiği belirlenmiş olup bu grup içinde P29 geninin yüksek düzeyde korunmuş olduğu (ortalama %0,14 genetik farklılık) belirlenmiştir. *E. granulosus s.s.* P29 ORF sekanslarının diğer Echinococcus türlerinden *E. equinus*, *E. canadensis*, *E. ortleppi* ve *E. multilocularis* sekanslarıyla sırasıyla %1,8, %2,1, %2,4 ve %2,6 genetik farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Eg P29 ile diğer iki ascarit türü arasında sırasıyla ortalama %19,8 ve %19,2 genetik farklılık belirlenmiştir. Eg P29 proteininin sinyal peptid bölgesi içermediği belirlenmiştir. Sekonder yapı tahmin analizlerinde Eg.P29 proteinin Arfaptin homology (AH) domain/BAR domaine sahip olduğu, ayrıca %75,2 alpha-helix; %4,2 beta-strand ve %13,02'de random coil bölgeleri içerdiği tespit edilmiştir. Eg P29 proteininin antijenik yapı analizlerinde uzunluğu 7-13 aa ve antijenik skoru da 1048-1167 arasında değişen toplam 8 antijenik bölgenin varlığı saptanmıştır. Kodon optimizasyonu sağlanarak Pet32a ekspresyon vektörüne yerleştirilen Eg.P29 ORF gen bölgesini içeren rekombinant plazmitin (rEg.P29) Bl21 *E. coli* hücrelerine transformasyonu ve ekspresyonunu takip eden analizlerde SDS-PAGE'de ilgili proteinin soluble karakterde ve in-silico sonuçlarına paralel olarak 27 kDa büyüklüğünde olduğu tespit edilmiştir. Anti-hisg antikoru ile yapılan Western-Blot analizlerinde protein büyüklüğü konfirme edilmiş ve rEg.P29'un immun reaktif olduğu belirlenmiştir. rEgP29 antijeni ile immunize edilen farelerde 2. booster sonrası 6. haftada alınan serum örnekleri ile gerçekleştirilen Western Blot analizlerinde ilgili antijenin yüksek immunojenik karakterde olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2020-10155 kodlu proje ile desteklenmekte olan bu tez çalışması ile ülkemizde yaygınlık gösteren *E. granulosus* metacestodlarında diagnostik antijen önemi vurgulanan P29 geni ve kodladığı protein üzerine ilk ve özgün moleküler karakterizasyon sonuçları elde edilmiş, bu verilerin dünya gen veri bankasına kayıtları sağlanmış ve rekombinant olarak elde edilen proteinin yüksek immunojenik yapısı deneysel zeminde gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Echinococcus granulosus*, Eg.P29 geni, Moleküler Karakterizasyon, Gen Ekspresyonu, Rekombinant antijen

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05 **SB35** ***13 Ekim 2021 – 11:30-12:30***
Salon A

İzmir Yöresindeki İthal Sığırlarda *Neospora caninum* Enfeksiyonunun Seroprevalansı

Halil LİMONCU[1], Metin PEKAĞIRBAŞ[2], Hakan KANLIOĞLU[2], Heycan AYDIN2, Beril KOÇ[2], Tülin KARAGENÇ[2], Hüseyin Bilgin BİLGİÇ[2]

[1]Tarım ve Orman Bakanlığı, Yenişehir İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü, Yenişehir, AYDIN;
[2]Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, AYDIN

E-mail: veterinerlimoncu@gmail.com

Amaç: Çalışmada; damızlık sığır yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı İzmir ili ve yöresindeki ithal sığır barındıran damızlık işletmelerinde neosporosisin yaygınlığının saptanması amaçlanmıştır.

Yöntem: İzmir yöresinde yer alan farklı ülkelerden ithal edilmiş damızlık sığır barındıran dokuz farklı çiftlikteki ithal hayvanların asgari %10'unu temsil edecek sayıda kan numuneleri rastgele örnekleme yöntemi ile toplanmış ve toplam 618 adet ithal damızlık düve ve inek çalışmaya dahil edilmiştir. Hayvanların vena jugularis'inden antikoagülansız tüplere toplanan kan örnekleri laboratuvara getirildikten serum örnekleri ayrılarak 1,5 ml'lik steril ependorflara konulmuş ve *N. caninum* türüne karşı ineklerde/düvelerde oluşan özgül antikor seviyeleri ELISA yöntemi ile belirleninceye kadar -20 oC'de örnekler muhafaza edilmiştir. Serum örneklerinde N. caninum'a karşı oluşan IgG seviyeleri indirekt ELISA yöntemi ile ticari ID SCREEN® NEOSPORA CANINUM INDIRECT ELISA kiti (İD.vet, Fransa) kullanılarak üretici firma tarafından tarif edildiği şekilde uygulanmıştır.

Bulgular: İzmir ili ve yöresindeki toplam dokuz çiftlikten sadece ithal düve ve ineklerden oluşan 618 örneğin 24'ü (%3,88) pozitif bulunmuş ve ayrıca yedi örneğinde (%1,13) kit içerisindeki protokolün belirlediği değerlere göre şüpheli pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç: Neosporosisin kontrolünde köpek ile sığır arasındaki döngünün kırılması ve sığırların enfekte olmasının önlenmesi asıl olandır. Çalışmamızda da önlemlere uyulan çiftliklerde seropozitifliğe rastlanılmamıştır. Etkenin horizontal bulaşmanın yanı sıra vertikal yolla bulaştığı bu sebeple doğan buzağılarda asemptomatik bir seyir izleyebileceği bilinmektedir. Çalışmamızda da ortalama %4 oranından asemptomatik pozitiflik bulunmuş olup, yüzde olarak az oranda olsa bile çiftliklerin geleceğini tehdit edip ciddi kayıplara neden olmanın yanında işletme karlılığını doğrudan etkliyebilme potansiyeline sahiptir. *Neospora* kaynaklı doğal enfeksiyonlarda meydana gelen kayıplar (abort, düşük süt üretimi, zayıf buzağı doğumları, pedigriden gelen değerli genetik yapının yüksek oranda bozulması) ve subklinik olarak enfekte ineklerden doğan kongenital enfekte ve asemptomatik buzağıların sürü içerisinde enfeksiyon kaynağı olarak kalmasıdır. Hastalığın kontrolü için en önemli yol, kesin tanı konulan hayvanların sürüden çıkartılmasıdır. Ayrıca ülkemize ithal olarak damızlık hayvan girişleri dikkate alındığında; menşei işletmelerde ''NEOSPORA ARİ'' belgesinin bulundurulması ya da ithalatı yapılan hayvanlardan istenilen test listesinin içerisine *N. caninum* etkeninin alınması uygun olacaktır. Bununla birlikte köpek ve sığır arasındaki yaşam döngüsü düşünüldüğünde, enfekte ookist saçan köpeklerin hayvan çiftliklerine giriş-çıkışları engellenmelidir.

Anahtar Kelimeler: ELISA, İthal sığır, İzmir, *Neospora caninum*, seroprevalans

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05 **SB36** ***13 Ekim 2021 – 11:30-12:30***
Salon A

Cryptosporidium'un LAMP ile Tanısında Floresan ve Kolorimetrik LAMP Kitlerinin Karşılaştırılması

Muhammet KARAKAVUK[1,2]

[1]Ege Üniversitesi Ödemiş Meslek Yüksekokulu, Laborant ve Veteriner Sağlık Bölümü, İZMİR;
[2]Ege Üniversitesi Aşı Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi, İZMİR

E-mail: mkarakavuk@gmail.com

Amaç: *Cryptosporidium* tıbbi ve veteriner öneme sahip zoonoz bir parazittir. Cryptosporidiosis, insanlar dâhil çok sayıda omurgalıda gastrointestinal şikâyetlere neden olmaktadır. Cryptosporidiosis hem immün sistemi sağlam bireylerde hem de immün sistemi baskılanmış hastalarda, kendisini diyare ile gösteren bir hastalıktır. İmmun sistemi sağlam bireylerde hastalık kendini sınırlayan karakterde iken immun sistemi baskılanmış hastalarda kronik kolera benzeri ishallere kadar çok farklı şekillerde ortaya çıkabildiği ve ölümle sonuçlanabildiği belirtilmektedir. Hastalık buzağılarda özellikle neo-natal dönemde ölümcül karakter göstermektedir. Bu nedenle hastalığın hızlı ve doğru tanısı oldukça önemlidir. Bu çalışmada *Cryptosporidium*'un LAMP ile tanısında floresan ve kolorimetrik LAMP kitlerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: 18SRNA genini hedefleyen (GenkBank No: L25642.1) LAMP primerleri PrimerExplorerV5 programı kullanılarak (http://primerexplorer.jp/lampv5e/index.html) tasarlanmıştır. Hedef bölge pCR2.1-TOPO vektörüne klonlanarak 106-105-104-103-102-10-1-10-1 olacak şekilde seri olarak sulandırılmıştır. WarmStart LAMP Kit (NEB/ABD) ve WarmStart® Colorimetric LAMP 2X Master Mix (NEB) kitleri kullanılarak LAMP testleri yapılmıştır. LAMP reaksiyon karışımı 12,5 µl 2x reaksiyon karışımı tamponu, 0,5 µl floresan boya (sadece floresan kit için) her primer FIP (5′-CAGAACCCAAAGACTTTGATTTCTC-CCAACTAGAGATTGGAGGTT-3′) ve BIP (5′-AGTATGGTCGCAAGGCTGAA-GTCAAATTAAGCCGCAGG-3′)'den 40 pmol, B3 (5′-TGAGTTTTCCCGTGTTGA-3′) ve F3 (5′- GATCAGATACCGTCGTAGTC -3′)'ten 5 pmol, LF (5′-AGGTGCTGAAGGAGTAAGGAAC-3′) ve LB (5′-ACTTAAAGGAATTGACGGAAGGG-3′)'den 20 pmol olacak şekilde toplam 25 µl hacimde 58 °C'de 60 dk olacak şekilde inkübe edilmiştir. Negatif kontrol olarak moleküler su kullanılmıştır.

Bulgular: 106-105-104-103-102-10-1-10-1 olarak sulandırılan plazmitler kullanılarak yapılan LAMP testleri sonucunda her iki kitin testlerin hassasiyeti 1 kopya plazmit/reaksiyon olarak tespit edilmiştir.

Sonuç: *Cryptosporidium* tanısında her iki kitin benzer hassasiyetlere sahip olduğu ortaya konmuştur. Ancak kolorimetrik LAMP testinin ilave bir ışık kaynağına ihtiyaç duymaması ve floresan ışığın bilinen zararlarından dolayı tercih edilebileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Cryptosporidium*, LAMP, Floresan LAMP, Kolorimetrik-LAMP, 18S rRNA geni

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05 **SB37** ***13 Ekim 2021 – 11:30-12:30***
Salon A

Türkiye'de Farklı Kemirgen Türlerinde Kapillarial Hepatitis Varlığının Araştırılması

Ali Tümay GÜRLER[1], Cenk Soner BÖLÜKBAŞ[1], Sadık DEMİRTAŞ[2], Öykü BARILI[1], **Mehmet ÖZTÜRK[1]**, Sinem İNAL[3], Mustafa AÇICI[1], Şinasi UMUR[1]

[1]Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, SAMSUN; [2]Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, SAMSUN; [3]Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji AD, SAMSUN

E-mail: mhmt556@gmail.com

Amaç: *Calodium hepaticum* insanlarda kapillarial hepatitise neden olan, önemli zoonoz parazitlerden birisidir. Parazit doğada av-avcı ilişkisi içerisinde varlığını devam ettirirken, leş yeme ve kanibalizmin yaygın görüldüğü Muroidea üst ailesindeki kemirgen türlerinde yüksek oranlarda bulunur. Konak spesifitesi düşük olan parazit, dünya genelinde 300'e yakın memeli türünden bildirilmiştir. Türkiye'deki duruma bakıldığında, parazit iki kemirgen türünde (*Rattus norvegicus* ve *Apodemus flavicollis*) kaydedilmiş, iki insan vakası bildirilmiştir. Bu araştırmada, Türkiye'de yaban hayatta *C. hepaticum*'a konaklık yapan kemirici türlerinin belirlenmesi, parazitin bulunduğu şehirlerin tespit edilmesi ve farklı konaklarda parazitin moleküler karakterizasyonunun yapılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Araştırma materyalini 119O860 nolu TÜBİTAK projesi kapsamında incelenen karaciğer örnekleri ve Samsun civarında yol kenarlarında ölü bulunan ratlar oluşturmuştur. Türkiye genelinde 7 bölge-28 il dahilinde, 23 farklı türden 864 kemirgenin karaciğeri incelenmiştir. Paraziter muayene kapsamında tüm karaciğer örnekleri makroskobik, mikroskobik ve histopatolojik olarak muayene edilmiş, parazitin kendisi, parçası ve yumurtaları aranmıştır. Pozitif bulunan örneklerden parça alınarak, ayrıca karaciğer üzerinde görülen farklı renk-dokuda yapılar şüpheli olarak alınmış ve moleküler olarak incelenmiştir.

Bulgular: Çalışma sonunda incelenen 864 yabani kemirgenden 5'i, 23 farklı kemirgen türünün 4'ü (*A. flavicollis, Cricetulus migratoruis, Mus macedonicus, Microtus guentheri*) enfekte bulunmuştur.

Sonuç: Enfekte kemirgenlere Burdur, Erzurum, Ordu ve Van illerinde rastlanmıştır. *C. migratorius* ve *M. guentheri* Türkiye'de, *M. macedonicus* ise dünyada parazit için ilk konak bildirimi olmuştur. Sekans sonuçlarına göre yapılan analizlerde bütün izolatlar birbirleri ile %100 identik çıkmıştır. Türkiye'den elde edilen sekans sonuçları İtalya izolatları ile %100, Polonya, İsviçre, Endenozya ve Arjantin izolatları ile %99,8 identik bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Calodium hepaticum*, kemirgen, Türkiye, zoonoz

Bu çalışma, 119O860'nolu TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmiştir

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 05 **SB38** ***13 Ekim 2021 – 11:30-12:30***
Salon A

Silybum marianum Çekirdeği Yağının *in vitro* Antileishmanial Etkisi

İbrahim YILDIZ

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, AYDIN

E-mail: dr.ibrahimyildiz@gmail.com

TAM METİN

ÖZET

Amaç: Leishmaniasis hastalığının etkeni olan *Leishmania* spp, zorunlu hücre içi yaşam formuna sahip, kamçılı ve tek hücreli bir parazittir. Promastigot ve amastigot formları bulunan parazit, enfekte *Phlebotom*us'ların ısırığıyla insana bulaşır ve alt tipine göre visseral veya kutanöz leishmaniasise sebep olur. Ülkemizde sıklıkla kutanöz leishmaniasis olguları görülmekte ve bu olgularda etken çoğunlukla *Leishmania tropica* (*L. tropica*) olarak saptanmaktadır. Çalışmamızda geleneksel tıpta yüzyıllar boyunca farklı hastalıkların tedavisinde kullanılmış deve dikeni (*Silybum marianum)* çekirdeği yağının, *L. tropica* üzerindeki antileishmanial etkisinin in vitro olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Teknokent firması Karya Farma HBX Ar-Ge tarafından çalışmamızda denenmek üzere *Silybum marianum* çekirdeğinden saf olarak elde edilen bitki yağı 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 ve 1/64 dilüsyonlarda parazit üzerinde test edilmiştir. Çalışmanın 1, 6, 12 ve 24. saatlerinde bitki yağının *L. tropica* promastigotlarına olan etkisinin incelenmesi, etkili dilüsyon oranlarının saptanması ve promastigotların ölü ve canlı formlarının ayırt edilmesi amacıyla trypan mavisi ile boyama ve direkt mikroskobik inceleme yöntemleri kullanılmıştır.

Bulgular: Çalışmamızda *Silybum marianum* çekirdeği yağı 1/4 dilüsyonda 1. saat sonunda *Leishmania* promastigotlarının %64,33'ünü, 6. saat sonunda 92,33'ünü öldürmüş ve çalışmanın 12. saatinde bu oran %100'e ulaşmıştır. Çalışmada test edilen tüm dilüsyon oranları parazit üzerine öldürücü etki göstermiştir. Dilüsyon oranları arttıkça bitki yağının parazit üzerine etkisi oransal olarak azalmakla birlikte 24 saat sonunda tüm dilüsyonların istatistiksel olarak anlamlı etki gösterdiği saptanmıştır ($p<0,05$). Tüm testler 3 kez tekrarlanmış ve elde edilen sonuçların birbiriyle uyumlu olduğu görülmüştür.

Sonuç: Ülkemizde özellikle kutanöz formunun sık saptandığı leishmaniasis hastalığının tedavisinde alternatif ilaçlara ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızda in vitro ortamda *Silybum marianum* çekirdeğinden elde edilmiş bitki yağının, kutanöz leishmaniasis etkeni olan *L. tropica*'ya karşı öldürücü etki gösterdiği görülmüş ve bu konuda yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Aydın, *Leishmania, Silybum marianum*

In vitro Antileishmanial Effect of *Silybum marianum* Seed Oil

ABSTRACT

Objective: *Leishmania spp,* which causes leishmaniasis, is an obligate intracellular, flagellated, single-celled parasite. The parasite, which has promastigote and amastigote forms, is transmitted to humans by the bite of infected *phlebotomus* and causes visceral or cutaneous leishmaniasis depending on the subtype of the *Leishmania*. The cutaneous form of leishmaniasis is seen more frequently in our country and the causative agent in these cases is mostly *Leishmania tropica (L.tropica).* We aimed to investigate the in vitro antileishmanial effect of *Silybum marianum* seed oil, which has been used in the treatment of different diseases in traditional medicine for centuries, on *L. tropica*.

Methods: *Silybum marianum* seed oil, produced for experimental purposes by Aydin Adnan Menderes University Karya Farma HBX Ar-Ge company, was tested on the parasite at 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 and 1/64 dilutions. At the 1st, 6th, 12th and 24th hours of the study, trypan blue staining and direct microscopic examination methods were used to examine the effect of plant oil on *L. tropica* promastigotes, to determine the effective dilution rates and to distinguish the dead and live forms of promastigotes.

Results: At the 1st hour of the study, *Silybum marianum* seed oil killed 64.33% of *Leishmania* promastigotes at 1/4 dilution, this rate reached 92.33 after 6 hours and 100% at the end of the 12th hour. All dilutions tested in the study showed parasiticidal activity. As the dilution rates increased, the effect of plant oil on the parasite decreased proportionally, but it was determined that all dilutions had a statistically significant effect at the end of 24 hours ($p<0.05$). All tests were repeated 3 times and the results were found to be compatible with each other.

Conclusion: Alternative drugs are required in the treatment of leishmaniasis, in which the cutaneous form is more common in our country. It was determined that the plant oil obtained from the seeds of *Silybum marianum* had a lethal effect against *L. tropica* and it was thought that further studies are required on this issue.

Key words: Aydin, *Leishmania, Silybum marianum*

GİRİŞ

Leishmania spp. promastigot ve amastigot formlara sahip, kamçılı, zorunlu hücre içi yaşayan bir protozoondur. Her yıl yaklaşık 10-12 milyon kişi parazitin farklı alt tiplerinin neden olduğu leishmaniasis hastalığını geçirmekte ve 350 milyon kişi risk altında bulunmaktadır (1, 2). Ülkemizde sıklıkla kutanöz formu görülen hastalığın ayrıca visseral, mukokutanöz ve diffüz kutanöz gibi farklı tablolara da neden olduğu bilinmektedir. Hastalığın kutanöz formu özellikle Akdeniz iklimine sahip Ege, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgelerimizde endemik olarak görülmekte ve halk arasında sıklıkla şark çıbanı olarak isimlendirilmektedir. Coğrafyamızda görülen kutanöz leishmaniasis olgularında çoğunlukla etken *Leishmania tropica* (*L. Tropica*) olarak saptanmaktadır. Deride üzeri kurutlu nodül veya papül şeklinde lezyonlara sebep olan parazit, tedavisiz veya geç tedavi edilen olgularda skar bırakarak iyileşmektedir. İlimiz Güneydoğu Anadolu bölgesinden sonra parazitin ülkemizde en sık görüldüğü şehirlerden biridir (3).

Beş değerli antimon bileşikler etki mekanizması tam olarak ortaya konulamamasına rağmen *Leishmania* türlerinin tedavisinde uzun yıllardır kullanılmakta ve tedavi seçenekleri arasında ilk sırada yer almaktadır. *Leishmania* türlerinin tedavisinde yarım yüzyıldır başarılı şekilde kullanılan bu bileşiklere karşı direnç gelişiminin olduğu yapılan güncel çalışmalarda ortaya konulmuştur. Ayrıca beş değerli antimon bileşiklerin neden olduğu ciddi kardiyak ve renal yan etkiler de göz önüne

alındığında parazitin tedavisi için yeni ajanlara ihtiyaç duyulmaya başlanmış ve bu konuda yapılan çalışmalar daha fazla önem kazanmıştır (4, 5). Dirençli olgularda veya yan etkileri nedeniyle farklı ajanların tercih edilmesi gereken durumlarda amfoterisin-B gibi antileishmanial etkisi kanıtlanmış antifungallere veya kutanöz leishmaniada etkisi kanıtlanmış cryoterapi gibi farklı yöntemlere başvurulmaktadır (6).

Bitkilerden elde edilen esansiyel yağlar çok eski zamanlardan beri hastalıkların tedavisinde insanların ilk tercihi olmuştur. Bitkisel yağlar geleneksel tedaviler dışında boyama, kozmetik, gıda ve temizlik gibi birçok alanda kullanılmakta ve popülaritesi her geçen yıl daha çok artmaktadır. Bitkilerin uçucu aromatik bileşenlerini içeren bu yağlar yaprak, kök ve gövde gibi bitkinin farklı bölgelerinden elde edilebilmekte ve bitki çeşidine göre yüzlerce biyolojik aktif madde bulundurabilmektedir (6, 7). *Silybum marianum* (Deve dikeni), *Asteraceae* familyasının *Silybum* cinsine ait, doğa da yabani olarak kendiliğinden yetişebilen ve aynı zamanda kültürü yapılabilen kısa ömürlü bir bitkidir (8, 9). Avrupa ülkelerinde ve özellikle Akdeniz havzasında eski çağlardan beri bilinmekte, tohumundan elde edilen yağlar binlerce yıldır geleneksel tedavi yöntemlerinde kullanılmaktadır. Ülkemizin hemen hemen tüm bölgelerinde bilinen *Silybum marianum* halk arasında deve dikeni, meryemana dikeni, kutsal diken, deve kengeri, sütlü kengel, akdiken, akkız, kıbbun ve şevkülmeryem gibi çok farklı isimlerle adlandırılmıştır. Özellikle Akdeniz havzasında yaygın olarak görülen bu bitki, ülkemizin güney ve batısında yabani alanlarda kendiliğinden yetişmekte, bazı yörelerde sebze olarak da tüketilmekte ve bitki çekirdeğinin yağı özellikle karaciğer hastalığı olan kişiler tarafından sağlıklı olduğu düşünülerek kullanılmaktadır (10).

Yaklaşık 2000 yıldır geleneksel tedavi yöntemleri arasında kullanılan *Silybum marianum* bitkisinin çekirdeğinde bulunan etken maddelerin belirlenmesi amacıyla son yüzyılda birçok çalışma yapılmıştır. Almanyada gerçekleşen çalışmalarda bitkinin taksifolin, kersetin, apigenin, kemferol gibi birçok flavanoid içerdiği raporlanmış, devam eden araştırmalarda flavanoidler dışında bir grup farklı etken madde daha belirlenmiş (Silibin, Silidianin, dihidrosilibin, izosilikristin, silihermin, neosilihermin vb.) ve tümü *silimarin* olarak isimlendirilmiştir. Alman Sağlık komisyonu tarafından bitkinin iştahsızlık, gaz ve hazımsızlık gibi gastrointestinal sistem rahatsızlıklarında, siroz ve toksik karaciğer rahatsızlıklarında güvenle kullanılabileceğini belirtmiştir (11). Bitkinin tohumlarından elde edilen ekstrelerde yaklaşık %75 oranında silimarin bulunmakta fakat tohum dışında kalan yaprak, kök ve çiçek gibi diğer organlarında silimarin bulunmamaktadır (12).

Silybum marianum çekirdeği yağının antioksidan etkisinin varlığı, immün sistemi stimüle edici özellikte olması, antibakteriyel ve antiparazitik etkiye sahip olduğu yapılmış sınırlı sayıda çalışma ile bildirilmiş ve bu konuda yapılacak yeni çalışmalara olan ihtiyacı göstermiştir (10, 13). Çalışmamızda Aydın'da endemik olarak görülen *Silybum marianum* bitkisinin çekirdeklerinden elde edilmiş yağın *L. tropica* promastigotları üzerine olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Parazit Kültürü

Çalışmamızda Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Parazitoloji Laboratuvarında akademik araştırmalarda kullanılmak üzere bulundurulan *L. tropica* promastigotları kullanılmıştır. Promastigotlar deney gününden 5 gün önce %10 FCS içeren RPMI 1640 (Sigma) besiyerine ekilmiş ve 26 ^{0}C'de inkube edilmiştir. Deney günü *L. tropica* promastigotları santrifüj edilerek son konsantrasyonları 2x10^{7} olacak şekilde ayarlanmıştır.

***Silybum marianum* çekirdeği yağı**

Çalışmamızda kullandığımız bitkisel yağ, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Teknokent firmalarından Karya Farma HBX Ar-Ge tarafından çalışmamızda kullanılmak üzere deve dikeni çekirdeğinden saf olarak elde edilmiştir.

Anti-Paraziter Aktivite

Elde edilen deve dikeni çekirdeği yağı %10 FCS içeren RPMİ besiyerinde 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 ve 1/32 seri dilüsyonlarda hazırlandı. Hazırlanan bitkisel yağ dilüsyonları 96'lık polistiren F-tabanlı mikrotitre plak kuyucuklarına 100'er µl olarak eklendi. Son konsantrasyonu $2x10^7$ parazit/ml olacak şekilde ayarlanan promastigotlar, kuyucuklardaki dilüsyonlar üzerine sırasıyla 100'er µl olarak eklendi. Kontrol olarak 100 µl RPMİ besiyeri içeren kuyucuğa aynı miktarda parazitli besiyeri eklendi. Final hacmi her kuyucukta 200 µl'ye ulaştı, çalışılan dilüsyonlar 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 ve final parazit konsantrasyonu 10^7 olarak test gerçekleştirildi.

Plak, çalışma başlangıcını takiben 1., 6., 12. ve 24. saatlerde, çalışılan yağın promastigotlar üzerindeki etkisinin araştırması amacıyla mikroskop altında incelendi ve ardından tekrar 26°C'lik etüvde inkübasyona alındı. Etkili dilüsonların belirlenmesi amacıyla

1. Plaklar belirlenen sürelerde direkt mikroskopi ile incelendi
2. Ölü ve canlı parazit formunu karşılaştırmak için trypan mavisi ile boyama yapıldı

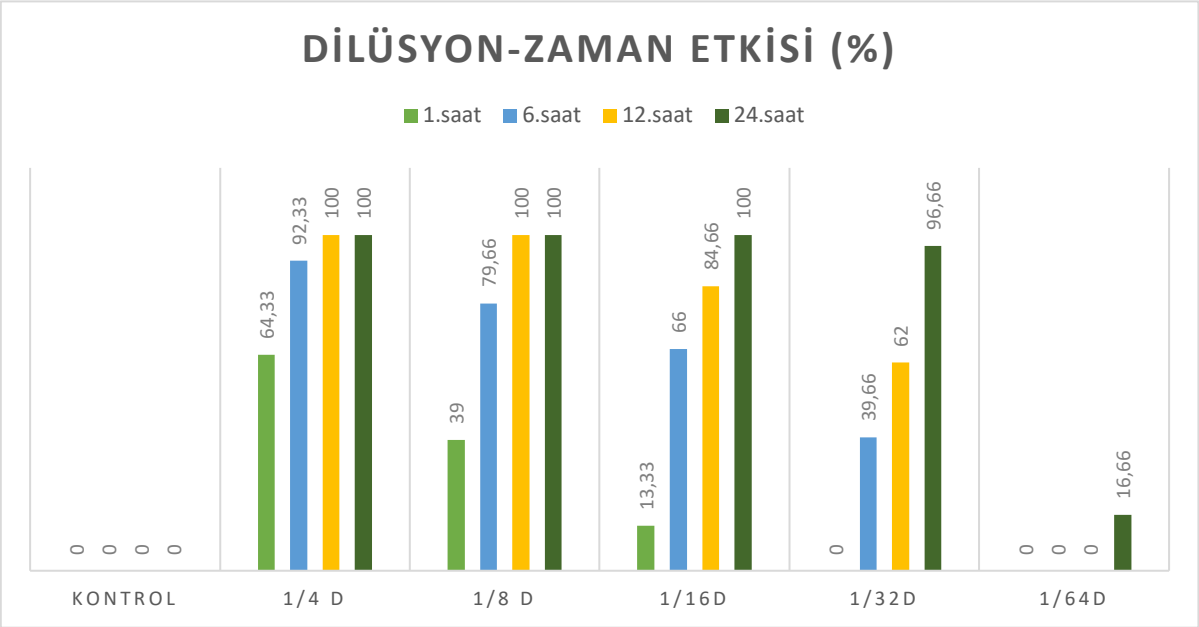
Tüm deneyler 3'er defa tekrarlandı. Yapılan deneylerde bütün dilüsyonlar için üç farklı kuyucuk kullanıldı.

BULGULAR

Araştırmamızda *Silybum marianum* çekirdeğinden elde edilmiş yağın 24 saat içerisinde *L. Tropica*'ya karşı gösterdiği parasidal etkisi test edilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız en yüksek dilüsyon oranı 1. saat sonunda parazitlerin yarısından fazlasına (%64,33) etki göstermiş, elde edilen sonuç kontrol kuyucuğu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). Çalışmanın 12.saatinde 1/4 ve 1/8 dilüsyonlar ve 24.saatte de 1/16 dilüsyon oranı parazitlerin tamamını öldürmüştür. Çalışılan 1/4, 1/8 ve 1/16 dilüsyon oranları testin 1. saatinden itibaren *L.tropica* üzerine istatistiksel olarak anlamlı etki göstermiş, 1/32 dilüsyon oranı çalışmanın 6.saatinde, 1/64 oranı ise 24 saat sonra parasidal etkilerini göstermiştir. Test sonunda çalışılan tüm dilüsyonlar parazit üzerine istatistiksel olarak anlamlı etki göstermiştir. Araştırmamızda çalışılan *Silybum marianum* yağının doz/zaman bağımlı parasidal etkileri ayrıntılı olarak Tablo 1'de yer almaktadır. Ayrıca çalışılan dilüsyonların karşılaştırmalı gösterimi Grafik 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1. *Silybum marianum* Çekirdeği Yağının Leishmania tropica Üzerine Minimal Parasidal Konsantrasyonu ve Zamana Bağlı Ölen Parazit Yüzdeleri

	Kontrol		1/4			1/8			1/16			1/32			1/64		
Süre (saat)	**%**	**STD**	**%**	**STD**	***p***	**%**	**STD**	***p***	**%**	**STD**	***p***	**%**	**STD**	***p***	**%**	**STD**	***p***
1	0	0	64,33	2,51	<0.01	39	2	<0.01	13,33	2,51	<0.05	0	0	<na	0	0	na
6	0	0	92,33	3,51	<0.01	79,66	2,08	<0.01	66	6,11	<0.01	39,66	2,51	<0.01	0	0	na
12	0	0	100	0	<0.01	100	0	<0.01	84,66	4,72	<0.01	62	3,05	<0.01	0	0	na
24	0	0	100	0	<0.01	100	0	<0.01	100	0	<0.01	96,66	2,08	<0.01	16,66	3,51	<0.05



Şekil 1. Farklı dilüsyonların testin uygulandığı süre içerisinde *L. tropica* üzerindeki öldürme oranları

TARTIŞMA

Ülkemizde kutanöz ve visseral olmak üzere her iki formu da saptanan leishmaniasis, T.C Sağlık Bakanlığının bildirimi zorunlu hastalıklar grubunda yer almaktadır. Özellikle Güneydoğu Anadolu, Akdeniz ve Ege bölgelerinde görülen kutanöz leishmaniasis olgularında sıklıkla etken L. Tropica olarak saptanmaktadır ve ülkemizdeki olguların büyük bir kısmını bu alt tip oluşturmaktadır. Ülkemiz açısından önemli bir halk sağlığı sorunu teşkil eden ve son çeyrek asırda olgu sayılarının iki kez zirve yaptığı hastalık açısından ilimiz Aydın, riskli bölgede yer almakta ve her yıl il genelinde birçok vaka görülmektedir (3). Sağlık Bakanlığı, hastalıkla etkin mücadele açısından 2011 yılında "Şark Çıbanı Ulusal Eylem Planı" oluşturmuştur (14).

Leishmaniasis ile mücadelede kullanılan ilaçların yetersiz oluşu, yaklaşık yarım asırdır tercih edilen ajanlara karşı gelişen direnç ve özellikle en yaygın tedavi seçeneği olarak görülen glucantime'in neden olduğu ciddi kardiyak ve renal yan etkiler göz önüne alındığında parazitin tedavisinde yeni ajanlara olan ihtiyaç anlaşılmakta ve bu konuda yapılan çalışmalar önem kazanmaktadır. *Leishmania* türlerine karşı spesifik olmayan çeşitli kimyasal ajanlar tedavilerde denenmiş ve denenmeye devam etmektedir. Kolay elde edilebilmesi ve kullanımının güvenli oluşu nedeniyle bitkisel kaynaklı ilaçlara karşı olan ilgi modern tıp dünyasında da artmakta ve alternatif tedavi araştırmalarında kendine yer bulmaktadır (5, 6).

Parazitler üzerine bitki ekstrelerinin etkisinin araştırıldığı, dünya genelinde ve ülkemizde yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır. Kekik, mersin, sarımsak, zeytin ve kimyon gibi geleneksel tedavi yöntemleri arasında asırlardır yer alan bitkilerin, parazitler üzerine olan etkisi birçok bilim adamının araştırmalarına konu olmuş ve bu konuda yapılacak yeni çalışmalara ışık tutmuştur (6, 15-17). Araştırmamızın odak noktasındaki Leishmania türleri üzerine de farklı bitki türlerinin parasidal etkisini araştıran çalışmalar bulunmaktadır. Brezilya'da 2008 yılında yapılan bir çalışmada Pontin ve ark, yeşil propolis bitki özünün *L. tropica* üzerine olan etkisini araştırmış ve LD50 dozunun 18.13 µl/ml

olarak bulunduğunu rapor etmişlerdir. Kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında çalışılan bitki özünün parazitler üzerine istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,05$) etki gösterdiği belirtilmiştir (16). Ülkemizde yapılan benzer bir çalışmada papatyagiller ailesine ait bitkilerden elde edilen yağlar, parazitin bir başka alt tipi (*L. donovani*) üzerinde denenmiş ve parasidal etkinin istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu belirtilmiştir (17). Kekik, kimyon ve mersin bitkilerinin *Leishmania* promastigotlarına olan etkisinin araştırıldığı 2009 tarihli bir çalışmada, özellikle kekik yağının 20 dakika gibi kısa bir sürede, çalışılan en düşük konsantrasyonda dahi (1/1500) parazitlerin tamamını öldürdüğü rapor edilmiştir (6). Olías-Molero ve ark, Silybum marianum çekirdeği yağında bulunan silybin AB, dehydroslilybin AB, silybin A, silychristin A vb. toplam 12 etken maddenin L. infantum ve *L. donovani* üzerine etkisini *in vitro* ve *in vivo* olarak araştırmışlardır. Çalışılan etken maddelerin antileishmanial aktiviteleri birbirinden oldukça farklı saptanmış olup, yağın ana komponentini oluşturan silybin ve silymarin etken maddelerinin promastigotlar üzerine etkisinin istatistiksel olarak anlam ifade etmediği belirtilmiştir. Çalışılan diğer etken maddelerden Dehydrosilydianin, silychristin A, dehydrosilychristin A, dehydrosilybin AB ve dehydroisosilybin A'nın ise kontrol kuyucuklarına oranla parazit üzerine anlamlı derecede etki ettiği rapor edilmiştir (13). Yapılan çalışmalara benzer şekilde çalışmamızda *Silybum marianum* çekirdeğinden elde edilmiş bitki yağının *L. tropica* promastigotları üzerine etkisi araştırılmış ve test edilen tüm dilüsyonlar 24 saat süre sonunda parazit üzerine etkili olmuştur. Çalışmamızda 1/4 dilüsyon oranının 1 saat sonunda parazitlerin yarıdan fazlasını öldürmesi dikkati çekmiştir.

SONUÇ

Her bölgesi farklı iklim ve coğrafi şekillerden oluşan ülkemiz, çok çeşitli bitki türlerine sahiptir. Sahip olduğumuz bu avantaja rağmen, ülkemizde bulunan bitki türlerinin hastalıklara karşı etkisi yeterli oranda araştırılmamıştır. Gördüğümüz bu eksikliği gidermek açısından atılması gereken küçük bir adım olarak gördüğümüz bu başlangıç çalışması ile deve dikeni bitkisinden elde edilen yağın Leishmania promastigotları üzerine etkili olduğu görülmüş ve bu konuda yapılacak yeni çalışmalara bir kapı aralanmıştır. Yapılacak kapsamlı çalışmalarla *Silybum marianum* bitkisinin bulundurduğu etken maddelerin detaylı olarak incelenmesi gerektiği anlaşılmış ve bu konuda yapılacak kapsamlı çalışmalar ile parazite karşı etkili alternatif ilaç elde edilebileceği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Modabber F. Leishmaniasis. In: Walgate R, Simpson K, editors. Tropical diseases research progress. Geneva: World Health Organization; 1995; p.77–88.
2. Khademvatan S, Gharavi MJ, Rahim F, Saki J. Miltefosine-induced apoptotic cell death on Leishmania major and L. tropica strains. The Korean journal of parasitology 2011; 49(1), 17.
3. Ertabaklar H, Öncü S, Ertug S. A new focus for cutaneous leishmaniasis in the west coast of Turkey. Tropical doctor 2005; 35(3), 189-189.
4. Eiras DP, Kirkman LA, Murray HW. Cutaneous leishmaniasis: current treatment practices in the USA for returning travelers. Current treatment options in infectious diseases 2015; 7(1), 52-62.
5. Roatt BM, de Oliveira Cardoso JM, De Brito RCF, Coura-Vital W, de Oliveira Aguiar-Soares RD, Reis AB. Recent advances and new strategies on leishmaniasis treatment. Applied Microbiology and Biotechnology 2020; 1-13.
6. Malatyalı E, Özçelİk S, Gürsoy N. In vitro antileishmanial activity of essential oils obtained from Thyme (Thymus vulgaris), Cumin (Cuminum cyminum) and Mersin (Myrtus communis) plants. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 2009; 66(1), 7-13.
7. Bozdemir Ç. Türkiye'de yetişen kekik türleri, ekonomik önemi ve kullanım alanları. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi 2019; 29(3), 583-594.
8. Baytop T. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün), İlaveli 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1999. p.76-78.

9. Sanchez-Sampedro MA, Pelaez R, Corchete P. An Arabinogalactan Protein Isolated From Medium Of Cell Suspensions Cultures Of Silybum Marianum Gaernt. Carbohydrate Polymers 2008; 71:634-8
10. Eren HB, Sevgi ŞAR. Meryemana Dikeni Bitkisinin Kullanımının Eczacılık ve Tıp Tarihi Açısından İncelenmesi. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi 2019; 10(1), 23-27.
11. Ceylan A. Tıbbi Bitkiler III. Ege Üniv. Ziraat Fak. Yay 1994; No:500, p.136-44
12. Çelik AS, Kan Y. Selçuk Üniversitesi Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi 2013, 27 (1): 24-31.
13. Olías-Molero AI, Jiménez-Antón MD, Biedermann D, Corral MJ, Alunda JM. In-vitro activity of silybin and related flavonolignans against leishmania infantum and L. Donovani. Molecules 2018; 23(7), 1560.
14. Erbaydar T, Serpen A, Kurt AÖ. Zoonozlar. Maral, I., Eskiocak, M., Kurt A.Ö, (ed). HASUDER Türkiye Sağlık Raporu Bulaşıcı Hastalıklar Bölümü; 2012. p.50-53.
15. Özçelik S, Sümer Z, Değerli S, Ozan F, Sökmen A. Sarımsak (Allium sativum) özütü skolosidal ajan olarak kullanılabilir mi? Türkiye Parazitol Derg 2007; 31(4), 318-321.
16. Pontin K, Da Silva Filho AA, Santos FF, e Silva MLA, Cunha WR, Nanayakkara ND, de Albuquerque S. In vitro and in vivo antileishmanial activities of a Brazilian green propolis extract. Parasitology Research 2008; 103(3), 487-492.
17. Karamenderes C, Khan S, Tekwani BL, Jacob MR, Khan IA. Antiprotozoal and antimicrobial activities of Centaurea. species Growing in Turkey. Pharmaceutical biology 2006; 44(7), 534-539.

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06 *13 Ekim 2021 – 18:00 – 19:30*

Oturum Başkanları:
Münir AKTAŞ / Yusuf ÖZBEL

SB39. COVID-19 Pandemisinin Uyuz Sıklığı Üzerine Etkisi
Zekayi KUTLUBAY, **Serhat SİREKBASAN**, Elif ÖZÇAKIR, Erdal POLAT

SB40. Türkiye'de 2016-2019 Yılları Arasında Culicoides Faunasının Araştırılması
Ahmet DENİZ, Çağla KORKMAZ, Ufuk ERO[3], Hilal BEDİR, Hakan YEŞİLÖZ, Ayşen BEYAZİT, Taraneh ÖNCEL, Mesut ŞENEL, Osman SEZER, Aysel EKİNCİ, Selim TUNCER, Funda ALTINÖZ, Neriman MOR, Berna DEMİRCİ, Zati VATANSEVER, Coşkun AYDIN, Zekai BASTEM

SB41. Farklı Klimatik Ortamlarda Kum Sineklerinin Gecelik Aktivitesi ve Konak Tercihlerinin Belirlenmesi
Kardelen YETİŞMİŞ, Suha K. ARSERİM, Hüseyin ÇETİN, Zeph Nelson OMONDİ, Ufuk MERT, Ayşe CANER, Muhammed NALÇACI, Seray TÖZ, Yusuf ÖZBEL

SB42. Orta Karadeniz Bölgesi'nde yayılış gösteren kum sineklerinin (Diptera: Psychodidae) filogenetik karakterizasyonu
Alparslan YILDIRIM, **Gupse Kübra KARADEMİR**, Gökmen Zafer PEKMEZCİ, Kardelen YETİŞMİŞ, Yusuf ÖZBEL, Önder DÜZLÜ, Seray TÖZ, Arif ÇİLOĞLU, Emrah ŞİMŞEK, Zuhal ÖNDER, Osman İBİŞ, Gamze YETİŞMİŞ, Didem PEKMEZCİ, Faruk KARABULUT, Abdullah İNCİ

SB43. Hyalomma kenelerinin komple mitokondriyal genom ve nükleer genler tabanlı karakterizasyonu ve filogenetik analizleri
Arif ÇİLOĞLU, Münir AKTAŞ, Osman İBİŞ, Alparslan YILDIRIM, Önder DÜZLÜ, Zuhal ÖNDER, Emrah ŞİMŞEK, Gamze YETİŞMİŞ, Abdullah İNCİ

SB44. Hyalomma türlerinin Glutathione S-transferase geninin moleküler karakterizasyonu ve H. marginatum nesillerinde ekspresyon analizleri
Alparslan YILDIRIM, **Sadullah USLUĞ**, Münir AKTAŞ, Gamze YETİŞMİŞ, Önder DÜZLÜ, Arif ÇİLOGLU, Gupse Kübra KARADEMİR[1], Nesrin DELİBAŞI KÖKÇÜ, Zuhal ÖNDER, Abdullah İNCİ

SB45. Evaluation of *Lucilia Sericata* and Its Excretion/Secretion Products in Terms of Biocompatibility
Büşra MORAN-BOZER, Uğur USLU, Kosta Y. MUMCUOGLU, Ayşegül TAYLAN-OZKAN

SB46. Samsun Yöresinde *Fasciola* Türlerinin Ara konaklardaki Varlığının Araştırılması: Türkiye İçin Muhtemel Yeni Arakonaklar
Elif Burcu GENÇAY TOPÇU, Cenk BÖLÜKBAŞ

SB47. Türkiye'de Varroazisde Voltaj Kapılı Sodyum Kanalı Geninde L925 Mutasyonun Araştırılması
Tuğçe TUYGUN, Serbülent YİĞİT, Ali Tümay GÜRLER, Rahşan AKPINAR, Ayşe Feyda NURSAL, Nilüfer KURUCA, Cenk Soner BÖLÜKBAŞ, Elif Burcu GENÇAY TOPÇU, Mustafa AÇICI, Şinasi UMUR

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06 **SB39** ***13 Ekim 2021 – 18:00-19:30***

COVID-19 Pandemisinin Uyuz Sıklığı Üzerine Etkisi

Zekayi KUTLUBAY[1], **Serhat SİREKBASAN[2]**, Elif ÖZÇAKIR[1], Erdal POLAT[3]

[1]İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıkları AD, İSTANBUL; [2]Çankırı Karatekin Üniversitesi, Eldivan Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, ÇANKIRI; [3]İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İSTANBUL

E-mail: serhatsirekbasan@gmail.com

Amaç: COVID-19 pandemisi, hayatın birçok alanında etkili olduğu gibi yakın temasla yüksek derecede bulaşma potansiyeli olan ektoparazitlerin sayısında da etkili oldu. Kalabalık ortamlar, toplu yaşam alanları, kötü beslenme, göç, hijyen eksikliği gibi durumlarda bu parazitler hızla yayılarak salgınlara sebep olmakta ve tedavi edilmedikçe bulaştırıcılığı devam etmektedir. Bu çalışmanın amacı; COVID-19 öncesi ve sırasında pandeminin uyuz sıklığı üzerine etkisinin araştırılmasıdır.

Yöntem: Çalışmaya Mart 2018-Eylül 2021 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı'nda uyuz tanısı alan tüm hastalar dahil edildi. Hastaların yaş, cinsiyet ve başvuru tarihleri gibi verileri geriye dönük olarak hastane veri tabanından elde edildi. Çalışma süresi içerisinde uyuz tanısı alan hastalar Türkiye'de ilk COVID-19 vakasının Mart 2020 tarihinde teşhis edilmesinden önce ve sonra gruplara ayrılarak karşılaştırıldı. Sonuçlar ayrıca hasta yaş grupları ve cinsiyetlere göre de değerlendirildi. Çalışmada elde edilen verilerin analizi için SPSS istatistik programı yardımıyla betimsel istatistik yöntemleri (frekans, yüzde) ve ki-kare testi kullanıldı.

Bulgular: Çalışmamızda, bahsi geçen tarihler arasındaki dönemde toplam 1503 uyuz olgusu bildirilmiştir. Ortalama yaşın 30,8 olarak hesaplandığı olguların 794'ünün (%52,8) erkek, 709'unun (%47,2) ise kadın hastalardan oluştuğu görülmektedir. Yaşa göre olgu sayılarının dağılımına bakıldığında 18 yaş altı grubundakilerde %31,4 (n=472), 18-36 yaş grubundakilerde %30,5 (n=459), 37-54 yaş grubundakilerde %23,4 (n=352) ve 55 yaş üzerindekilerde %14,6 (n=220) oranlarında uyuz olgusu tespit edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre uyuz tanısı alan olguların yaş gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmektedir ($p<0,001$). Türkiye'de ilk COVID-19 vakasının teşhis edilmesinden sonra Mart 2020'den Mart 2021'e kadar yılda 479 hastaya uyuz tanısı konulmuştur. Mart 2020'den önce uyuz tanısı konulan olgu sayısının ise yıllık ortalama 269 olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte Mart 2021 sonrasında sadece 6 aylık süre içerisinde yıllık saptanan ortalama olgu sayısının üzerine çıkılarak 487 hastaya uyuz tanısı konulduğu gözlenmiştir (Tablo 1). Bu bulgular ışığında, Türkiye'de ilk COVID-19 vakasının teşhis edildiği Mart 2020'den öncesi ve sonrası tarihler arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir ilişki olduğu görülmektedir ($p<0,001$).

Sonuç: Uyuz hastalığında bulaşma genellikle yakın temasla doğrudan olmakta ve son yıllarda birçok ülkede olduğu gibi ülkemizde de görülme sıklığının arttığı bilinmektedir. Mevcut literatüre ve çalışmamız sonucunda elde edilen bulgulara göre; pandemi sonrası uyuz vakalarında ciddi bir artış olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, COVID-19 pandemisiyle birlikte artan uyuz vakalarının ve etkilerinin anlaşılmasına dönük epidemiyolojik çalışmaların uyuzla mücadeleye daha iyi hazırlanılmasına olanak sağlayacağı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: COVID-19, pandemi, uyuz

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06 **SB40** ***13 Ekim 2021 – 18:00-19:30***

Türkiye'de 2016-2019 Yılları Arasında *Culicoides* Faunasının Araştırılması

Ahmet DENİZ[1], Çağla KORKMAZ[2], Ufuk EROL[3], Hilal BEDİR[1], Hakan YEŞİLÖZ[4], Ayşen BEYAZİT[4], Taraneh ÖNCEL[5], Mesut ŞENEL[5], Osman SEZER[6], Aysel EKİNCİ[7], Selim TUNCER[2], Funda ALTINÖZ[8], Neriman MOR[1], Berna DEMİRCİ[9], Zati VATANSEVER[10], Coşkun AYDIN[11], Zekai BASTEM[12]

[1]Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, KARS; [2]Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü, ANKARA; [3]Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, SİVAS; [4]Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü, İzmir; [5]Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü, İSTANBUL; [6]Adana Veteriner Kontrol Enstitüsü, ADANA; [7]Elazığ Veteriner Kontrol Enstitüsü, ELAZIĞ; [8]Konya Veteriner Kontrol Enstitüsü, Konya; [9]Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji Bölümü, KARS; [10]Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, KARS; [11]Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü, SAMSUN; [12]Erzurum Veteriner Kontrol Enstitüsü, ERZURUM

E-mail: ametd@hotmail.com

Amaç: *Culicoides* cinsi, Ceratopogonidae familyasının 1.347 mevcut türü ile en büyük cinsini oluşturan küçük hematofaj sineklerdir. Antarktika hariç deniz seviyesinden 4.000 m'ye kadar olan alanlarda (kumlu dere yatakları, bitkili tuz bataklıkları, gübre, su-toprak ekotonları, organik kalıntılar ve ağaç kovukları) yaşayabilmektedirler. Tıbbi ve veteriner hekimlik açısından önemleri, birçok filarial nematod, protozoa ve virüsü çeşitli konakçılara iletme yeteneklerinden, ayrıca insan ve hayvanlarda ısırıklara bağlı alerjiye neden olmalarından kaynaklanmaktadır. Dünya çapında 60 *Culicoides* türü, çeşitli patojenlere vektörlük yapmaktadır. Akabane, Schmallenberg, Afrika at hastalığı (AHS), Epizootik hemorajik hastalığı (EHD) ve en önemlisi olan Mavi dil (BT) d ir. Arboviral hastalıklar için entomolojik sürveyans sürecinde 2016-2019 yılları arasında Türkiye'deki *Culicoides* faunasını araştırdık. Entomolojik araştırma, 51 ilde 104 örnekleme istasyonunda dört yıl üst üste gerçekleştirilmiştir.

Yöntem: Türkiye'de önemli vektör kaynaklı viral hayvan hastalıkları (Mavidil, epizootik hemorajik hastalığı, Sığırların üç gün hastalığı ve Akabane) vektörlerin tanımlanması teşhisi ve erken uyarı sisteminin oluşturulması" projesi kapsamında çalışma gerçekleştirilmiştir. "Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından desteklenmiştir. Yetişkin sinek örnekleri, Onderstepoort tipi siyah ışık emme tuzakları (OVI kapanı) kullanılarak toplanmıştır. 2016-2019 yıllarında Türkiye'de 51 ilde 104 örnekleme istasyonunda, tuzaklar ondan fazla sığır bulunan süt çiftliklerine yerleştirilmiştir. Koordinat ve yükseklik verileri GPS ile kaydedildi. Tuzaklar, hayvanların ulaşamayacağı yerden 1.5-2 m yüksekliğe yerleştirildi ve gün batımından bir saat önce, gün doğumundan bir saat sonraya kadar çalıştırıldı.

Bulgular: Sürveyans sırasında toplanan yaklaşık 520.000 örnek ve 59 tür tanımlanmıştır. Türkiye için yeni on tür kaydedilmiştir: *Culicoides chiopterus, C. grisescens, C. paradoxalis, C. santonicus, C. poperinghensis, C. sergenti, C. tbilisicus, C. comosioculatus, C. haranti* ve *C. univittatus. C. chiopterus* ve *C. grisescens*'in tanımlanması, türe özgü PCR ve DNA dizilimi kullanılarak doğrulandı.

Sonuç: Son bulgularımız ile önceki veriler eleştirel olarak gözden geçirilerek güncellenmiş ve Türkiye için *Culicoides* tür sayısı 71'e yükseltilmiştir. *C. chiopterus*'un varlığı, mavi dil virüsü (BTV) ve Schmallenberg virüsü (SBV) için potansiyel vektör olması nedeniyle özel bir öneme sahiptir. Bu çalışmada, Türkiye'de *Culicoides* türleri üzerine yapılan ilk büyük ölçekli entegre faunistik araştırmanın sonuçlarını sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Culicoides*, Türkiye

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06 **SB41** ***13 Ekim 2021 – 18:00-19:30***

Farklı Klimatik Ortamlarda Kum Sineklerinin Gecelik Aktivitesi ve Konak Tercihlerinin Belirlenmesi

Kardelen YETİŞMİŞ[1], Suha K. ARSERİM[2], Hüseyin ÇETİN[3], Zeph Nelson OMONDİ[4], Ufuk MERT[6], Ayşe CANER[5], Muhammed NALÇACI[4], Seray TÖZ[5], Yusuf ÖZBEL[5]

[1]Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Parazitoloji AD, İZMİR; [2]Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, MANİSA; [3]Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ANTALYA; [4]Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji AD, İZMİR; [5]Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, İZMİR; [6]Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Onkoloji AD, İZMİR

E-mail: kardelenyetismis@gmail.com

Amaç: Phlebotomine kum sinekleri (Diptera: Psychodidae), leishmaniasis ve bartonellosis hastalıklarının etkenleri ve çeşitli virüslerin biyolojik vektörüdürler. Bu çalışmanın amacı, birbirinden farklı coğrafi ve klimatik koşullara sahip bölgelerde (Antalya, Kayseri, Kuzey Kıbrıs) çeşitli parametrelerden yararlanılarak kum sineklerinin gecelik aktivitelerini ve konak tercihlerini belirlemektir.

Yöntem: Çalışmalar, insan kutanöz ve visseral leishmaniasis hastaları ve köpek leishmaniasis olguları dikkate alınarak belirlenen lokalitelerde [Yaylalı (Antalya); Büyükkünye (Kayseri), Hamitköy (KKTC)] gerçekleştirilmiştir. 2018 yılının Temmuz ve Ağustos aylarında yapılan arazi çalışmalarında ergin kum sinekleri, aynı lokalitede farklı noktalara konulan (kapalı açık ahır, vejatasyon, veranda, vb) dört ila beş CDC ışık tuzakları kullanılarak toplanmıştır. Kum sineklerinin aktivite saatlerinin belirlenebilmesi amacıyla tuzaklar saat 18:00'da kurulup saat başı tuzakların toplama torbaları değiştirilerek sabah 06:00'a kadar takip edilmiştir. Her saat başı her tuzaktan toplanan kum sinekleri sayılmış ve %96'lık etil alkole konularak laboratuvara getirilmiştir. Belirlenen saatler arasında her saat başı ayrıca nem ve sıcaklık ölçümleri de yapılmıştır. Tür tayini için baş ve genital organları kesilerek preparat yapılmış, kan emmiş dişi kum sineklerinin gövdeleri ise konak tercihlerinin belirlenmesi amacıyla kan-besin analizi çalışmalarında kullanmak üzere %96'lık etil alkolde saklanmıştır.

Kan emmiş 176 kum sineğinden SYBR Green-qPCR yöntemi ile kan besin analizleri yapılmıştır. Kum sineklerinden elde edilen DNA örnekleri insan, sığır, keçi ve köpek olmak üzere dört kontrol ile karşılaştırılarak konak tercihleri belirlenmiştir. qPCR ürün büyüklükleri ve Tm (erime sıcaklığı) değerlerine göre insan-keçi primerleri birlikte olacak şekilde bir grup, sığır ve köpek primerleri ise tek tek çalışılmak üzere belirlenmiştir. qPCR ile alınan sonuçların doğrulanması için PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi yöntemi ile görüntülenmiştir.

Kan emmiş sinekler tek tek, kan emmemiş dişilerden ise havuz yapılarak ITS-1 PCR ile *Leishmania* spp. varlığı araştırılmıştır.

Bulgular: Gecelik aktivite sonrası yapılan tür teşhislerine göre Antalya'da. Phlebotomus cinsine ait altı, Sergentomyia cinsine ait üç tür bulunmuştur. Bunlar içerisinde P. neglectus/syriacus en baskın tür

olarak bulunmuştur. Kayseri'de *Phlebotomus* cinsine ait dört, *Sergentomyia* cinsine ait bir tür bulunmuştur. Bunlar içerisinde *P. simici /halepensis* en baskın tür olarak bulunmuştur. KKTC'de ise Phlebotomus cinsine ait dört, *Sergentomyia* cinsine ait üç tür bulunmuştur. Bunlar içerisinde *P. papatasi* en baskın tür olarak bulunmuştur

Antalya ilinde gecelik aktivite 20:00'da başlayıp 21:00-23:00 arası pik yapmış ve sabah 05:00'da ise sonlanmıştır. Kayseri ilinde gecelik aktivite 19:00'da başlayıp 20:00-00:00 arası pik yapmış ve 02:00'da ise aktivite sonlanmıştır. KKTC'de ise gecelik aktivite 19:00'da başlayıp 23:00-02:00 arasında pik yapmış ve 03:00'da ise aktivite sonlanmıştır.

Yapılan çalışmalarda 176 kum sineğinden yalızca 69'unun konak tercihleri belirlenebilmiştir. Çıkan sonuçlara göre kum sineklerinin %5,7'si (n = 10) insan, %22,2'i (n = 39) sığırlardan beslenirken %2,8'i (n = 5) keçilerden ve %0,6'sı (n = 1) köpeklerden beslendiği tespit edilmiştir. Kum sineklerinin %3,4'ünde (n = 6) insan-sığır, %1,7'sinde insan-keçi (n = 3) ve %2,8'inde (n = 5) sığır-keçi kanları birlikte tespit edilmiştir.

Yapılan ITS-1 sonuçlarına göre kan emmiş sineklerden beşinde *Leishmania* spp. saptanmıştır. Antalya ilinden *P. neglectus/syriacus* (n = 1) ve *P. tobbi* (n = 2) türlerinde *Leishmania* (*L.*) *tropica*, Kayseri ilinde *P. simici* (n = 1) türünde *L. infantum* ve KKTC'de ise *P. papatasi* (n = 1) türünde ise *L. major* saptanmıştır.

Sonuç: Çalışmamızda gün batımından sonra faaliyet göstermeye başlayan kum sineklerinin farklı iklim özelliklerine sahip olan alanlarda aktivite saatlerinin değişebileceği, aktivasyonun özellikle dış ortam sıcaklığı ve nemi ile ilişkili olduğu ve beslenmek amacıyla ortamda bulunan her türlü omurgalıyı kullanabilecekleri saptanmıştır. Belirlenen saatlerde yapılacak insektisit uygulamalarının popülasyon büyüklüğünü azaltmada daha etkili olacağı kanısına varıldığından, kum sineği kaynaklı hastalıklar için uygulanan entegre kontrolde önemli rolü olan insektisit kullanımının en az düzeyde ve en etkili şekilde gerçekleştirilebilmesi için endemik alanlarda bu çalışmaların yapılması gerekliliği ortaya konulmuştur.

Anahtar kelimeler: Kum sineği, gecelik aktivite, kan besin analizi, *Leishmania*

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06 **SB42** ***13 Ekim 2021 – 18:00-19:30***

Orta Karadeniz Bölgesi'nde Yaygınlık Gösteren Kum Sineklerinin (Diptera: Psychodidae) Filogenetik Karakterizasyonu

Alparslan YILDIRIM[1,7], **Gupse Kübra KARADEMİR[1]**, Gökmen Zafer PEKMEZCİ[2,7], Kardelen YETİŞMİŞ[3], Yusuf ÖZBEL[3,7], Önder DÜZLÜ[1,7], Seray TÖZ[3], Arif ÇİLOĞLU[1,7], Emrah ŞİMŞEK[4,7], Zuhal ÖNDER[1,7], Osman İBİŞ[5,7], Gamze YETİŞMİŞ[1,7], Didem PEKMEZCİ6, Faruk KARABULUT[1], Abdullah İNCİ[1,7]

[1]Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ; [2]Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları AD, SAMSUN; [3]Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD, İZMİR; [4]Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları AD, KAYSERİ; [5]Erciyes Üniversitesi, Seyrani Ziraat Fakültesi, Hayvansal Biyoteknoloji AD, KAYSERİ; [6]Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları AD, SAMSUN; [7]Erciyes Üniversitesi, Vektörler ve Vektörlerle Bulaşan Hastalıklar Uygulama ve Araştırma Merkezi, KAYSERİ

E-mail: gupsekarademir@gmail.com

Amaç: Kum sinekleri (Diptera: Psychodidae), insan ve hayvan sağlığı açısından önem arz eden başta leishmaniasis olmak üzere çeşitli hastalık etkenlerine vektörlük yapmalarından dolayı medikal ve veteriner önemi yüksek olan Dipteran sineklerdir. Bu araştırmada günümüze kadar biyoçeşitlilik üzerine yeterli bilgi bulunmayan Orta Karadeniz Bölgesi'nde yaygınlık gösteren Phlebotomine faunasının belirlenmesi ve tespit edilen türlerin filogenetik karakterizasyonlarının yapılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışma kapsamında; başta OMÜ Veteriner Fakültesi hayvan hastanesine getirilen leishmaniasis pozitif belirlenen köpeklerin bulunduğu lokaliteler ve Sağlık Bakanlığının ilgili bölgedeki insan vakalarının bulunduğunu bildirdiği bölgeler dikkate alınarak Samsun ve Sinop illerindeki odaklar örneklem bölgeleri olarak belirlenmiştir. İlgili odaklarda Haziran-Eylül 2020 tarihleri arasında uygun alanlara ışık tuzakları kurulmuş ve aylık olarak örneklem gerçekleştirilmiştir. Örneklemi takiben tuzaklar içerisinden toplanan kum sinekleri ayrılarak saf etanol içerisine aktarılmış ve soğuk zincirde laboratuvara intikal ettirilmiştir. Kum sineği örneklerini morfolojik teşhisleri baş ve genitalya kısımlarının diseksiyonu ve preparat oluşturulmasını takiben ışık mikroskobu altında gerçekleştirilmiştir. Diseksiyon sonrası örneklerin kalan vücut bölümlerinden bireysel olarak gDNA izolasyonu yapılmıştır. Belirlenen türlere ait gDNA izolatlarında mt-COI barkod gen bölgesi genel primerlerle amplifiye edilmiş ve elde edilen amplikonlar saflaştırıldıktan sonra Sanger sekanslama platformunda çift yönlü olarak sekans analizine tabi tutulmuştur. mt-COI sekansları uygun biyoinformatik araçlarla işlenerek izolatlara ait konsensus sekanslar elde edilmiş ve BLAST analizleriyle karakterizasyonları sağlanmıştır. Filogenetik analizler amacıyla gen bölgesi için çalışmada elde edilen sekansları da içeren veri setleri oluşturulmuş ve uygun modellerle filogenetik ağaçlar şekillendirilmiştir. Ayrıca oluşturulan veri setleri network analizleriyle de filogenetik ilişkiler çerçevesinde değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışma süresince belirlenen odaklardan toplam 1032 kum sineği (507 dişi, 525 erkek) toplanmış olup morfolojik teşhis sonuçlarına göre en yaygın türün *Phlebotomus major s.l* (%79,4)

olduğu, bunu sırasıyla *P. tobbi* (%6,1), *P. kandelaki* (%4), *P. halepensis* (%3,7), *P. perfiliewi* (%2,2), *P. sergenti* (%1,6), *P. papatasi* (%0,9), *Ser. dentata* (%0,2) ve *P. simici* (%0,1) türlerinin izlediği tespit edilmiştir. Ayrıca toplam 5 örneğinin teşhisleri alt soy düzeyinde (*Transphlebotomus*, *Adlerius*) yapılabilmiştir. İzolatlara ait mt-COI sekanslarının BLAST analizleriyle morfolojik tür teşhisleri doğrulanmış ve alt soy düzeyinde bırakılan bu 5 örneğin ikisinin *P. simici*, ikisinin *P. economidesi*'ye yakın, birinin ise *P. tobbi*'ye ait olduğu belirlenmiştir. mt-COI sekans veri setlerinin filogenetik analizleri sonucunda çalışmada belirlenen izolatların dünyanın çeşitli bölgelerinden rapor edilen izolatlarla birlikte tür veya tür kompleksi bazında monofiletik kümelenme gösterdiği tespit edilmiştir. mt-COI filogenetik analiz sonuçlarına göre *P. major s.l.* için 7 yeni haplotip belirlenmiş olup ilgili haplotiplerin Karadeniz, Akdeniz ve İç Anadolu yörelerinden rapor edilmiş haplotiplerle birlikte kümelendiği görülmüştür. *P. kandelakii* için bulunan 4 haplotipten ikisinin yeni haplotip olduğu ve ilgili haplotiplerin ülkemizin farklı bölgelerinden bildirilen haplotiplerle ortalama %90,0 üzerinde identiklik gösterdiği görülmüştür. Çalışmada soy altı düzeyinde identifiye edilebilen ve genetik analizlerde *P. economidesi*'ye yakın olduğu belirlenen yeni bir haplotip saptanmış ve bu haplotipin Ülkemiz Akdeniz yöresi ve Kıbrıs'tan bildirilen izolatlara ortalama %5,5 genetik farklılık gösterdiği belirlenmiştir. *P. halapensis*'de 2 yeni haplotip belirlenmiş olup ilgili haplotipler Türkiye ve Azerbaycan haplotipleriyle yüksek identiklik göstermiştir. *P. kyrinae'de* belirlenen yeni haplotipin ise Türkiye'de İç Anadolu yöresinde belirlenen haplotiplerle %99,5 identik olduğu görülmüştür. *P. perfiliewi* izolatlarının analizinde belirlenen 4 haplotipten ikisinin yeni haplotip olduğu ve ilgili haplotiplerin Türkiye'den rapor edilmiş haplotiplerle birlikte kümelendiği belirlenmiştir. *P. tobbi* için 5 yeni haplotip belirlenmiş olup ilgili haplotiplerin Güney Kıbrıs ve Azerbaycan'dan bildirilen haplotiplerle ortalama %98,5 üzerinde identik olduğu tespit edilmiştir. *P. simici* türü için 2 yeni haplotip tespit edilmiş ve bu haplotipler Fransa, Avusturya, İsrail ve Yunanistan'dan bildirilmiş haplotiplerle %98,0'in üzerinde identik göstermiştir. *P. papatasi* için 3 yeni haplotip belirlenmiş olup bu haplotiplerin Çin, Fransa, Çek Cumhuriyeti, Amerika ve Hindistan'dan bildirilen haplotiplerle ortalama %99,0 üzerinde identik olduğu belirlenmiştir. Morfolojik analizlerle *P. alexandri* ve *P. sergenti*'ye benzer bulunan 2 izolatın genetik analizlerle *P. jacusieli*'ye ait 2 yeni haplotip oldukları tespit edilmiş ve bunların da Karadeniz ve Akdeniz bölgesinden bildirilen haplotiplerle yaklaşık %99,6 oranında benzer oldukları tespit edilmiştir. Bu iki yeni *P. jacusieli* haplotipinin ayrıca Fransa'dan rapor edilmiş olan bir haplotiple %3,0'ün üzerinde genetik farklılık gösterdikleri görülmüştür. Araştırmamızda morfolojik olarak *Ser. dentata*'ya benzer bulunan ve genetik olarak en yakın benzerliği *Ser. dentata* ile gösteren ancak ilgili türe ait haplotiplerle %5,0 üzerinde barkod açığı belirlenen 2 yeni haplotip identifiye edilmiş olup bu 2 haplotipin de arasında %10 farklılık tespit edilmiştir.

Sonuç: Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) ve Tunus Yüksek Öğretim Bilimsel Araştırma ve Teknoloji Bakanlığı (SERST) ikili iş birliği programı çerçevesinde yürütülen ve 119O732 kodla desteklenen bu çalışma ile Orta Karadeniz Bölgesi'nde yaygınlık gösteren kum sineği türlerinin moleküler epidemiyolojisi ve genetik çeşitliliği üzerine özgün veriler sağlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Kum sineği, Karadeniz bölgesi, mt-COI barkodlama, filogenetik karakterizasyon

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06 **SB43** ***13 Ekim 2021 – 18:00-19:30***

Hyalomma Kenelerinin Komple Mitokondriyal Genom ve Nükleer Genler Tabanlı Karakterizasyonu ve Filogenetik Analizleri

Arif ÇİLOĞLU[1], Münir AKTAŞ[2], Osman İBİŞ[3], Alparslan YILDIRIM[1], Önder DÜZLÜ[1], Zuhal ÖNDER[1], Emrah ŞİMŞEK[4], Gamze YETİŞMİŞ[1], Abdullah İNCİ[1]

[1]Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ; [2]Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ELAZIĞ; [3]Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, KAYSERİ; 4Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, KAYSERİ

E-mail: arifciloglu@erciyes.edu.tr

Amaç: Bu çalışmada, insan ve hayvan sağlığı açısından oldukça önemli hastalıklara vektörlük yapan ve Türkiye'de geniş bir yayılış gösteren *Hyalomma* soyundaki kene türlerinin yeni nesil dizileme analizleri (NGS) ile mitokondriyal genom ve nükleer genlerinin karakterize edilmesi ve filogenetik analizlerin yapılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Stereo mikroskop ve dijital taramalı elektron mikroskobu ile detaylı morfolojik analizleri yapılan *H. marginatum, H. aegyptium, H. anatolicum, H. excavatum, H. scupense* ve *H. asiaticum* türlerine ait DNA örnekleri, komple mitokondriyal genomları ve nükleer ribozomal genleri elde etmek amacıyla dizayn edilen özgün primerler ve geliştirilen protokoller ile long-range PCR işlemine tabi tutulmuştur. Analizler sonucunda mitokondriyal genom, toplam dört farklı primer ile iki parça halinde ve çakışan fragmentler şeklinde, nükleer ribozomal genler (18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2 ve 28S rRNA) ise korunmuş bölgeler dikkate alınarak dizayn edilen primer çifti ile amplifiye edilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri, daha sonra DNA dizileme kütüphanesi hazırlama işlemine tabi tutulmuş ve takiben oluşturulan kütüphane, NGS platformunda analiz edilmiştir. Dizileme işlemi sonunda örneklere ait ham veriler biyoinformatik yazılımlarla analiz edilmiştir.

Filogenetik analizler; 1) tüm izolatların protein kodlayan genlerinin (PCG'ler) ve GenBank'ta mevcut diğer Ixodid kene türlerine ait referans komple mitokondriyal genomların PCG'lerinin mitokondriyal genomlardan çıkarılması, tekrar aynı düzen ve sırada olmak kaydıyla birleştirilmesi ve hizalanmasıyla oluşturulan veri seti, 2) tüm izolatların nükleer ribozomal genlerinin hizalanmasıyla oluşturulan veri seti ve 3) tüm izolatların komple mitokondriyal genomları ve nükleer ribozomal genlerinin birleştirilmesiyle oluşturulan veri seti üzerinden gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Long-range PCR analizleri sonucunda, 7873 bp ve 7247 bp'lik mitokondriyal genom fragmentlerinin ve 8300 bp uzunluğundaki hedef nükleer ribozomal genlerin amplifikasyonu başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. NGS analizleri ile altı farklı *Hyalomma* türüne ait altısı dişi 33'ü erkek olmak üzere toplam 39 erişkin kenenin mitokondriyal genomu ve nükleer ribozomal genleri 1.150X ile 7.000X kapsama aralığında ortalama 2.500X ile başarılı bir şekilde elde edilmiştir. Mitokondriyal genomların toplam baz uzunluklarının 14.706 bp (*H. aegyptium*) ile 14.765 bp (*H. marginatum*) arasında değiştiği görülmüştür. Nükleer ribozomal gen dizi uzunluklarının ise 8135 bp (*H. scupense*) ile 8303 bp (*H. marginatum*) arasında olduğu tespit edilmiştir. Analiz edilen *Hyalomma* kenelerine ait

mitokondriyal genom ve nükleer ribozomal gen dizileri referans sekans oluşturma temelinde her tür için en az bir sekans kaydı olmak üzere GenBank'a kaydedilmiştir.

Birinci veri seti ile yapılan filogenetik analizlerde GenBank'a kayıtlı 39 Ixodid kene referans mitokondriyal genomu PCG'leri ve çalışmadan dahil edilen izolatlara ait PCG'lerle birlikte toplam 45 kene türüne ait 78 sekans kullanılmıştır. Elde edilen 39 izolatın nükleer ribozomal genlerinin hizalanmasıyla meydana getirilen ikinci veri seti, toplamda 7895 bp uzunluğa sahip bir final set ile oluşturulmuş ve filogenetik analizler gerçekleştirilmiştir. Üçüncü veri seti, çalışmadaki tüm izolatların komple mitokondriyal genomları ve nükleer ribozomal genlerinin birleştirilmesiyle elde edilen minimum 23.066 bp ve maksimum 22.856 bp uzunluktaki sekansların hizalanmasıyla meydana getirilmiş ve kapsamlı filogenetik analizler gerçekleştirilerek yüksek bootstrap ve olasılık değerlerine sahip filogenetik ağaçlar elde edilmiştir.

Sonuç: TÜBİTAK tarafından 119O911 kod numarasıyla desteklenen bu çalışma ile nükleer ribozomal genetik verilerle birlikte *H. marginatum, H. aegyptium, H. anatolicum, H. excavatum* ve *H. scupense* mitokondriyal genomları Dünya'da ilk kez, *H. asiaticum* mitokondriyal genomu ise Türkiye'den ilk kez elde edilmiş ve karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir. Ayrıca elde edilen mitokondriyal genomların, PCG'lerin ve nükleer ribozomal genlerin kullanılmasıyla oluşturulan üç farklı veri seti ile yüksek çözünürlüklü filogenetik yapılanmalar oluşturulmuş ve *Hyalomma* türlerinin filogenetik ilişkileri kapsamlı bir şekilde incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: Kene, long-range PCR, mitokondriyal genom, nükleer ribozomal genler, yeni nesil dizileme

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06 **SB44** ***13 Ekim 2021 – 18:00-19:30***

Hyalomma Türlerinin Glutathione S-transferase geninin moleküler Karakterizasyonu ve *Hyalomma marginatum* Nesillerinde Ekspresyon Analizleri

Alparslan YILDIRIM[1,4], **Sadullah USLUĞ[1]**, Münir AKTAŞ[2,4], Gamze YETİŞMİŞ[1,4], Önder DÜZLÜ[1,4], Arif ÇİLOGLU[1,4], Gupse Kübra KARADEMİR[1], Nesrin DELİBAŞI KÖKÇÜ[3], Zuhal ÖNDER[1,4], Abdullah İNCİ[1,4]

[1]Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ; [2]Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ELAZIĞ; [3]Kapadokya Üniversitesi, Kapadokya Meslek Yüksek Okulu, NEVŞEHİR; [4]Erciyes Üniversitesi, Vektörler ve Vektörlerle Bulaşan Hastalıklar Uygulama ve Araştırma Merkezi, KAYSERİ

E-mail: sadullahuslu01@gmail.com

Amaç: *Hyalomma soyundaki keneler* insan ve hayvanlarda kene kaynaklı hastalıkların naklinde ana vektörlerin en önemlilerindenden birisidir. Kenelerin kontrolü geçmişten günümüze geniş olarak akarisit uygulamalarına dayalı olup bu uygulamaların çevresel zarara yol açması ve kenelerde akarisitlere karşı direnç gelişim riski gibi önemli dezavantajları vardır. Özellikle çiftlik hayvanlarında kene enfestasyonlarıyla mücadele noktasında kene koruyucu antijenlerle aşılama çevre dostu güçlü bir alternatif yaklaşım olarak ortaya çıkmış olup günümüze kadar farklı sınıflardan birçok protein aday antijenler olarak araştırma konusu olmuştur. Bu çalışmada kene aşısı aday antijenlerden mu-class glutathione S-transferase (GST) geninin ve kodladığı proteinin *H. marginatum, H. anatolicum* ve *H. excavatum* nesillerinde moleküler karakterini ortaya çıkarmak, gen veri tabanlarındaki mevcut diğer kenelere ait GST sekanslarıyla filogenetik ilişkilerini belirlemek amaçlanmıştır. Çalışmada ayrıca *H. marginatum* gelişme dönemleri ve ergin dişi nesillerin çeşitli dokularında GST'nin transkripsiyonel profillerinin karşılaştırmalı olarak belirlenmesi hedeflenmiştir.

Yöntem: Çalışmada morfolojik ve moleküler analizlerle tür teşhişleri sağlanan *H. excavatum, H.marginatum* ve *H. anatolicum* için sırasıyla 6, 4 ve 2 ergin keneden total RNA izolasyonu ve cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Kene türleri için mevcut mu-class (GST) sekansları üzerinde gerçekleştiren analizlerle ilgili genin açık okuma çerçevesini (ORF) bütün olarak amplifie eden primerler dizayn edilerek sentezletilmiş ve elde edilen cDNA'laar kalıp olarak kullanılıp PCR analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri saflaştırılarak pJET 1.2 plazmid vektörüne klonlanmış ve rekombinant plazmitler elde edilmiştir. Her üç *Hyalomma* türüne ait rekombinant plazmitler sanger sekanslama platformunda çift yönlü olarak sekanslanmış ve biyoinformatik araçlarla GST geninin ORF nükleotid sekansları elde edilmiştir. *Hyalomma* türleri ile GenBank'ta mevcut diğer kene türlerine ait GST nükleotid ve amino asit dizilimleri çeşitli biyoinformatik araçlar ve uygun modellerle işlenerek filogenetik ilişkiler ve protein özellikleri ortaya çıkarılmıştır. Transkripsiyonel analizler için Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda tavşanlar üzerinde yetiştirilen *H. marginatum* larva, nimf ve erginler ile sığırlardan toplanmış ergin nesiller kullanılmıştır. Her gelişim döneminden alınan örnekler ve dişi nesillerin tükrük bezi, orta bağırsak ve abdomen karkaslarından (fat body) oluşturulan havuzlar total RNA izolasyonunda kullanılmış ve sonrasında cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. *H. marginatum* GST ORF sekansları hizalanarak qPCR için optimum özellikte primerler dizayn edilmiştir. cDNA izolatlarında GST'ın ekspresyon analizleri SYBR Green qPCR'da

gerçekleştirilmiş ve her örnekteki rölatif gen ekspresyonu normalizasyon geni elongation factor-1'in ifade düzeylerine göre $2^{-\Delta Ct}$ metoduyla belirlenmiştir.

Bulgular: Her üç *Hyalomma* türünde mu-class GST'nin ORF sekanslarının 672 bp uzunluğunda olduğu ve 224 amino acid zinciri inçeren 25,6 kDa büyüklüğünde bir proteini kodladığı belirlenmiştir. *H. marginatum, H. excavatum* ve *H. anatolicum* GST sekansları arasında ortalama %1,68 genetik farklılık belirlenmiş olup filogenetik ağaç üzerinde *H. marginatum* ve *H. excavatum* izolatlarının üst kümelenme oluşturduğu, *H. anatolicum* izolatlarının ise bu kümeye dış grup olarak bağlandığı görülmüştür. Ayrıca *Hyalomma* mu-class GST sekansları GenBank veri tabanındaki *Rhipicephalus* türlerine ait GST sekanslarıyla %10,5, *Dermacentor* türlerine ait sekanslarla ise %9,7 genetik farklılık göstermiş olup filogenetik ağaç üzerinde GST sekanslarının tür bazlı yerleşim gösterdiği tespit edilmiştir. Her üç türe ait GST proteininin 26 aa uzunluğunda sinyal peptid bölgesi içerdiği belirlenmiştir. Sekonder yapı tahmin analizlerinde GST proteinin Thioredoxin-like ve GST C-terminal domain-like olmak üzere iki bölgeye sahip olduğu, ayrıca %55,2 alpha-helix; %14,3 beta-strand ve 13.5 % de random coil bölgeleri içerdiği tespit edilmiştir. GST proteininin antijenik yapı analizlerinde uzunluğu 7–29 aa ve antijenik skoru da 1091-1168 arasında değişen toplam 8 antijenik bölgenin varlığı saptanmıştır. GST'nin transkripsiyonel analizlerinde tüm gelişim evreleri ve incelenen dokularında ifade olduğu, ekspresyon düzeyinin yarı doymuş ve doymuş larva, nimf ve erginlerde aç nesillere oranla, ergin dişi orta bağırsağında (Midgut) diğer dokulara oranla önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TSA-2020-10695 kodlu proje ile desteklenen bu çalışma ile kenelerde özellikle oksidatif strese karşı fizyolojik savunma mekanizması ile ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda görev alan GST familyasının mu-class proteinini kodlayan genin dünya ve ülkemizde yaygınlık gösteren üç önemli *Hyalomma* türünde ilk kez moleküler karakterizasyonu sağlanmış ve filogenetik yapılanmaları ortaya çıkarılmıştır. Çalışma ile ayrıca *Hyalomma* GST proteinin in-silico analizlerle moleküler özellikleri üzerine önemli veriler elde edilmiştir. Universal kene aşı aday antijenlerinden biri olarak nitelenen GST'nin *H. marginatum* nesillerinde transkripsiyonel yapısı ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışma rekombinant antijenlerle kene aşısı geliştirme çalışmaları için model nitelikte olup rekombinant GST'nin *Hyalomma* türlerine karşı koruyucu etkinliğinin ortaya konulması için in-vivo zeminde ileri araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Hyalomma* türleri, *glutathione S-transferase, klonlama, moleküler karakterizasyon, ekspresyon*

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06 **SB45** ***13 Ekim 2021 – 18:00-19:30***

Evaluation of *Lucilia sericata* and Its Excretion/Secretion Products in Terms of Biocompatibility

Busra MORAN-BOZER[1], Ugur USLU[2], Kosta Y. MUMCUOGLU[3], Aysegul TAYLAN-OZKAN[4]

[1]Scientific Technical Application and Research Center, Hitit University, ÇORUM; [2]Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Selcuk University, KONYA; [3]Parasitology Unit, Department of Microbiology and Molecular Genetics, The Kuvin Center for the Study of Infectious and Tropical Diseases, The Hebrew University-Hadassah Medical School, JERUSALEM, ISRAEL; [4]Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, TOBB University of Economics and Technology, ANKARA

E-mail: busra.moran@gmail.com

Aim: Larval debridement therapy (LDT) is been used for the treatment of chronic wounds especially in patients with diabetic foot and decubitus ulcers, as well as in those with venous and arterial stasis. Using their proteolytic enzymes excreted with the saliva, larvae of the green bottle fly, Lucilia sericata debride the necrotic tissue found inside the wound, first extracorporeally and later fully digest it by ingesting to their digestive system. Biocompatibility is the relevance of any medical material designed for human use in its mechanical behavior in body tissues and cells, its chemical, physical and biological consistency. The larvae used for LDT are considered as medical device and should be produced according to ISO 13485. In our study, we aimed to investigate the effects of living and dead L. sericata larvae as well as of their excretion/secretion (E/S) products on healthy cells according to international standards for biocompatibility assays.

Methods: MTT cell viability test, which is the in-vitro cytotoxicity method according to EN ISO 10993-5 and used for determining the active substance concentration on medical devices, was used. Physiological saline and Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) were used for analyses of living/dead maggots and their E/S products. L929 Fibroblast Cells were chosen as healthy cells as they are the dominant cells of the wound healing process and also commonly used in the biocompatibility tests. Fibroblasts were exposed to 1, 2, 3, 5 and 10 specimens of live or dead larvae.

Results: Using the MTT test, fibroblast cells were exposed to different concentrations of E/S products and to living and dead larvae. According to TS EN ISO, the applied material is considered biocompatible if the cell viability is above 70% after exposure to the tested material. The viability of the fibroblasts was 81.6±5.4% in the saline medium and 93.6±6.04% in DMEM when they were exposed to different concentrations of E/S products. It was 92.6±1.6% when approximately 10,000 cells were exposed to 10 dead larvae, and 85.94 ± 2.09% when they were exposed to 10 life larvae. No adverse effects were detected on biocompatibility when the fibroblasts were exposed to the different E/S concentrations and number of dead/live larvae.

Conclusion: These data show that living and dead specimens of *L. sericata* larvae, and their E/S fluids do not have a toxic effect on healthy L929 Fibroblast Cells and accordingly would not harm healthy tissue when used for the treatment of patients.

Key words: *Lucilia sericata*, larval debridement therapy, excretion/secretion products, cytotoxicity, biocompatibility

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06 **SB46** ***13 Ekim 2021 – 18:00-19:30***

Samsun Yöresinde *Fasciola* Türlerinin Arakonaklardaki Varlığının Araştırılması: Türkiye İçin Muhtemel Yeni Arakonaklar

Elif Burcu GENÇAY TOPÇU, Cenk BÖLÜKBAŞ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, SAMSUN

E-mail: burcu.gencay@omu.edu.tr

Amaç: *Fasciola* türleri başta ruminantlar olmak üzere, memelilerin safra kanallarında yerleşen zoonoz parazitlerdir. Türkiye'de bu cinsten *F. hepatica* ve *F. gigantica* türleri bulunmaktadır. Heteroksen gelişim gösteren parazitlere Lymnaeidae ailesindeki sucul salyangozlar arakonaklık yapmaktadır. *Fasciola hepatica* dünya genelinde yaygın bulunurken, *F. gigantica* eski dünya ülkelerinde, ılıman iklime sahip sulak alanlarda görülür. Türkiye her iki türün de bulunduğu ülkelerden birisidir. Dünya genelinde *Fasciola* türlerine arakonaklık yapan çok sayıda sucul salyangoz türü bildirilmiştir. Parazitlerin hayat döngüsünde rol oynayan bu türler genellikle, o ülkelerde yaygın görülen endemik salyangoz türleri olmaktadır. *Galba truncatula*, Avustralya hariç, dünya genelinde F. hepatica için bilinen bir arakonaktır. Bunun yanında Avrupa'da Omphiscola glabra, Stagnicola palustris ve R*adix peregra*, Asya'da *Austropeplea ollua* ve *Galba pervia*, Amerika'da *Lymnaea rupestris* ve *Pseudosuccinea columella* bilinen yaygın arakonak türleridir. Avustralya'da ise bilinen arakonak *Austropeplea tomentosa*'dır. *Fasciola gigantica* için ise *Radix* türleri esas arakonak olarak bilinmektedir. Avrupa ve Asya'da *R. auricularia*, Afrika'da *R. natalensis* ön plandaki arakonak türleridir. Türkiye'de ise *F. hepatica* için *G. turuncatula, F. gigantica* için *R. auricularia* bilinen arakonaklardır. Türkiye'de salyangozların arakonak olarak değerlendirilip *Fasciola* türlerine ait larvaların araştırıldığı az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada bölgesel bir sorun olan fasciolosis'in arakonaklardaki yaygınlığının araştırılması, moleküler düzeyde teşhisler yapılarak bulunan arakonak türlerinin identifiye edilmesi, bulunan yeni arakonak türlerinin Türkiye ve Dünya'da bildirilen diğer türler ile olan filogenetik ilişkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Araştırma süresince Samsun ve civarında, fasciolosis problemi olduğu bilenen üç ilçeden, 5496 sümüklü örneği toplanmıştır. Salyangozların morfolojik yapılarına göre tür teşhisleri yapıldıktan sonra, stereomikroskop altında diseke edilerek parazite ait larva formları aranmıştır. Toplanan larva dönemleri saf alkol içerisinde -20 °C' de saklanmıştır. Larva dönemlerinden DNA ektraksiyonu ve FascF ve FascR primerleri ile PCR yapılarak *Fasciola* sp.'nin ribosomal DNA ITS-1 gen bölgesinin 463 bp kısmı çoğaltılmıştır. *Fasciola* sp. tespit edilen örneklerde PCR-RFLP ile tür düzeyinde teşhisler yapılacaktır. Her lokasyondan tespit edilen *F.hepatica* ve *F.gigantica* larvaları ve elde edildikleri salyangoz türlerini moleküler olarak identifiye edip, filogenetik analizlerde kullanmak için dizi analizleri ticari bir firmaya yaptırılacaktır. Bu amaçla lokasyonu temsil eden örnekler kullanılacak, lokasyonu temsil edecek en az beş örneğin çift yönlü dizi analizinin yapılması sağlanacaktır.

Bulgular: Toplamda 5496 salyangoz örneği toplanıp, incelenmesi tamamlanmıştır. Morfolojik analizlere göre bulunan türler *Galba truncatula* (1182), *Radix peregra* (529), *Stagnicola* sp. (1675), *Physa acuta* (2110) 'dır. Bu arakonaklardan 286 trematod larva dönemi toplanmış olup, 37 tanesinin DNA

ekstraksiyonu yapılmıştır. DNA örnekleri ile FascF ve FascR primer çifti kullanılarak moleküler analiz yapılmış ve 18 tanesinde *Fasciola* spp.'ye rastlanmıştır. Moleküler çalışmaların sonucunda şu ana kadar *Galba truncatula, Stagnicola* sp., *Physa acuta* türlerinde *Fasciola* spp. larva formları tespit edilmiştir.

Sonuç: Türkiye'de *Fasciola* spp. için daha önce tespit edilmiş olan arakonak *Galba truncatula* ve *Radix auricularia*'dır. Bu çalışma sonucunda elde edilen ilk verilere göre *Galba truncatula, Stagnicola, Physa acuta* türlerinde *Fasciola* spp. larva formları moleküler olarak teşhis edilmiştir. *Stagnicola* ve *Physa* acuta'da *Fasciola* spp. larva formlarının tespit edilmesi bu türlerin Türkiye'de yeni bir arakonak olabileceği düşüncesini oluşturmuştur. Yeni bir arakonak olduğunu doğrulamak için larva formlarının tüm gelişim safhalarını görmek gerekmektedir. Bu amaçla yeni çalışmalar yapılması planlanmaktadır.

Anahtar kelimeler: Ara konak, Fasciola, PCR, Samsun

Bu çalışma, 121O118 nolu TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmektedir.

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 06 **SB47** ***13 Ekim 2021 – 18:00-19:30***

Türkiye'de Varroazisde Voltaj Kapılı Sodyum Kanalı Geninde L925 Mutasyonun Araştırılması

Tuğçe TUYGUN[1], Serbülent YİĞİT[2], Ali Tümay GÜRLER[1], Rahşan AKPINAR[3], Ayşe Feyda NURSAL[4], Nilüfer KURUCA[5], Cenk Soner BÖLÜKBAŞ1, Elif Burcu GENÇAY TOPÇU[1], Mustafa AÇICI[1], Şinasi UMUR[1]

[1]Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, AD, SAMSUN; [2]Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik AD, SAMSUN; [3]Arı Hastalıkları Laboratuvarı, Veteriner Kontrol Enstitüsü, SAMSUN; [4]Hitit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, ÇORUM; [5]Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji AD, SAMSUN

E-mail: tugce.tuygun@outlook.com

Amaç: Türkiye, farklı iklim ve doğa koşulları, arazi yapısı, zengin bitki örtüsü ve bal arısı popülâsyonlarındaki genetik çeşitlilik bakımından oldukça önemli bir arıcılık potansiyeline sahiptir. Ülkemiz sahip olduğu 8 milyon 100 bin kovan varlığı ile Çin'in ardından dünyada ikinci sırada yer almasına rağmen, bal üretimi istenilen düzeyde değildir. Bunun en önemli nedenlerinden birisi, arıların faaliyetlerini etkin bir şekilde yapabilmelerini sınırlayan arı hastalıklarıdır. Bu hastalıklardan en önemlisi ise varroazisdir. Ülkemizde ve dünyada varroazis ile mücadelede çok çeşitli yöntemler kullanılmış olmakla beraber, bunlar içerisinde en etkili yöntem kimyasal mücadeledir. Kimyasal ajanlar arasında en etkili olan ise sentetik piretroidlerdir. Piretroidler, nöronlarda ve diğer uyarılabilir hücrelerde voltaj kapılı sodyum kanallarının (VGSC) geçit kinetiğini değiştirerek sinir sistemi üzerine etki ederler. Pestisitlerin yaygın ve bilinçsiz kullanımı parazitlerin adaptasyon göstermesiyle direnç kazanmalarına neden olmuştur. Varroa'da direnç gelişimi genellikle kdr tipi (knockdown resistance-type) mutasyonlar olarak adlandırılan voltaj kapalı sodyum kanallarındaki belirli amino asitlerin değişmesiyle ilişkilendirilmektedir. Bu çalışmada Türkiye'nin farklı il ve işletmelerinden toplanan *Varroa* sp. örneklerinin piretroidlere karşı hassasiyetlerinin belirlenmesi amacıyla, piretroidlerin hedefini kodlayan VGSC genindeki L925V mutasyonunun sıklığı araştırılmıştır.

Yöntem: Araştırma materyalini Ağustos 2018 ile Eylül 2019 tarihleri arasında, Türkiye'nin 7 bölgesinden 28 ilde, 62 farklı arıcılık işletmelerine ait 71 kovandan toplanan *Varroa* sp.'ler oluşturmuştur. Her bir kovan için 3 adet *Varroa* sp. alınmış ve bir örnek havuzu olarak değerlendirilmiştir. Her bir örnek havuzu için parazitler homojenize edildikten sonra, ticari kit ile ekstraksiyon yapılarak genomik DNA elde edilmiştir. Ardından 1,273'i F:5'-AAGCCGCCATTGTTACCAGA-3 ve 1,973'i R:5'-GCTGTTGTTACCGTGGAGCA-3' primerleri kullanılarak mutasyon içeren VGSC gen bölgesi (701-bp) PCR ile çoğaltılmıştır. Çoğaltılan gen bölgesinin 925. aminoasitindeki mutasyon varlığını belirlemek amacıyla SacI (GAGCT/C) enzimi kullanılarak RFLP analizi yapılmıştır. PCR-RFLP sonucunda homozigot (701-bp) ve heterozigot (701-437 ve 264 bp) mutasyon tespit edilen örnekler direnç pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Araştırma sonucunda 28 ilin 18'inde (%64,28), 62 arıcılık işletmesinin 25'inde (%40,32), 71 kovanın 27'sinde (%38,02) direnç tespit edilmiş, 44 (%61,97) tanesinde direnç tespit edilmemiştir. Direnç tespit edilen 27 kovandan %77,7'si heterozigot %22,2 homozigot dirençli olduğu bulunmuştur.

Sonuç: Varroazis ile mücadelede sentetik piretroidlerin (flumethrin ve tau-fluvalinate) bilinçsiz ve yaygın kullanılması direnç gelişimine neden olmaktadır. Türkiye'deki V. destructor popülasyonlarında piretroid direnç varlığı hakkındaki bilgiler çok sınırlıdır. Türkiye'de uygulanacak ulusal-bölgesel mücadele-kontrol programları için seçilecek akarisitlere karşı direnç varlığının tespiti ise çok önemlidir. Uygulama kolaylığı, düşük maliyetli olması ve aynı anda birçok farklı arılıkların araştırılabilmesi açısından, nokta mutasyon tekniği ile direnç varlığının belirlenmesi yöntemi göz önünde bulundurulmalı ve ileride uygulanacak ulusal-bölgesel mücadele programlarında uygulanabilirliği göz önüne alınmalıdır.

Anahtar kelimeler: PCR-RFLP, piretroid direnci, Varroa destructor, voltaj kapılı sodyum kanalları

SALON A

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07 *13 Ekim 2021 – 18:00 – 19:30*

Oturum Başkanları:
Nermin ŞAKRU / Soykan ÖZKOÇ

SB48. Leishmania RNA Virüs Negatif ve Pozitif İki *Leishmania Tropica* Suşunun de novo Transkriptom Profili ve Diferansiyel Gen Ekspresyonu Analizi
Muhammed NALÇACI, Ayşe CANER, Yusuf ÖZBEL, Seray TÖZ

SB49. Edirne İlinde 2019-2021 ılları Arasında Saptanan Kutanöz Leishmaniasis Olgularının Değerlendirilmesi
Canan ERYILDIZ, Yıldız GÜRSEL ÜRÜN, Nermin ŞAKRU

SB50. Kutanöz Leishmaniasis Tanısı İçin Kayseri Eğitim Araştırma Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarı'na 2012-2018 Yılları Arasında Başvuran Hastaların Değerlendirilmesi
Ozan YAMAN, Merve YÜRÜK, Emrah ERDOĞAN

SB51. Çoklu lezyon gelişen kutanöz leishmania olgusunun Lucilia sericata larvalarının salgısı ile tedavisi
Tansu DÜNDAR, Burhan ENGİN, Erdal POLAT

SB52. Sıtma Marjinal Bir Vaka: Kamerun Orijinli İlginç Bir Sıtma Öyküsü
Emrah ERDOĞAN, Zeynep TÜRE YÜCE, Atiye AYRIK, Merve YÜRÜK, Ozan YAMAN, Orhan YILDIZ

SB53. Oestrius ovis larvasının sebep olduğu insan nasal myiasis olgusu
Mehmet AYKUR, Murat ÜNAL, Mehmet KARAKUŞ

SB54. Nadir Nazo- Oftalmik Myazis: Olgu Sunumu
Oktay ALVER, Derya DOĞANAY, Selim DOĞANAY, Hakan COŞKUN

SB55. Anisakidosis in Turkey: Serological Survey and Risk for Humans
Eylem AKDUR OZTURK, Fatma İrvasa BILGIÇ, Alessandra LUDOVISI, Okan GULBAHAR, Derya Dirim ERDOGAN, Metin KORKMAZ, Maria Ángeles GÓMEZ MORALES

SB56. Evaluation of the Diagnostic Performance of Multi-epitope Recombinant Antigen DIPOL and Hydatid Fluid in Serodiagnosis of Patients with Cystic Echinococcosis According to Clinical Variables
Eylem AKDUR OZTURK, Raúl Manzano-ROMÁN, Carlos Sánchez-OVEJERO, Ayse CANER, Ülkü KARAMAN, Nuray ALTINTA4, Adriano CASULLI, Nazmiye ALTINTAS, Mar Siles-LUCAS, Aysegul UNVER

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07 **SB48** ***13 Ekim 2021 – 18:00-19:30***
Salon A

Leishmania RNA Virüs Negatif ve Pozitif İki *Leishmania tropica* Suşunun de novo Transkriptom Profili ve Diferansiyel Gen Ekspresyonu Analizi

Muhammed NALÇACI[1], Ayşe CANER[2], Yusuf ÖZBEL[2], Seray TÖZ[2]

[1]Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü Zooloji AD, İZMİR;
[2]Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, İZMİR

E-mail: muhammednalcaci@gmail.com

Amaç: *Leishmania* dünyada en önemli parazit hastalıklarından biri olan leishmaniasise yol açan zorunlu hücre içi bir parazittir. Türkiye'de kutanöz leishmaniasis (şark çıbanı, KL) ve visseral leishmaniasis (kala-azar, VL) olmak üzere iki farklı klinik formu bulunmaktadır. Son zamanlarda *Leishmania* paraziti içerisinde saptanan bir endosimbiyont olan *Leishmania* RNA virüsünün (LRV) Yeni Dünya *Leishmania* türlerinde hastalık şiddetini, metastazı ve tedaviye direnci etkileyen faktörlerden biri olabileceği konusunda hipotezler ortaya atılmıştır. Çift zincirli bir RNA virüsü olan LRV Yeni ve Eski Dünya'da sırasıyla LRV1 ve LRV2 olarak iki farklı gruba ayrılmıştır. Yakın zamanda Türkiye'deki *Leishmania major* ve *Leishmania tropica* türlerinde de moleküler yöntemlerle tespit edilmiş olan LRV2'nin konak hücre ile etkileşim mekanizması ve bu virüsün hastalık sürecine olan muhtemel etkisi konusunda bilgi bulunmamaktadır. Genomik, proteomik ve transkriptomik teknolojiler konusundaki ilerlemeler *Leishmania*, LRV2 ve konak arasındaki ilişkilerin ayrıntılarını ortaya çıkarmak için büyük fırsatlar sunmaktadır. Çalışmamızın amacı dünyada ilk kez tarafımızca saptanan LRV2 içeren/içermeyen *L. tropica* suşlarının transkriptomlarının gerçekleştirilmesi ve değerlendirilmesi ile tanı için yeni gen bölgeleri ve biyobelirteçlerinin ortaya konulmasıdır.

Yöntem: Transkriptomik analizinde kullanılacak iki *L. tropica* (bir LRV+, bir LRV-) suşunun kültürü yapılarak $1x10^8$ sayısına ulaşan parazitler toplanarak RNA elde edilmiştir. Transkriptomik analizler ve değerlendirmeler aşağıda belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir;

RNA Transkriptom dizileme: RNA dizileme, RNA Deplesyonu (poli-T oligoya bağlı manyetik boncuklar kullanarak poli-A içeren mRNA moleküllerinin saflaştırılması), fragmantasyon (mRNA'nın, yüksek sıcaklık altında iki değerli katyonlar kullanılarak küçük parçalara ayrılması), cDNA sentezi (bölünmüş RNA fragmanlarının, ters transkriptaz ve rastgele primerleri kullanarak tek zincirli cDNA'ya çevirilmesi), kütüphane hazırlığı (manyetik boncuklarla toplanan bu DNA parçalarının uçları onarılması ve 3' uçlarına adenin eklenmesi, fragmanlara adaptörler ve barkodlar eklenmesi ve ilk PCR adımının başlatılması), daireselleştirme (standart teknolojilerin aksine, ikinci PCR aşaması, DNA'yı "daireselleştirme" adı verilen bir aşama ile yuvarlak bir zincire dönüştürerek aynı zincir üzerinde DNA Nanoball (DNB) oluşturulması ve böylece PCR hatalarının en aza indirilmesi), dizileme (oluşturulan her bir DNB'nin, BGISEQ-500 dizileme platformundaki akış hücresindeki noktalara yerleştirilmesi, akış hücresinde sekans işlemi gerçekleştirilmesi ve bazların okunması) basamakları izlenerek gerçekleştirilmiştir.

Transkriptom Sekanslama Prosedürü ve Biyoinformatik analiz: Temiz okumaları elde etmek için ilk önce, düşük okuma değerleri, adaptör okumaları ve belirlenemeyen bazların okumalarının filtrelenmesi yapılmıştır. Düşük kaliteli okumalar (%20 den fazlası 10'dan az kalite skoruna sahip fragmentler), adaptör içeren fragmentler, belirlenemeyen baz içeren fragmentler (%5'ten fazla N içerenler) filtrelenmiştir. Hizalama işlemi HISAT2 (Hierarchical Indexing for Spliced Alignment of Transcripts) ile gerçekleştirilmiştir. Tek nükleotit polimorfizmi (Single nucleotide polymorphism, SNP) ve INDEL analizleri GATK4 kullanılarak, "Best Practices" iş akışının uygulanmasıyla elde edilmiştir. Transkriptler StringTie ile yeniden bir araya getirilip, birleştirilmiş bir GTF (Gene Transfer Format) dosyası elde edilerek örneklerin birleştirilmiş GTF ile kıyaslanmasıyla özgün transkriptler belirlenmiştir.

Gen Ekspresyon Analizi: Bu analizler R programı kullanılarak görselleştirilmiş ve analiz edilmiştir. Gen ekspresyon farklılıkları LRV2+/- *L. tropica* promastigot verilerinin karşılaştırılması şeklinde yapılmıştır. RNA-seq verilerinde anlamlı olarak farklı ifade edilen genler (diferansiyel eksprese olmuş genler, DEGs) ($p<0.05$), fonksiyonel analizler ve gen anotasyonları R Bioconductor paketi ve çeşitli veri tabanları kullanılarak yapılmıştır. Örnekler arasındaki farklı şekilde eksprese edilmiş genler tespit edilmiş, belirlenen tüm genler ile kümeleme analizi ve fonksiyonel analizler yapılmıştır.

Bulgular: Çalışmamızda BGISEQ-500 dizileme platformu kullanılarak toplamda yaklaşık 10.53 Gb baz üretilmiştir. Tüm örnekleri bir araya toplayıp filtrelendikten sonra 18.934 Unigen elde edilmiştir, Unigenelerin toplam uzunluğu, ortalama uzunluğu, N50 ve GC içeriği sırasıyla 30.731.061 bp, 1.623 bp, 2.781 bp ve %59.27 şeklindedir. Ardından, 14.637 (NR:%77.31), 18.863 (NT: 99.63%), 6.032 (Swissprot: 31.86%), 5.597 (KOG: 29.56%), 6.666 (KEGG: 35.21) %), 7,792(GO: 41,15%) ve 5,449 (InterPro: 28,78%) gibi yedi işlevsel biyoinformatik veritabanıyla hizalayarak tanımlamalar gerçekleştirilmiştir. Ayrıca 20.713 SSR (Simple Sequence Repeats, Mikrosatellit) ve 1.094 Transkripsiyon Faktörü (TF) tespit edilmiştir. Fonksiyonel anotasyon sonuçları için Transdecoder kullanılarak 13,485 CDS (coding DNA sequences) tespit edilmiştir. LRV+/- suşlar arasında önemli ölçüde SNP varyasyon miktarı saptanmıştır. SNP varyasyon tipleri olan transisyon ve transversiyon sayılarının toplamı LRV+/- suşlarda sırasıyla 18,620 ve 24,708 olarak tespit edilmiştir. Fonksiyonel analizler sonucunda LRV- suşta katalitik aktivite ve bağlanma gibi moleküler yolaklarda aktivasyon ve iki suş arasında IL-17 sinyal yolağında anlamlı bir farklılık saptanmıştır.

Sonuç: Bu çalışma, *Leishmania tropica*'da de novo RNA-Seq'in fonksiyonal anotasyonunu tanımlayan ilk çalışmadır. *Leishmania* parazitinin enfeksiyon oluşturma kapasitesini, *Leishmania* türü, parazit yükü, LRV2 varlığı ve en önemlisi virülans faktörlerinin ifadesi dahil olmak üzere çok sayıda faktör artırmaktadır. Araştırmamızda LRV+/- *L. tropica* suşlarında virüsün virülans ve parazitin biyolojik süreçleri üzerindeki transkript ekspresyonuna katkısı değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda dikkat çeken analizlerden birisi SNP'ler olmuştur. LRV+/- suşlar arasında önemli ölçüde SNP varyasyon farklılıkları saptanmıştır. *Leishmania* RNA LRV+ suştaki bu farklılık, virüs etkisiyle hastalığın şiddetine katkı sağlayan genlerin bulunmasında kullanılmaktadır. Farklı tipteki SNP'ler, bir proteinin fonksiyonunu, regülasyonunu veya ekspresyonunu değiştirebilmektedir. Analizler sonucu elde edilen LRV+/- suşlardaki protein-protein etkileşim farklılıkları da bu veriyi doğrulamaktadır. Gen Ontoloji ile sınıflandırma analizinde LRV- suşta görülen katalitik aktivite ve bağlanma gibi moleküler yolaklarda görev alan genlerde görülen yüksek orandaki aşağı regülasyon, parazitin hayatta kalma ve çoğalma stratejilerini virüsün modüle ettiğini işaret etmektedir. Fonksiyonel analizler sonucunda, iki suş arasında en anlamlı farklılık inflamatuar sitokin olan IL-17 sinyal yolağında saptanmış ve LRV- suşta belirgin aşağı regülasyon göstermiştir. IL-17 *Leishmania* RNA virüsünün hastalığın şiddetini artırıcı etkisinde rol alan bir sitokin olup nötrofillerin çağırılması,

aktivasyonu ve göç etmesinde görev almaktadır. Yapılan çalışmalarda LRV+ *Leishmania* parazitlerinde IL-17 ekspresyonu ile hastalığın kronikleşmesi arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. IL-17'nın LRV1'e bağlı enfeksiyonun metastazında da rol oynadığı bir fare modeli üzerinde doğrulanmıştır. IL-17'nın hastalık şiddetinin ve yayılmasının bir göstergesi olduğu düşünülmüş, LRV1'in neden olduğu patolojik duruma ve parazitin yaşam süresine katkı sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca bu sitokinin IFN-γ düzeyini düşürerek hastalığın prognozunu kötüleştirdiği gözlenmiştir.

Leishmania parazitleri üzerinde yapılacak trankriptomik çalışmaların *Leishmania*-vektör, *Leishmania*-konak ve *Leishmania*-LRV'nin oluşturduğu ekosistemin önemli mekanizmalarına çözümler getireceği düşünülmektedir. Parazitler ve konakçı arasındaki gen ekspresyonu analizleri, yeni parazit virülans faktörlerinin tanımlanmasına ve lezyonlarda parazit kalıcılığını teşvik eden konak yanıtlarının belirlenmesini sağlayabilir. Ayrıca LRV ve *Leishmania* transkriptomlarının analizi ile konakçı immün yanıtlarındaki farklılıkların nedenlerinin belirlenebileceği de düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Transkriptom; *Leishmania* RNA Virüs; *Leishmania tropica*; De novo dizileme; Diferansiyel Gen Ekspresyonu

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07 **SB49** ***13 Ekim 2021 – 18:00-19:30***
Salon A

Edirne İlinde 2019-2021 Yılları Arasında Saptanan Kutanöz Leishmaniasis Olgularının Değerlendirilmesi

Canan ERYILDIZ[1], Yıldız GÜRSEL ÜRÜN[2], Nermin ŞAKRU[1]

[1]Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, EDİRNE;
[2]Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar AD, EDİRNE

E-mail: cananeryildiz@gmail.com

Amaç: Leishmaniasis, enfekte dişi kum sinekleri ile insana taşınan *Leishmania* türlerinin yol açtığı protozoal bir hastalıktır. Kutanöz, mukokutanöz ve visseral leishmaniasis olmak üzere başlıca üç klinik formu bulunmaktadır. Kutanöz Leishmaniasis (KL) formu daha yaygın görülmekte olup Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre yıllık yeni KL olgu sayısının 600 000 - 1 milyon olduğu tahmin edilmektedir. Türkiye'de ise KL Güneydoğu Anadolu bölgesi ve Akdeniz bölgesinin Çukurova yöresinde endemik olup diğer bölgelerimizde bulunan illerde de sporadik olarak olgular görülmektedir. Bu raporda Edirne ilinde 2019-2021 yılları arasında görülen KL olgularının sunulması amaçlanmıştır.

Yöntem: Ocak 2019 – Eylül 2021 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji Bölümü laboratuvar kayıtları geriye yönelik olarak incelendi. Mikroskobik inceleme ve/veya kültür ile *Leishmania* spp. saptanan sekiz hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların cilt lezyonlarından alınan aspirasyon materyallerinden yayma preparatlar hazırlandı. Preparatlar metil alkol ile tespit edildikten sonra Giemsa ile boyanarak mikroskop altında (x1000 büyütme) *Leishmania* spp. amastigotlarının varlığı açısından incelendi. Kültür için aspirasyon sıvısının zenginleştirilmiş NNN besiyerine ekimi yapıldı.

Bulgular: *Leishmania* spp. saptanan tüm hastalar erkek idi. Olguların yaş ortalaması 34.5 (min: 25, max: 42) idi. Hastaların tamamında Suriye'de bulunma öyküsü vardı. Hastalara ait çeşitli demografik, klinik ve laboratuvar özellikler Tablo 1'de gösterilmiştir. Tedavide tüm hastalara, lezyonların tamamında regresyon sağlanana kadar, haftada bir kez intralezyonel meglumine antimonate (Glucantime®) uygulandı.

Sonuç: Yaklaşık üç yıllık verileri değerlendirdiğimizde tüm olgularda yurt dışında bulunma öyküsü mevcut olup yerli vakaya rastlanmamıştır. Özellikle hastalığın endemik olduğu bölgelerden gelen, klinik uyumlu olgularda Leishmaniasis akla getirilmeli ve uygun parazitolojik incelemelerle tanıya gidilmelidir.

Tablo 1. Leishmaniasis olgularının demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri

Olgu	Cinsiyet	Yaş	Lezyon süresi (ay)	Dermatolojik muayene	Lokalizasyon	Tek/Multiple lezyon varlığı	Laboratuvar tanı
1	E	31	1	Eritemli, skuamlı plak	Bacak	Tek	Mikroskopi + Kültür
2	E	40	2	Ülsere nodül	Kol, bacak ve sakrum	Multiple	Mikroskopi + Kültür
3	E	34	4	Eritemli, skuamlı plak	Kol	Multiple	Mikroskopi + Kültür
4	E	25	1,5	Eritemli, skuamlı plak	Yüz, kol	Multiple	Mikroskopi
5	E	41	1	Eritemli, skuamlı plak	Ayak	Tek	Mikroskopi + Kültür
6	E	32	4	Nodül	Kol	Multiple	Mikroskopi
7	E	31	1,5	Papül	Kol ve bacak	Multiple	Kültür
8	E	42	4	Eritemli, skuamlı plak	Boyun, kol ve bacak	Multiple	Mikroskopi + Kültür

Anahtar kelimeler: Kutanöz leishmaniasis, Edirne, Trakya

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07 **SB50** ***13 Ekim 2021 – 18:00-19:30***
Salon A

Kutanöz Leishmaniasis Tanısı İçin Kayseri Eğitim Araştırma Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarı'na 2012-2018 Yılları Arasında Başvuran Hastaların Değerlendirilmesi

Ozan YAMAN, Merve YÜRÜK, Emrah ERDOĞAN

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-mail: ozanyaman@erciyes.edu.tr

Amaç: Leishmaniasis, enfekte dişi tatarcıkların insanı ısırması ile bulaşan, *Leishmania* türü hücre içi protozoon parazitler ile oluşturulan hastalıklar grubudur. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre leishmaniasis en önemli yedi tropikal hastalıktan biridir ve geniş bir klinik yelpaze oluşturan, ölümcül sonuçlar doğurabilen ciddi bir sağlık sorunudur. Hastalığın kutanöz, viseral ve mukokutanöz olmak üzere üç ana formu vardır. Kutanöz leishmainiasis (KL) en sık görülen formudur. Latin Amerika, Afrika, Hindistan, Orta Doğu ve Akdeniz hastalığın endemik olarak görüldüğü bölgelerdir. Son yıllarda Suriye, Irak gibi ülkelerde yaşanılan iç savaş ve karışıklıklar çok sayıda insanın ülkemiz başta olmak üzere çeşitli ülkelere göç etmesine neden olmuş, bu durum ülkelerinde endemik olan hastalıklara ait vaka sayılarının göç ettikleri ülkelerde de artmasına yol açmıştır. Leishmaniasis de bu hastalıkların biri olmuş ve ülkemizin endemik olmayan bölgelerinde de vaka sayılarında ciddi artışlar görülmeye başlamıştır. Bu çalışmanın amacı ilimizde görülen leishmaniasis vaka sayılarını yıllara göre irdelemek, bunların epidemiyolojik özelliklerini belirlemek ve hastalığın yayılımını önlemek için oluşturulacak sağlık politikalarına katkı sağlamaktır.

Yöntem: 1.1.2012-31.12.2018 tarihleri arasında Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarı'na yönlendirilerek KL açısından değerlendirilmesi istenilen 628 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Kutanöz leishmaniasisten şüphelenilen lezyonun varsa kabuğu kaldırılmış, yoksa yara kenarına 0.5 mm uzunluğunda küçük bir kesi yapılmış, kanama olduysa durduktan sonra özellikle yara kenarlarından kazınarak alınan örneklerle üç adet yayma preparatı yapılmış, Giemsa ile boyanarak mikroskopta direkt incelenmiş, *Leishmania* amastigotları araştırılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya yaşları 0-83 arasında değişen 292'si kadın, 336'sı erkek olmak üzere toplam 628 hastanın verileri dahil edilmiştir. Hastaların yaş ortalaması 23,65 olarak saptanmıştır. 292 kadının 100'ünde (%34,24), 336 erkeğin 133'ünde (%39,58) olmak üzere toplam 233 hastanın örneklerinde mikroskobik incelemede *Leishmania* amastigotları görülmüş ve pozitif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif hastaların yaş ortalamasının 17,14 olduğu görülmüştür. Toplam 233 pozitif hastanın 202'sinin (%86,70) göçmen, 31'inin (%13,30) yerli vaka olduğu saptanmıştır. Vakaların 2'sine (%0,86) 2012, 3'üne (%1,29) 2013, 44'üne (%18,88) 2014, 52'sine (%22,32) 2015, 46'sına (%19,74) 2016, 41'ine (%17,6) 2017 ve 45'ine (%19,31) 2018 yılında tanı konulmuştur.

Sonuç: Kayseri'de 2012 yılı ve öncesinde görülen KL vakaları nispeten az sayıda iken, Suriyeli sığınmacıların etkisiyle 2014 yılı ve sonrasında vaka sayısının arttığı gözlenmektedir. Kutanöz leishmaniasis antroponotik bulaş gösterebildiği için hastalığın yayılımının engellenmesi amacıyla göç eden sığınmacıların rutin sağlık kontrollerinin yapılması, hastaların tespit edilerek tedavilerinin yapılması ve hastalığın vektörü ile etkili şekilde mücadele edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla hastaların çoğunlukla ilk olarak başvurduğu birinci basamak sağlık kuruluşlarında çalışan hekimlerin KL açısından bilgilendirilmeleri, hastaların erken tanısı ve bu sayede yayılımının önlenmesi açısından önem arz etmektedir.

Anahtar kelimeler: Leishmaniasis, kutanöz, *Leishmania*, Kayseri

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07 **SB51** ***13 Ekim 2021 – 18:00-19:30***
Salon A

Çoklu Lezyon Gelişen Kutanöz Leishmaniasis Olgusunun *Lucilia sericata* Larvalarının Salgısı ile Tedavisi

Tansu DÜNDAR[1], Burhan ENGİN[2], Erdal POLAT[1,2]

[1]İÜ-C, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İSTANBUL; [2]İÜ-C, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dermatoloji AD, İSTANBUL; [3]İÜ-C, Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi -İstanbul

E-mail: tansu.sahin@iuc.edu.tr

Amaç: *L. tropica* veya *L. major*'ün etken olduğu kutanöz leishmaniosis (KL), klinik olarak sivilce şeklinde başlayan ancak zamanla genişleyen lezyonlara neden olur. Sonrasında lezyon, ortasından ülserleşerek üzerine sıkıca yapışmış bir kabuk ile kaplanır ve çoğunlukla bir yıl içerisinde iyileşir. Hastalığın tedavisinde Dünyada ve ülkemizde birincil ilaç olarak beş değerlikli antimon türevleri kullanılmakta olup zaman zaman dirençli olgular ile karşılaşabilir. İlacın ithal olması nedeni ile temininde sıkıntılar yaşanabilmektedir. Hastanemizde KL hastalarının tedavisi, laboratuvarımızda üretilen *Lucilia sericata* larvaları veya larvalardan elde edilen salgı ile yapılmaktadır. Hastanın yüzünde, dirseğinde, el bileğinde ve ayak dorsalinde çoklu lezyon gelişmiş olması ve *L. sericata*'nın larvalarından elde edilen salgı ile kısa sürede tedavi edilmesi dolayısı ile bildiri olarak sunulmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.

Olgu Sunumu: Yılın belirli dönemlerinde İstanbul'da, belirli dönemlerinde ise Malatya'nın kırsal bölgesinde yaşayan 58 yaşındaki kadın hasta, yüzünde, dirseğinde, sağ el bileği üzerinde ve ayak dorsalinde geçmeyen kabuklu yaralar şikâyeti ile dermatoloji polikliniğine başvurmuştur. Hastanın lezyonları eş zamanlı olarak, yaklaşık 8 ay önce küçük sivilce şeklinde başlamış, kabuklanmış ve aldığı tedavilere rağmen iyileşmemiştir. Hastanın bilinen bir kronik hastalığı ve düzenli kullandığı ilaç yoktur.

Yöntem: KL ön tanısı ile mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen hastanın, yüzündeki krut bistüri ile kaldırılarak; dirsek, el bileği ve ayak dorsalindeki diğer lezyonlar ise steril enjektör ucuyla irrite edilerek açığa çıkan seröz sıvılardan, üçer preparat hazırlanarak Giemsa boyası ile boyanmıştır. Yüz ve dirsek lezyonlarına ait preparatlarda *Leishmania* amastigot formları görülen hastaya KL tanısı konulmuştur. Hastanın lezyonlarına, *L. sericata* sinek türüne ait II. evreden III. evreye geçen 1000 adet steril larvadan elde edilen larva salgısı ile 10 gün tedavi uygulanmıştır. Hastanın lezyonlarının üzerinde cilt bakım cihazının oksijen tabancası ile yaklaşık 5 atmosfer basınç ile günde bir kez olmak üzere salgı sıkılmıştır. İlk larva salgısı uygulandıktan sonra, II,. III., IV., V. larva salgısı uygulamasından önce yüzdeki ve dirsekteki lezyonlardan alınan materyallerden kontrol preparatları hazırlanmıştır. Giemsa boyası ile boyanan preparatlarda, *Leishmania* amastigot formlarında sayıca azalma veya tamamen kaybolma olup olmadığı takip edilmiştir.

Bulgular: İlk larva salgısı uygulamasından sonra *Leishmania*'nın amastigot formlarının sayısının azaldığı, III. uygulamadan sonra daha çok azaldığı ve V. uygulamadan sonra amastigot formların tamamen kaybolduğu görülmüştür.

Sonuç: Kutanöz leishmaniosis hastalığın tedavisinde Dünyada ve ülkemizde birincil ilaç olarak beş değerlikli antimon türevleri kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçlara karşı direnç geliştiği çeşitli araştırmalarda bildirilmiştir. Dirençli leishmaniosis olgularının tedavisinde amphotericin B kullanılmakta ve başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Ancak amphotericin B'nin toksik etkilerinden dolayı tedavide lipozomal formu kullanılmakta, bu da tedavinin maliyetini oldukça artırmaktadır. Tamamen doğal olan *L. sericata* larvalarının veya larva salgısının tedavide kullanılmasının, irrite edici olması ve kötü kokması dışında herhangi bir yan etkisi yoktur. Larva veya salgısı ile kutanöz leishmaniosis tedavisi, beş değerlikli antimon türevleri veya lipozomal-amphotericin B tedavisi ile karşılaştırıldığında oldukça ucuz olup yaranın iyileşme süreci de daha kısadır. Aynı zamanda, larva salgısının lezyon dokusu üzerine uyarıcı etkisi ile yara iyileşme sürecinde yeni kollajen ve elastin liflerinin dengeli sentezlenmesi sağlanır

Anahtar Kelimeler: Kutanöz leishmaniasis, larva tedavisi, *Lucilia sericata*

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07 **SB52** ***13 Ekim 2021 – 18:00-19:30***
Salon A

Sıtma Marjinal Bir Vaka: Kamerun Orijinli İlginç Bir Sıtma Öyküsü

Emrah ERDOĞAN[1], Zeynep TÜRE YÜCE[2], Atiye AYRIK[2], Merve YÜRÜK[1], Ozan YAMAN[1], Orhan YILDIZ[2]

[1]Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD., KAYSERİ;
[2]Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, KAYSERİ

E-mail: emrah@erciyes.edu.tr

Amaç: Sıtma, tek hücreli parazitlerin neden olduğu ciddi, bulaşıcı bir enfeksiyondur. Omurgalılarda enfeksiyona neden olabilecek yaklaşık 200 *Plasmodium* türü tespit edilmiştir. İnsanlarda bugüne kadar enfeksiyona neden olan beş farklı *Plasmodium* türü bilinmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2019 yılında yayınlanan verilerine göre yıl içinde 405.000 ölümlü sıtma vakası ve 228 milyon yeni klinik sıtma vakası bildirilmiştir. Ölümlerin %85'i Afrika'da görülmekte ve bu ölümlerin büyük çoğunluğunu 0-5 yaş çocuklar oluşturmaktadır. Perinatal ve neonatal dönemler ile birlikte infant mortalitesinde önemli olan enfeksiyon düşük kilolu doğum ile beraber, çocukların büyümesi ve bilişsel gelişimi ile ilgili de risk faktörleri barındırmaktadır. Çalışmamızda Kamerun'un Douala şehrine seyahat öyküsü olan Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı erkek hastanın kan örneğinin incelenmesi ve hastanın enfekte olduğu *Plasmodium* türlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Hastanemize ateş ve titreme şikayetleri ile başvuran hastanın periferik kanından ince yayma ve kalın damla preparatları hazırlandı, Giemsa ile boyandı ve x100 objektifle mikroskop altında incelendi. Kesin tür tayini için *P. vivax, P. malariae, P. falciparum, P. ovale ve P. knowlesi* türlerine özgül 18S rRNA gen bölgelerini hedefleyen primerler ile prob bazlı qRt-PCR çalışması yapıldı.

Bulgular: Hastanın ince kan yayma örnekleri incelendiğinde *Plasmodium* cinsine ait trofozoit ve *Plasmodium falciparum*'a özgü gametosit formları tespit edildi. Kesin tür tayini için beş türe özgül primerler ile prob bazlı qRt-PCR çalışması sonucunda hastada *P. vivax, P. falciparum, P. ovale* ve *P. knowlesi* koenfeksiyonu tespit edildi. Ayrıca klasik PCR ile elde edilen PCR ürünlerinin her birine DNA dizi analizi yaptırıldı. DNA dizi analiz sonuçları, BLAST analizi ve MEGA program ile filogenetik analiz yapılarak değerlendirildi. DNA dizi analizi sonucunda hastamızın *Plasmodium* türlerinden dördü ile enfekte olduğu ayrıca teyit edildi.

Sonuç: Son yıllarda özellikle Afrika ülkelerine yapılan ziyaretler sonrasında sıtma importe vakalarda artış görülmektedir. Endemik bölgelerin kesişme noktasında bulunan coğrafyalara yapılan ziyaretler sırasında bu tür nadir sıtma koenfeksiyonlarına rastlanabilir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre özellikle en çok mortalite ve morbiditenin görüldüğü ülkelere yapılan seyahatlerde, vektörlerden korunma ve profilaksi protokollerine azami ölçüde dikkat edilmelidir. Hastamızda gelişen ve benzer olabilecek koenfeksiyon vakalarında tersiyana sıtması ve tersiyer ovale sıtması için hipnozoid tedavisi de ihmal edilmemelidir. Son yıllarda karşılaşılan ilaca dirençli vektörler ve aynı zamanda dirençli *Plasmodium* suşları bir bütün olarak değerlendirildiğinde sıtma mücadelesinde daha etkili stratejilerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Altın standart olarak kabul gören mikroskobik incelemenin yanında tanıda moleküler çalışmaların da beraber değerlendirilmesinin, hipnozoid dönemler de düşünüldüğünde, tedavi planlaması için son derece önemli olduğu kanısındayız.

Anahtar kelimeler: *P. vivax, P. falciparum, P. ovale, P. knowlesi,* koenfeksiyon, qRt-PCR, filogenetik analiz

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07 **SB53** ***13 Ekim 2021 – 18:00-19:30***
Salon A

Oestrius ovis Larvasının Sebep Olduğu İnsan Nasal Myiasis Olgusu

Mehmet AYKUR[1], Murat ÜNAL[2], Mehmet KARAKUŞ[3]

[1]Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, TOKAT; [2]Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon AD, TOKAT; [3]İstanbul Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İSTANBUL

E-mail: mehmetaykur@gmail.com

Giriş: Sinek larvalarının canlı insan ve hayvan dokularında ve vücut boşluklarında yerleşmesine miyaz denir. Bazı myiasis larvaları canlı dokularla beslenirken, bazı miyasis larvaları ölü dokularla beslenir. İnsan miyazisi genellikle kutanöz, oral, oküler, nazal, ürogenital ve gastrointestinal miyaz gibi istila edilen bölgeye göre sınıflandırılır.

Olgu: Olgumuz 31 yaşında erkek bir hastadır. Bahçede şeftali topladığı sırada ansızın boğazında gıcıklanma ve devamlı olan bir öksürüğün başladığını belirtmiştir. Hasta, hemen hastaneye başvuruyor ve Avil ampul 1x1, Dekort ampul 1x1 yapıldıktan sonra rahatladığını bildirmektedir. Hasta o akşam şeftali ile uğraştığını, öksürük, burun akıntısı, göz yaşarması ve öksürüğün geçmediğini ifade etmiştir. Covid-19 semptomları benzer olduğunu düşünerek covid-19 testi yaptırıyor ve sonuç negatif çıkmıştır. Hasta o gün covid-19 aşısını olduğunu (mRNA aşı) ve semptomların azaldığını ama tamamen geçmediğini bildirmiştir. Hasta tekrar ikinci kez covid-19 testi yaptırıyor ve sonuç negatif çıkmıştır. Hastanın ilk semptomları başladıktan 5-6 gün sonra semptomlarının hemen hemen tamamının geçtiğini ifade etmiştir. Hastanın ilk semptomlarından 1 hafta sonra tekrar şeftali ile temas ettiği ve boğaz gıcıklanması, göz yaşarması, hapşırma, öksürme şikayetleri tekrar başlamıştır. Hasta şeftaliye karşı alerjisinin yeni gelişmiş olabileceğini düşünüyor ve şikayetlerinin çok daha şiddetli olduğunu ifade etmiştir. Hasta aralıklı olarak burnunun içine bir şey kaçmış gibi bir şeylerin hareket ettiğini belirtmiştir. Hasta aralıklı olarak iv antihistaminik yaptırdığını ancak etkisinin çok kısa sürdüğünü gözlemlemiştir. Semptomlarının şiddeti günden güne ve gün içinde değişiklik gösterdiğini ifade etmiştir. Hastanın öksürüklerinin arttığı 2 gün burun kanamaları gözlenmiştir. Hastanın bir akşam elma yerken şikayetlerinde artış olduğunu ve daha sonra burnunu temizlemek için lavaboya gittiğinde lavaboda meyve kurduna benzer bir şey gördüğünü, kurdun meyveden eline çıkıp lavaboda elinden düştüğünü düşünmüş olup, o akşam semptomları neredeyse tamamen geçtiğini belirtmiştir. İzleyen günde semptomları tekrar başlayınca hastaneye başvurmuş, alerjik bir akıntısının olduğu ifade edilerek, antihistaminik kullanması önerilmiştir. Hasta 3-4 gün kullandıktan sonra semptomlarının azalmadığı için ilacını aralıklı kullanmaya başlamıştır. Hasta, şikayetlerinin arttığı bir akşam burun temizliği yaptığı sırada küçük meyve kurduna benzer bir şeyin olduğunu görmüştür. Hasta, kurt benzeri numuneyi bir kap içerisinde Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Hastanesi Parazitoloji laboratuvarına ulaştırmıştır.

Bulgular: Parazitoloji laboratuvarına getirilen larva makroskobik olarak değerlendirildiğinde beyaz renkte yaklaşık 0,8-1 mm büyüklüğünde olduğu tespit edildi. Mikroskobik inceleme sonucunda *Oestrus ovis* 1. evre larva olduğu tanısı konuldu. Larvanın 11 segmentten oluştuğu ve iki ağız

çengelinin mevcut olduğu tespit edilmiştir. Posterior'unda iki adet "D" harfi şeklinde stigma mevcuttur. Hasta'dan ikinci larvanın çıkması ile semptomlar ortadan kaybolmuştur.

Sonuç: *Oestrus ovis*'in sebep olduğu nasal miyasis semptomları SARS-CoV-2 salgınına benzer semptomlar göstermesi bakımından hastanın covid-19 testi yaptırmasına sebep olmuştur. Bu çalışma ile bölgede *O. ovis* kaynaklı miyaz olgusu bildirilmiş olup covid-19 tanısı gibi nazal örnekleme gerektiren durumlarda miyazis vakalarının akılda bulundurulması, miyaz tablosunun kötüleşmesini önleyecektir.

Anahtar Kelimeler: Nasal miyazis, *Oestrus ovis*, Covid-19, alerjik semptomlar, İnsan

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07 **SB54** ***13 Ekim 2021 – 18:00-19:30***
Salon A

Nadir Nazo- Oftalmik Myazis: Olgu Sunumu

Oktay ALVER[1], Derya DOĞANAY[2], Selim DOĞANAY[3], Hakan COŞKUN[4]

[1]Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, BURSA; [2]Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, BURSA; [3]Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları AD, BURSA; [4]Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları AD, BURSA

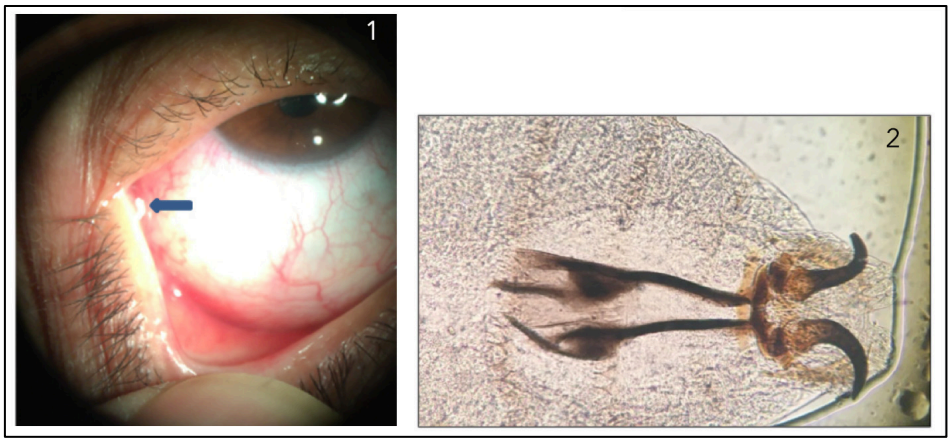
E-mail: oktayalver@uludag.edu.tr

Amaç: *Oestrus ovis* koyunların burun boşlukları ve frontal sinüslerin zorunlu parazitidir ancak insanlarda enfestasyona neden olabilmektedir. *O. ovis* insanda sıklıkla deride yerleşim gösterirken nadir olarak gözler, burun boşlukları, paranazal sinüsler ve ürogenital sistemde enfestasyona neden olabilmektedir. Larvanın yerleşimine göre eksternal ve internal oftalmomiyazis olmak üzere iki tipi vardır. Eksternal oftalmomiyazisde etken bulbar veya palpebral konjonktivada yerleşim gösterip hafif seyrederken internal oftalmomiyazis çok daha nadir olup larvaların göz küresini invaze etmesi sonucu ciddi görme kaybına neden olabilmektedir. Çalışmanın amacı özellikle hayvancılığın yaygın olduğu yerlerde benzer durumla karşılaşıldığında; gerek tanı gerek se tedaviye yönelik ne yapılacağı konusunda farkındalığı artırmaktır.

Yöntem: Bu çalışmada, Göz Hastalıkları polikliniğine başvurmadan iki gün önce evinde koyun yünü yıkama öyküsü sonrası sol gözünde hareketli cisim hissetmeye başladığını ifade eden ve sol gözünde batma, yanma, kızarıklık ve akıntı yakınmaları bulunan ellidört yaşında ev hanımı bayan hasta sunulmuştur. Olgunun oftalmolojik muayenesinde görme keskinliği incelendi, göz içi basınçları ölçüldü, fundus muayeneleri ve biyomikroskobik incelemeleri yapıldı. Topikal anestezik (proparakain hidroklorür %0,5) damla damlatılmasını takiben pamuk uçlu çubuk yardımı ile çıkartılan beş adet larva örnekleri inceleme için %70 alkol içerisine konularak Bursa Uludağ Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına gönderildi. Larva örnekleri serum fizyolojik damlatılıp lam lamel arasında ışık mikroskobunda incelendi.

Bulgular: Öyküsünde daha önceden geçirilmiş herhangi bir oküler problemi olmayan hastanın yapılan oftalmolojik muayenesinde görme keskinliği her iki gözde de düzeltmesiz tam, kornea iris lens doğaldı. Göz içi basınçları sağ gözde 13, sol gözde ise 15mm/Hg idi. Fundus muayenelerinde bilateral herhangi bir intraoküler organizma ya da inflamasyon bulgusuna rastlanmadı. Biyomikroskobik incelemede sağ göz normal, sol gözde konjunktiva hiperemik olarak izlenmekteydi. Aynı incelemede özellikle fornikslere doğru hareket eden gövdesi şeffaf, açık krem renkli uç kısımları siyah renkte olmak üzere çok sayıda larva görüldü (Şekil 1). Işık mikroskobunda incelemede larvaların hareketsiz, segmente, şeffaf ve ön bölümünde beyaz sefalofarenks iskelete bağlı iki adet çengel şeklinde keskin siyah çıkıntıları olduğu gözlendi ve *O. ovis* birinci evre larvaları olduğuna karar verildi (Şekil 2). Paranazal BT incelemesinde; sol ağırlıklı olmak üzere maksiller sinüs ve etmoid hücrelerde bilateral mukozal kalınlaşma, sol maksiller osteomda hafif derecede daralma, kemik yapı mukozal kalınlaşma bulguları saptandı. Sol göz 500 cc serum fizyolojik ile irrige edildi. Hastaya

tedavi olarak topikal antibiyotik ve steroidli (loteprednol etabonat+tobramisin) göz damlası (4x1, 10 gün) tedavisi verildi. Olgu verilen tedaviyi 3 gün kullandığını ancak klinik iyileşme olmadığını ifade ederek kullanmayı bıraktığını ifade etmiştir. Olgunun yakınları yaşadıkları yerde buna benzer bir durumla karşılaştıklarında halk arasında göz otu/ banotu/ gavurhaşhaşı [*Hyoscyamus niger* (*Solanaceae* ailesine ait)] adı verilen bitkinin kullanıldığını ve olumlu sonuç alındığını duyduklarını bildirmiştir (1). Çalışmamızda yardımcı araştırmacı olarak yer alan klinisyenlerin bilgisi olmaksızın olgunun yakınları göz otu/ banotu/ gavurhaşhaşını kaynar suya attıktan sonra buharını olguya inhale ettirerek aralıklı olarak toplam 11 larvanın burun deliğinden dışarı çıktığını ifade etmişlerdir. Tedavi sonrası olguda cerrahi navigasyon eşliğinde uygulanan açılı endoskopla bilateral nazal pasajda, maksiller sinüs, orta meada herhangi bir patoloji ve larva görülmedi.



Şekil 1. Alt kapak konjunktivasında gövdesi yarı şeffaf beyaz renkte *O. ovis* birinci evre larvası (siyah ok), biyomikroskopik görünüm; **Şekil 2**. *O. ovis* birinci evre larvası, ışık mikroskopunda görünüm

Sonuç: *Oestrus ovis* larvası dünyadaki en sık rastlanılan oftalmomiyazis etkenidir (2). Dünya üzerindeki koyunların yaygın dağılımına bağlı olarak, birçok ülkeden *O. ovis* ile ilgili eksternal oftalmomiyazis olgu ve raporları bildirilmiştir. Güney Asya, Ortadoğu ve Kuzey Afrika gibi az gelişmiş ülkeler ve kırsal alanlardan oldukça fazla sayıda olgu bildirilmektedir (3,4). Ülkemizden özellikle son yıllarda nadirde olsa eksternal oftalmomiyazis olguları bildirilmiş olmakla birlikte (2,5-10) sadece bir adet nazo-oftalmik miyazis olgusu (1) bildirilmiştir. Eyigör ve ark. yaptıkları çalışmada 33 yaşındaki erkek hastanın koyunla temasdan hemen sonra sağ gözde ve burunda ciddi yabancı cisim hissi, burunda akıntı ve öksürük yakınmaları ile kliniğe başvurduğunu belirtmiştir. Olgunun endoskopik muayenesinde ciddi nazal akıntısı ve ödem dışında anormallik bulunmamaktadaydı. Başlangıçta olguya alerjik rinit düşünülerek antihistaminik tedavi verilmiş. Oftalmolojik incelemede sağ gözde hareket eden larvaların görülmesiyle canaliculus inferiordan girilerek %50 Betadine solüsyonu ile nazolakrimal kanal irrigasyon yapılarak larvaların çıkarıldığı ifade edilmiştir. Araştırmacılar uygun antihistaminik tedaviye rağmen alerjik rinit bulgularının devam etmesi durumunda özellikle myazis yönünden riskli ortamlarda yaşayan kişilerde myazise yönelik dikkatli endoskopik incelemenin yapılması gerektiğini vurgulamışlardır. Koyun yünü teması olan olgumuz araştırmalarımıza göre ülkemizde nazo-oftalmik miyazis tanısı konulan ikinci olgudur. Olgunun verilen tedaviden yarar görmediğini ifade etmesi ve halk arasında göz otu/ banotu/ gavurhaşhaşı [*Hyoscyamus niger* (*Solanaceae* ailesine ait)] adı verilen bitkinin kullandığını ve olumlu sonuç alındığını bildirmesi kaydadeğer bulunmuş ve sözlü olarak sunulması kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Nazo- Oftalmik Myazis, Bursa, Türkiye

Kaynaklar

1. Eyigör H, Dost T, Dayanır V, Başak S, Eren H. Nazo-oftalmik miyazis: Olgu sunumu. Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg 2008;18(6):371-373.
2. İlhan A, Yolcu Ü, Gündoğan FÇ, Şen A, Akay F. Oftalmomiyazis eksterna: Olgu sunumu. TAF Prev Med Bull 2015;14(2):177-180.
3. Dunbar J, Cooper B, Hodgetts T. External ophthalmomyiasis due to Oestrus ovis in southern Afghanistan. Clin Infect Dis. 2008;46:e124-6.
4. Abdellatif MZ, Elmazar HM, Essa AB. Oestrus ovis as a cause of red eye in Aljabal Algharbi, Libya. Middle East Afr J Ophthalmol. 2011;18:305-8.
5. Dadaci Z, Saracligil B, Macin S. Oestrus Ovis'in Neden Olduğu Eksternal Oftalmomiyazis. Selcuk Med J 2020;36(1): 51-53.
6. Ozyol P, Ozyol E, Sankur F. External ophthalmomyiasis: a case series and review of ophthalmomyiasis in Turkey. Int Ophthalmol (2016) 36:887–891.
7. Kunduracı MS, Kutlutürk I, Duman GT, Polat E. Eksternal Oftalmomiyazis: Bir Olgu Sunumu. Turkiye Parazitol Derg 2020;44(4):261-3.
8. Sundu C, Dinç E, Kurtulus UC, Yıldırım Ö. Ophthalmomyiasis Externa: A Report of Three Cases. Turk J Ophthalmol 2015; 45: 220-222.
9. Yar K, Özcan AA, Koltaş İS. Oftalmomiyazis Eksterna: Olgu Sunumları. Turkiye Parazitol Derg 2011; 35: 224-6.
10. Akcakaya AA, Sargın F, Aslan Zİ, Sevimli N, Sadigov F. İstanbul'da Bir Hastada Gözlenen Oftalmomiyazis Eksterna Vakası. Turkiye Parazitol Derg 2014; 38: 205-7.

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07 **SB55** ***13 Ekim 2021 – 18:00-19:30***
Salon A

Anisakidosis in Turkey: Serological Survey and Risk for Humans

Eylem Akdur OZTURK[1], Fatma İrvasa BILGIÇ[2], Alessandra LUDOVISI[3], Okan GULBAHAR[4], Derya Dirim ERDOGAN[5], Metin KORKMAZ[5], Maria Ángeles GÓMEZ MORALES[3]

[1]Department of Medical Parasitology, School of Medicine, Çukurova University, ADANA TURKEY; [2]Department of Medical Parasitology, School of Medicine, Izmir Katip Celebi University, IZMIR, TURKEY; [3]Department of Infectious Diseases, Istituto Superiore di Sanità, Roma ITALY; [4]Division of Allergy and Immunology, Department of Internal Medicine, Ege University Faculty of Medicine, IZMIR, TURKEY; [5]Department of Medical Parasitology, School of Medicine, Ege University, IZMIR, TURKEY

E-mail: akdureylem@gmail.com

Background: Anisakidosis is a zoonotic human fishborne parasitic disease caused by accidental ingestion of anisakid third-stage larvae (L3) of members of the Anisakidae family present in infected marine fish or cephalopods. Infection with anisakid larvae can lead to gastric, intestinal, extra-gastrointestinal and gastroallergic forms of the disease. Anisakid parasites has been reported in almost all seas, particularly in the Mediterranean Sea. There is a remarkably high level of risk exposure to these zoonotic parasites as they are present in major European economically and ecologically important fish. Anisakid L3 larvae have been also detected in several fish species from the Aegean Sea. Although it is accepted both the presence of anisakid parasites in fish and fishery products in Turkey and the presence of Turkish people with allergic manifestations after fish consumption, there are no reports of human anisakidosis in this country. Given the high prevalence of anisakid parasites in the country, the absence of reports is likely not due to the absence of clinical cases rather to the unavailability of diagnostic tools and the low awareness of the presence of this infection.

Objective: The aim of the study was to set up an IgE-Western Blot (WB) based test to detect the anisakidosis sensitization among Turkish people with history of allergic manifestation related to fish consumption.

Methods: To this end, crude worm antigens (CWA) and allergen enriched fraction (50-66%) were prepared from L3 of A. simplex (s.l.) collected from Lepidopus caudatus fished in the Mediterranean Sea. These proteins were electrophoretically separated and transferred into the nitrocellulose membranes. By WB, specific proteins recognized by positive control serum samples from sensitized patients were visualized on nitrocellulose membranes by a colorimetric reaction. The CWA and 50–66% fraction showed specific bands, mainly due to Ani s 1 (20-22 kD) and Ani s 4 (9-10 kD). So far, a total of 8 serum samples from people with allergic manifestation and positive skin prick test (SPT) after fish consumption, have been tested by WB.

Results: all of 8 serum samples resulted negative by WB, indicating the lack of sensitization to anisakids.

Conclusions: This preliminary study allowed to set up a specific test and evidence the lack of correlation between both tests, SPT and WB. However, the sample size should be increased to estimate the anisakidosis burdenin Turkish people.

Anahtar Kelimeler: Anisakidosis, Fish parasite, Serodiagnosis, Turkey

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 07 **SB56** ***13 Ekim 2021 – 18:00-19:30***
Salon A

Evaluation of the Diagnostic Performance of Multi-epitope Recombinant Antigen DIPOL and Hydatid Fluid in Serodiagnosis of Patients with Cystic Echinococcosis According to Clinical Variables

Eylem Akdur OZTURK[1*], Raúl Manzano-ROMÁN[2], Carlos Sánchez-OVEJERO[2], Ayse CANER[1], Ülkü KARAMAN[3], Nuray ALTINTAS[4], Adriano CASULLI[5], Nazmiye ALTINTAS[1], Mar Siles-LUCAS[2], Aysegul UNVER[1]

[1]Ege University, Faculty of Medicine, Department of Parasitology, IZMIR, TURKEY; [2]Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca (IRNASA-CSIC), SALAMANCA, SPAIN; [3]Ordu University, Faculty of Medicine, Department of Parasitology, ORDU, TURKEY; [4]Manisa Celal Bayar University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, MANISA, TURKEY: [5]European Reference Laboratory for Parasites (EURLP), Istituto Superiore di Sanità, ROME, ITALY

*present address: Çukurova University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, ADANA, TURKEY

E-mail: akdureylem@gmail.com

Objective: Clinical findings and imaging technics supported by serology is a standard approach in the diagnosis of Cystic Echinococcosis (CE). The use of antigens containing multiple immunodominant epitopes instead of single antigens in serological diagnosis has been reported to have the potential to improve diagnostic performance in CE as a complementary test to clarify inconclusive imaging dataThe aim of this study was to comparatively evaluate the diagnostic value of HF and the recently described recombinant multi-epitope antigen with the Glutathione-S-Transferase (GST) tag (DIPOL) in CE patients, and to evaluate potential associations between the serological results and clinical variables.

Methods: Here we comparatively evaluated the diagnostic performance of recDipol and HF using the IgG-ELISA method in serum samples from 149 CE patients who had undergone surgery or Percutaneous-Aspiration-Injection-Respiratory (PAIR) procedures. In addition, serum samples of patients with other parasitic infections (n=49) and of 21 healthy individuals were tested by IgG-ELISA using both antigens.

Results: Overall sensitivity of HF(82.55%) was higher than DIPOL (78.52%). While the sensitivity of HF was higher than DIPOL in active and transitional cysts (83.3% vs. 75.4%), sensitivity in inactive cysts was higher for DIPOL (95.6%) than for HF (78.3%). Differences in the sensitivity of DIPOL regarding cyst stage were statistically significant (P: 0.041). Seropositivity rate of patients with more than one cyst were higher aganist both antigens than patients with single cysts. In terms of specificity, DIPOL showed better diagnostic performance (97.71%) than HF (91.43%). The cross reactivity was observed in four alveolar echinococcosis serum samples with HF while DIPOL showed no cross-reactivity with those serum samples.

Conclusion: The overall diagnostic performance of DIPOL in terms of sensitivity showed very similar to HF for CE patients. It was seen that Dipol has a very high (95.65%) sensitivity in the diagnosis of inactive cysts. It has been interpreted that the use of this antigen together with imaging methods can

help to decide on the 'Watch and Wait' method by distinguishing passive cysts without the need for surgical or medical treatment. The sensitivity of DIPOL in inactive cysts and its high specificity postulates this recombinant antigen as a potential substitute of the HF for the serodiagnosis of CE as a confirmatory tool.

Anahtar Kelimeler: *Echinococcus granulosus*; Enzyme Linked Immunosorbent Assay; multi-epitope recombinant antigen DIPOL; serodiagnosis.

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08 *14 Ekim 2021 – 11:30 – 12:30*

Oturum Başkanları:
Meral AYDENİZÖZ / İ. Cüneyt BALCIOĞLU

SB57. Toxoplasma gondii RE ve B1 genlerini hedefleyen kolorimetrik LAMP testlerinin geliştirilmesi ve PCR ile doğrulanmış kedi dışkı DNA örneklerinde performanslarının karşılaştırılması
Muhammet KARAKAVUK, Hüseyin CAN, Tuğba KARAKAVUK, Aytül GÜL, Sedef ERKUNT ALAK, Ceren GÜL, Cemal ÜN, Adnan Yüksel GÜRÜZ, Mert DÖŞKAYA, Aysu DEĞİRMENCİ DÖŞKAYA

SB58. Ceylanpınar'da Sığırlarda *Theileria annulata* ve *Theileria buffeli/orientalis*'in Multipleks PCR ile Araştırılması
Meral AYDENİZÖZ, Sami GÖKPINAR, Erhan İÇÖZ

SB59. *Leishmania major* ile Deneysel Olarak Enfekte Edilen Balb/c farelerde IL-4, IL-10, TNF-α ve IFN-γ Düzeylerinin Araştırılması
Meral AYDENİZÖZ, Oğuz KUL, Aycan N. GAZYAĞCI, Sami GÖKPINAR, Tuğçe SÜMER

SB60. Köpeklerde Leishmaniasisin Hızlı Tanı Kiti, IFAT ve qPCR ile Karşılaştırılmalı Tanısı
Gökmen Zafer PEKMEZCİ, Alparslan YILDIRIM, Didem PEKMEZCİ, Yusuf ÖZBEL, Önder DÜZLÜ, Seray TÖZ, Arif ÇİLOĞLU, Emrah ŞİMŞEK, Zuhal ÖNDER, Osman İBİŞ, Sadullah USLUĞ, Zeynep Nurselin ÇOLAK, Gupse KARADEMİR, Gamze ÖZKILIÇ, Abdullah İNCİ

SB61. Köpeklerde Bağırsak Parazitlerinin Yaygınlığı ve Halk Sağlığı Açısından Önemi
Gizem ÜNAL, **Sami GÖKPINAR**

SB62. Evaluation of Molecular Characterization and Phylogeny for Quantification of *Acanthamoeba* and *Naegleria fowleri* in Various Water Sources, Turkey
Mehmet AYKUR, Hande DAĞCI

SB63. *Acanthamoeba*'nın Hızlı Tespiti İçin 18S rRNA Genine Özgü Hızlı Döngü Aracılı İzotermal Amplifikasyon (LAMP) Testinin Geliştirilmesi ve Hassasiyetinin Belirlenmesi
Mehmet AYKUR, Muhammet KARAKAVUK, Mesut AKIL, Hüseyin CAN, Adnan Yüksel GÜRÜZ, Hande DAĞCI, Mert DÖŞKAYA

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08 **SB57** ***14 Ekim 2021 – 11:30-12:30***

Toxoplasma gondii RE ve B1 Genlerini Hedefleyen Kolorimetrik LAMP Testlerinin Geliştirilmesi ve PCR ile Doğrulanmış Kedi Dışkı DNA Örneklerinde Performanslarının Karşılaştırılması

Muhammet KARAKAVUK[1,2], Hüseyin CAN[2,3], Tuğba KARAKAVUK[4], Aytül GÜL[5], Sedef ERKUNT ALAK[3], Ceren GÜL[4], Cemal ÜN[2,3], Adnan Yüksel GÜRÜZ[2,6], Mert DÖŞKAYA[2,6], Aysu DEĞİRMENCİ DÖŞKAYA[2,6]

[1]Ege Üniversitesi Ödemiş Meslek Yüksekokulu, Laborant ve Veteriner Sağlık Bölümü, İZMİR; [2]Ege Üniversitesi Aşı Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi, İZMİR; [3]Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik AD, İZMİR; [4]Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji AD, İZMİR; [5]Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik AD, İZMİR; [6]Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD, İZMİR;

E-mail: mkarakavuk@gmail.com

Amaç: *Toxoplasma gondii*, tüm memelileri ve kuşları enfekte eden zorunlu bir protozoon parazitidir. Kedigiller, *T. gondii*'nin kesin konağı olup milyonlarca enfektif ookisti dışkıları ile yayarak toksoplazmozun bulaşmasında çok önemli bir role sahiptir. Kediler, toksoplazmoz epidemiyolojisinde önemli bir rol oynadığından, enfekte olmuş kedilerin hızlı ve doğru teşhisi son derece önemlidir. Bu çalışmanın amacı, *T. gondii* RE ve B1 genini hedefleyen kolorimetrik LAMP testlerinin geliştirilmesi ve iyi karakterize edilmiş kedi dışkısı örnekleri ile duyarlılık ve özgüllüklerinin değerlendirilmesidir.

Yöntem: Bu amaçla RE ve B1 genini hedef alan kontrol plazmitleri oluşturulmuş ve kolorimetrik LAMP RE ve B1 testlerinin analitik duyarlılığı belirlenmiştir. PCR ile doğrulanmış *T. gondii* pozitif kedi dışkısı DNA örnekleri kullanarak kolorimetrik LAMP RE ve B1 testlerinin klinik duyarlılığı belirlenmiştir.

Bulgular: Kolorimetrik LAMP RE ve B1 testlerinin analitik duyarlılığı 1 kopya plazmit/reaksiyon olarak bulunmuştur. Referans test olarak real-time PCR alındığında, kolorimetrik RE LAMP testinin duyarlılığı %100, özgüllüğü %100, kolorimetrik B1 LAMP testinin ise duyarlılığı %97,6, özgüllüğü %100 olarak tespit edilmiştir.

Sonuç: Bu çalışmada geliştirilen kolorimetrik LAMP B1 ve RE testlerinin, yüksek hassasiyete sahip olmaları, deneyimli personel gerektirmemeleri, temel laboratuvarlarda yapılabilmesi ve saha koşullarında uygulanabilmeleri nedeniyle *T. gondii* tanısında avantaj sağlayabileceği ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: B1 geni, LAMP, RE, Rt-PCR, *Toxoplasma gondii*

Teşekkür: Bu çalışma Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinatörlüğü tarafından TGA-2020-22182 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Ceylanpınar'da Sığırlarda *Theileria annulata* ve *Theileria buffeli/orientalis*'in Multipleks PCR ile Araştırılması

Meral AYDENİZÖZ[1], Sami GÖKPINAR[1], Erhan İÇÖZ[2]

[1]Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KIRIKKALE;
[2]Veteriner Hekim, Ceylanpınar, ŞANLIURFA

E-mail: meralaydenizoz@hotmail.com

Amaç: Bu çalışma, Şanlıurfa Ceylanpınar yöresindeki sığırlarda, *Theileria* spp.'nin varlığı ve yaygınlığını, hastalığa neden olan türlerin multipleks PCR ile tespit edilmesi amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Bu araştırmada bir yaş üzeri 100 adet sığırın vena jugularislerinden tekniğine uygun olarak EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri DNA ekstraksiyonu yapılıncaya kadar -20 o C'de saklanmıştır. Kan örneklerinden DNA ekstraksiyonu, uygun ticari nükleik asit ekstraksiyon kiti ile önerilen prosedür uygulanarak yapılmıştır. DNA örneklerine *T. annulata* ve *T. buffeli/orientalis*'in varlığının eş zamanlı olarak teşhisi için multipleks PCR işlemi uygulanmıştır.

Bulgular: Sığırların 78'i (%78) pozitif bulunmuştur. İncelenen sığırların %5'inde *T. buffeli/orientalis*, %73'ünde *Theileria annulata*, %22'sinde negatiflik tespit edilmiştir. Enfekte hayvanların %6,41'inde *T. buffeli/orientalis*, %93,59'unda *T. annulata*'ya rastlanmıştır. Miks enfeksiyona rastlanılmamıştır.

Sonuç: Bu çalışma ile Ceylanpınar yöresinde sığırlarda Theileriosisin varlığı, yayılışı ve etken türün *T. annulata* ve *T. buffeli/orientalis*'in bulunduğu ve miks enfeksiyona rastlanılmadığı belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Ceylanpınar, multipleks PCR, sığır, *T. annulata, T. buffeli/orientalis*

"Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 2018/019"

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08 **SB59** ***14 Ekim 2021 – 11:30-12:30***

Leishmania major ile Deneysel Olarak Enfekte Edilen Balb/c Farelerde IL-4, IL-10, TNF-α ve IFN-γ Düzeylerinin Araştırılması

Meral AYDENİZÖZ[1], Oğuz KUL[2], Aycan N. GAZYAĞCI[1], Sami GÖKPINAR[1], Tuğçe SÜMER[2]

[1]Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KIRIKKALE;
[2]Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji AD, KIRIKKALE

E-mail: meralaydenizoz@hotmail.com

Amaç: Bu araştırmada *Leishmania major* ile deneysel olarak enfekte edilen BALB/c farelerde IL-4, IL-10, TNF-α ve IFN-γ düzeylerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada 28 adet BALB/c fare kullanılmıştır. Fareler ml de 10 8 oranında etken taşıyan süspansiyonun intraperitoneal olarak verilmesi ile enfekte edilmiştir. Fareler 7'şerli olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu hariç diğerleri enfekte edilmiştir. Grup 1'deki fareler (G1) 4. hafta, Grup 2'dekiler (G2) 6. hafta, Grup 3'ler (G3) ise 8. hafta ötenazi edilmiş, kan ve doku örnekleri toplanmıştır. Serumlarında ELISA ile IL-4, IL-10, TNF-α ve IFN-γ düzeylerine bakılmıştır.

Bulgular istatistiki olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca patolojik olarak deri ve dalaktaki parazit yoğunluğu ve IL-4, IL-10, TNF-α ve IFN-γ ekspresyonları immunohistokimyasal olarak tespit edilmiştir. Bulgular: IL-4 kontrol grubunda seviyesi yaklaşık 16,94 pg/dl iken, enfeksiyon süresi arttıkça ortalama IL-4'ün anlamlı düzeyde arttığı (G1 23.94, G2 64.55, G3 74.11 pg/dl) görülmüştür. Kontrol grubu ile G2 ve G3 arasında, yine G1 ile G2 ve G3 arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. IL-10 oranının enfeksiyon süresi uzadıkça giderek arttığı (kontrol grubu 54 pg/dl, G1 58, G2 87.9, G3 105 pg/dl) tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile G3 arasında ve yine G1 ile G3 arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. TNF-α oranı kontrol grubunda 1344 pg/dl düzeyindeyken G2'de ortalama 3093 pg/dl olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu ile G2 arasında ve yine G1 ve G2 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. IFN-γ en yüksek oranda kontrol grubunda (19.40 pg/dl), daha sonra sırasıyla G3, G2 ve G1'de (18.75, 18.18 ve 17.12 pg/dl) tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile enfekte fare grubları arasında anlamlı bir istatistiksel fark bulunmamıştır. Histopatolojik olarak; kontrol grubu dalak ve deri örnekleri normal yapı gösterirken, G1 farelerin deri örneklerinde hafif makrofaj infiltrasyonu ve hiperemiye, dalak örneklerinde ise Malpighi korpuskül hiperplazisi ve sinüzoidal makrofaj infiltrasyonlarına rastlanmıştır. G2 ve G3 farelerin deri örneklerinde; epidermis hücrelerinde vakuoler dejenerasyon, dermiste ise ödem ve hiperemi dikkati çekmiştir. G3'te bunlara ek olarak, ter ve yağ bezlerinde hiperplazi gözlemlenmiştir. G2 ve G3 dalak örneklerinde ise; sinuzoidlerde orta dereceden şiddetliye kadar değişen makrofaj infiltrasyonu, Malpighi korpuskül hiperplazisi ve multifokal hemorajilere rastlanmıştır. İmmunohistokimyasal olarak; tüm gruplarda IFN-γ immunopozitifliklerine epidermis epitel hücreleri ile dermal makrofaj sitoplazmalarında rastlanmıştır. IFN-γ ekspresyonlarının, sırasıyla kontrol, G1, G2 ve G3 farelerde yükseldiği gözlemlenmiştir. TNF-α immuno pozitifliklerine kontrol grubu ve G1'de hafif derecede, G2 ve G3'te orta derecede deride dermal makrofaj sitoplazmalarında ve epitel hücrelerinde rastlanmıştır. G2 ve G3 grubu farelerin dalaklarında ise Malpighi korpuskülü ile sinusoidal makrofajlarda immunpozitiflikler bulunmuştur.

Dalakta, IL-4 ve IL-10 ekspresyonları bakımından gruplar arasında bir fark gözlemlenmezken, deride dermal epitel hücrelerinde, sırasıyla kontrol grubundan G3'e artan immunopozitif reaksiyonlara rastlanmıştır.

Sonuç: Bu bulgular ışığında *L. major* enfeksiyonu ve bu hastalığın ilerlemesi ile ortaya çıkan potansiyel klinik markırları kontrol etmek için immunolojikal amaçların identifikasyonunda kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Leishmania major*, BALB/c fare, IL-4, IL-10, TNF-α, IFN-γ, deneysel enfeksiyon.

"Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 2013/72"

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08 **SB60** ***14 Ekim 2021 – 11:30-12:30***

Köpeklerde Leishmaniasisin Hızlı Tanı Kiti, IFAT ve qPCR ile Karşılaştırılmalı Tanısı

Gökmen Zafer PEKMEZCİ[1], Alparslan YILDIRIM[2], Didem PEKMEZCİ[3], Yusuf ÖZBEL[4], Önder DÜZLÜ[2], Seray TÖZ[4], Arif ÇİLOĞLU[2], Emrah ŞİMŞEK[5], Zuhal ÖNDER[2], Osman İBİŞ[6], Sadullah USLU[2], Zeynep Nurselin ÇOLAK[3], Gupse KARADEMİR[2], Gamze ÖZKILIÇ[3], Abdullah İNCİ[2]

[1]Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, SAMSUN; [2]Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ; [3]Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları AD, SAMSUN; [4]Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD, İZMİR; [5]Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, KAYSERİ; [6]Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Hayvansal Biyoteknoloji AD, KAYSERİ

E-mail: zpekmezci@omu.edu.tr

Amaç: Dünya Sağlık Örgütü tarafından ihmal edilen tropikal hastalıklar grubunda sınıflandırılan leishmaniasis dünya çapında halk sağlığını önemli ölçüde tehdit eden zoonotik bir hastalık olup, ülkemizin birçok bölgesinde insanların ve köpeklerin sağlığını etkilemektedir. Hasta köpeklerin erken dönemde teşhisi ve tedavisi hastalığın yayılımının sınırlandırılması için oldukça önem arz etmekte olup, insan zoonotik visseral leishmaniasis'inin kontrolü için gerekli olan en önemli faktörlerden biridir. Bu kapsamda çalışmada Orta Karadeniz Bölgesi'nde leishmaniasis açısından klinik şüpheli ve sağlıklı görünümlü köpeklerde hastalığın teşhisi amacıyla antikor tabanlı hızlı tanı kiti, referans test olarak nitelenen IFAT ve moleküler yöntemlerden qPCR sonuçlarının karşılaştırması amaçlanmıştır. Ayrıca çalışmada qPCR'da pozitif belirlenen izolatların moleküler olarak tür teşhisleri de gerçekleştirilmiştir.

Yöntem: Çalışma kapsamında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi'ne rutin kontrol, teşhis ve tedavi amacıyla getirilen 15'inin leishmaniasis klinik bulguları gösterdiği toplam 168 köpek incelenmiştir. Serolojik teşhis yöntemleri için hayvanlardan alınan kan örneklerinden elde edilen serum örnekleri kullanılmıştır. Moleküler teşhis için her hayvanın konjuktivasından steril swap örnekleri alınmıştır. Swap örneklerinden ticari kitlerle genomik DNA (gDNA) ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Serum örnekleri antikor tabanlı hızlı tanı kitinde işlenerek oluşan referans bant profillerine göre sonuçlar kaydedilmiştir. IFAT yöntemi için *Leishmania infantum* promastigotları %20 FBS'li RPMI 1640 medyumunda çoğaltılarak uygun konsantrasyonda 12 gözlü lamların kuyucuklarına kaplanmıştır. Serum örneklerinin 1/64–1/512 dilüsyonları hazırlanarak kuyucuklara eklenmiş ve inkübasyon periyodundan sonra Goat anti-canine IgG (H+L), FITC konjugatıyla muamele edilmiştir. İnkübasyon periodunun tamamlanmasını takiben lamlar uygun lamellerle kapatılarak floresan ataçmanlı ışık mikroskobunda incelenmiş ve pozitiflikler değerlendirilmiştir. gDNA ekstraktlarında *Leishmania* DNA'sının araştırılmasında *Leishmania* kinetoplast DNA'sını spesifik olarak çoğaltan primer ve probla qPCR analizleri gerçekleştirilmiş ve sonuçlar kaydedilmiştir. qPCR pozitif belirlenen izolatların HSP70 ve mt-cytb gen bölgeleri genel

primerlerle amplifiye edilmiş ve jel pürifiye edilen PCR ürünleri Sanger sekanslama platformunda dizileme analizine tabii tutulmuştur. Elde edilen ileri ve geri yönlü DNA dizileri biyoinformatik programlar kullanılarak birleştirilmiştir. İzolatlara ait birleştirilmiş sekansların tür teşhisleri GenBank veri tabanındaki referans izolatlar bazında Blast algoritması kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Çalışmada incelenen toplam 168 köpeğin 66'sı hızlı tanı kiti, 54'ü IFAT ve 36'sı da qPCR analizlerinde pozitif belirlenmiştir. Klinik tablo sergileyen 15 köpeğin tamamı her üç yöntemle de pozitif bulunmuştur. Serolojik yöntemlerden IFAT ile pozitif belirlenen 6 köpek, hızlı tanı kiti ile negatif belirlenirken; hızlı tanı kiti ile pozitif saptanan 18 köpek, IFAT ile negatif değerlendirilmiştir. IFAT ile pozitif belirlenen 21 köpeğin qPCR analizlerinde negatif olduğu, qPCR pozitif 3 hayvanın ise serolojik yöntemlerle negatif sonuç verdiği tespit edilmiştir. Yapılan korelasyon analizinde hızlı tanı kiti ve IFAT arasında %69,9, hızlı tanı kiti ve qPCR arasında %61,5 ve IFAT ile qPCR arasında %71,8 uyum saptanmıştır. qPCR pozitif belirlenen örneklere ait gDNA izolatlarının HSP70 ve cytb amplikonlarının sekans analizleri sonucu köpeklerde yaygınlık gösteren *Leishmania* türünün *L. infantum* olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: TÜBİTAK ve Tunus Yüksek Öğretim Bilimsel Araştırma ve Teknoloji Bakanlığı (SERST) ikili iş birliği programı çerçevesinde yürütülen ve 119O732 kodla desteklenen bu çalışma ile leishmaniasis'in tanısında yaygın olarak kullanılan serolojik yöntemlerle özgünlüğü yüksek olan qPCR yönteminin teşhis etkinlikleri ve uyumları değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar IFAT ve qPCR yöntemlerinin bir arada kullanılması ile leishmaniasis'in duyarlı ve özgün tanısının sağlanabileceğini göstermiştir. Çalışma sonuçları ayrıca yörede zoonotik canine leishmaniasis'ten sorumlu türün *L. infantum* olduğuna dair kanıtlar sağlamıştır.

Anahtar Kelimeler: Leishmaniasis, köpek, hızlı tanı kiti, IFAT, qPCR, korelasyon

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08 **SB61** ***14 Ekim 2021 – 11:30-12:30***

Köpeklerde Bağırsak Parazitlerinin Yaygınlığı ve Halk Sağlığı Açısından Önemi

Gizem ÜNAL[1], **Sami GÖKPINAR[2]**

[1]Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji AD, KIRIKKALE;
[2]Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, KIRIKKALE

E-mail: samigokpinar@hotmail.com

Özet Amaç: Kırıkkale ve Ankara'daki hayvan barınaklarında bakılan, veteriner klinikleri ve hayvan hastanelerine kontrol ve tedavi amacıyla getirilen sahipli ve sahipsiz köpeklerden toplanan dışkı örneklerinin mide-bağırsak parazitleri yönünden incelenmesi ve sonuçların halk sağlığı yönünden değerlendirilmesidir.

Yöntem: Çalışmada 200 köpekten dışkı örneği alınmıştır. Toplanan dışkı örnekleri makroskobik ve mikroskobik olarak değerlendirilmiştir. Mikroskobik muayene için dışkılara zenginleştirme metodlarından Fülleborn Flotasyon ve Benedek Sedimentasyon Tekniği uygulanmıştır. Dışkılar aynı zamanda protozoon trofozoit ve kist varlığı yönünden Giemsa boyama, *Cryptosporidium* spp. ookistlerinin varlığı yönünden Karbol-Fuksin boyama yapılarak incelenmiştir.

Bulgular: İncelenen köpek dışkılarında helmintlerden *Toxocara canis* %18, *Toxascaris leonina* %9, *Taenia* spp. %0.5, *Ancylostoma* spp. %7.5, *Dipylidium caninum* %0.5, *Hymenolepis diminuta* %0.5, Fasciolid tip yumurta %1.5, protozoonlardan *Isospora* spp. %14.5, *Giardia* spp. %16.5, *Cryptosporidium* spp. %2 olarak tespit edilmiştir. Bunun dışında bir köpekte (%0.5) *Linguatula serrata* yumurtasına ve 4 köpekte (%2) erişkin *Demodex* spp.'ye rastlanmıştır.

Sonuç: Kırıkkale ve Ankara'da köpeklerde dışkı bakısına göre azımsanmayacak düzeyde parazit tespit edilmiştir. Bunların bir kısmının zoonoz olduğu göz önüne alındığında, sokak köpeklerinin yerel yönetimler tarafından barınaklara alınarak kontrolünün sağlanması gerek sahipli ve gerekse barınak köpeklerinde parazit tedavisi yapılmadan önce etkenin teşhis edilip, etkene yönelik tedavinin düzenli yapılması gerekmektedir. Veteriner Hekimler tarafından hayvan sahiplerinin paraziter ilaç uygulamaları hakkında bilgilendirilmesi, hayvan sahiplerinin rastgele ilaç kullanmalarının ve antiparaziter ilaçlara direnç gelişiminin önüne geçilmesi açısından önemli olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Köpek, parazit, zoonoz, Ankara, Kırıkkale

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08 **SB62** ***14 Ekim 2021 – 11:30-12:30***

Evaluation of Molecular Characterization and Phylogeny for Quantification of *Acanthamoeba* and *Naegleria fowleri* in Various Water Sources, Turkey

Mehmet AYKUR[1], Hande DAĞCI[2]

[1]Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Tokat Gaziosmanpasa University TOKAT;
[2]Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Ege University, Bornova, İZMİR

E-mail: mehmetaykur@gmail.com

Objective: Free-living amoeba (FLA) is widely distributed in the natural environment. Since these amoebae are widely found in various waters, they pose an important public health problem. The aim of this study was to detect the presence of *Acanthamoeba, B. mandrillaris*, and *N. fowleri* in various water resources by qPCR in Izmir, Turkey.

Methods: A total of 148 water samples were collected from places within the boundaries of Izmir that could pose a risk to people and where human contact was high. For culture and DNA isolation one liter of water sample was concentrated by filtration using a nitrocellulose membrane with a pore size of 0.22 µm. After filtration of each water sample, the half of the cut filter was placed in the center of 2% non-nutrient agar (NNA) plates. The qPCR was performed using DNA obtained from cultures and direct water filters. To genotype qPCR positive samples, conventional PCR was performed for *Acanthamoeba* spp. and *Naegleria* spp., with primers specific for 18S rRNA gene (JDP1-JDP2) and ITS region (FW2-RV2), respectively

Results: A total of (n=27) 18.24% *Acanthamoeba* and (n=4) 2.7% *N. fowleri* positives were detected in six different water sources using qPCR with ITS regions (ITS1) specific primers. The resulting concentrations varied in various water samples for Acanthamoeba in the range of 3.2x105-1.4x102 plasmid copies/l and for *N. fowleri* in the range of 8x103-11x102 plasmid copies/l. The highest concentration of Acanthamoeba and *N. fowleri* was found in seawater and damp samples respectively. All 27 Acanthamoeba isolates were identified in genotype level based on the 18S rRNA gene as T4 (51.85%), T5 (22.22%), T2 (14.81%) and T15 (11.11%). The four positive *N. fowleri* isolate was confirmed by sequencing the ITS1, ITS2 and 5.8S rRNA regions using specific primers. Four *N. fowleri* isolates were genotyped (three isolate as type 2 and one isolate as type 5) and detected for the first time from water sources in Turkey.

Conclusion: *Acanthamoeba* and *N. fowleri* genotypes found in many natural environments are straightly related to human populations to have pathogenic potentials that may pose a risk to human health. Public health professionals should raise awareness on this issue, and public awareness education should be provided by the assistance of civil authorities. To the best of our knowledge, this is the first study on the quantitative detection and distribution of Acanthamoeba and *N. fowleri* genotypes in various water sources in Turkey.

Anahtar Kelimeler: Water sources, Acanthamoeba genotypes, Naegleria fowleri, qPCR assay, Izmir, Turkey

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 08 **SB63** ***14 Ekim 2021 – 11:30-12:30***

Acanthamoeba'nın Hızlı Tespiti İçin 18S rRNA Genine Özgü Hızlı Döngü Aracılı İzotermal Amplifikasyon (LAMP) Testinin Geliştirilmesi ve Hassasiyetinin Belirlenmesi

Mehmet AYKUR[1], Muhammet KARAKAVUK[2,3], Mesut AKIL[4], Hüseyin CAN[5], Adnan Yüksel GÜRÜZ[3,6], Hande DAĞCI[6], Mert DÖŞKAYA[3,6]

[1]Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, TOKAT; [2]Ege Üniversitesi Ödemiş Meslek Yüksekokulu, Laborant ve Veteriner Sağlık Bölümü, İZMİR; [3]Ege Üniversitesi Aşı Geliştirme, Uygulama ve Araştırma Merkezi, İZMİR; [4]İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, İSTANBUL; [5]Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji AD, İZMİR; [6]Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, İZMİR

E-mail: mehmetaykur@gmail.com

Amaç: Serbest yaşayan amiplerden biri olan *Acanthamoeba*, başta su, toprak ve hava olmak üzere birçok çevresel örnekte tespit edilmiştir. Ayrıca cilt ülserleri, akciğer dokusu ve kornea gibi klinik örneklerden de izole edilmektedir. *Acanthamoeba*'nın neden olduğu en önemli klinik tablolar içinde Acanthamoeba keratiti ve granülomatöz amibik ensefalit bulunmaktadır. Bu çalışmada klinik ve çevresel örneklerde *Acanthamoeba*'nın varlığını daha hızlı bir şekilde saptamak için Acanthamoeba 18S rRNA gen bölgesine özgü primerler ile geliştirilen hızlı Döngü Aracılı İzotermal Amplifikasyon (LAMP) testinin geliştirilmesi ve hassasiyetinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Proteos pepton yeast ekstrakt glukoz (PYG) besiyerinde üretilmiş olan *Acanthamoeba castellaniii* T4 genotipi 200 µl'de 1x106 trofozoit olacak şekilde sulandırılıp DNA izolasyonu (Qiagen) yapılarak DNA miktarı Nano-Drop Spektrofotometre ile belirlenmiştir. Saflaştırılan DNA'lar 1000 pg'dan 0,001pg'a kadar seyreltilerek kolorimetrik (WarmStart® Colorimetric LAMP 2X Master Mix (DNA & RNA), New England Biolabs, NEB, ABD) ve floresan (WarmStart® Fluorescent LAMP/RT-LAMP Kit, NEB, ABD) tabanlı iki farklı LAMP reaksiyonu kullanılmıştır. LAMP reaksiyon karışımı 12,5 µl 2x reaksiyon karışımı tamponu, 0,5 µl floresan boya (sadece floresan kit için) her primer FIP (5'-TCCCTCTCCGGAATCGAACCCTCGATGGTAGGATAGAGGCC-3') ve BIP (5'-TTCTAAGGAAGGCAGCAGGCGTATTGTCACTACCTCCCCGT-3')'den 40 pmol, B3 (5'-CAAGACTCTTGTCGAGCGC-3') ve F3 (5'-GGCGACGATTCATTCAAAT-3')'ten 5 pmol, LF (5'-TCCGTTACCCGTTACGACCA-3') ve LB (5'-CGCAAATTACCCAATCCCGAC-3')'den 20 pmol olacak şekilde toplam 25 µl hacimde 63 °C'de 60 dk olacak şekilde inkübe edilmiştir. Negatif kontrol olarak moleküler su kullanılmıştır.

Bulgular: Geliştirilen testlerin hassasiyetinin saptanmasında PYG kültüründen elde edilen *Acanthamoeba* T4 genomik DNA'sının her bir reaksiyon için seri sulandırması yapılmış ve bu örnekler ile hem kolorimetrik hem de floresan tabanlı LAMP testlerinin hassasiyetin 1 pg genomik DNA/ reaksiyon olduğu tespit edilmiştir. Testlerin sonuçları %1'lik agoroz jelde ayrıca gösterilmiştir.

Sonuç: LAMP hedefi olan *Acanthamoeba*'nın 18S rRNA gen bölgesi tekrarlayan bir DNA parçası olup bu avantaja bağlı olarak LAMP testinin 1 pg genomik DNA saptama limitine sahip olduğu ortaya

konulmuştur. LAMP testinin kültür yöntemine göre daha hassas ve hızlı olmasının yanı sıra basit, ucuz ve yüksek hassasiyete sahip olması umut vericidir. LAMP testinin ileri laboratuvar ekipmanlarına gerek duymaması, tek bir ısıda çalışması ve saha koşullarına uygun olması geleneksel PCR yöntemlerine göre avantajıdır. Bu nedenle çevresel ve klinik örneklerin tanısında uygulanabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Acanthamoeba* T4, 18S rRNA geni, Hassasiyet, Kolorimetrik LAMP, Floresan LAMP

SALON A

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09 *14 Ekim 2021 – 11:30 – 12:30*

Oturum Başkanları:
Tülin KARAGENÇ / Ahmet DENİZ

SB64. Iğdır Aras Nehri Kuş Cenneti'nde göçmen kuşların bitleri (Phthiraptera: Amblycera, Ischnocera) üzerine bir araştırma
Ayşegül ÇOBAN, Bilal DİK, Beğüm ÇATALKAYA, Emrah ÇOBAN, Çağan ŞEKERCİOĞLU

SB65. Theileria annulata'nın Kenelere Aktarımını Engelleyebilecek Antijen Adaylarının in vivo İncelenmesi
Hakan KANLIOĞLU, Hüseyin Bilgin BİLGİÇ, Beril KOÇ, Metin PEKAĞIRBAŞ, Heycan Berk AYDIN, Selin HACILARLIOĞLU, Serkan BAKIRCI, Gülben İYİBİLİR, Tülin KARAGENÇ

SB66. Theileria annulata 'nın hücre kültürü pasajlarında atenüasyon düzeylerinin farklı markerlar ile incelenmesi
Beril KOÇ, Tülin KARAGENÇ, Selin HACILARLIOĞLU, Hakan KANLIOĞLU, Heycan AYDIN, Metin PEKAĞIRBAŞ, Serkan BAKIRCI, Hüseyin BİLGİÇ

SB67. Hypoderma bovis ve Oestrus ovis'in komple mitokondriyal genom karakterizasyonu ve filogenetik analizi
Zuhal ÖNDER, Mübeccel ATELGE, Alparslan YILDIRIM, Osman İBİŞ, Önder DÜZLÜ, Arif ÇİLOĞLU, Gamze YETİŞMİŞ, Gupse Kübra KARADEMİR, Sadullah USLUĞ, Abdullah İNCİ

SB68. Sığırlara Keneler ile Bulaştırılan Rickettsial Hastalıklar
Ozan Cem ŞİMŞEK, Meral AYDENİZÖZ

SB69. Aydın Bölgesi Bal Arılarında (*Apis mellifera*) *Nosema* spp.'nin Multipleks PCR ile Araştırılması
Metin PEKAĞIRBAŞ, Selin HACILARLIOĞLU, Hakan KANLIOĞLU, Heycan AYDIN, Beril KOÇ, Hüseyin Bilgin BİLGİÇ, Tülin KARAGENÇ, Serkan BAKIRCI

SB70. Toxoplasma gondii Takizoitlerinin Kriyoprezervasyon Protokol Performanslarının Değerlendirilmesi İçin Canlılık Testlerinin Optimize Edilmesi
Ayşe Nuriye VARIŞLI, Merve BİŞKİN TÜRKMEN, Hatice BORAN, Ömer VARIŞLI, Gülay ARAL AKARSU

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09 **SB64** ***14 Ekim 2021 – 11:30-12:30***
Salon A

Iğdır Aras Nehri Kuş Cenneti'nde Göçmen Kuşların Bitleri (Phthiraptera: Amblycera, Ischnocera) Üzerine Bir Araştırma

Ayşegül ÇOBAN[1], Bilal DİK[2], Emrah ÇOBAN[3], Beğüm ÇATALKAYA[4], Çağan Hakkı ŞEKERCİOĞLU[5,6]

1Iğdır Üniversitesi Tuzluca Meslek Yüksek Okulu, Karaağaç Kampüsü, IĞDIR; 2Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veterinerlik Parazitolojisi AD, KONYA; 3Kuzey Doğa Derneği, KARS; 4Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, BURDUR; 5Koç Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İSTANBUL; 6School of Biological Sciences, University of Utah, Salt Lake City, UT, USA

Amaç: Bu çalışma, Iğdır ilindeki göçmen kuşlardaki çiğneyici bitleri tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, Aras Kuş Halkalama İstasyonu'nda kuş halkalama çalışmaları sırasında yakalanan kuşlar bit yönünden incelenmiştir.

Yöntem: Bu çalışmada, 13 takımdaki 38 soyda yer alan 46 kuş türüne ait 97 kuş bit yönünden incelenmiştir. Özel sis ağlarıyla 2021 yılı ilkbahar-yaz göç döneminde yakalanan ve ayrı bez torbalarla halkalama istasyonuna getirilen, tür tayini yapılan ve bir küvete alınan kuşlar sentetik pretroidli bir insektisitle ilaçlanmıştır. Küvet tabanına düşen bitler %70'lik alkol içeren tüplere aktarılmış, %10'luk potasyum hidroksitte (KOH) 24 saat saydamlaştırıldıktan ve distile suda yıkandıktan sonra %70 ve %99 alkol serilerinden geçirilmiştir. Kanada Balsam ile lam üzerine yapıştırılan örnekler binoküler ışık mikroskobunda incelenerek teşhis edilmiştir.

Bulgular: Bu araştırmada incelenen 97 kuş örneğinin 34'ü (%35.05) bitlerle enfeste bulunmuş, 21 soya ait 13'ü Amblycera, 20'si Ischnocera olmak üzere 33 bit türü tespit edilmiştir.

Sonuç: Bu araştırma ile *Brueelia currucae* Bechet, 1961, *Brueelia fuscopleura* (Blagoveshchensky, 1951), *Degeeriella rufa* (Burmeister 1838), *Kurodaia fulvofasciata* (Piaget, 1880), *Myrsidea* spp. (ex *Delichon urbica*), *Philopterus coarctatus* (Scopoli, 1763), *Philopterus excisus* (Nitzch, 1818), *Philopterus picae* (Denny, 1842), *Philopterus* spp. (ex *Acrocephalus melanopogon*), *Philopterus* spp. (ex *Carpodocus erythrinus*), *Penenirmus* spp. (ex *Dendrocopus syriacus*), *Pseudomenopon qadrii* Eichler, 1952, *Ricinus serratus* (Durrant, 1906), *Rostrinirmus* (*Penenirmus*) *buresi* (Balát, 1958), *Strigiphilus tuleskovi* Balát, 1958 ve *Sturnidoecus pastoris* (Denny, 1842) Türkiye'den ilk defa bildirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Degeeriella, Philopterus, Pseudomenopon, Ricinus, Rostrinirmus, Strigiphilus, Sturnidoecus*

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09 **SB65** ***14 Ekim 2021 – 11:30-12:30***
Salon A

Theileria annulata'nın Kenelere Aktarımını Engelleyebilecek Antijen Adaylarının *in vivo* İncelenmesi

Hakan KANLIOĞLU[1,2], Hüseyin Bilgin BİLGİÇ[1], Beril KOÇ[1,2], Metin PEKAĞIRBAŞ[1], Heycan Berk AYDIN[1,2], Selin HACILARLIOĞLU[1], Serkan BAKIRCI[1], Gülben İYİBİLİR[3], Tülin KARAGENÇ[1]

[1]Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, AYDIN; [2]Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, AYDIN; [3]Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, AYDIN

E-mail: vet.hakan09@gmail.com

Amaç: Bu çalışmada, *Theileria annulata*'nın *Hyalomma* cinsi kenelere aktarımını engelleyebilme potansiyeli sahip olduğu belirlenen saklı antijen adaylarının (TA17050, TA20855, TA03640 ve TA10955) parazitin kenelere aktarılmasının önüne geçilebilmesindeki etkinliğinin *in vivo* deneyler ile araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Parazitin *Hyalomma* cinsi kenelere aktarımını engelleme potansiyeli olduğu yapılan biyoinformatik çalışmalar ile ortaya konmuş ve kenelerde parazitin belirli dönemlerinde ekspresyon seviyelerinin arttığı gözlenmiş olan TA17050, TA20855, TA03640 ve TA10955 gen bölgeleri (Lempereur ve ark. 2017) tarafından kodlanan proteinler Gateway klonlama sistemi (Thermo Fisher, Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılarak üretici firma tarafından tarif edildiği şekilde klonlanarak üretilmiştir. N-terminal bölgesinde 6xHis ile işaretli (His-tag) olarak eksprese edilen rekombinant proteinler Ni–agaroz (QIAGEN, Almanya) ile pürifiye edilmiş ve ihtiva ettikleri protein miktarları Bradford yöntemi ile belirlenmiştir. Bu amaçla, ilk olarak üretilen ve TA17050 gen bölgesi tarafından kodlanan Tams1 proteini "Montanide ISA 61 VG (SEPPIC, Fransa)" adjuvanı ile üretici firma tarafından önerilen oranlarda karıştırılarak homojen hale getirilmiş ve toplam üç hayvana subkutan olarak 21 gün arayla iki kez 500 µg dozda verilerek hayvanlar immunize edilmiştir. Bunun yanında, bir adet hayvana da kontrol amaçlı PBS + adjuvant karışımı enjekte edilmiştir. Tams1 rekombinant proteinine karşı gelişen bağışık yanıt düzeyi birinci doz aşının inokulasyonundan 21 gün ve ikinci doz aşılamadan 21 gün sonra (42. gün) alınan serum örnekleri kullanılarak western blot yöntemi ile belirlenmiştir. Proteine karşı immun yanıt oluşmasını takiben tüm hayvanlar (kontrol dahil) *T. annulata*/Ank279 sporozoite stabilatı ile enfekte edilmiştir. İmmunizasyon ve enfeksiyon boyunca hayvanların vücut ısıları kontrol edilmiş, kumpasla lenf ve enjeksiyon yerinin ölçümleri yapılmış, serum ve kan örnekleri alınarak tam kan analizleri ve parazitolojik muayeneleri gerçekleştirilmiştir. Enfeksiyonun gelişmesini takiben lenf yumrusu biyopsisinde ilk makroşizontun görüldüğü gün, her bir hayvanın kulağına konulan torbalara *Hyalomma excavatum* aç nimfleri konulmuştur. Akabinde immunizasyon ve kontrol grubundaki hayvanlardan düşen keneler toplanarak 12°C, %80 nemli etüvde gömlek değiştirmeleri sağlanmıştır. Daha sonra, kenelerin tükürük bezlerindeki enfeksiyon oranlarını tespit etmek amacıyla ilk olarak keneler uygun şekilde diseke edilerek tükrük bezleri ayrılmış ve sonrasında her keneye ait tükrük bezi metil green pyronin ile tekniğine uygun şekilde boyanarak, gen bölgelerinden üretilen rekombinant proteinlere karşı gelişen antikorların parazitin kenelere aktarılması üzerine etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır.

Bulgular: TA17050 genini kodlayan Tams1 proteinine karşı immun yanıtın oluşup oluşmadığını belirlemek için yapılan western blot analizlerinde, immunizasyon sonrasında Tams1 proteinine karşı güçlü bir immun yanıtın geliştiğini belirlenmiştir. Adjuvantla beraber PBS enjekte edilen kontrol grubunda ise Tams1 proteinine karşı gelişmiş bir immun yanıt tespit edilmemiştir. İmmunizasyon sonrasında hayvanların beden ısılarında ve tam kan değerlerinde önemli değişiklikler tespit edilmemiş, ancak enjeksiyon yerlerinde lokal reaksiyon gelişmiş ve şişkinlik oluşmuştur. İkinci enjeksiyon öncesinde azalan şişliklerin boyutu, ikinci enjeksiyon sonrasında ise tekrar büyüme gözlemlenmiştir. Bunun yanında, immunizasyon esnasında ve sonrasında bölgesel lenf yumrularında herhangi bir reaksiyon tespit edilmemiştir. Protein ile yapılan immunizasyon sonucu ilgili proteine karşı bağışık antikor yanıt geliştiren hayvanlar ile kontrol hayvanda parazite ait sporozoit stabilatı ile oluşturulan enfeksiyona karşı şiddetli klinik reaksiyon gözlenmiştir. Beden ısısı enfeksiyondan sonra 11 veya 12. günden itibaren yükselmeye başlamış, tüm hayvanlarda ateş, 39,5°C ve üzerine çıkmıştır. Yapılan lenf yumrusu biyopsilerinde enfeksiyondan sonraki 7-8. gün makroşizont ile enfekte ilk hücreler ve 12. gün ilk piroplasm tespit edilmiş ve hemotokrit değerinin düşmeye başladığı görülmüştür. Enfeksiyon sonrası 14 ve 20.nci günler arası hayvanların kulak torbalarına düşen *H. excavatum* doymuş nimfleri toplanmıştır. Her hayvandan düşen kenelerin ayrı ayrı diseksiyonları yapılarak metil pyronin ile boyanmıştır. Tams1 proteini ile immunize edilen hayvanların tükürük bezlerindeki enfeksiyon oranları sırasıyla %81,67, %75,36 , %77,34 , kontrol grubunda ise bu oran %82,72 olarak belirlenmiştir.

Sonuç: Yapılan analizler sonucunda, TA17050 gen bölgesi tarafından kodlanan Tams1 proteininin deney grubundaki hayvanlarda kontrol grubuna göre kene tükürük bezi asini hücrelerindeki enfeksiyon oranlarında göreceli bir azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir. TA03640, TA10955 ve TA20855 rekombinant proteinlere karşı yapılacak olan *in vivo* deneyler halen devam etmekte olup, enfeksiyon oranlarındaki azalmanın diğer rekombinant proteinlerle yapılacak deneyler sonrası karşılaştırılması yapılıp değerlendirilecektir. Yapılan deneyler sonrasında konak-patojen-kene arasındaki ilişkinin anlaşılmasıyla birlikte gelecekte kontrol stratejilerinin geliştirilmesine katkıda bulunulacaktır.

Anahtar Kelimeler: Aktarımın engellenmesi, aşı, korunma, *Theileria annulata*

Bu çalışma, Leap-Agri Avrupa-Afrika Ortak Çağrısı kapsamında TÜBİTAK tarafından 217O399 numaralı proje kapsamında desteklenmektedir.

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09 **SB66** ***14 Ekim 2021 – 11:30-12:30***
Salon A

Theileria annulata'nın Hücre Kültürü Pasajlarında Atenüasyon Düzeylerinin Farklı Markerlar ile İncelenmesi

Beril KOÇ[1,2], Tülin KARAGENÇ[1], Selin HACILARLIOĞLU[1], Hakan KANLIOĞLU[1,2], Heycan Berk AYDIN[1,2], Metin PEKAĞIRBAŞ[1], Serkan BAKIRCI[1], Hüseyin Bilgin BİLGİÇ[1]

[1]Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, AYDIN;
[2]Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, AYDIN

E-mail: berillkocc54@gmail.com

Amaç: Tropikal theileriosisten korunmada en etkili yöntemlerden bir aşılamadır. Aşılama denemeleri 1930'lu yıllarda başlamış ve bunu takiben 1960'lı yıllarda *Theileria annulata* şizontları ile enfekte sığır mononükleer hücrelerinin *in vitro* olarak canlılıklarını koruyabildiklerinin belirlenmesi parazite karşı atenüye, canlı aşıların geliştirilmesindeki en önemli basamağı oluşturmuştur. Atenüasyon, kültüre edilen canlı aşıların uzun süre belli aralıklarla hücre kültüründe pasajlanarak patojenitelerinin tamamem ve/veya büyük ölçüde kaybederek canlılarda herhangi bir enfeksiyon oluşturma riskinin esasına dayanmakta ve atenüasyon oranı yapılan pasaj sayısı ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Tam atenüasyon, kültüre edilen şizontların hayvanlarda parazitemi, klinik ve parazitolojik belirtilerinin görülmemesi ile şekillenmektedir. Yetersiz atenüasyon sonucunda aşının etkinliği ve güvenilirliği ile ilgili sorunlar oluşmaktadır. Son yıllarda, bölgesel aşıların atenüasyon düzeylerinin belirlenmesinde daha kolay sonuç alınabilir bir yöntem olarak *T. annulata*'ya özgü atenüasyon markerları ile atenüasyon düzeyini tespit edilmesi ön plana çıkmaktadır. Yapılan çalışmalar, histone deactylases (HDACs), ısı şok protein 90 (HSP90), MMP9, c-Jun ile Cd69, Icam-1, Cd49 ve Itgb5, Timp-3, Adam-19, Hrpt-1 gibi AP-1 hedef gen bölgelerinde meydana gelen ekspresyon seviyelerindeki farklılaşmaların markerlar kullanılarak tespit edilebileceği üzerine yoğunlaşmıştır.

Bu araştırmanın amacı, *T. annulata* ile enfekte hücre kültüründe düşük, orta ve yüksek pasajlı suşlar ile ile ticari aşı olan Teylovac'ın atenüasyon düzeylerinin *T. annulata*'ya özgü atenüasyon markerları kullanılarak yukarıda belirtilen hedef gen bölgelerindeki ekspresyon seviyelerindeki farklılaşmaların RT-PCR yöntemi ile tespit edilmesidir.

Yöntem: İlgili gen bölgelerinde düşük, orta ve yüksek pasajlı suşlar ile aşı olarak kullanılan izolatlardaki ekspresyon seviyelerindeki farklılaşmalar, reverse transcriptase PCR (RT-PCR) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. İlk olarak, *T. annulata*'nın farklı izolatlarına ait düşük, orta ve yüksek pasajlar ile aşı olarak kullanılan TeylovacTM (Vetal, Türkiye) ticari suşu *in vitro* olarak hücre kültüründe çoğaltılmıştır. Daha sonra, ml'sinde $2x10^7$ hücre bulunan her bir hücre kültüründen Pure Link RNA Mini Kit (İnvitrogen, Thermofisher, ABD) kullanılarak firma tarafından belirtildiği şekilde izole edilen RNA'lardan High Capacity RNA reverse transcriptase Kiti (Thermofisher, ABD) kullanılarak komplementer DNA (cDNA)'lar elde edilmiştir. Bu cDNA örnekleri, ilgili izolatlara ait

farklı pasajlardaki atenüasyon seviyelerinin belirlenmesi amacıyla her gen bölgesine özgü primeler kullanılarak yapılan RT-PZR yönteminde kullanılmıştır. RT-PZR ile çoğaltılan ürünler agaroz elektroforeze tabi tutulmuş ve takiben UV ışık altında görüntülenip ekspresyon seviyeleri arasındaki farklılıklar analiz programı kullanılarak ölçülmüştür.

Bulgular: Yapılan analizler sonucunda, HDAC gen bölgesinde *T. annulata*/Cincin izolatı dışındaki izolatlarda pasaj sayısı arttıkça eskpresyon seviyesinin azaldığı belirlenmiştir. HRPT-1 gen bölgesinde *T. annulata*/Acarlar izolatında pasaj sayısıyla ters orantılı olarak ekspresyon seviyesi azalmış ve diğer izolatlarda düzensiz bir ekspresyon gözlenmiştir. TIMP-3 geninde *T. annulata*/Acarlar izolatında pasaj sayısı arttıkça ekspresyon seviyesi azalmış olup, Cincin ve Ankara izolatlarının yalnızca düşük pasajında eksprese edilmiştir. HDAC gen bölgesinde *T. annualata*/Cincin izolatının düşük pasajında eksprese edilememiştir. *T. annulata*/ Pendik izolatının yüksek pasajı hariç, kalan tüm izolatlarda pasaj sayısı arttıkça eskpresyon seviyesinin azaldığı belirlenmiştir.

Sonuç: *Theileria annulata*'ya ait farklı izolatlara ait farklı pasajlardaki atenüasyon seviyelerinin belirlenmesi amacıyla kullanılan markerların bazı gen bölgelerinde atenüasyonu tam olarak ifade edemediği gözlenmiştir. Örnek olarak, Cincin ve Pendik izolatlarının düşük, orta ve yüksek pasajları arasında ilgili gen bölgelerinin ekspresyon seviyelerini düzensiz olduğu ve atenüasyon düzeyini tam olarak ifade etmediği tespit edilmiştir. HDAC, TIMP3, ADAM19 ve HRPT1 gen bölgelerinde ise Acarlar izolatının düşük, orta, yüksek pasajları ile Teylovac aşı suşunda ekspresyon seviyelerinin düzenli olarak pasaj sayısı ile gen ekspresyonu birbiri ile ters bir korelasyon göstermiştir. İzolatlar arasındaki bu farkların hastalığın ilgili bölgedeki endemik indeksine bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Yapılan çalışma sonucunda; atenüasyon seviyesini belirlemek için farklı markerlar kullanılması gerektiği ve ekspresyon seviyesi düzensiz olan izolatlarda pasaj sayısının arttırıldıktan sonra analizlerin tekrarlanmasının elde edilen verilerin doğrulanması açısından faydalı olacağı düşünülmektedir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, aşılamada kullanılacak olan canlı ve atenüye hücre hatlarındaki atenüyasyon düzeylerinin belirlenmesinde kullanılacak gen bölgelerinin etkinliği ve/veya kullanılabilirliğine katkı sağlayacak olması açısından önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Atenüasyon, hücre kültürü, marker, *Theileria annulata*

Bu çalışma, Leap-Agri Avrupa-Afrika Ortak Çağrısı kapsamında TÜBİTAK tarafından 217O399 numaralı proje kapsamında desteklenmektedir.

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09 **SB67** ***14 Ekim 2021 – 11:30-12:30***
Salon A

Hypoderma bovis ve *Oestrus ovis*'in Komple Mitokondriyal Genom Karakterizasyonu ve Filogenetik Analizi

Zuhal ÖNDER[1], Mübeccel ATELGE[2], Alparslan YILDIRIM[1], Osman İBİŞ[3], Önder DÜZLÜ[1], Arif ÇİLOĞLU[1], Gamze YETİŞMİŞ[1], Gupse Kübra KARADEMİR[1], Sadullah USLUĞ[1], Abdullah İNCİ[1]

[1]Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ; [2]Kastamonu Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KASTAMONU; [3]Erciyes Üniversitesi, Seyrani Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, KAYSERİ

E-mail: zuhalbiskin@erciyes.edu.tr

Amaç: Diptera takımında bulunan bazı sinek larvalarının canlı doku ve organlarda yerleşerek patolojik lezyonlar oluşturmasına myiasis adı verilmektedir. Bu çalışmada, sığırlarda ve koyunlarda myiasis'e neden olan *Hypoderma bovis* ve *Oestrus ovis* larvalarının komple mitokondrial genomlarının karakterize edilmesi ve filogenetik analizlerinin yapılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Araştırma materyalini mezbaha incelemelerinde enfeste belirlenen sığırlardan ve koyunlardan toplanmış, morfolojik ve DNA barkod analizleriyle *Hypoderma bovis* ve *Oestrus ovis*'in üçüncü dönem (L3) larvaları olarak identifiye edilen örnekler oluşturmuştur. Larva örneklerine ait genomik DNA izolatları, ilgili türlere ait komple mitokondriyal genomları elde etmek amacıyla dizayn edilen özgün primerler ve geliştirilen Long-range PCR protokolleri ile yeni nesil dizileme analizlerine (NGS) tabii tutulmuştur. Toplam ikişer *H. bovis* ve *O. ovis* larva örneğinden elde edilen mitokondriyal genomların karakterizasyonları yapılarak GenBank'taki Oestridae ailesindeki türlere ait mevcut mitogenom sekanslarıyla genetik çeşitlilik ve protein kodlayan gen sekansları kullanılarak filogenetik analizleri gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: NGS analizleri sonucunda uzunlukları *Hypoderma bovis* için 16.270 ile 16.279 bp, *Oestrus ovis* için 16.562 ile 16.597 bp arasında değişen toplam 4 mitogenom haplotipinin 13 protein kodlayan gen, 22 transfer RNA geni, 2 ribozomal RNA geni ve kontrol bölgesi içeren tipik halkasal bir DNA molekülü şeklinde yapılandıkları belirlenmiştir. A + T içeriğinin tüm mitogenomlarda (*H. bovis*: %77.0; *O. ovis*: %75.7) oldukça zengin olduğu belirlenmiş, AT-skew değerleri pozitif, GC-skew değerleri ise negatif olarak tespit edilmiştir. Karakterizasyonları gerçekleştirilen mitokondriyal genomlarda 15 taşıyıcı RNA ve 9 protein kodlayan gen major zincir üzerinde kodlanmakta, 7 taşıyıcı RNA, 2 ribozomal RNA ve 4 protein kodlayan gen (ND6) ise minor zincir üzerinde kodlanmaktadır. Çalışmada karakterize edilen *H. bovis* mitogenom sekansları arasında yaklaşık %0,3, *O. ovis* sekansları arasında ise yaklaşık %1,2 genetik farklılık belirlenmiştir. *H. bovis* mitogenom sekansı ile Genbank'ta mevcut aynı soydaki *H. lineatum* (NC_013932) arasında ortalama %10,6, karakterize ettiğimiz *O. ovis* sekansları ile Genbank'ta mevcut tek *O.* ovis sekansı arasında %1,1-%1,4 ve aynı alt ailede yer alan *Rhinoestrus usbekistanicus* (NC_045882) ile de ortalama %19,0 genetik farklılık tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada karakterize edilen izolatların Oestridae ailesindeki türlere ait izolatlarla birlikte filogenetik ağaç üzerine ilişkileri belirlenmiş olup sınırlı mitogenom verileri olmakla birlikte bu ailedeki türlerin monofiletik bir kümelenme gösterdikleri görülmüştür.

Sonuç: Bu çalışma ile sığırlarda ve koyunlarda myiasis'e neden olarak önemli ekonomik kayıplara yol açan *H. bovis* için Dünyada ilk, *O. ovis* için ise ülkemiz için ilk ve Dünya Gen veri tabanı için de ikinci olmak üzere mitokondriyal genomlar karakterize edilerek moleküler taksonomiye kazandırılmıştır. Ayrıca çalışma ile ilgili türlerin mitogenom bazında filogenetik yapılanmaları ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Hypoderma bovis*, *Oestrus ovis*, mitokondriyal genom, filogeni, genetik çeşitlilik

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09 **SB68** ***14 Ekim 2021 – 11:30-12:30***
Salon A

Sığırlara Keneler İle Bulaştırılan Protozoal ve Rickettsial Hastalıklar

Ozan Cem ŞİMŞEK[1], Meral AYDENİZÖZ[2]

[1]Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji AD, KIRIKKALE;
[2]Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, KIRIKKALE

E-mail: ozancemsimsek@gmail.com

Keneler zorunlu olarak kan emen ektoparazitlerdir. Keneler; biyolojik ve mekanik vektör olarak viral, bakteriyel, paraziter ve rickettsial birçok patojeni, insanlara ve hayvanlara nakil ettikleri için veteriner hekimliği ve halk sağlığı açısından büyük bir öneme sahiplerdir. Omurgalılara patojen mikroorganizmaları nakil ederek bu patojenlerin yayılmasına neden olan keneler, sivrisineklerden sonra dünyadaki en büyük vektörlerdir. Keneler, beslenmeleri sırasında konaklarına felç, anemi, zehirlenme, deride harabiyet yaratarak myiasis etkenleri için uygun koşulları sağlama ve çeşitli verim kayıpları gibi zararlar vermektedirler. Sığırlara keneler ile nakil edilen protozoal hastalıklar; babesiosis ve theilerosis, rickettsial hastalıklar ise rickettsiosis, ehrlichiosis ve anaplasmosis'tir. Bu derleme ile kenelerin sığırlara nakil ettiği protozoal ve rickettsial hastalıklar hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Kene, Parazit, Protozoon, Rickettsia, Sığır

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09 **SB69** ***14 Ekim 2021 – 11:30-12:30***
Salon A

Aydın Bölgesi Bal Arılarında (*Apis mellifera*) *Nosema* spp.'nin Multipleks PCR ile Araştırılması

Metin PEKAĞIRBAŞ, Selin HACILARLIOĞLU, Hakan KANLIOĞLU, Heycan AYDIN, Beril KOÇ, Hüseyin Bilgin BİLGİÇ, Tülin KARAGENÇ, Serkan BAKIRCI

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, AYDIN

E-mail: metinpekagirbas@gmail.com

Amaç: Bu çalışmada Aydın ili ve çevresinde, Dünya çapında ve Türkiye'de büyük oranda bal arısı koloni kayıplarına yol açan ve ani koloni kaybı (Colony Collapse Disorder-CCD) şikayetlerinin nedenlerinden biri olarak gösterilen nosemosis hastalığının etkeni olan *Nosema apis* ve *Nosema cerenea* türlerinin varlığı ve etken türlerin multipleks PCR ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmanın materyalini, Aydın ili sınırları içinde yer alan farklı ilçe ve yerleşim yerlerinde bal arısı yetiştiriciliği yapan yetiştiricilerden 2018-2020 yılları arasında toplanan arı örnekleri oluşturmaktadır. Buna göre Aydın iline bağlı; Karacasu (12), Kuyucak (3), Nazilli (11), Germencik (5), Koçarlı (2), Kuşadası (2), Efeler (12), Söke (3), İncirliova (1), Sultanhisar (3), Çine (2) olmak üzere toplam 56 farklı arılık çalışmaya dahil edilmiştir. Örnekler; bir arılığın %10'unu temsil edecek sayıdaki kovanlardan rastgele örnekleme yöntemi ile toplanmış, örneklerin toplandığı bölgeler harita üzerinde işaretlenerek kaydedilmiştir. Eter-alkol karışımı ile ötenazi işlemine tabi tutulan arıların abdomeni pens yardımıyla ayrılmış ve serum fizyolojik solüsyonu ile yıkama işlemi uygulandıktan sonra havan içinde ezilmiştir. Oluşan homojenat gazlı bezden süzülerek ayrılmış ve mikroskop altında Nosema sporları yönünden incelemeleri yapılmıştır. *Nosema* sporlarının tespiti sonrasında oluşan homojenattan 0,1 ml olacak şekilde hücre sayımı için Neubauer lamına örnek konulmuş ve mikroskop altında 40'lık objektifte spor sayımları gerçekleştirilmiştir. PCR'da kullanılmak üzere homojenatların DNA ekstraksiyonları yapılmış ve Nosema apis ve Nosema cerenea'nın eş zamanlı tespiti için multipleks PCR'da 16s rRNA bölgesini çoğaltan spesifik primer çiftleri kullanılmıştır.

Bulgular: Toplanan örneklerden elden edilen homojenatların mikroskobik incelemesi sonucunda; Karacasu (5/12), Kuyucak (1/3), Nazilli (7/11), Germencik (3/5), Koçarlı (1/2), Kuşadası (2/2), Efeler (10/12), Söke (1/3), İncirliova (1/1), Sultanhisar (3/3), Çine (1/2) olmak üzere toplam 35 arılıkta (%62,5) *Nosema* spp. sporları tespit edilmiştir. Multipleks PCR sonucunda ise, *Nosema* spp. yönünden pozitif olarak tespit edilen tüm örneklerin *N. cerenea* türüne ait olduğu anlaşılmış, *N. apis* türüne ise rastlanılmamıştır.

Sonuç: Bu çalışma ile Aydın ilinde nosemosis'e neden olan *Nosema* spp. türlerinin varlığı mikroskobik ve moleküler olarak ilk kez gösterilmiştir. Bölgede görülen etken türün ise *N. cerenea* olduğu multipleks PCR ile ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Apis mellifera*, Aydın, *Nosema apis, Nosema cerenea*, Multipleks PCR

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 09 **SB70** ***14 Ekim 2021 – 11:30-12:30***
Salon A

Toxoplasma gondii Takizoitlerinin Kriyoprezervasyon Protokol Performanslarının Değerlendirilmesi İçin Canlılık Testlerinin Optimize Edilmesi

Ayşe Nuriye VARIŞLI[1], Merve BİŞKİN TÜRKMEN[2], Hatice BORAN[3], Ömer VARIŞLI[3], Gülay ARAL AKARSU[1]

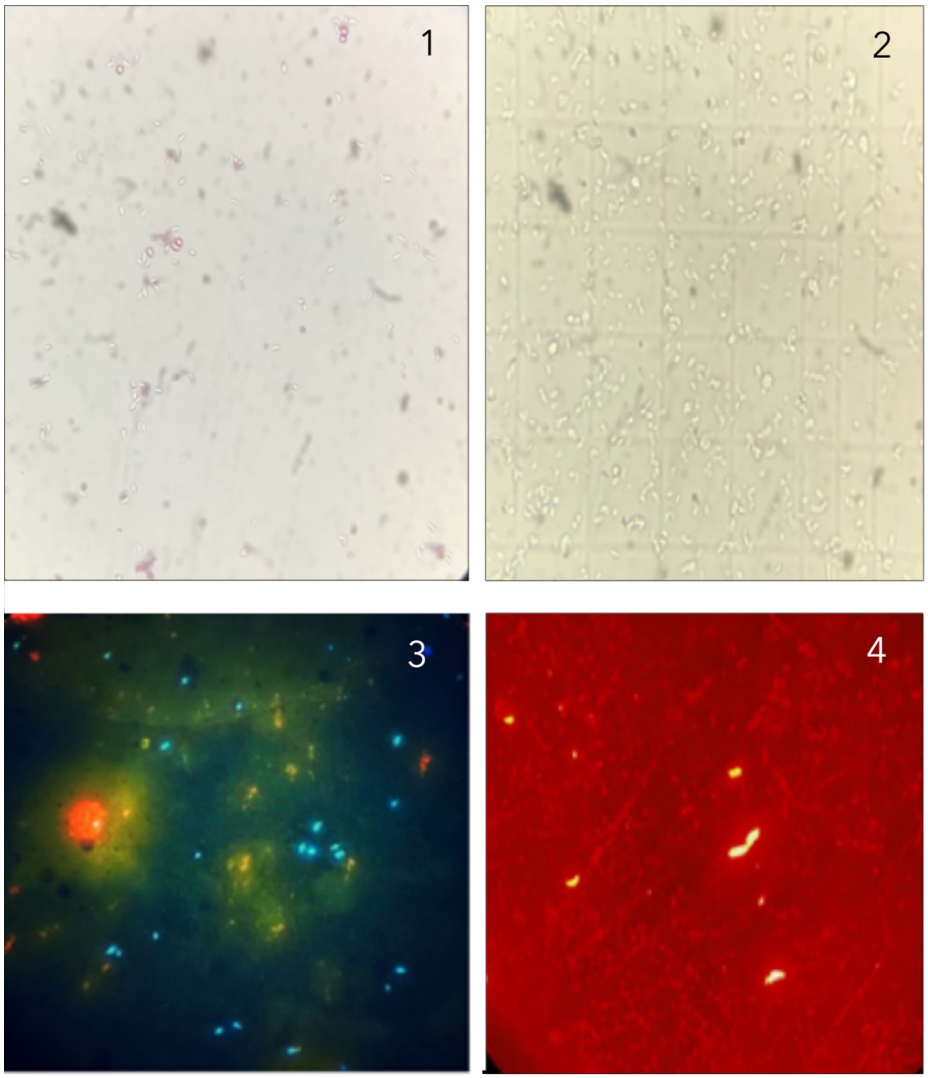
[1]Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji BD, ANKARA; [2]Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji AD, KIRIKKALE; [3]Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama AD, KIRIKKALE

E-mail: aysenurvarisli@hotmail.com

Amaç: Hücre içi protozoon *Toxoplasma gondii*'nin yapay besiyerlerinde kültürü yapılamadığından hücre kültürü veya fare inokülasyonu ile devam ettirilmesi gerekmektedir. Laboratuvarımızda uyguladığımız Sabin-Feldman testi için canlı takizoitlere ihtiyaç duyulmaktadır. Her iki kültür yöntemi de zahmetli ve pahalı olduğundan, parazitin sürekli devam ettirilmesi yerine dondurularak, gerek olduğunda canlandırılıp kullanılması mantıklı bir alternatif olacaktır. Çalışmamızda; takizoitlerin canlılığının dört farklı yöntem ile saptanması ve verimlilik karşılaştırması yapılarak daha sonraki kriyopreservasyon çalışmalarımıza katkıda bulunması amaçlanmıştır.

Yöntem: *Toxoplasma gondii* takizoiti üretiminde 4-6 haftalık Swiss Albino fareler kullanıldı. Üç gün önceden *T. gondii* takizoitleri ile enfekte edilmiş farelere CO_2 ile ötenazi uygulanarak batın bölgesi %70 ethanol ile spreylenip periton zarına kadar diseksiyon yapıldı. Periton alt-orta hattan açılarak intraperitoneal alan pastör pipeti ile ve 5 mL steril %0.9 NaCl ile yıkandı ve periton çalkantı suyu steril tüpe alındı. Takizoitlerin yeterli yoğunlukta ve homojen dağılımı sağlandıktan sonra canlılık oranını saptamak için ilk yöntem olarak; faz-kontrast mikroskopi ile thoma lamında parlak trofozoitler canlı ve kararmış trofozoitler de ölü olarak değerlendirilerek canlılık oranı saptandı. Canlılık çalışmalarında 100x3 adet takizoit sayılarak canlılık yüzdesi ortalaması alındı. İkinci olarak; otomatize cell counter (İnvitrogen, USA) ile hücre sayımı yapıldı. Bu yöntemde, 10µl %0,5 trypan blue (BI, USA) 10µl parazit süspansiyonu ile karıştırılarak cihaza uyumlu hücre sayım lamına (NanoEntek, USA) 10µl karışım eklendi. Lam cihaza yerleştirilerek canlı ve ölü parazit miktarı cihaz tarafından otomatik olarak sayıldı. Üçüncü yöntem olarak kullanılan eozin-nigrosin boyama için, 500 µl takizoit ve 500 µl Eosin (%2) mikrotüpe konarak 30 sn beklendi ve 500 µl %9'luk nigrosin eklenip oluşan süspansiyondan 30 µl örnek lam lamel arasında hızlıca sayıldı. Son yöntem olarak H342/PI ile boyama kullanıldı. Boya stok solüsyonları 500 pg/ml propidyum iyodür (Sigma Chemicals, St Louis, MO) ve 1000 pg/ml H342 (Sigma Chemicals, St Louis, Mo.) içerecek şekilde hazırlandı. Floresan boyanın son konsantrasyonu, ön denemeler sonucu en iyi floresan ışık alımına göre ayarlandı. Daha sonra, 50 µl lik takizoit suspansiyonuna 30 µl H342 solüsyonu eklendi 10 dakika beklendikten sonra 5 µl propidyum iyodür solüsyonu eklenip 5 dakika sonra 5µl örnek alınıp lam-lamel arasında floresan mikroskopta (Leica DM IL LED FLUO; Leica, Germany; Exitation 490-575, Emision 525-635) 300 hücre sayıldı.

Bulgular ve Sonuç: Fare peritonundan elde edilen *Toxoplasma gondii* takizoitleri, otomatize hücre sayım sistemi ile sayılmış ve $3.5x10^6$/ml canlı parazit, $8.3x10^5$ /ml ölü parazit saptanmış olup canlılık % 82 olarak tespit edilmiştir. Eozin-nigrosin boyama yönteminde yaklaşık canlılık %75 olarak belirlenmiştir (Şekil 1). Yine eş zamanlı faz-kontrast mikroskopta thoma lamında canlı ve ölü takizoitler sayılarak parazitin canlılığı %90 olarak belirlenmiştir (Şekil 2). Floresan boyamada parazitin canlılığı %90 olarak belirlenmiştir. Canlı olanlar mavi ile (Şekil 3), ölü olanlar ise kırmızı ile boyanmıştır (Şekil 4). Sonuç olarak, uyguladığımız dört yöntem arasında, canlılığın en yüksek olarak saptanabildiği yöntemler faz-kontrast mikroskopi ve floresan boya kullanımı olmuştur. Biraz daha maliyetli bir yöntem olmasına rağmen *Toxoplasma* canlılığının belirlenmesi gereken deneylerde H342/PI floresan boyamanın da güvenilir bir yöntem olduğu ortaya konmuştur.



Şekil 1. Eozin-nigrosin boyama; **Şekil 2.** Faz-kontrast mikroskopi; **Şekil 3.** Flourasan boyamada mavi ile görünen canlı takizoitler; **Şekil 4.** Florasan boyama parlak kırmızı ile görünen ölü takizoitler

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 10 *15 Ekim 2021 – 10:00 – 11:00*

Oturum Başkanları:
Zuhal ÖNDER / Serkan BAKIRCI

SB71. İstanbul'da göçmen ve yerli Kuşlarda Dikkat Çeken Kene Enfestasyon Verileri; Ön Çalışma Sonuçları
Ergün BACAK, Arif ÖZSEMİR, **Gürkan AKYILDIZ**, Umut GÜNGÖR, Ayşen GARGILI KELEŞ, Sırrı KAR

SB72. The effect of five synthetic chemical complexes on Leishmania tropica promastigotes: in vitro study
Ufuk MERT, Saba NAZ, Shumaila NAZ, Ali HAIDER, Saqib ALI, Ayşe CANER, Yusuf ÖZBEL, Seray TÖZ

SB73. Ankara'nın Polatlı Yöresindeki Keçilerde *Neospora caninum*'un Seroprevalansı
Gizem ÇUBUKÇU, Sami GÖKPINAR

SB74. Erzurum Yöresi Koyunlarında Piroplasmosisin Mikroskobik ve Moleküler Yöntemlerle İncelenmesi
Rıdvan KİRMAN, Esin GÜVEN

SB75. Koyunlarda Giardia intestinalis'in yaygınlığı ve izolatların filogenetik karakterizasyonu
Zuhal ÖNDER, **Faruk KARABULUT**, Alparslan YILDIRIM, Abdullah İNCİ

SB76. Leishmania donovani ile Enfekte BALB/c Farelerin Karaciğerindeki Gen Ekspresyon Profilinin Araştırılması
Özlem ULUSAN BAĞCI, Ayşe CANER

SB77. Respiratuvar problemleri olan hastaların solunum yolu örneklerinde Microsporidia sıklığının araştırılması
Özlem ULUSAN BAĞCI, Filiz GÜLDAVAL, Can MÜFTÜOĞLU, Ufuk MERT, Reyhan GÜMÜŞBURUN, Gülhan BOĞATEKİN, Damla SERÇE UNAT, Ömer Selim UNAT, Gülru POLAT, Özlem GOKSEL, Seray TOZ, Ayse CANER

İstanbul'da Göçmen ve Yerli Kuşlarda Dikkat Çeken Kene Enfestasyon Verileri; Ön Çalışma Sonuçları

Ergün BACAK[1], Arif ÖZSEMİR[2], **Gürkan AKYILDIZ[3]**, Umut GÜNGÖR[3], Ayşen GARGILI KELEŞ[4], Sırrı KAR[5]

[1]İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Ormancılık Meslek Yüksekokulu, Ormancılık Bölümü, İSTANBUL; [2]Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Bafra Meslek Yüksek Okulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, SAMSUN; [3]İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Orman Fakültesi, Orman Mühendisliği Bölümü, İSTANBUL; [4]Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Temel Sağlık Bilimleri Bölümü, İSTANBUL; [5]Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, TEKİRDAĞ

E-mail: gurkanakyildiz39@gmail.com

Batı Palearktik'de yer alan Türkiye; kuşların Avrupa, Asya ve Afrika arasında takip ettiği göç yollarının önemli bir kısmını barındırmaktadır. İstanbul ve Trakya, göçmen kuşların Avrupa'ya geçişinde kullandıkları en önemli rotalarda birinin üzerinde konuçlanmış bir köprü durumundadır. Bununla birlikte İstanbul, Türkiye'nin en büyük, Dünya'nın ise sayılı metropollerinden biridir. İstanbul'un başta Avrupa yakası olmak üzere, iç ve güney bölgeleri yoğun şehirleşme etkisi altında kalmıştır; fakat şehir içine sıkışmış, göçmen ve yerli kuşların barınıp beslenebileceği ormanlık ve sulak alanlar da mevcuttur. Kuzey bölgeleri son zamanlarda yavaş yavaş şehirleşme etkisine girmekle beraber büyük bir kısmı hala ormanlar ile kaplıdır. Doğadaki birçok canlı gibi kuşlar da keneler tarafından enfestasyona uğramaktadırlar. Kuşların uzun mesafeler kat ederek göç edebilme yetenekleri göz önünde bulundurulduğunda, kuşlara tutunmuş olan keneler de pasif olarak uzun mesafeler kat edebilmektedirler. Bu durum, kuşları enfeste eden kenelerin taşıyabileceği patojenlerin de dolaylı olarak farklı coğrafyalara ulaşmasına ve ilgili bölgelerde insan ve hayvan sağlığı ile ilgili yeni biyorisklerin gündeme gelmesine sebep olabilmektedir. Değişen küresel ve bölgesel iklimi de göz önünde bulundurursak, kenelerin kuşlar vasıtası ile ulaştıkları coğrafyada yaşamaya uygun habitat ve konaklar bulması da ihtimal dahilindedir. Bu durum, oluşacak biyoriskin şiddetinin artmasına da neden olabilir. Daha önce farklı ülke ve coğrafyalarda yapılan çalışmalarda kuşlardan toplanan kenelerde, Kırım Kongo kanamalı ateşi virüsü, Alkhurma kanamalı ateşi virüsü, bazı Rickettsia ve Borrelia türlerine rastlanmıştır. Bu çalışmada, Eylül 2020 ve Haziran 2021 ayları arasında, İstanbul-Avcılar Kuş Halkalama İstasyonunda halkalanan kuşlar kene enfestasyonu bakımından incelenmiş, kene ile enfeste olmuş kuşların bireysel olarak tüm keneleri toplanmış, toplanan keneler her bir kuş için ayrı tüpe alınmış ve uygun şartlarda muhafaza edilmiştir. Enfeste olan kuşların tür bilgileri, halka numaraları ve kene toplanma tarihleri kaydedilmiştir. Toplanan kenelerin morfolojik incelemeleri Namık Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde tamamlanmış, larval gelişim evreleri cins bazında, nimf evreleri cins ve tür bazında, ergin evreler ise tür bazında belirlenmiştir. Az doymuş keneler -20°C'de muhafaza edilmiş, yeterince doymuş nimfler ise gömlek değiştirmelerini sağlamak üzere inkubatöre alınmışlardır. Çalışma sonucunda, toplamda 288 kuşta keneye rastlanmıştır.

Enfeste kuşların türleri ve türlere ait birey sayıları ve oranları şu şekildedir: *Acrocephalus palustris* (Çalı Kamışçını) (4) (%1,39), *Acrocephalus schoenobaenus* (Kındıra Kamışçını) (3) (%1,04), *Anthus trivialis* (Ağaç İncir Kuşu) (1) (%0,35), *Cettia cetti* (Kamış Bülbülü) (2) (%0,69), *Erithacus rubecula* (Kızılgerdan) (131) (%45,49), *Ficedula albicollis* (Halkalı Sinekkapan) (1) (%0,35), *Ficedula hypoleuca* (Kara Sinekkapan) (2)

(%0,69), *Iduna pallida* (Ak Mukallit) (4) (%1,39), *Jynx torquilla* (Boyunçeviren) (1) (%0,35), *Lanius collurio* (Kızıl Sırtlı Örümcek Kuşu) (1) (%0,35), *Locustella luscinioides* (Bataklık Kamışçını) (1) (%0,35), *Luscinia luscinia* (Ardıç Bülbülü) (3) (%1,04), *Luscinia megarhynchos* (Bülbül) (6) (%2,08), *Otus scops* (İshak Kuşu) (1) (%0,35), *Parus major* (Büyük Baştankara) (1) (%0,35), *Phoenicurus phoenicurus* (Bayağı Kızılkuyruk) (8) (%2,78), *Phylloscopus collybita* (Çıvgın) (11) (%3,82), *Phylloscopus trochilus* (Söğütbülbülü) (1) (%0,35), *Prunella modularis* (Dağ Bülbülü) (7) (%2,43), *Sylvia atricapilla* (Karabaş Ötleğen) (11) (%3,82), *Sylvia communis* (Akgerdanlı Ötleğen) (5) (%1,74), *Sylvia curruca* (Küçük Akgerdan) (1) (%0,35), *Sylvia melanocephala* (Maskeli Ötleğen) (2) (%0,69), Troglodytes troglodytes (Çit Kuşu) (4) (%1,39), *Turdus iliacus* (Kızıl Ardıç) (1) (%0,35), *Turdus merula* (Karatavuk) (64) (%22,22) ve *Turdus philomelos* (Öter Ardıç) (11) (%3,82).

Kuşlardan toplamda 598 kene toplanmış olup, morfolojik incelemeleri sonucunda numuneler şu şekilde tanımlanmıştır: *Ixodes* sp. larva (319) (%53,34), *Hyalomma* sp. larva (7) (%1,17), I. frontalis nimf (130) (%21,74), *I. acuminatus* nimf (1) (%0,17), *I. ricinus* nimf (73) (%12,21), *I. ricinus* dişi (2) (%0,33), *I. acuminatus* erkek (1) (%0,17), *I. acuminatus* dişi (26) (%4,35), *I. frontalis* dişi (7) (%1,17) ve *Hyalomma* sp. nimf (32) (%5,35). *Hyalomma* nimflerinden gömlek değiştirmeye alınan 8 tanesi gömlek değiştirmiş ve bunların tamamının *Hy. rufipes* (7 dişi, 1 erkek) olduğu anlaşılmıştır. Kuşları enfeste eden keneler cins bazında incelendiğinde Ixodes türlerinin %93,48'lik *Hyalomma* türlerinin %6,52'lik bir orana sahip olduğu belirlenmiştir. Kuşların %90,74'lük kısmı bir, %5,56'lık kısmı iki, %0,35'lik kısmı üç ve kalan %0,35'lik kısmı da dört kene türü ya da cinsine ait larva ya da nimf ile enfeste olduğu belirlenmiştir. Türkiye kuş göçü açısından Afrika, Avrupa ve Asya ile ilişkili göçmen kuşlar için kilit bir öneme sahiptir. İstanbul ve Trakya yarımadasında bulunan göçmen kuşlar için önemli üreme ve beslenme noktaları hem Kuzey Afrika'dan hem de Sahra Altı Afrika'dan Avrupa'ya göç eden kuşların vazgeçilmez lokasyonları haline gelmiştir. Bölge, aynı şekilde kışı geçirmek için Avrupa'dan Afrika'ya göç eden kuşlar için de benzer öneme sahiptir. Kuşların göç ederek farklı coğrafyalara ulaşabilmesi biyolojileri gereği hayati önem taşımakla birlikte, diğer canlılar için risk oluşturabilecek bazı vektör ve patojenlerin ulaştıkları coğrafyalara dağılmasına sebep olabilmektedirler. Çalışmada da görüleceği üzere birçok viral ve bakteriyel hastalığın vektörü olabilen kene türleri kuşları enfeste etmektedir. Avrupa'da Lyme hastalığı etkeni olan *Borrelia burgdorferi* sl. ve Kene Kaynaklı Ensefalit virüsünün vektörlüğünü yapan *I. ricinus* türünün yanında Afrika'da Kırım Kongo Kanamalı Ateşi virüsünün ana vektörü olan, bazı Rickettsia, Babesia ve Anaplasma türlerini de aktarabilen ve Türkiye'de çok nadir rastlanan *Hy. rufipes*'in çalışma kapsamında kuşları enfeste ettiği belirlenmiştir. Ayrıca daha önce yapılan benzer bir çalışmada, yine, kuşlar üzerinden toplanan *Hy. rufipes* türü kenelerde Alkhurma Kanamalı Ateşi virüsüne rastlanmıştır. Mevcut çalışma kapsamında kış göç döneminde halkalanan kuşlarda *Ixodes* larvaları yoğunluk oluştururken, yaz göç döneminde halkalanan kuşlarda *Ixodes* nimfleri ve *I. frontalis* erginleri daha yoğun gözlenmiştir. Ek olarak, *Hy. rufipes* nimflerinin tamamı beklenildiği gibi Afrika'dan Avrupa'ya göç eden yaz göçmeni kuşlarda gözlenmiştir. Çalışma, Türkiye'de göçmen ve yerli kuşlarda kene türlerinin enfestasyon verilerini ortaya koyan nadir araştırmalardan biri olması sebebiyle öneme sahiptir. Konu ile ilgili Trakya yarımadasında yapılan ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: Kene, kuş, İstanbul

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 10 **SB72** ***15 Ekim 2021 – 10:00-11:00***

The Effect of Five Synthetic Chemical Complexes on *Leishmania tropica* Promastigotes: *in vitro* Study

Ufuk MERT[1], Saba NAZ[2], Shumaila NAZ[3], Ali HAIDER[2], Saqib ALI[2], Ayşe CANER[4], Yusuf ÖZBEL[4], Seray TÖZ[4]

[1]Ege University Institute of Health Sciences, Department of Basic Oncology, IZMIR, TURKEY; [2]Department of Chemistry, Quaid-i-Azamm University, ISLAMABAD, PAKISTAN; [3]National University of Medical Sciences Department of Biological Sciences, ISLAMABAD, PAKISTAN; [4]Ege University Faculty of Medicine Department of Parasitology, IZMIR, TURKEY

E-mail: ufukmrt@gmail.com

Aim: Cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania tropica* is one of the major public health problems in Turkey. Because of the problems related to the treatment of CL, new therapeutics are needed to be used. In this study, we aimed to test four synthetically produced zinc compounds.

Method: *L. tropica* (MHOM/TR/14/EP199) strain was revived in NNN medium and propagated in RPMI 1640 medium. Parasites were seeded on 24-well plates with the density of 2 million promastigotes /ml. The ligand 2-nitrobenzoic acid (HL-1) and its zinc(II) complexes, one homoleptic [Zn(L-1)$_2$] (complex NC1) as well as three heteroleptic (NC3) [Zn(L-1)$_2$(bipy)], (NC18) [Zn(L-1)$_2$(phen)(H$_2$O)] and (NC44) [Zn(L-1)$_2$(Me$_2$Phen)] were dissolved in DMSO and promastigotes were treated with 9 different dilutions of compounds as 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100 µg/ml. Same amount of DMSO, which was used in the preparation of the highest dose, was also added as a control. Promastigotes were incubated for 24 hours at 27 ^{0}C. Following incubation, promastigotes were transferred into 96-well plates and XTT reagent was added. Because no color change occurred after 72 hours at 27 ^{0}C, the plates were transferred to 37^{o}C. Following 16 hours incubation at 37 ^{0}C, color change was observed and absorbance measurements were performed at 570 nm. Cell viability curves were generated and IC$_{50}$ values were calculated using GraphPad Prism 7.0.

Results: Out of 5 compounds, which anti-leishmanial activities were determined, two exhibited no effect on promastigotes, while three caused varying degrees of cell death. Most potent compound was found to be NC-44, which effectively killed the promastigotes even at low concentrations. Besides a number of structural factors responsible for anti-pathogen activity the potent nature of these compounds may be the result of greater planner area provided by the attached heteocyclic moieties for stacking interaction with the DNA of pathogen which leads to the DNA damage. The other possible reason for activity may be the inhibition of active enzymes of pathogen which is evident by the high potency of complex 44. In complex 44 the Zn(II) adopted a tetrahedral geometry (Figure 1) which assist the complex to approach and coordinate to the enzyme's active site and altering its activity (Table 1, Figure 2).

Table 1. Compounds used in the study and IC50 values

Compound Code	IC$_{50}$ (µg/ml)
HL-1	32.62
NC-3	21.68
NC-18	1.075
NC-44	0.12
NC-1	1.116

Conclusion: The findings showed that three zinc compounds are effective on *L. tropica* promastigotes and two of them (NC-18 and NC-44) are promising. Therefore, the further studies using amastigotes in macrophages is necessary as the next step.

Acknowledgement: *The authors thank Dr. Tuğba Ertop for her help.*

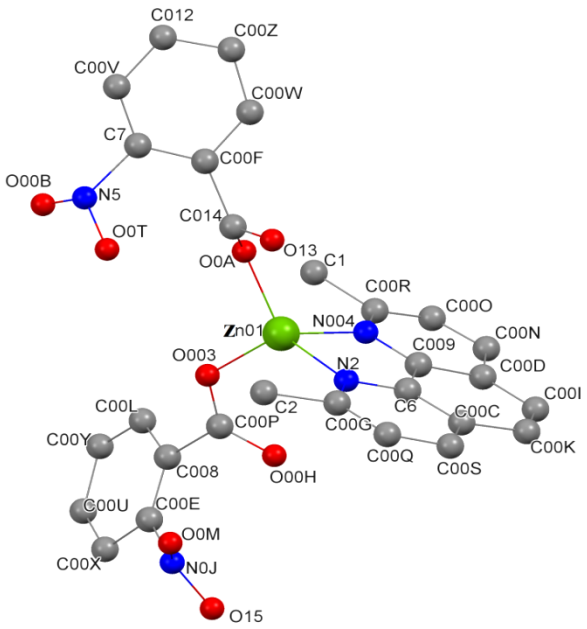


Figure 1. Crystal structure of complex NC44

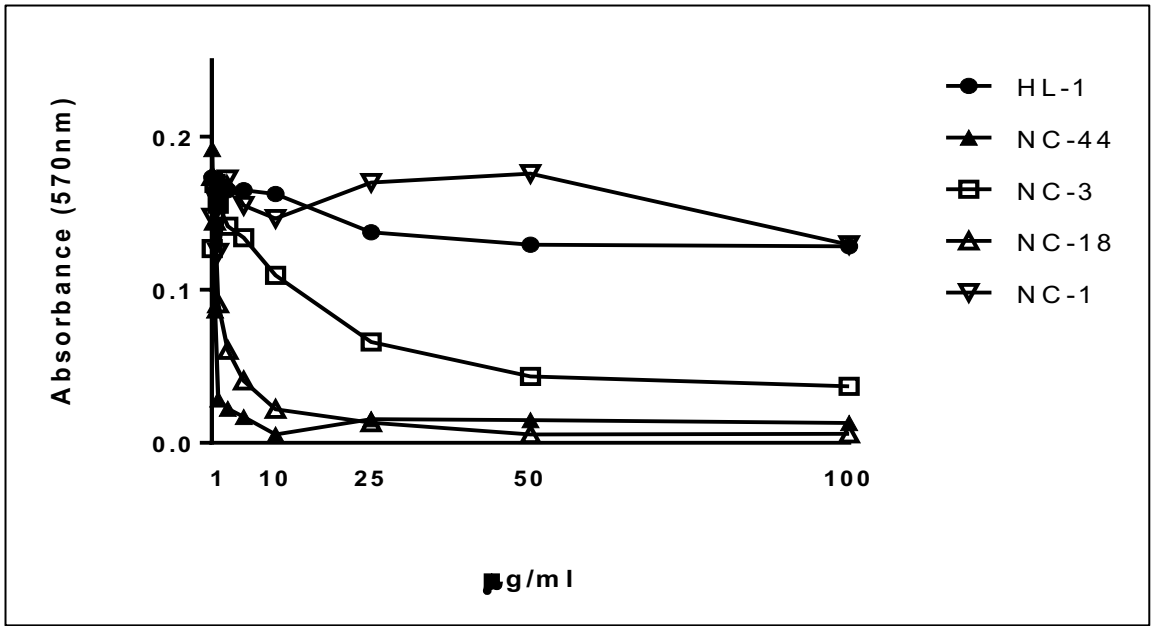


Figure 2. Graph showing the efficacy of different concentrations of the compounds

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 10 **SB73** ***15 Ekim 2021 – 10:00-11:00***

Ankara'nın Polatlı Yöresindeki Keçilerde *Neospora caninum*'un Seroprevalansı

Gizem ÇUBUKÇU[1], Sami GÖKPINAR[2]

[1]Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji AD, KIRIKKALE;
[2]Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, KIRIKKALE

E-mail: gizem.cbkc@hotmail.com

Amaç: Bu çalışmada Ankara'nın Polatlı yöresindeki keçilerde koksidiyan bir parazit olan *Neospora caninum*'un varlığının ve yaygınlığının araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Ankara'nın Polatlı ilçesinde yer alan farklı keçi çiftliklerine gidilerek 150 keçiden usulüne uygun olarak antikoagulansız tüplere kan örnekleri alınmıştır. Alınan kan örnekleri Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarı olanaklarından yararlanılarak incelenmiştir. Soğuk zincirde laboratuvara ulaştırılan kanlar 3000 g (gravite) de 10 dk (dakika) santrifüj edilerek kan serumları elde edilmiştir. Daha sonra elde edilen kan serumları *N. caninum* yönünden ticari-ELISA testi (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) kullanılarak incelenmiştir. Keçilerin yaş, cinsiyet ve ırk özellikleri dikkate alınarak oluşturulan gruplarda *N. caninum* seroprevalansı bakımından farklılığının araştırılmasında Ki-Kare testi kullanılmıştır. Tüm istatistiksel analizler minimum %5 hata payı ile incelenmiştir.

Bulgular: İncelenen 150 keçi kan serumundan 9 tanesi (%6) *N. caninum* yönünden pozitif sonuç vermiştir. Pozitif sonuç veren serumların bir yaş ve üzeri ve dişi keçilere ait olduğu saptanmıştır. Cinsiyete göre *N. caninum* seropozitifliği açısından istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. *Neospora caninum* açısından seropozitif olarak tespit edilen serum örneklerinin tümü 1 yaş ve üzerindeki hayvanlara aittir. Ancak yaş grupları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Pozitiflik oranı Ankara keçilerinde %8,3, Kıl keçilerinde %3 olarak tespit edilmesine rağmen ırklar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Sonuç: Polatlı yöresindeki keçilerde de *N. caninum* serolojik olarak ilk kez saptanmıştır. Türkiye'de Ankara keçisi ırkında ilk defa *N. caninum* seropozitifliği belirlenmiştir. Yörede keçi abortlarında *N. caninum*'un göz önüne alınması, aborte keçi fötüslerinin histopatolojik, serolojik, immuno-histokimyasal ve moleküler teşhis yöntemleri ile *N. caninum* yönünden değerlendirilmesi gerekmektedir. Yöredeki keçi abortlarında *N. caninum*'un da göz önüne alınması, etkene yönelik koruma ve kontrol tedbirlerinin arttırılması gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Anahtar kelimeler: Abort, ELISA, keçi, *Neospora caninum*

Bu çalışma Gizem ÇUBUKÇU isimli ilk yazarın Yüksek Lisans tezinden özetlenmiştir. Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası 2020/095.

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 10 **SB74** ***15 Ekim 2021 – 10:00-11:00***

Erzurum Yöresi Koyunlarında Piroplasmosisin Mikroskobik ve Moleküler Yöntemlerle İncelenmesi

Rıdvan KİRMAN, Esin GÜVEN

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ERZURUM

E-mail: ridvan.kirman@atauni.edu.tr

Amaç: Bu çalışmanın amacı Erzurum yöresi koyunlarında piroplasmosisin mikroskobik ve moleküler yöntemlerle incelenmesi, koyunları enfeste eden kene türlerinin belirlenmesi ve bu kene türlerinin piroplasmosisin naklindeki rolünün araştırılmasıdır.

Yöntemler: Proje materyalini, Anabilim Dalı'mız bünyesinde yürütülmüş olan BAP (Proje No: TSA-2018-6883) projesi kapsamında Erzurum ilçelerinden toplanmış olan 1621 koyun ve kan örneği alınan koyunlardan toplanan 1696 ixodid kene oluşturdu. Erzurum iline bağlı 20 ilçedeki 41 köy ve 77 farklı işletmede yer alan koyunlardan rastgele seçilerek EDTA'lı tüplere kan örnekleri ve enfeste koyunlardan ixodid keneler toplandı. Kan örneklerinden hazırlanan ince yayma frotiler %5'lik Giemsa solüsyonu ile boyanarak ışık mikroskobu altında incelendi. Aynı örnekler, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile 18S rRNA gen bölgesini amplifiye eden BJ1/BN2 ve Thei F1/R1 ve Thei F2/R2 primer çiftleri kullanılarak *Babesia* spp. ve *Theileria* spp. yönünden analiz edildi. Tür tayini yapılan kenelerden doymuş dişiler uygun sıcaklık ve nem koşullarında yumurtlamaya ayrıldı. Keneler tür, doyma derecesi ve konak kriterlerine göre ayrılarak 115 havuz oluşturuldu. Kenelerden tek tek DNA ekstraksiyonu ve aynı primer çiftleri ile PZR analizi yapıldı. Moleküler analizler ile *Babesia* spp. ve *Theileria* spp. yönünden pozitif bulunan kan ve kene örneklerine ait amplikonlar çift yönlü sekans analizi için ticari firmaya gönderildi.

Bulgular: Kan örneklerinin mikroskobik bakısında %0,06 *Babesia ovis* (*B. ovis*) ve %2,77 *Theileria* spp. belirlendi. Parazitemi oranı, *B. ovis* için %0,1, *Theileria* spp. için %0,001-0,003 olarak hesaplandı. Moleküler analiz ile 307 örnekte *Babesia* spp. ve *Theileria* spp. pozitifliği tespit edildi. Sekans verileri incelendiğinde 244 örnekte *B. ovis* (%0,41), *B. crassa* (%0,41), *B. canis* (%0,41), *Theileria ovis* (*T. ovis*) (%69,26), *Theileria* sp. (%26,64) ve *Theileria* sp. OT3 (%2,87) varlığı saptandı. Yapılan tür teşhisi sonucunda kenelerin *Dermacentor marginatus* (*D. marginatus*) (%62,55), *Haemaphysalis parva* (*Hae. parva*) (%36,14), *Hae. punctata* (%1,07), *Rhipicephalus turanicus* (*Rh. turanicus*) (%0,12) ve *Hyalomma marginatum* (*H. marginatum*) (%0,12) türleri olduğu gözlemlendi. Kene homojenatlarının moleküler analizinde, *D. marginatus*'da *T. ovis* ve *T. annulata*, *Hae. parva*'da *B. crassa* ve *T. ovis* ve *Hae. punctata*'da *T. ovis* pozitifliği belirlendi.

Sonuç: Bu çalışma ile Erzurum ili koyunlarında ve koyunlardan toplanan kenelerde *Babesia*/*Theileria* türleri ve genotiplerinin varlığı ve yaygınlığı ortaya konmuştur. Koyunları enfeste eden kene türleri belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları ile bölge için ilgili hastalıklara ait güncel verilere ulaşılmasını sağlanmıştır. Bu bilgilerin koyun yetiştiricileri, saha veteriner hekimleri ve ilgili kurum ve kuruluşlarla paylaşılması ve böylelikle söz konusu hastalıklara yönelik etkili koruma ve kontrol stratejilerinin planlanmasına katkı sunulması öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Erzurum, koyun, mikroskobi, piroplasmosis, PZR

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 10 **SB75** ***15 Ekim 2021 – 10:00-11:00***

Koyunlarda *Giardia intestinalis*'in Yaygınlığı ve İzolatların Filogenetik Karakterizasyonu

Zuhal ÖNDER, **Faruk KARABULUT**, Alparslan YILDIRIM, Abdullah İNCİ

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-mail: farukf1664@gmail.com

Amaç: *Giardia intestinalis* memelilerde yaygın görülen gastrointestinal protozoon olup konak spesifik genotipleri olduğu gibi zoonotik genotipleri de bulunmaktadır. Dünyanın çeşitli bölgelerinde parazitin yaygınlığı ve genotip çeşitliliği üzerine yapılan araştırmalarda koyunların zoonotik genotiplere konaklık yaptığı gösterilmiştir. Diğer yandan günümüze kadar Türkiye'de koyunlarda *G. intestinalis* genotiplerinin ve zoonotik karakterlerinin araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çerçevede çalışmamızda, İç Anadolu Yöresinden örneklenen koyunlarda *G. intestinalis*'in moleküler prevalansı ve zoonotik bulaşma dinamikleri çerçevesinde genotip çeşitliliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada 2020-2021 yılları arasında Kayseri, Nevşehir ve Sivas yörelerinde halk elinde yetiştiriciliği yapılan işletmelerdeki toplam 300 Akkaraman ırkı koyundan toplanan dışkı örnekleri soğuk zincir altında laboratuvara intikal ettirilmiştir. Dışkı örneklerinden ticari kitler ile genomik DNA (gDNA) izolasyonları yapılmış ve daha sonra gDNA izolatları PCR analizlerinde kullanılana kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir. gDNA izolatlarında *G. intestinalis* DNA'sının varlığı parazitin beta giardin (β-giardin) gen bölgesini spesifik olarak amplifiye eden primerlerle nested PCR'da araştırılmıştır. PCR analizleri sonucu belirlenen amplikonlar agaroz jelden pürifiye edildikten sonra Sanger Sekans Platformunda PCR primerleri ile çift yönlü olarak sekanslanmıştır. İleri ve geri yönlü okumalara ait sekans kromotogramları kalite skorları kontrol edildikten sonra De Novo Assemble aracı ile in-silico olarak işlenmiş ve izolatlara ait konsensüs final nükleotid dizileri elde edilmiştir. Elde edilen sekanslar GenBank veri tabanında Blastn analizlerine tabii tutularak moleküler identifikasyonları sağlanmıştır. Genotip çeşitliliği ile inter ve intra spesifik nükleotid farklılıklar DNAsp ve Mega X genetik yazılımları üzerinden uygun modellerle analiz edilmiştir. Filogenetik ilişkilerin araştırılmasında Maximum Likelihood (ML) analizleri 1000 tekrarlı bootstrap kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Çalışmada incelenen toplam 300 koyun dışkısından elde edilen gDNA izolatlarının 24'ü β-giardin nested PCR analizleri ile *G. intestinalis* yönünden pozitif belirlenmiş olup parazitin moleküler prevalansı %8,0 olarak saptanmıştır. Pozitif izolatlara ait amplikonların sekanslanması sonucu 485 bp uzunluğunda β-giardin gen bölgesi konsensüs sekansları elde edilmiştir. İzolatlara ait sekansların Blastn analizleriyle *G. intestinalis* tür konfirmasyonları sağlanmıştır. Elde edilen sekansların çoklu hizalama ve genotiplendirme analizlerinde aralarında ortalama %0,08 genetik farklılık olan toplam 4 genotipin (ERUShGint1-4; Genbank aksesyon: MW929364-6, MW929368) varlığı tespit edilmiştir. Karakterize edilen tüm genotiplerin ruminant spesifik *G. intestinalis* assemblage E'de yer aldığı

belirlenmiştir. Filogenetik analizlerde, ERUShGint1 genotipine ait izolatların, Çin'de koyun ve tavşan (MK442902, KP635098) ve ABD'de sığır (MT713332), ERUShGint2 genotipine ait izolatların ise İsveç'te bir koyundan (EU769216) rapor edilmiş izolatlarla %100 identiklik gösterdiği belirlenmiştir. ERUShGint3 ve ERUShGint4 genotipleri yeni genotip olarak karakterize edilmiş olup yukarıda bahsi geçen izolatlarla ortalama %99,38 identiklik gösterdikleri saptanmıştır.

Sonuç: Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından THD-2020-10748 kodlu proje ile desteklenen bu çalışma ile, Türkiye'de koyunlarda enfeksiyona yol açan *G. intestinalis*'in moleküler prevalansı ve genetik çeşitliliği üzerine ilk veriler elde edilmiştir. Ülkemizde *G. intestinalis*'in moleküler epidemiyolojisi ve zoonotik risk faktörleri üzerine farklı hayvan gruplarında kapsamlı araştırmalara ihtiyaç bulunduğu görülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Giardia intestinalis,* koyun, moleküler karakterizasyon, prevalans, genotipleme

Leishmania donovani ile Enfekte BALB/c Farelerin Karaciğerindeki Gen Ekspresyon Profilinin Araştırılması

Özlem ULUSAN BAĞCI[1,2], Ayşe CANER[2,3]

[1]Katip Celebi Üniversitesi, Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İZMİR; [2]Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Onkoloji AD, İZMİR; [3]Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD, İZMİR

E-mail: drozlemulusan@gmail.com

TAM METİN

GİRİŞ

Visseral leishmaniazis, çoğunlukla *Leishmania donovani* ve *Leishmania infantum*'un neden olduğu, retiküloendoteliyal sistemi işgal eden ve tedavi edilmediği takdirde %95'e varan oranlarda mortal seyreden bir hastalık tablosudur (Yeshaw ve ark., 2020). Hastalığın şiddeti enfekte eden türe ve konağın bağışıklık durumuna göre değişiklik göstermektedir (Scott and Novais, 2016). Şimdiye kadar konak-patojen ilişkisini ve hastalığın patogenezini araştıran çok sayıda hayvan çalışması yapılmış; ancak bu çalışmalar dalaktaki gen ekspresyonu değişiklikleri üzerinde odaklanmıştır. Parazitin inokülasyonundan sonra kısa bir süre içerisinde histopatolojik değişikliklerin meydana geldiği ve hastalıktan en fazla etkilenen organların başında gelen karaciğerdeki gen ekspresyon farklılıklarının araştırıldığı çalışmaların sayısı oldukça azdır. (Ontoria ve ark., 2018; Ashwin ve ark., 2019). Çalışmamızda hastalığın patogenezininin daha iyi anlaşılması ve yeni tedavi stratejileri geliştirilmesi için Leishmania'nın karaciğerde neden olduğu gen ekspresyon değişikliklerinin saptanması hedeflenmiştir.

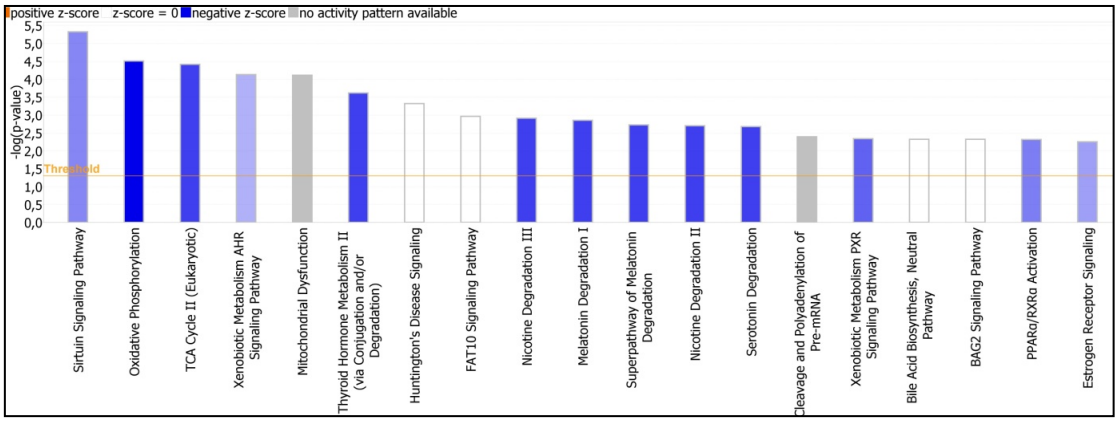
GEREÇ VE YÖNTEM

L. donovani ile enfekte edilen BALB/c'lerin iki ay sonra karaciğerindeki gen ekspresyon profilini tüm genom mikroarray yöntemi ile araştıran ve enfekte olmayan farelerle karşılaştıran GSE38985 nolu transkriptomik veri seti "Gene Expression Omnibus" (GEO) veri tabanından elde edilmiştir. Daha sonra, R betiğinde limma paketi ile diferansiyel olarak eksprese edilmiş genler tanımlanmıştır. Analizlerde FDR<0.05 ve mutlak log2FC> 2 eşik değer olarak kabul edilmiştir. Ardından diferansiyel olarak eksprese edilmiş genler için fonksiyonel ve yolak zenginleştirme analizleri "Ingenuity Pathway Analysis" (IPA) ile gerçekleştirilmiştir. Anlamlı derecede farklı seviyede eksprese edilen genlerin her biri için p<0.01, FDR <0.01 ve mutlak log2FC> 1 kullanılarak IPA 8.0 yazılım programı ile analiz edilmiştir.

BULGULAR

L. donovani ile enfekte edilen ve edilmeyen fareye ait gen ekspresyon verilerinde toplam 45.200 transkript gen analiz edilmiştir. Diferansiyel olarak eksprese edilmiş 9.659 tane gen tespit edilmiştir. Bu genlerin 5.501 tanesinin ekspresyonunda downregülasyon ve 4.148 tanesinin ekspresyonunda upregülasyon saptanmıştır. Enfekte olan farelerde gen ekspresyonlarında en fazla değişen moleküllerin lipit, kolesterol ve yağ metabolizması ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Bunlardan

başlıcaları; CADL, ACOX1, ADH5, AKR1C4, AKR1D1, ANKFY1, CBR1, DIO1, ERK1/2, GABARAPL2, Hd-perinuclear inclusions, IRF6, ISCA2, LIAS, Mitochondrial complex 1, NADH dehydrogenase, NDUFA5, NDUFB10, NIPSNAP3A, NIT1, NR1D2, OTC, Oxphos, PLEKHF2, PPARα-RXRα, Rab5, RAD51B, RGN, RIDA, SDH, SEC62, TPD52, UBE2, UBE2Z ve Uox olarak bulunmuştur. Daha sonra bu diferansiyel olarak eksprese edilmiş genler kanonik yolak analizi ile değerlendirilmiş ve regülasyonu absolut log p değeri> 1.3 ve z skoru> 3 üzerinde olan 19 moleküler yolak elde edilmiştir. Bunlardan sirtüin sinyal yolağı, oksidatif fosforilasyon ve TCA siklus II mekanizmasında anlamlı seviyede bir inhibisyon bulunmuştur (Şekil 1). Bu diferansiyonel genlerin hastalık veya fonksiyonel mekanizmalar ile olan ilişkisi analiz edildiğinde; yağ asiti, lipit sentezi ve lipit transport mekanizmalarında inhibisyon ve sonucunda lipit mekanizmasında bozuklukta bir artış saptanmıştır. Bunun yanında hepatosit apoptozunda belirgin bir artış görülmüştür (Şekil 2). Yapılan yukarı-akış moleküler analizde ACOX-1 (Açil koA oksidaz-1) genin upregulator olduğunu bulduk. Bu genin diğer genler üzerinde etkisi Şekil 3'de gösterilmiştir.

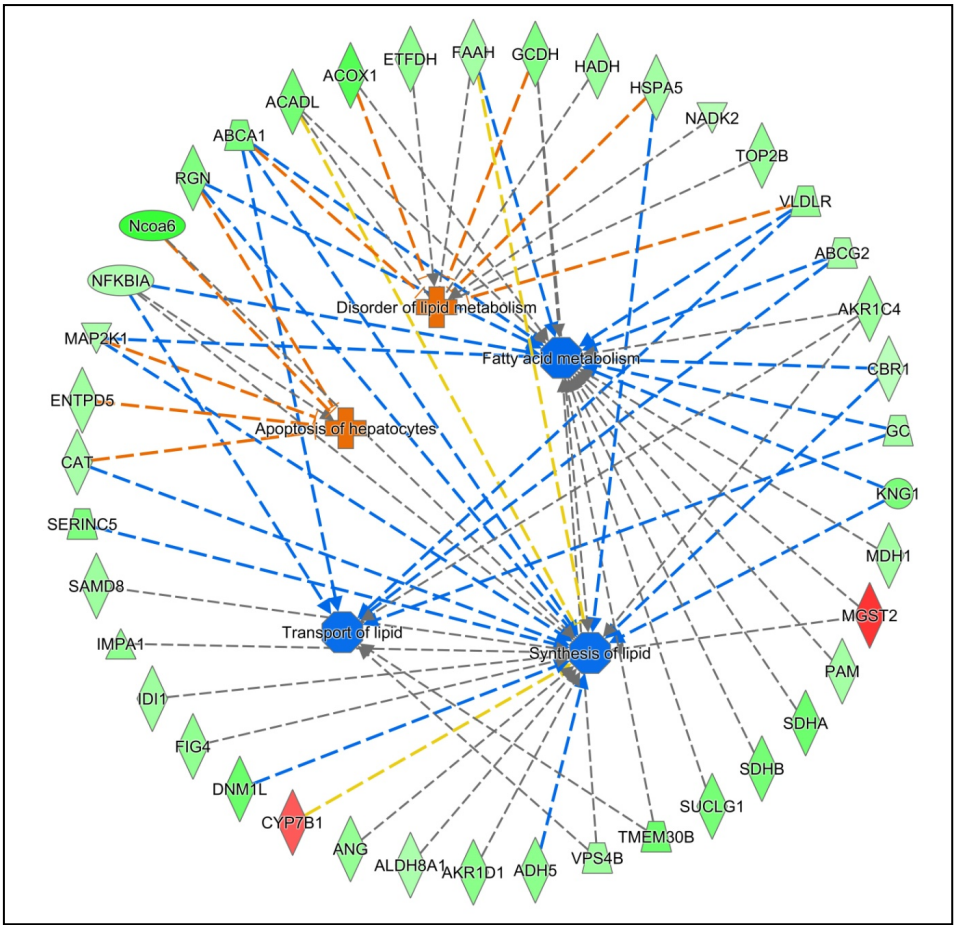


Şekil 1. *L. donovani* ile enfekte farelerde ekspresyon düzeyleri en fazla değişen sinyal yolakları

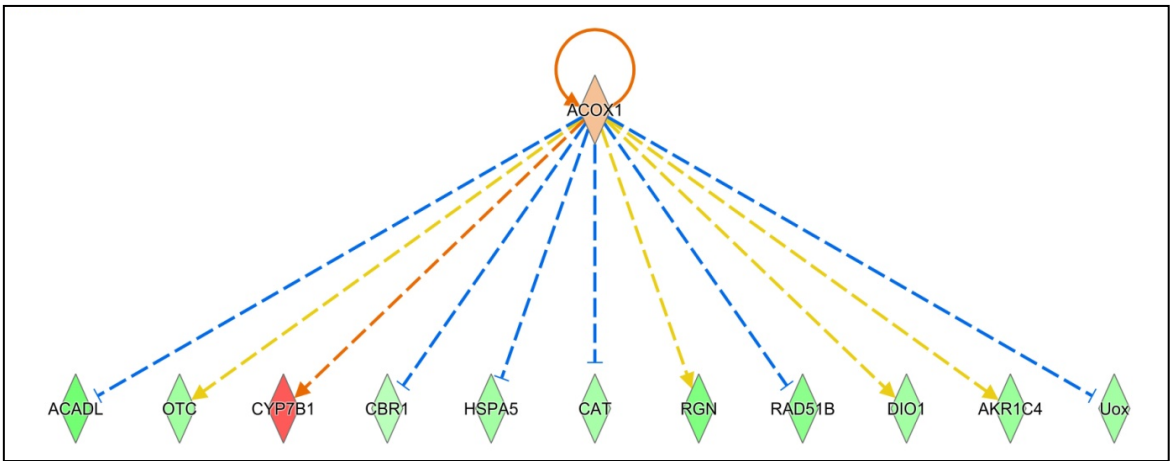
TARTIŞMA

L. donovani ile enfekte farelerin karaciğerdeki genlerinin %20'sinin ekpresyonunda anlamlı farklılık saptanmıştır. Aktivasyon düzeyi en fazla değişen sinyal yolağı "Sirtüin Sinyal Yolağı"dır. Sirtüin hem *Leishmania* spp.'lerde hem de konak hücre dokusunda bulunan bir moleküldür. Konakta bulunan sirtüin, vücudun Leishmania enfeksiyonuna karşı dirençli olmasını sağlarken, Leishmania'larda bulunan sirtüin parazitin hayatta kalması, bağışık savunma mekanizmalarından korunmasını sağlayan bir virülans faktörüdür (Sundar and Singh, 2014). Çalışmada *L. donovani* ile enfekte farelerde sirtüin sinyal yolağında yüksek bir skor ile inhibisyon saptanmıştır. BALB/c farelerinin *L. donovani*'ye karşı duyarlı olması, immün sistemin IL-4 seviyesinde artışı ile giden Th2 aktivasyonu yanı sıra (von Stebut ve ark., 1998) sirtüin ekspresyonundaki azalma ile ilgili olabilir. Bu durumu daha net bir şekilde ortaya koyabilmek için *Leishmania*'ya duyarlı ve doğal dirençli farelerdeki sirtün ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi faydalı olacaktır.

Ekspresyonunda farklılık saptanan genler ise çoğunlukla lipit, kolesterol ve yağ metabolizması ile ilişkili olup, kolesterol ve lipit biyosentezi ile ilişkili enzimlerin ekspresyonunda genellikle azalma olduğu saptanmıştır. Bilindiği üzere kolesterol ökaryotik membranların ana bileşeni olup, membran organizasyonu ve sinyal iletimi gibi birçok fonksiyonu vardır (Semini ve ark., 2017).



Şekil 2. *L. donovani* ile enfeksiyonda düzeyi en fazla değişen moleküllerin rol oynadığı yolaklar



Şekil 3. ACOX1'in ilişkili olduğu moleküller

Daha önce yapılan çalışmalarda hiperkolesteroleminin vücudu *Leishmania* ile enfekte olmaya karşı korurken, hipokolesteroleminin enfeksiyona duyarlı hale getirdiği belirtilmiştir (Ghosh ve ark., 2012). *Leishmania* amastigotları makrofajlar içerisinde yaşamlarını devam ettirirken kolesteroldeki azalmanın MHC aracılı antijen sunumunda veya IFN reseptörlerinde azalmaya yol açtığı ve böylece *Leishmania*'nın konak hücre savunma stratejilerinden kaçmasına yardımcı olduğu gösterilmiştir (Anderson ve ark., 2000; Burack ve ark., 2002). Ayrıca ilginç bir şekilde *Leishmania*'nin karaciğer hücrelerinde apoptoza yol açarak karaciğerde önemli morfolojik ve fonksiyonel değişikliklere yol açabileceği düşünülmektedir (Modabberi ve ark., 2021; Kausalya ve ark., 1993).

Biz bu çalışmada *L. donovani* enfeksiyonunun karaciğerde en fazla lipit metabolizması ile ilgili genlerde değişikliğe yol açtığını gösterdik ve ekspresyonu azalan molekülleri tanımladık. Bu moleküllerin vücutta artışının sağlanmasıyla *Leishmania* enfeksiyonlarına direnç kazanılabilecek olup, bu moleküllerin replasmanıyla (ilaç veya aşı) enfeksiyonla mücadelede başarılı sonuçlar alınabilecektir.

Kaynaklar

Anderson HA, Hiltbold EM, Roche PA. Concentration of MHC class II molecules in lipid rafts facilitates antigen presentation. Nature Immunology 2000; 1:156-162.

Ashwin H, Seifert K, Forrester S, Brown N, MacDonald S, James S, Lagos D, Timmis J, Mottram JC, Croft SL, et al. Tissue and host species-specific transcriptional changes in models of experimental visceral leishmaniasis. Wellcome Open Res. 2019; 3: 135. https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.14867.2.

Burack WR, Lee KH, Holdorf AD, Dustin ML, Shaw A. S. (2002). Cutting edge: Quantitative imaging of raft accumulation in the immunological synapse. The Journal of Immunology, 169, 2837–2841.

Ghosh J, Das S, Guha R, Ghosh D, Naskar K, Das A, Roy S. Hyperlipidemia offers protection against Leishmania donovani infection: Role of membrane cholesterol. Journal of Lipid Research 2012; 53: 2560-2572.

Kausalya S, Malla N, Ganguly NK, Mahajan RC. Leishmania donovani: in vitro evidence of hepatocyte damage by Kupffer cells and immigrant macrophages in a murine model. Exp Parasitol. 1993 Nov;77(3):326-33. doi: 10.1006/expr.1993.1090

Modabberi F, Ghadimi SN, Shahriarirad R, Nadimi E, Karbalay-Doust S, Rashidi S, Sarkari B. Stereological analysis of liver, spleen and bone of Leishmania infantum-experimentally infected hamsters. Exp Parasitol. 2021. 228:108137. doi: 10.1016/j.exppara.2021.108137.

Ontoria E, Hernández-Santana YE, González-García AC, López MC, Valladares B, Carmelo E. Transcriptional Profiling of Immune-Related Genes in Leishmania infantum-Infected Mice: Identification of Potential Biomarkers of Infection and Progression of Disease. Front. Cell. Infect. Microbiol. 2018; 8: 197.

Scott P, Novais F. Cutaneous leishmaniasis: immune responses in protection and pathogenesis. Nat Rev Immunol 2016; 16: 581-592. https://doi.org/10.1038/nri.2016.72

Semini G, Paape D, Paterou A, Schroeder J, Barrios-Llerena M, Aebischer T. Changes to cholesterol trafficking in macrophages by Leishmania parasites infection. MicrobiologyOpen 2017; 6(4), e00469. doi:10.1002/mbo3.469.

Sundar S, Singh B. Identifying vaccine targets for anti-leishmanial vaccine development. Expert Rev Vaccines. 2014;13(4):489-505. doi:10.1586/14760584.2014.894467.

von Stebut E, Belkaid Y, Jakob T, Sacks DL, Udey MC. Uptake of Leishmania major amastigotes results in activation and interleukin 12 release from murine skin-derived dendritic cells: implications for the initiation of anti-Leishmania immunity. J Exp Med 1998; 188(8): 1547-52.

Yeshaw Y, Tsegaye AT, Nigatu SG. Incidence of Mortality and Its Predictors Among Adult Visceral Leishmaniasis Patients at the University of Gondar Hospital: A Retrospective Cohort Study. Infect Drug Resist. 2020;13:881-891. https://doi.org/10.2147/IDR.S245991.

SÖZLÜ BİLDİRİ OTURUMU 10 **SB77** ***15 Ekim 2021 – 10:00-11:00***

Respiratuvar Problemleri Olan Hastaların Solunum Yolu Örneklerinde *Microsporidia* Sıklığının Araştırılması

Özlem ULUSAN BAGCİ[1,2], Filiz GULDAVAL[3], Can MUFTUOGLU[2,5], Ufuk MERT[2,5], Reyhan GÜMÜŞBURUN[4,5], Gülhan BOĞATEKİN[4,5], Damla SERÇE UNAT[3], Ömer Selim UNAT[4], Gülru POLAT[3], Özlem GOKSEL[4,5], Seray TOZ[6], Ayse CANER[2,5,6]

[1]Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İZMİR; [2]Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Onkoloji AD, İZMİR; [3]Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göğüs Hastalıkları AD, İZMİR; [4]Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD, İZMİR; [5]Ege Üniversitesi Translasyonel Akciğer Araştırma Grubu (EGESAM), İZMİR; [6]Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, İZMİR

E-mail: drozlemulusan@gmail.com

TAM METİN

GİRİŞ

Microsporidia çevrede bol miktarda bulunan, omurgalı veya omurgasız birçok konağı enfekte edebilen, hücre içinde yaşayan ve spor oluşturabilen bir etken mikroorganizmadır. Neden olduğu hastalık tablosunun klinik prezentasyonu oldukça geniş olup, bağırsak, akciğer, kas, böbrek, göz ve merkezi sinir sistemini tutabilir (Diddier ve Weiss, 2006). Microsporidia özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda birçok sistemde belirti ve bulguya neden olabilen, ancak standart mikroskopi ve kültür yöntemleriyle saptanamayan, özel boyama yöntemleri veya moleküler yöntemler uygulanması gereken, bu nedenle kolaylıkla atlanabilen bir etkendir (Katzwinkel-Wladarsch ve ark., 1997; Garcia, 2002) Lösemi gibi hematolojik malignitesi olan hastaların solunum yollarında ciddi enfeksiyon yaptığı gösterilmiştir ancak bilgiler vaka takdimleri ile sınırlıdır. Microsporidia etken pnömonilerde akla gelen ve rutin olarak araştırılan mikroorganizmalardan biri değildir ve ihmal edilen mikroorganizmalardan bir tanesidir (Teachey ve ark., 2004; Savioli ve ark., 2006). Biz bu çalışmada akciğer hastalıkları olan bireylerin solunum yolu örneklerinde Microsporidia sıklığını sağlıklı gönüllülerle karşılaştırmalı olarak araştırmayı amaçladık.

YÖNTEM

Çalışmaya 2019-2020 yılları arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları polikliniğine başvurmuş 41 ve 2020-2021 yılları arasında Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi polikliniğine başvurmuş 69 hasta dahil edilmiştir. Sağlıklı gönüllü olarak 18 yaş üzerinde ve herhangi bir akciğer problemi, kronik hastalığı ve kanseri olmayan 40 kişi çalışmaya alınmıştır. Çalışma için hem Ege Üniversitesi hem de Suat Seren etik kurullarından onay alınmıştır. Çalışmaya katılanlardan steril bir kaba balgam örneği alınmıştır. Balgam örneklerinden "Sputum DNA İzolasyon Kiti" (Norgen) kullanılarak DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. DNA konsantrasyonu ve DNA'nın saflık derecesi NanoDrop cihazıyla ölçülmüştür. Polimeraz Zincir Reaksiyonunu (PZR) final konsantrasyonu 0.4 µM primerler, 2XSyber Green I Master (Light Cycler, Roche) ve 5 µl DNA

örneğinden oluşmak üzere toplam 25 µl olarak hazırlanmıştır. *Microsporidia*'nın SSU-rRNA bölgesini hedefleyen F:CACCAGGTTGATTCTGCCTGA ve R:CCTCTCCGGAACCAAACCCTG primerleri kullanılarak, 250-280 bp büyüklüğünde bir gen bölgesi amplifiye edilmiştir (Joseph ve ark., 2016). PZR protokolü 10 dk preinkübasyonu takiben, 95 ^{0}C'de 10 sn, 60 ^{0}C'de 10 sn, 72 ^{0}C'de 20 sn olarak belirlenmiştir. PZR'de amplifikasyon eğrisi saptanması durumunda erime eğrisi analizi yapılmıştır. Her bir reaksiyon üçer kez tekrar edilmiştir. Pozitif kontrol olarak daha önce pozitif olduğu doğrulanmış hasta örneklerinin DNA'ları kullanılmıştır. İnhibisyonu değerlendirmek için hasta örnekleri dilüe pozitif kontrol ile birlikte ve tek başına olmak üzere ikili çalışılmıştır.

BULGULAR

Akciğer hastalığı olan 110 hastanın 11 tanesinin balgam örneğinde PZR ile Microsporidia DNA'sı pozitif saptanırken, sağlıklı gönüllülerin hiçbirinin balgamında etkene rastlanmamıştır. Aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (p=0.02). *Microsporidia* pozitif saptanan hastalara ait sosyodemografik ve klinik özellikler tabloda verilmiştir.

TARTIŞMA

Microsporidia hem lokalize hem de dissemine birtakım enfeksiyonlara neden olabilmektedir. *Microsporidia* ile ilgili çalışmalar genellikle intestinal sistem enfeksiyonları üzerine yoğunlaşmış olup, solunum yolu örneklerinde etkeni araştıran çalışmaların sayısı oldukça sınırlıdır. Solunum yollarında *Microsporidia*'yı araştıran çalışmalar genellikle vaka bildirimleri şeklindedir. Özkoç ve ark. iatrojenik olarak bağışıklığı baskılanmış 63 hastanın 9 tanesinin bronkoalveolar lavaj örneğinde moleküler yöntemle etkeni tespit etmiştir. Bizim çalışmamızda benzer olarak ortak özelliği akciğer hastalıkları olan 110 hastanın 11 (%10) tanesinin balgamında etkene rastlanmış olup, beklenenin oldukça üzerindedir. Bu hastalarda kolonizasyon/enfeksiyon etkeni ayrımı yapılabilmesi için hastaları klinik ve radyolojik bulgularıyla bir bütün olarak değerlendirmek gerekmekte olup, bizim çalışmamızdaki pozitif bulunan hastalardaki etkenlerin 4 tanesi enfeksiyon etkeni, 2 tanesi olası enfeksiyon etkeni ve 5 tanesi kolonizan olarak değerlendirilmiştir (Tablo 1). Ancak kolonizasyonun enfeksiyon için bir ön adım niteliğinde olduğunu ve kolonizan olarak bulunan mikroorganizmanın özellikle bu şekilde altta yatan patolojisi olan hastalarda her an enfeksiyona neden olabileceğini unutmamak gereklidir (Dani, 2014).

Çalışmamızda altta yatan akciğer patolojisi olan hastalarda *Microsporidia* insidansının sağlıklı gönüllülere göre anlamlı derecede yüksek bulunması, bu tür hastalarda pnömoni kliniği geliştiğinde ayırıcı tanıda *Microsporidia*'yı akılda bulundurmanın ve gerekli laboratuvar testlerini uygulamanın önemini vurgulamaktadır ve *Microsporidia*'ya dikkat çekmek ve ihmal edilmiş hastalık kategorisinden kurtarmak için bu etkenle ilgili yapılacak daha fazla çalışmaya gereksinim duyulmaktadır.

Tablo 1. Balgamında *Microsporidia* saptanan hastaların sosyodemografik ve klinik özellikleri

Hastalar	Yaş	Cinsiyet	Sigara içme durumu	Komorbidite	İmmünsupresyon	Şikayeti	Radyolojik bulgu	Kolonizasyon /Enfeksiyon
1	71	Erkek	Bırakmış	DM, HT, KOAH	Var	Yok	Yok	Kolonizasyon
2	66	Erkek	Bırakmış	Yok	Var	Öksürük, balgam, nefes darlığı	Var	Enfeksiyon
3	59	Erkek	İçiyor	HT	Var	Yok	Yok	Kolonizasyon

4	61	Erkek	Bırakmış	KOAH	Var	Yok	Var	Enfeksiyon
5	67	Erkek	Bırakmış	Yok	Var	Balgam, hemoptizi	Yok	Olası enfeksiyon
6	49	Erkek	İçiyor	HT	Var	Yok	Yok	Kolonizasyon
7	69	Erkek	Bırakmış	DM	Var	Yok	Yok	Kolonizasyon
8	44	Erkek	Bırakmış	HT, DM, TBC	Var	Öksürük	Var	Enfeksiyon
9	43	Kadın	İçmemiş	Yok	Yok	Yok	Yok	Kolonizasyon
10	60	Kadın	İçmemiş	HT	Var	Balgam	Var	Enfeksiyon
11	44	Kadın	İçmemiş	Yok	Var	Öksürük, balgam, nefes darlığı	Yok	Olası enfeksiyon

DM=Diabetes mellitus, **HT**=Hipertansiyon, **KOAH**=Kronik obstrüktif akciğer hastalığı, **TBC**=Tüberküloz

KAYNAKLAR

Dani A. Colonization and infection. Cent European J Urol. 2014; 67(1):86-87. doi:10.5173/ceju.2014.01.art19

Didier ES, Weiss LM.2006. Microsporidiosis: current status. Curr Opin Infect Dis; 19(5):485.

Garcia LS. Minireview laboratory identification of the Microsporidia. J. Clin. Microbiol. 2002; 40(6): 1892-1901.

Joseph J, Sharma S, Murthy SI, Krishna PV, Garg P, Nutheti R, Kenneth J, Balasubramanian D. Microsporidial keratitis in India: 16s rRNA gene-based PCR assay for diagnosis and species identification of microsporidia in clinical samples. Investig Ophthalmol Vis Sci. 2006;47(10):4468-4473. doi:10.1167/iovs.06-0376

Katzwinkel-Wladarsch S, Deplazes P, Weber R, Löscher T, Rinder H. Comparison of polymerase chain reaction with light microscopy for detection of microsporidia in clinical specimens. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1997; 16: 7-10. https://doi.org/10.1007/BF01575111.

Özkoç S, Bayram Delibaş S, Akıüsü Ç. Evaluation of pulmonary microsporidiosis in iatrogenically immunosuppressed patients. Tuberk Toraks 2016;64(1):9-16. doi:10.5578/tt.10207.

Savioli L, Smith H, and Thompson A. Giardia and Cryptosporidium join the 'Neglected Diseases Initiative. Trends Parasitol. 2006; 22:203-208.

Teachey DT, Russo P, Orenstein JM, Didier ES, Bowers C and Bunin N. Pulmonary infection with microsporidia after allogeneic bone marrow transplantation. Bone Marrow Transplantation 2004; 33: 299-302. doi:10.1038/sj.bmt.1704327.

POSTER BİLDİRİLER

P01.

Culex pipiens L. Sivrisineği Üzerinde Entomopatojen Nematod *Steinernema carpocapsae*'nin Patojenik Etkisi

Ayşegül CENGİZ[1], Şevval KAHRAMAN[1], Sadık POLAT[1], Mehmet ÇİVRİL[1], Samed KOÇ[2], Hüseyin ÇETİN[1]

[1]Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ANTALYA;
[2]Akdeniz Üniversitesi, Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi, ANTALYA

E-mail: aycen07@gmail.com

Amaç: Vektörler taşıdıkları hastalık etmenleri ile insan ve hayvan sağlığı açısından büyük öneme sahiptirler. Bu canlıların kimyasal pestisitlere karşı direnç geliştirdiği yönünde çok sayıda rapor bulunmaktadır. Ayrıca kimyasal pestisitlerin hedef dışı canlılar, çevre ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri olduğu kanıtlanmıştır. Son yıllarda kimyasalların olumsuz etkilerini azaltmak veya ortadan kaldırmak için biyolojik mücadele ajanlarının zararlılara karşı kullanım oranı artmıştır. Biyolojik mücadele ajanları arasında yer alan önemli canlı gruplarından biri entomopatojen nematodlardır. Bu çalışmanın amacı bir entomopatojen nematod türü olan *Steinernema carpocapsae* Weiser (Rhabditida: Steinernematidae)'nin ülkemizde yaygın olarak görülen ve Batı Nil Ateşi hastalığı vektörü olduğu bilinen *Culex pipiens* L. (*Diptera: Culicidae*) sivrisinek türünün larvaları üzerindeki patojenik etkisini belirlemektir.

Yöntem: Bu çalışmada Akdeniz Üniversitesi, Medikal Entomoloji ve Vektör Kontrol Laboratuvarı'nda bulunan *Cx. pipiens* türüne ait duyarlı ve yaban popülasyonların 3.-4. evre larvaları kullanılmıştır. Entomopatojen nematod *S. carpocapsae* ise ticari preparat olarak tedarik edilmiştir. Patojenite testleri üç tekrarlı olarak yapılmış ve her bir tekrarda on sivrisinek larvası kullanılmıştır. İçerisinde 5-30 IJs/cm2 oranlarında entomopatojen nematod bulunan su ortamına bırakılan larvaların 24 saat aralıklarla 10 gün süresince ölüm, pupalaşma ve erginleşme oranları kayıt edilmiştir. Elde edilen ölüm oranlarının yüzde ortalamaları Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile $p \leq 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Elde edilen bulgulara göre entomopatojen nematoda 10 gün maruziyet sonunda, duyarlı *Cx. pipiens* larvalarının yaban popülasyonu larvalarına göre *S. carpocapsae*'ye karşı daha hassas olduğu görülmüştür ($p \leq 0.05$). Duyarlı popülasyonda 5-10 IJs/cm2 oranlarına maruz kalan larvaların ölüm oranları %20-33,3 arasında değişirken, üst uygulama oranlarında (20 ve 30 IJs/cm2) bu değer %46,7-53,3 arasında değişmektedir. Kullanılan en üst uygulama oranında (30 IJs/cm2) yaban sivrisinek popülasyonundaki ortalama ölüm oranı %13,3'tür. Kontrol gruplarında ise ortalama %0-6,7 arasında ölüm tespit edilmiştir.

Sonuç: Bu çalışmada *S. carpocapsae* türü entomopatojen nematodun duyarlı *Cx. pipiens* popülasyonunda daha belirgin bir patojeniteye sahip iken yaban popülasyonu üzerinde ise düşük patojeniteye sahip olduğu belirlenmiştir. Entomopatojen nematodların sivrisineklere karşı mücadelede kullanım olasılığının ve etkinliğinin test edilmesi yönünde daha fazla sayıda nematod türü ve oranı ile farklı sivrisinek türleri üzerinde çalışma yapılmasına gereksinim duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Biyolojik mücadele, *Culex pipiens*, Entomopatojen nematod, Larva, *Steinernema carpocapsae*

P02.

Anopheles sacharovi'nin İnsektaryumda Yetiştirilmesindeki Önemli Faktörler

Sadullah USLUĞ[1], Fatih Mehmet ŞİMŞEK[2], Sümeyye AYGÜN[1], Faruk KARABULUT[1], Gupse Kübra KARADEMİR[1], Nesrin DELİBAŞI KÖKÇÜ[3], Önder DÜZLÜ[1,4], Alparslan YILDIRIM[1,4], Arif ÇİLOGLU[1,4], Osman İBİŞ[4,5], Abdullah İNCİ[1,4]

[1]Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ; [2]Adnan Menderes Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ekoloji AD, AYDIN; [3]Kapadokya Üniversitesi, Kapadokya Meslek Yüksek Okulu, NEVŞEHİR; [4]Erciyes Üniversitesi, Vektörler ve Vektörlerle Bulaşan Hastalıklar Uygulama ve Araştırma Merkezi, KAYSERİ; [5]Erciyes Üniversitesi, Seyrani Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Hayvansal Biyoteknoloji AD, KAYSERİ

E-mail: sadullahuslu01@gmail.com

Amaç: Bu çalışmada, Kayseri Sultan Sazlığı yöresinden izole edilen *Anopheles sacharovi* nesillerinin insektaryumda yetiştirilmesi ve soy hattının optimum koşullarda devamlılığı için gerekli parametrelerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: *An. sacharovi* ergin dişi örneklemeleri 2020 yılının ilkbahar-yaz ayları arasında Sultan Sazlığı yöresindeki yerleşim alanlarında, hayvan ahırları/barınakları, ev içleri, kiler, depo gibi uygun kapalı alanlarda gündüz saatlerinde bataryalı aspiratörler (2809D, BioQuip, ABD) ve hepa filtreli basit ağız aspiratörleri ve el fenerleri yardımıyla toplanmıştır. Örneklemenin yapılacağı alanlarda kan emmiş, fizyolojik olarak yumurta gelişimin başladığı yarıgravid veya gravid dinlenme halindeki ergin dişiler öncelikli olarak yakalanmıştır. Örnekler küçük kafesler içerisine aktarılarak uygun koşullarda canlı vaziyette laboratuvara getirilmiştir. Gravid dişi sivrisinek örnekleri teker teker insektaryumda üzeri sivrisinek tülleriyle kapatılmış kâğıt bardaklardan oluşan yumurtlatma kaplarına alınmış, protokol numarası verildikten sonra ve yumurtlamaları için uygun nem ve ısıda tutulmuşlardır. Yumurtlayan tüm dişiler ve yumurtaları kaplardan alınarak stero-mikroskop altında teşhis anahtarı ile morfolojik tür teşhisleri yapılmıştır. Tür konfirmasyonları amacıyla yumurtlaman ergin dişi örneklerine ait dokulardan gDNA izolasyonunu yapılmış ve Maculipennis kompleks türleri için ribozomal internal transcribed spacer 2 (ITS2) gen bölgesini tür spesifik olarak çoğaltan primerlerle PCR analizleri gerçekleştirilmiştir.

İnsektaryumda, larva, pupa ve ergin dönemlerin gelişimini sağlamak için gerekli ortam ve besleme koşulları referans protokollerin modifikasyonları ile sağlanmıştır.

Bulgular: Sahadan toplanan ve yumurtlatılan *Anopheles sacharovi* dişi örneklerinin kanat lekelerinin daha az belirgin olması, scutumun soluk kahverenginde olması, sucutumda soluk doğrusal bir şeritin bulunmaması ve kanat ucu saçaklarının tek düze siyah olması gibi morfolojik karakterleri ile *An. maculipennis* grubunun diğer türlerinden (*An. maculipennis s.s., An. melanoon, An. messeae*) ayrıldığı belirlenmiştir. *An. sacharovi*'nin yumurta desenine göre de diğer *An. maculipennis* grubu türlerinkinden farklı olduğu ve belirgin bant profilleri veya desenlerinin olmadığı görülmüştür. Ayrıca morfolojik karakterlerle tür teşhisi yapılan örneklere ait gDNA izolatlarının ITS2 PCR analizleri tür teşhislerini konfirme etmiştir. *An. sacharovi*'nin tüm gelişim dönemleri için gerekli optimum sıcaklık, nispi nem ve fotoperiyot koşulları; 26-30°C, 70%±10% ve 12saat:12saat aydınlık:karanlık olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda larvaları besleme amacıyla ağırlıklı olarak öğütülmüş pul balık yemi (TertaMin), larval gelişim hızlarına bağlı olarak bazı durumlarda da kedi maması+balık yeminin eşit oranda karıştırılıp

toz haline getirilerek günlük olarak uygulanmasının en efektif sonuçları verdiği görülmüştür. Tüm bu koşullarda yumurtadan pupa dönemine kadar larval gelişim periyodu ortalama 19 gün olarak tespit edilmiştir. Larval dönemlerin tamamlanmasıyla gelişen pupalardan erginlerin çıkma periyodu ortalama 1-2 gün olarak belirlenmiştir. Ergin sineklerin, büyük kafes içerisinde %10'luk şeker çözeltisiyle 2 gün beslenip akabinde dişilere suni kan sunulması ve çiftleşmeye bırakılmalarının uygun olduğu belirlenmiş ve bu şekilde kan beslenmesini takip eden 9. günde dişilerin yumurtladığı tespit edilmiştir. Bunun yanında *An. sacharovi*'nin çiftleşme davranışı sergilemesi için geniş hacimli kafeslere ihtiyaç olduğu görülmüştür.

Sonuç: Bu çalışma ile diğer sivrisinek türlerine göre laboratuvar hatlarının oluşturulması daha zor ve zahmetli olan *An. sacharovi* nesillerinin insektaryumda yetiştirilmesi sağlanmıştır. *An. sacharovi* popülasyonları ve potansiyel vektörlüğünü yaptığı başta *P. vivax* sıtması olmak üzere çeşitli patojenler ile mücadele, kontrol ve insektisit dirençliliği gibi bilimsel çalışmalarda insektaryum hatlarının model oluşturma açısından oldukça önemli olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Anopheles sacharovi*, insektaryum, laboratuvar hattı, Kayseri

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 119O968 nolu proje ile desteklenmiştir.

P03.

Culex pipiens form pipiens, *Cx. pipiens form molestus* ve Hibritlerinin Moleküler Olarak Araştırılması

Ahsen Meliha TOROSLU[1], Faruk KARABULUT[1], Sümmani ÇİFCİ[1], Alparslan YILDIRIM[1,2]

[1]Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ; [2]Erciyes Üniversitesi, Vektörler ve Vektörlerle Bulaşan Hastalıklar Uygulama ve Araştırma Merkezi, KAYSERİ

E-mail: ahsenntoroslu@gmail.com

Amaç: "Kuzey Ev Sineği" olarak adlandırılan Culex pipiens, kozmopolit bir yayılışa sahip olup başta Batı Nil Virüsü (WNV) olmak üzere çeşitli patojenlerin insan ve hayvanlara naklinde sorumlu olan sivrisinek türlerinin başında gelmektedir. *Cx. pipiens, Pipiens* kompleks içerisinde yer almakta olup morfolojik olarak identik ve coğrafik dağılımları da örtüşen ancak davranışsal olarak farklılıklar gösteren *Cx. pipiens form pipiens* ve *Cx. pipiens form molestus* olmak üzere iki farklı biyotipi bulunmaktadır. Ayrıca her iki biyoformun ortak dağılım gösterdiği bölgelerde hibritleşme de sık olarak gözükebilmektedir. Zoonotik patojenler için uygun konak ve kompotent vektörlerin bulunması enzootik transmisyon için önemlidir. Bu açıdan çeşitli coğrafik alanlarda başta WNV olmak üzere vektör kaynaklı patojenlerin oluşturdukları risk faktörlerinin belirlenmesi ve pest kontrol stratejilerinin oluşturulmasında yaygınlık gösteren vektör sivrisineklerin başarılı identifikasyonu oldukça önemlidir. Her iki biyoform da WNV ve diğer bazı patojenleri nakletme yeteneğindedir. Bununla birlikte bu iki biyoformun hibritleri "köprü vektör" olarak nitelenmekte olup ilgili patojenleri nakletme yeteneklerinin daha yüksek olduğu bilinmektedir. Günümüze kadar bu önemli sivrisinek türü üzerine biyoformlarının araştırıldığı sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Araştırmamızda uygun akuatik ortamlardan toplanarak morfolojik ve moleküler identifikasyonu yapılan *Cx. pipiens* larva ve pupalarının biyoform karakterizasyonunu sağlamak ve hibrit formların varlığını araştırmak amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışma kapsamında 2021 yılının Ağustos ve Eylül ayları arasında Kayserinin Develi ilçesindeki sivrisineklerin gelişimine uygun akuatik ortamlarda saha çalışmaları yürütülmüş ve tespit edilen *Culicine* larva ve pupaları toplanarak %70 etil alkol içerisine alınmıştır. Örnekler soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiş ve stero mikroskop altında teşhisleri gerçekleştirilmiştir. Morfolojik teşhisleri yapılan örneklerden genomik DNA (gDNA) ekstraksiyonu yapıldıktan sonra *Cx. pipiens* kompleks konfirmasyonu için ve CQ11 microsatellite DNA bölgesini hedefleyen spesifik primerler ve probla qPCR analizleri gerçekleştirilmiştir. qPCR analizlerini takiben *Cx. pipiens* biyoformlarının ve hibrit nesillerin araştırılması amacıyla örneklere ait gDNA izolatları ilgili primerlerle ACE-2 ve CQ11 microsatellite DNA PCR analizlerine tabii tutulmuştur.

Bulgular: Çalışma boyunca araştırma bölgesinden toplanan *Culicine* örneklerinden 113 larva ve 51 pupa örneği mikroskobik analizlerde morfolojik özelliklerine göre *Cx. pipiens* kompleks üyeleri olarak teşhis edilmiştir. İlgili larva ve pupa örneklerine ait gDNA izolatlarının qPCR analizleri ile *Cx. pipiens* komplekste yer aldıkları konfirme edilmiştir. ACE-2 ve CQ11 microsatellite PCR analizleri sonucu belirlenen spesifik bant profillerine göre 113 larva örneğinin 66'sı *Cx. pipiens form pipiens*, 40'ı *Cx. pipiens*

form molestus ve 7'si de *form pipiens* ve *form molestus*'un hibrit nesilleri olarak identifiye edilmiştir. 51 pupa örneğinin ise 32'si *Cx. pipiens form pipiens*, 15'i *Cx. pipiens form molestus* ve 4'ü *form pipiens* ve *form molestus* hibrit nesilleri olarak identifiye edilmiştir.

Sonuç: Bu çalışma ile ülkemizde *Cx. pipiens* kompleks türlerinden *Cx. pipiens form pipiens* ve *form molestus* türlerinin aynı habitatta görünürlüğü ve yaygınlığı üzerine moleküler bazda bilimsel çıktılar elde edilmiştir. Ayrıca aynı habitatı paylaşan bu iki biyoformun hibrit nesillerinin de araştırma bölgesinde yaygın olduğu dikkati çekmiştir. Bu iki biyoformun ve "köprü vektör" olarak nitelenen hibritlerin araştırma yöresindeki yaygın olarak bulunması, vektörlük potansiyelleri göz önüne alındığında başta WNV olmak üzere çeşitli patojenlerin insan ve hayvan sağlığı açısından risk oluşturduğunu ortaya çıkarmıştır. Bununla birlikte çalışmada elde edilen çıktılar araştırma bölgesiyle birlikte ülkemizde *Culex* popülasyonları için uygun habitatlarda entegre sivrisinek kontrol programlarının hayata geçirilmesi gerekliliğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Culex pipiens* biyotipleri, Hibrit, Real-Time PCR, Microsatellite Analizleri

P04.

Bursa Yöresi Sokak Köpeklerinde Uyuz Enfestasyonunun Yayılışı

Betül SAYGIN[1], Yiğit ALTAV[2], Suna ZENGİN[2], Levent AYDIN[1]

[1]Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, BURSA;
[2]Arion İlaç Ar&Ge Merkezi, Tuzla, İSTANBUL

E-mail: 611852001@ogr.uludag.edu.tr

Uyuz enfestasyonları tüm dünyada hem insan hem de hayvan sağlığını etkileyen oldukça önemli paraziter hastalıklardır. Köpeklerde bu enfestasyonlar çok ciddi klinik bulgulara yol açabilmekle birlikte özellikle halk sağlığını da etkilemesi açısından ciddi bir önem taşımaktadır. Köpeklerde uyuz enfestasyonuna; Sarcoptidae ailesindeki *Sarcoptes scabei var. canis*, *Demodicidae* ailesinde bulunan *Demodex* soyundan *D. canis- D. injai- D. cornei*, *Psoroptidae* ailesindeki *Otodectes cynotis* ve *Cheyletiellidae* soyunda bulunan *Cheyletiella yasguri* neden olmaktadır. Dünyada uyuz prevalansı ile ilgili yapılmış çalışmalar köpek uyuzunun önemli bir tehdit olduğunu göstermektedir. Ülkemizde ise köpek uyuzunun prevalansının belirlenmesine yönelik olarak yapılan çalışmaların sayısı oldukça sınırlıdır. Bu çalışmada Bursa sokak köpeklerinde uyuz enfestasyonuna yol açan etkenlerin hangileri olduğu analiz edilmiş ve bunlarda bitkisel kaynaklı bileşikler ve isoxazoline grubunda yer alan bazı etken maddeler tedavideki başarı oranlarının karşılaştırılması hedeflenmiş ve çalışma sürmektedir. Burada sadece Bursa yöresi sokak köpeklerinde uyuz yaygınlığı değerlendirilmiştir.

Yapılan saha çalışmasında Haziran.2020-Ağustos.2021 tarihleri arasında "uyuz şüpheli" olduğu belirlenen 124 adet köpeğe ait numuneler petri kutusunda derin kazıntı ile laboratuar ortamında (%10 KOH) değerlendirimiş ve bunlardan 41 (%33.06) tanesinde köpeklerde uyuz enfestasyonuna yol açan etkenlere rastlanmıştır. Bu 41 adet köpekten 26 adetinde (%63,4) *Demodex* spp., 2 adetinde (%4,8) *Otodectes cynotis* ve 13 adetinde de (%31,7) *Sarcoptes scabei var. canis* etkenlerine rastlanmıştır. Enfestasyonlara İlkbahar ve yaz aylarında daha sık rastlanmış en az ise kış aylarında bulunmuştur. Sıcak aylarda şüpheli vaka ve uyuzla karışan olguların (atopik dermatit vb) yüksek çıkması laboratuar muayenesini mutlak kılmaktadır. Devam etmekte olan bu çalışmada isoxozalin ile çeşitli bitkilerden hazırlanmış olan ekstraktların (Arion İlaç Ar&Ge) herhangi bir ek sağaltım (destek tedavi) uygulamasına gerek olmadan oldukça iyi etki göstermişlerdir. Bununla beraber özellikle küçük hayvan koruyucu hekimliğinde ektoparazit enfestasyonlarını önlemede trend haline gelen isoxozalin (afoxolaner, flurolaner) ve esansiyel yağ gruplarında herhangi bir destek tedavi uygulanmasına gerek kalmamıştır. Etken maddelerin uyuz tedavisinde etkili olabilecekleri düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bursa, köpek, uyuz, yayılış

P05.

Türkiye'nin Kuzeydoğusunda Bir Yaban Keçisinden Elde Edilen *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *kohlsi*'nin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüleri

Esin GÜVEN, Rıdvan KİRMAN, **Muzaffer AKYÜZ**

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ERZURUM

E-mail: muzaffer.akyuz@atauni.edu.tr

Amaç: Bu çalışmada *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *kohlsi*'nin taramalı elektron mikroskop ile görüntülenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Erzurum'un Uzundere ilçesi'nde yaralı olarak bulunan ve tedavi amaçlı hayvan hastanesine getirilen bir yaban keçisinden (*Capra aegagrus*) 3 adet erkek, 1 adet dişi kene toplandı. Keneler stereo mikroskop altında, morfolojik kriterler doğrultusunda tür tayini yapıldı. Örnekler altın ile kaplanarak, taramalı elektron mikroskobu ile incelendi.

Bulgular: Morfolojik kriterlere göre yapılan tür identifikasyonunda, toplanan 3 erkek ve 1 dişi kene *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *kohlsi* (Rh. (*Boophilus*) *kohlsi*) olarak tanımlandı. Kenelerin karakteristik morfolojik özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) altında belirlendi.

Sonuç: Bu çalışma ile *Rh*. (*Boophilus*) *kohlsi* ilk kez SEM ile görüntülendi. Bu tür hakkında çok fazla çalışma olmasa da ülkemizde yaban hayatının çeşitliliğine bağlı olarak geniş bir yayılım alanı bulabileceği düşünülmüştür. Çalışma verilerinin yapılacak morfolojik çalışmalara katkı sunabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *kohlsi*, Taramalı elektron mikroskobu, Yaban keçisi

P06.

Molecular Identification of *Hepatozoon canis* in *Rhipicephalus sanguineus* Ticks from Dogs in Siirt Province of Turkey

Burçak ASLAN ÇELİK[1], Adnan AYAN[2], Ali YILMAZ[3], Özgür Yaşar ÇELİK[4], Özlem ORUNÇ KILINÇ[5], Özge OKTAY AYAN[6]

[1]Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Siirt University, SİİRT, TURKEY; [2]Department of Genetics, Faculty of Veterinary Medicine, VAN, TURKEY; [3]School of Health, Van Yuzuncu Yil University, VAN, TURKEY; [4]Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Siirt University, SİİRT, TURKEY; [5]Özalp Vocational School, Van Yuzuncu Yil University, VAN, TURKEY; [6]Department of Medical Parasitology, Van Yuzuncu Yil University School of Medicine, VAN, TURKEY

E-mail: oyc@siirt.edu.tr

Aim: This study was performed on *Hepatozoon canis* positive ticks collected from dogs to perform sequencing of their 18S rRNA genetic section using the PCR method.

Methods: The collection of ticks was performed from a total of 80 dogs in the Siirt province, Turkey. A total of 300 ticks were collected and morphologically investigated.

Results: All ticks were identified as *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*. *H. canis* DNA was detected by the PCR method performed on 12 (4 %) of the 300 ticks.

Conclusion: The results obtained will provide important reference material for both veterinary physicians and dog owners in terms of managing canine hepatozoonosis.

Anahtar Kelimeler: *Hepatozoon canis*, PCR, *Rhipicephalus sanguineus*, Siirt, Turkey

P07.

İstanbul İlinde Sahadan Toplanan Kene Türleri ve Taşıdıkları Riskler; Güncelleme Çalışması

Salar Zarrabi AHRABİ[1], Gürkan AKYILDIZ[1], Sırrı KAR[2], Ayşen GARGILI KELEŞ[1]

[1]Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Sağlık Bilimleri AD, İSTANBUL;
[2]Namık Kemal Üniversitesi, Fen ve Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, TEKİRDAĞ

E-mail: salar.zarrabi@marun.edu.tr

Amaç: Çalışmada İstanbul ilinde yayılış gösteren kene türlerinin ortaya konarak literatürün güncellenmesi, saptanan kenelerin türlere göre mevsimsel ve alansal yoğunluklarının belirlenmesi ve oluşturdukları güncel halk ve hayvan sağlığı risklerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

Yöntem: İstanbul ilinin sınırları içinde belirlenen kırsal, ormanlık ve şehir içindeki park-bahçe gibi alanlarda 2021 yaz ve erken sonbahar (orman yangınları nedeni ile uygulanan yasaklardan dolayı ağustos ayında saha çalışması yapılamamıştır) boyunca her ay düzenli olarak pusucu keneler için bayraklama, avcı keneler için aktif gözlem yöntemleri ile keneler toplanmıştır. Toplanan keneler, yer (koordinat), tarih, sayı vb. bilgiler kaydedilerek tüpler içine alınmış ve Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Temel Sağlık Bilimleri Laboratuvarına canlı olarak getirilmiştir. Tür tanımlamaları, tür anahtarlarına ilişkin literatürler kullanılarak stereomikroskop altında morfolojik özelliklerine göre yapılmıştır.

Bulgular: Sahadan toplanan kenelerin; %85,39 *Ixodes ricinus* %13,62 *Haemaphysalis parva* %0,49 *Hyalomma aegyptium* %0,25 *Haemaphysalis inermis* ve %0,25 *Rhipicephalus sanguineus* türlerinde olduğu belirlenmiştir. Türlerin saptandığı odaklara ait yayılış ve yoğunluk haritası oluşturulmuştur.

Sonuç: 2007`de İstanbul bölgesinde yapılan çalışmada baskın tür olan *Ixodes ricinus*'un halen aynı bölgede yaygınlığını koruduğu görülmektedir. Çalışmamızda *Haemaphysalis* cinsine ait kene türlerinin toplam kene popülasyonu içinde belirgin bir artış gösterdiği saptanmıştır. Benzer şekilde, 2018 senesinde yapılan saha taramasının yer aldığı bir tez çalışmasında da İstanbul bölgesinde *Haemaphisalis* türüne ait kenelerin oranındaki artış bildirilmiştir. Çalışmamızda sahada tanımlanan kenelerden *Ixodes ricinus*'un halk sağlığı ve hayvan sağlığı açısından taşıdığı Lyme bulaştırma riski, *Rhipicephalus sanguineus*'un başlıca *Babesia canis* ve *Ehrlichia canis* taşıma riski bilinmektedir. Oransal olarak artış gösteren *Haemaphysalis* türlerinin de insan ve hayvanlara *Babesia* türleri, *Coxiella burnetii* aktarma riski bulunmaktadır. *Haemaphysalis inermis*'in laboratuvar ortamında kene ensefalitini bulaştırdığı da saptanmıştır. Çalışmamızda güncel olarak saptanan ve yayılışları değerlendirilen kene türlerinin taşıdığı etkenlerin de ortaya konması ile ilgili çalışmalar planlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: İstanbul, kene, yayılış

P08.

İstanbul'da Sahadan Toplanan *Ixodes* sp. Türü Kenelerde *Borrelia burgdorferi s.l.* Varlığı, Yayılışları ve Biyogüvenlik Riskleri, Ön Çalışma Sonuçları

Gürkan AKYILDIZ[1], Salar Zarrabi AHRABİ[2], Ayşen GARGILI KELEŞ[2]

[1]Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Sağlık Bilimleri AD, İSTANBUL;
[2]Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Temel Sağlık Bilimleri Bölümü, İSTANBUL

E-mail: gurkanakyildiz39@gmail.com

Lyme borreliozis (LB) ABD'nin kuzeyi ve Avrupa'nın doğusunda görülme sıklığı en fazla olan kene kaynaklı hastalıklardan biridir. ABD'de hastalığın vektörü *Ixodes scapularis* türü keneler iken, Avrupa'da vektör, ülkemizde de sık karşılaşılan *Ixodes ricinus* türü kenelerdir. *I. ricinus*'un tüm gelişim evreleri göçmen kuşlar ve küçük memeliler dahil birçok hayvanı konak olarak kullanabilmektedir. İstanbul'un, Doğu Avrupa ile ilişkili kuş göç rotalarını barındırması, doğasında LB etkeni olan *Borrelia burgdorferi sensu lato* rezervuarı olabilecek canlılar bulunması, vektör kene için uygun yaşam koşullarına sahip olması (iklim, vejetasyon gibi) ve daha önce yapılan çalışmalarda bölgede *I. ricinus* kaynaklı kene tutma vakalarının bildirilmesi sebebi ile bölge LB açısından risk altındadır. Ülkemizde kısa süreli kene tarama çalışmaları ve LB vaka bildirimleri dışında I. ricinus ve *B. burgdorferi s.l.* ile ilgili kapsamlı bir tarama çalışması yapılmamıştır. Çalışma bölgesi olarak seçilen İstanbul, coğrafi konumu ve fiziki yapısı nedeni ile farklı iklim kuşaklarına ve dolayısıyla farklı vejetasyonlara sahip doğal alanlar ile geniş hayvan biyoçeşitliliğine sahiptir. Bununla birlikte, özellikle İstanbul yoğun şehirleşme etkisi altında olmasına karşın, şehir içine sıkışmış, insanların sıklıkla aktivitelerde bulunduğu, farklı mikroiklimleri olan ormanlık alanlara da sahiptir. Ayrıca, değişen iklim ve geniş konak yelpazesi ile daha çok şehrin kuzeyinde görülen *I. ricinus*'un, insan popülasyonunun daha yoğun olduğu şehrin güneyindeki uygun habitatlarda sayısını arttırması muhtemeldir. Bu durum, şehirleşme, insan popülasyonunun artması ve mevcut COVID-19 pandemi sonrası insanların daha çok doğa sporları ve aktivitelerini tercih etmeye başlaması sebebiyle LB vektörü olan *I. ricinus* ile insanların karşılaşma riskini gün geçtikçe arttırmaktadır. Araştırmada, çalışma bölgesinde aktif tarama yöntemleri ile *I. ricinus* örneklerinin toplanması, bu örneklerde LB etkeni olan *B. burgdorferi s.l.*'nun moleküler yöntemlerle aranması, elde edilen sonuçlar ile bölgenin ilgili hastalık açısından risk durumunun ortaya konması amaçlanmıştır. Çalışmada, 2021 Mayıs-Eylül ayları arasında, İstanbul'un Avrupa ve Anadolu yakasında, vektör kene ve konak olma ihtimali göz önünde bulundurularak belirlenen, Arnavutköy, Sarıyer, Silivri, Beykoz ve Şile ilçelerindeki ormanlık alanlarda bayraklama yöntemi ile kene toplama işlemleri gerçekleştirilmiştir. Toplanan keneler odak ve tarih etiketli tüplerde, +4 ^{0}C'de, Marmara Üniversitesi Temel Sağlık Bilimleri Biyogüvenlik ve Biyoemniyet Eğitim ve Uygulama laboratuvarına transfer edilmiştir. Laboratuvara getirilen keneler stereomikroskop altında tür anahtarları gözetilerek morfolojik olarak tiplendirilmiş, Ixodes cinsine ait türler ayrılmış, tür, gelişim evresi, odak ve toplama tarihleri gözetilerek havuzlar oluşturulmuştur. Oluşturulan havuzlar homojenizasyon aşamasına kadar -80 ^{0}C'de muhafaza edilmiştir. Her kene havuzu ayrı ayrı sıvı nitrojen ile dondurulmuş ve mikrotüp içi havan eli ile parçalanmıştır. Homojenize edilen havuzlar 600ul steril PBS içinde süspanse edilerek uygun tüplere aktarılmış ve DNA ekstraksiyon aşamasına kadar -80 ^{0}C'de muhafaza edilmiştir. Kene havuzlarına ait her homojenattan 150ul alınarak DNA ekstraksiyonu yapılmış ve DNA'lar %0,8 agaroz jel

elektroforezinde kontrol edilmiştir. DNA ekstraktları ve pozitif kontroller (*B. burgdorferi ss*. ve *Borrelia afzelii*) kullanılarak *B. burgdorferi s.l.* özgü 16S rRNA primerleri ile PCR çalışmaları gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri %2 agaroz jel elektroforezinde 100bp marker ile kontrol edilmiş, 357 bç bant görülen örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir. Gerçekleştirilen morfolojik incelemeler sonucunda toplanan keneler *Ixodes* cinsine ait 217 larva, 99 nimf, 14 dişi ve 15 erkek olmak üzere 29 ergin kene olarak belirlenmiştir. Ergin kenelerin tamamının *I. ricinus* türü olduğu belirlenmiştir. Çalışma süresinde her ay nimf ve ergin gelişim evrelerine rastlanmakla birlikte Mayıs ayında larval gelişim evresine rastlanmamıştır. Ağustos ayında, tüm Türkiye'de, yangın riskine bağlı olarak İçişleri Bakanlığı tarafından Ormanlık alanlara girişin kısıtlanması nedeniyle arazi çalışması yapılamamıştır. Toplanan ve morfolojik inceleme ile ayrılan Ixodes cinsine ait keneler ile 32 ayrı havuz oluşturulmuş, homojenizasyon ve DNA ekstraksiyon işlemlerinin ardından 16s rRNA gen bölgesine özgü PCR işlemleri gerçekleştirilmiştir. PCR sonuçlarına göre 12 nimf havuzundan 6'sı (%50) ve 16 ergin kene havuzundan 5'i (%31,25) olmak üzere toplam 32 havuzdan 11'inde (%34,38) *B. burgdorferi s.l.* tespit edilmiştir. Ergin kenelerde 8 dişi kene havuzundan 3'ü (%37,5) ve 8 erkek havuzundan 2'si (%25) pozitif olarak belirlenmiştir. Dört larva havuzundan birisinde 600bç civarı, *B. afzelii* pozitif kontrol bantlarına benzer bantlar gözlenmiştir. Pozitiflik oranları ilçe bazında değerlendirildiğinde; Arnavutköy %12,5, Sarıyer %80, Silivri %33,3, Beykoz %62,5 ve Şile %0 sonucu ortaya çıkmıştır. Enfeksiyöz hastalıkların neredeyse tamamının temelini zoonotik geçişler oluşturmaktadır. Bu geçişlerin önemli bir kısmını da vektör kaynaklı hastalıklar oluşturmaktadır. Lyme Borreliozis, Kuzey Amerika ve Avrupa'da en fazla görülen kene kaynaklı hastalıklardan biridir. Hastalığın vektörü olan *Ixodes* cinsine ait keneler, göç yolu İstanbul'dan geçen kuşları da enfeste etmektedir. Ayrıca İstanbul'un kuzeyindeki ormanlarda *Borrelia burgdorferi s.l.* rezervuarı olduğu bilinen canlılar da yaygın olarak yaşamaktadır ve bu canlıların Ixodes sp. larva ve nimfleri ile enfeste oldukları daha önceki çalışmalarda da gösterilmiştir. Çalışmanın ön sonuçlarında da görüldüğü üzere İstanbul'un kuzey ormanları özellikle *I. ricinus* türü kenelere ev sahipliği yapmaktadır. Yapılan LB etkeni tarama çalışmalarında da toplama tarihi, odak, gelişim evresi ve cinsiyet gözetilerek hazırlanan havuzlarda %34,38'lik etken varlığı gösterilmiştir. Lyme borreliozis etkeni taşıyan kenlelerin büyük bir çoğunluğunun Beykoz Korusu ve Belgrad Ormanı'ndan toplanan kenelerden oluştuğu dikkat çekmektedir. Son yıllarda etkisini önemli ölçüde hissettirmeye başlayan iklim değişikliği ile kenelerin, özellikle insan aktivitesinin daha çok olduğu şehir içinde sıkışmış ormanlık alanlara yerleşmesi, sayılarını arttırması ve insanlar üzerinde oluşturdukları biyoriski arttırması muhtemeldir.

Anahtar Kelimeler: Çevresel biyogüvenlik, *ixodes ricinus*, kene, lyme hastalığı,

P09.

Musca domestica L. Üzerinde Entomopatojen Nematod *Steinernema carpocapsae'nin* Patojenik Etkisi

Sadık Burak POLAT[1], Gökhan ERDOĞAN[2], Şevval KAHRAMAN[1], Ayşegül CENGİZ[1], Mehmet ÇİVRİL[1], Samed KOÇ[3], Hüseyin ÇETİN[1]

[1]Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ANTALYA; [2]Akdeniz Üniversitesi, Manavgat Meslek Yüksekokulu, Organik Tarım Bölümü, ANTALYA; [3]Akdeniz Üniversitesi, Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi, ANTALYA

E-mail: bpolatant@gmail.com

Amaç: Halk arasında karasinek olarak bilinen *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) insanların günlük yaşam alanlarının yanı sıra ahır, gübrelik, çöplük vb. alanlara uyum sağlayabilen bir zararlıdır. Beslenme davranışları nedeniyle tifo, kolera, tüberküloz gibi hastalık etkenlerinin vektörlüğünü yapmaktadır. Bunun yanı sıra büyükbaş hayvan yetiştiriciliğinde et ve süt ürünlerinin verim ve kalitesini azaltarak ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. İnsan ve hayvan sağlığı açısından önemli ve ekonomik açıdan büyük zararlara sebep olan bu vektör canlıya karşı ağırlıklı olarak kimyasallar kullanılmaktadır. Ancak kimyasal kullanımı hedef dışı canlıların etkilenmesine ve direnç gelişimine neden olmaktadır. Çevre ve insan sağlığı açısından oluşacak zararın azaltılması ve direnç ile başa çıkılabilmesi için alternatif yöntemlerden biri olan biyolojik mücadelenin önemi gün geçtikçe artmaktadır. Bu çalışmanın amacı bir biyolojik mücadele ajanı olan entomopatojen nematod *Steinernema carpocapsae* Weiser (Rhabditida: Steinernematidae)'nin *M. domestica* larvaları üzerindeki patojenik etkisinin belirlenmesidir.

Yöntem: Bu çalışmada *M. domestica* türünün Akdeniz Üniversitesi, Medikal Entomoloji ve Vektör Kontrol Laboratuvarı'nda bulunan İzmir ve Bursa popülasyonlarının 2.-3. evre larvaları kullanılmıştır. Ev sinekleri 2021 yılının Eylül ayında İzmir ve Bursa büyükbaş hayvan barınaklarından toplanmış ve Akdeniz Üniversitesi, Medikal Entomoloji ve Vektör Kontrol Laboratuvarı'nda kültüre alınmıştır. Entomopatojen nematod *S. carpocapsae* ise ticari preparat olarak tedarik edilmiştir. Patojenite testleri üç tekrarlı olarak yapılmış ve her bir tekrarda on ev sineği larvası kullanılmıştır. Petri kaplarına yerleştirilmiş olan filtre kağıtları üzerine 100-1000 IJs/larva oranlarında entomopatojen nematod bulunan solüsyon damlatılmıştır. Larvalar ergin evresine ulaşana kadar günlük takip edilmiştir ve 14. gün sonunda ölüm, pupalaşma ve erginleşme oranları kayıt edilmiştir. Elde edilen ölüm oranlarının yüzde ortalamaları Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile $p \leq 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Elde edilen verilere göre 14 gün boyunca 100-1000 IJs/larva oranında entomopatojen nematoda maruz kalan ev sineklerinde toplam ölüm oranları İzmir popülasyonunda %48,8-85,7 iken Bursa popülasyonunda %36,7-87,8 arasında değişmektedir. Uygulanan IJs/larva oranlarında İzmir ve Bursa popülasyonlarındaki larva ve pupa ölümlerinin benzer değer aralığında olduğu gözlenmiştir.

Sonuç: Çalışma sonucunda uygulanan entomopatojen nematod oranlarının İzmir ve Bursa'dan toplanan ev sinekleri üzerinde belirgin bir patojeniteye sahip olduğu belirlenmiştir. Ev sineklerine karşı daha etkin bir mücadelenin yürütülebilmesi amacıyla alternatif biyolojik mücadele ajanı olan *S. carpocapsae* ile daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyolojik mücadele, Entomopatojen nematod, Larva, *Musca domestica, Steinernema carpocapsae*

P10.

Keçilerden Toplanan Kedi Pirelerinin (*Ctenocephalides felis*) Genetik Çeşitliliğinin COX1 Gen Analizi ile Araştırılması

Mervenur GÜVENDİ[1], Hüseyin CAN[1,2], Ahmet Efe KÖSEOĞLU[1], Çağrı KANDEMİR[3], Turğay TAŞKIN[3], Pumla Bhekiwe MANYATSİ[1], Sedef ERKUNT ALAK[1], Aysu DEĞİRMENCİ DÖŞKAYA[2,5], Muhammet KARAKAVUK[2,4], Mert DÖŞKAYA[2,5], Adnan Yüksel GÜRÜZ[2,5], Cemal ÜN[1,2]

[1]Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji AD, İZMİR; [2]Ege Üniversitesi Aşı Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi, İZMİR; [3]Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Hayvan Yetiştirme AD, İZMİR; [4]Ege Üniversitesi Ödemiş Meslek Yüksek Okulu, İZMİR; [5]Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, İZMİR

E-mail: mervenurguvendi1@gmail.com

Pireler, 16 ailede 2500'den fazla türle Siphonaptera takımında sınıflandırılan, özellikle memeli ve kuşlarda kan emen ektoparazitler olup Antarktika dahil tüm kıtalar, çöller, tropik yağmur ormanları ve kutup tundraları gibi çeşitli habitatlarda yayılış gösterirler. Pireler, bartonelloz, fare tifüsü ve bubonik veba gibi çok sayıda zoonotik hastalıkların bulaşında vektör olarak rol oynarlar. Özellikle *Pulex irritans, Ctenocephalides canis* ve *Ctenocephalides felis* halk sağlığı açısından önemli olan kozmopolit pire türleri olarak kabul edilirler. Hem veteriner hem de tıbbi öneme sahip kozmopolit pire türü *C. felis* içerisinde morfolojik ve moleküler genetik analizler ile dört alt-tür olduğu saptamıştır (*C. felis felis* (Bouche), *C. felis strongylus* (Jordan), *C. felis orientis* (Jordan) ve *C. felis damarensis*). Pirelerde bulunan mitokondriyal DNA'nın cox1 (sitokrom c oksidaz I) ve cox2 (sitokrom c oksidaz II) bölgeleri moleküler identifikasyon, taksonomi, biyocoğrafya, genetik çeşitlilik, popülasyon yapısı ve filogeni alanlarında barkodlama amaçlı kullanılmaktadır. Bu çalışmada da önceki bir çalışma için İzmir ilinde keçilerden toplanan ve morfolojik ve moleküler identifikasyon yöntemi ile *C. felis* olarak tanımlanan pire örneklerinin mitokondriyal cox1 geninin analiz edilerek *C. felis* alt-türünün ve genetik çeşitliliğinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Bu amaç için, 204 adet keçi piresi örneğinin cox1 gen bölgesi polimeraz zincir yöntemi (PZR) ile amplifiye edilmiş ve amplifiye edilen ürünler saflaştırıldıktan sonra hizmet alımı ile sekanslanmıştır. Sonuç olarak elde edilen sekans verileri kullanılarak NCBI üzerinde BLAST analizi ile tüm örneklerin *C. felis felis* olduğu saptanmıştır. Referans örnekler ile filogenetik analiz gerçekleştirildiğinde, tüm örneklerin Lawrence et al., 2019 tarafından rapor edilen sekiz farklı Clade arasında "Clade I" içerisinde kümelendiği görülmüştür. Bunun yanı sıra gerçekleştirilen haplotip analizinde örneklerin iki farklı haplotip içerisine yerleştiği belirlenmiştir. Sonuç olarak elde edilen bulgularla, *C. felis felis* alt-türü tanımlanması yanında bu alt-türün sadece Clade I içerisinde yer alması ve 2 farklı haplotip göstermesi sebebiyle genetik çeşitliliğinin yüksek olmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Ctenocephalides felis felis*, PZR, cox1, haplotip, Clade 1

***Teşekkürler**: Bu çalışma Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje numarası: TGA-2019-20233).*

Kaynaklar

1. Lawrence AL, Brown GK, Peters B, et al. High phylogenetic diversity of the cat flea (Ctenocephalides felis) at two mitochondrial DNA markers. Med Vet Entomol. 2014 Sep;28(3):330-6. doi: 10.1111/mve.12051. Epub 2014 Feb 19. PMID: 24548270.
2. Lawrence AL, Webb CE, Clark NJ, et al. Out-of-Africa, human-mediated dispersal of the common cat flea, Ctenocephalides felis: The hitchhiker's guide to world domination. Int J Parasitol. 2019, 49(5):321-336.

P11.

Kızılırmak Deltası Kuşlarının Bitleri Üzerine Çalışmalar: Türkiye Bit Faunası İçin Yeni Bildirimler

Mustafa AÇICI[1], Kiraz ERCİYAS YAVUZ[2], Ali Tümay GÜRLER[1], **Gökhan EREN[1]**, Tuğçe TUYGUN[1], Özlem KOÇ[1], Cenk Soner BÖLÜKBAŞ[1], Şinasi UMUR[1]

[1]Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, SAMSUN;
[2]Ondokuz Mayıs Üniversitesi Turizm Fakültesi Turizm Rehberliği, SAMSUN

E-mail: gokhaneren54@gmail.com

Amaç: Artropodlar ve artropod kaynaklı hastalıklar, kuşlarda zaman zaman yüksek morbidite ve mortaliteye yol açabilmektedir. Bu artropodlardan bitlerin varlığı, dağılımı ve diğer epidemiyolojik verilerin saptanması önem arz etmekte, bu amaçla, özellikle kuşların göç yolları üzerinde yapılan araştırmalara ağırlık verilmektedir. Samsun'un Ondokuzmayıs ve Bafra ilçe sınırları içerisinde bulunan Kızılırmak Deltası, Türkiye tür listesinde bulunan 491 kuş türünün 360'ının bildirilmiş olmasıyla Türkiye'de en fazla kuş çeşitliğine sahip alandır.

Bu poster bildirisinde, Kızılırmak Deltası kuş halkalama çalışmaları sırasında yakalanan kuşlardan toplanan bitlerin toplu olarak verilmesi ve Türkiye bit faunası için yeni kayıt olan türlerin sunulması amaçlanmıştır.

Yöntem: Araştırma materyalini Kasım 2013 - Aralık 2017 yılları arasında Kızılırmak Deltasında kuşlardan toplanan 736 çiğneyici bit (Phthiraptera: Amblycera, Ischnocera) örneği oluşturmuştur. Toplanan bit örnekleri %10'luk potasyum hidroksit (KOH) ile temizlendikten sonra laktofenol ile şeffaflandırılmıştır. Sonrasında Kanada balsamı tekniğine göre hazırlanan preparatlar, ilgili literatürler ışığında incelenmiştir. Teşhis edilen tüm bitler fotoğraflanmış ve parazitoloji laboratuvarı müzesinde muhafaza edilmek üzere %70'lik alkol içerisine alınmıştır.

Bulgu: İncelenen 57 farklı kuş türüne ait toplam 155 kuş örneğinin 81'inde (%52,2) bit enfestasyonu tespit edilmiştir. Tür teşhisleri sonrası Amblycera alttakımında üç, Ischnocera alttakımında bir aileden olmak üzere 44 farklı bit türü bulunmuştur. Bu türler; Amblycera alt-takımında bulunan Menoponidae ailesinden *Actornithophilus patellatus*, *Colpocephalum* (*C*) *turbinatum*, *C. zebra*, *Eidmanniella pellucida*, *Holomenopon leucoxanthum*, *Menacanthus* (*M*) *agilis*, *M. camelinus*, *M. curuccae*, *M. fertilis*, *M. gonophaeus*, *Meromenopon meropis*, *Myrsidea rustica*, *Pseudomenopon concretum*, *Trinoton* (*T*) *anserinum* ve *T. querquedula*; Laemobothriidae ailesinden *Laemobothrion* (*L*) *maximum* ve *L. vulturis*; Ricinidae ailesinden ise *Ricinus fringillae*'dir.

Ischnocera alttakımında bulunan Philopteridae ailesinden *Alcedoffula alcedinis*, *Anaticola crassicornis*, *Anatoecus icterodes*, *Ardeicola ciconiae*, *Brueelia* (*B*) *domestica*, *B. lais*, *B. locustellae*, *B. merulensis*, *Brueelia* spp, *Columbicola bacillus*, *Craspedorrhynchus* (*C*) *rotundatus*, *C. platystomus*, *Cuculicola latirostris*, *Cummingsiella ovalis*, *Degeeriella* (*D*) *fusca*, *D. fulva*, *Lunaceps* (*L*) *actophilus*, *L. numenii numenii*, *Pectinopygus excornis*, *Penenirmus affectator*, *Penenirmus* spp, *Philopterus* (*P*) *eurasiaticus*, *P. mirificus*, *Rallicola lugens*, *Saemundssonia lari*, *Sturnidoecus pflergi*, *Upupicola upupae* ve *Quadraceps nycthemerus*'dur.

Sonuç: Bu çalışmayla birlikte çalı kamışçını (*Acrocephalus palustris*)'ndan *S. pflergi* ve *P. mirificus*, kocabaş (*Coccothraustes coccothraustes*)'tan *P. eurasiaticus*, bataklık kamışçını (*Locustella luscinioides*)'ndan *B. locustellae*, kervançulluğu (*Numenius arquata*)'ndan *A. patellatus*, *C. ovalis* ve *L. numeni numeni*, bülbül (*Luscinia megarhynchos*) ve benekli bülbül (*Luscinia luscinia*)'den *B. lais*, ibibik (*Upupa epops*)'ten *U. upupae*, küçük sumru (*Sterna albifrons*)'dan *Q. nycthemerus*, karabatak (*Phalacrocorax carbo*)'tan *E. pellucida* ve *P. excornis*, sazhorozu (*Porphyrio porphyrio*)'ndan *P. concretum* ve *R. lugens*, yeşilbaş (*Anas platyrhynchos*)'tan *H. leucoxanthum* ve kuzgun (*Corvus corax*)'dan *M. gonophaeus* olmak üzere toplam 16 çiğneyici bit türü Türkiye'den ilk kez bildirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Kuş ektoparazitleri, Phthiraptera, Amblycera, Ischnocera

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje no: PYO.VET.1901.17.009)

P12.

Orta ve Doğu Karadeniz'de Ev Tozu Akar (Fam: Pyroglyphidae) Prevalansı (Ön Çalışma)

Cihangir AKDEMİR[1], Ülkü KARAMAN[2], Nejla CEBECİ GÜLER[1], Emel KARAGÖZ[1], Şahin DİREKEL[1], Hakan ŞENTÜRK[3], Uğur AYHAN[4]

[1]Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, GİRESUN; [2]Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, ORDU; [3]Trabzon Halk Sağlığı Laboratuvarı, TRABZON; [4]Suşehri Devlet Hastanesi, SİVAS

E-mail: cihangirakdemir@yahoo.com

Amaç: Bu çalışma Orta ve Doğu Karadeniz illerinden Ordu, Giresun, Trabzon ve Rize'de evlerin yatak tozlarındaki akar türlerini kayıt altına almak, yaygınlığını belirlemek ve aynı zamanda Dermatophagoid akarların mikroskobik bakı sonuçları ve tozlardaki Der p 1 ve Der f 1 antijenlerinin durumunu araştırmak amacıyla yürütülmüştür.

Yöntem: Ordu'dan 26, Giresun'dan 24, Trabzon'dan 12 ve Rize'den 10 olmak üzere toplamda 72 adet toz örneği temin edilmiştir. Numuneler elektrikli süpürgelerin standart teleskopik hortumlarına uyumlu bir kollektör ve hava kanalına yerleştirilen toz toplama filtresi (40 µm) yardımıyla yataklardan alınmış ve her ev için ayrı filtre kullanılmıştır. Tozlar kaba partiküllerinden arındırıldıktan sonra 100 mg'lık iki porsiyona ayrılmıştır. İlk porsiyon yaklaşık 2-3 ml laktik asit ile karıştırılarak geçici preparatlar haline getirilmiş ve ışık mikroskobunda (10x) incelenmiştir. İkinci ise PBS (pH 7.4, Tween20 %0.5) ile yıkanmış ve antijen solüsyonları elde edilmiştir. Grup I antijenleri tespit etmek için Der p 1 Elisa 2.0 ve Der f 1 Elisa 2.0 testleri (Indoor Biotechnologies, Inc.) çalışılmış ve Elisa okuyucuda 450nm'de okunmuştur.

Bulgular: Toz örneklerinin 65'i (%90) mikroskobik olarak pozitif bulunmuş ve 149 adet akar tespit edilmiştir. *D. pteronyssinus* %74, *D. farinae* %13, *Dermatophagoides* spp. gelişim formları %5, *Cheyletus* spp. %1, *E. maynei* %1, *C. arcuatus* %1, *T. putrescentiae* %1, *L. destructor* %1 ve tanımlanamayanlar %3 oranında belirlenmiştir. Dermatophagoid akarlar gelişim formları dahil olmak üzere popülasyonun %92'sini oluşturmuştur. Gram tozda 21 adet akar saptanmıştır. ELISA testlerinde Der p 1 %93 Der f 1 ise %84,7 oranında tespit edilmiştir. Bir gram yatak tozunda saptanan en yüksek antijen miktarı Der p 1'de 482µg, Der f 1'de ise 1272 µg olarak belirlenmiştir.

Sonuç: Çalışmanın yürütüldüğü illerde akar türleri ve dağılımları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p<0,05$). *D. pteronyssinus, D. farinae, E. maynei* ve *Dermatophagoides* spp. popülasyonun %93'ünü oluşturmuştur. Bu oranın yüksek olması örneklerin sadece yataklardan elde edilmiş olmasıyla açıklanabilmektedir. Benzer şekilde depo/gıda akarlarının düşük düzeyde (%4) bulunmasının da zeminlerden örnek alınmamasıyla ilgili olduğu düşünülmektedir. Mikroskobik yöntemde evlerin %90,3'ünde *D. pteronyssinus* gözlenmiş, Der p 1 antijen pozitifliği de %93 oranında bulunmuştur. *D. farinae* ise evlerin %25'inde bulunmasına karşın Der f 1 antijeni %84,7 oranında saptanmıştır. Der p 1 pozitif örneklerin tamamı (%100) duyarlılık başlatabilecek eşik değerin üzerinde antijen içermelerine karşın Der f 1 pozitiflerinin %32,8'i bu düzeyin altında tespit edilmiştir. Der f 1 pozitif örneklerde allejik şikayetleri tetikleyebileceklerin oranı ise %56,9 olarak belirlenmiştir. Bu durumun yataklarda az sayıdaki mevcut toz akarına bağlı olarak antijen miktarının zamanla artmasından ve/veya toz örneklerinin özel aparat ile bütün yatak katmanlarından ayrı ayrı alınmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Araştırmada kullanılan Grup I ELISA testleri akarların vücut

salgıları ve dışkılarından kaynaklanan antijenleri tespit etmek için kullanılmaktadır. Bu nedenle antijen miktarları ile fiziki akar sayısı arasında doğrudan bir ilişki beklenmekle birlikte az sayıdaki akarın vücut salgı ve dışkılarının zamanla ortamda birikmesinden de kaynaklanabileceği dikkate alınmalıdır. Bu konunun ayrıntılı irdelenebilmesi için Grup I ve II antijen testlerinin beraber uygulanması ve mikroskobik yöntemlerle de desteklenmesi gerekmektedir. Akar tespitinde kullanılan mikroskobik teşhis yöntemleri pratik ve ekonomik olmakla birlikte allerji hastalarının yaşam alanlarının ayrıntılı değerlendirilmesinde akar antijen testlerinin de alternatif bir yöntem olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Der f 1, Der p 1, *D. farinae, D. pteronyssinus*, Ev tozu akarı

P13.

Şırnak'ta Eksternal Oftalmomiyaz Olguları

Kemal GÜLTEKİN[1], **Sefer Özer BABAT[2,4]**, Erdal POLAT[3], Derya DİRİM ERDOĞAN[4]

[1]Sağlık Bakanlığı Şırnak Devlet Hastanesi Göz Bölümü, ŞIRNAK; [2]Şırnak Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik AD, ŞIRNAK; [3]İstanbul Cerrahpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İSTANBUL; [4]Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, İZMİR

E-mail: sozerbabat@gmail.com

Seyahat hastalıkları arasında bildirilen her beş dermatolojik olgudan birini miyazlar oluşturmaktadır. İnsan miyaz olgularında en sık cilt yaraları, göz, nazofarenks ve ürogenital sistem tutulumu görülürken bu olguların yaklaşık %5'inde oküler tutulum olmaktadır. Oküler enfestasyonda larvaların konjunktiva tutulumu eksternal oftalmomiyaza neden olur. İnsanlarda görülen eksternal oftalmomiyaz olgularının çoğunda etken *Oestrus ovis* (*O. ovis*) larvalarıdır. Türkiye'nin Güneydoğusu'nda yer alan Suriye ve Irak ile sınır komşusu olan Şırnak ilinde Temmuz ve Ekim aylarında Şırnak Devlet Hastanesi Göz polikliniğine gözde hareket eden yabancı cisim hissi, yanma, batma, sulanma, kızarıklık ve göz kapağında şişlik şikayetleri ile başvuran, *O. ovis*'in etken olduğu üç ekternal oftalmomiyaz olgusu sunulmaktadır.

P14.

Üç Bozayıda (*Ursus arctos*) Bulunan Ektoparazitler

Rıdvan KİRMAN, Muzaffer AKYÜZ, Esin GÜVEN, İbrahim BALKAYA

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ERZURUM

E-mail: ridvan.kirman@atauni.edu.tr

Amaç: İki adet erişkin ve bir adet bir aylık bozayıdan elde edilen ektoparazitlerin tür teşhislerinin yapılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Erzurum'un Pasinler ve Uzundere ilçelerinde ölü olarak bulunan iki adet bozayı ile bir yavru bozayının ektoparaziter muayeneleri yapıldı. Ayılar üzerinden toplanan ektoparazitler stereo mikroskop altında incelendi. Tespit edilen bit ve kene örneklerinin morfolojik kriterler doğrultusunda tür teşhisleri yapıldı.

Bulgular: Makroskobik inceleme sonucunda iki erişkin ayıda bit, yavru ayıda da erişkin kene gözlemlendi. Şeffaflandırma protokolü uygulanan bitlerin *Trichodectes pinguis* (*T. pinguis*) oldukları tespit edildi. Morfolojik kriterler doğrultusunda tür teşhisi yapılan kenenin *Haemaphysalis erinacei* (*Hae. erinacei*) olduğu saptandı.

Sonuç: Bu çalışma ile bozayılarda *T. pinguis* ve *Hae. erinacei* varlığı Erzurum'da ilk kez bildirildi. Yabani hayvanlarda ektoparaziter etkenlerin yaygınlığına yönelik çalışma az sayıdadır. Bu araştırma Türkiye'de ayılarda *T. pinguis* ve *Hae. erinacei* varlığının tespitine yönelik yapılan ikinci çalışmadır. Bu nedenle bu bit ve kene türlerinin varlığı ve yaygınlığı açısından farklı bölgelerde araştırmaların yapılması gerekliliği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bozayı, *Haemaphysalis erinacei, Trichodectes pinguis*, Yaban hayatı

P15.

A Study of Ectoparasites on The Mole (*Talpa* spp.) (Mammalia: Eulipotyphla) from Turkey

Mehmet ÖZTÜRK[1], Gökhan EREN[1], Sadık DEMİRTAŞ[2], Mustafa AÇICI[1]

[1]Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology, SAMSUN;
[2]Ondokuz Mayıs University, Faculty of Science and Literature, Department of Biology, SAMSUN

E-mail: mhmt556@gmail.com

Aim: The moles (Talpidae) are in the insectivora (Eulipotyphla) order of mammals and represented by five species in Turkey: *Talpa davidiana, T. europaea, T. levantis, T. martinorum, T. ognevi*. The Black Sea mole (*Talpa levantis* Thomas, 1906) is distributed in the Black Sea coasts and the Anatolian coasts of the Marmara Sea in areas where the habitat is suitable. Ectoparasite studies are insufficient on moles in Turkey, as is the situation with wild animals in general. In the ectoparasite studies conducted in Turkey so far, *Ctenophthalmus* (*Ctenophthalmus*) *agyrtes ropotamensis* and *Ctenophthalmus* (*Euctenophthalmus*) *secundus thracius* in *Talpa europaea; Ctenophthalmus* (C) *contiger, C. proximus, C. reconditus, Doratopsylla dasycnema cuspis, Palaeopsylla* (P) *alpestris, P. aysenurae, P. beaucournui* and *P. caucasica* (host *Talpa caeca* in the study) species in *Talpa levantis,* were reported. *Neotrombicula* (N) *delijani* has been reported in *Talpa caucasica*, a mite species, and *N. vernalis* infestation from *Talpa europaea*. In addition, only one tick species *Ixodes redikorzevi* (Syn. *Ixodes acuminatus*)) has been reported from *T. europaea*. The aim of this study is to present the ectoparasites detected in the Black Sea mole.

Method: The research material consists of ectoparasites collected from 6 Black Sea moles in Samsun. After the ectoparsite samples were cleared in lactophenol, they were identified under the light microscope according to the keys in the literature. The collected ectoparasites were kept in Eppendorf tubes with 70% ethanol and deposited in the Parasitology Laboratory of Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine of Ondokuz Mayıs University (Samsun, Turkey).

Results: As a result of the examination, samples of mites determined as *Eulaelaps* (*E*) *stabularis* (Acari: *Laelapidae*), samples of fleas determined as *Palaeopsylla* (*P*) *beaucournui* (Insecta: *Siphonaptera*: *Ctenophthalmidae*). *Palaeopsylla beaucournui* was found in all of the 6 moles examined for ectoparasites, while *Echinonyssus lukoschusi* was found in one.

Conclusion: *E. stabularis* is a mesostigmatic mite of cosmopolitan distribution that infests insectivores (*Eulypotyphla*) and rodents (*Rodentia*) and is sometimes found in the nests of mammals and birds. This mite, which has been described in more than 40 hosts so far, can also cause dermatitis in humans. In addition, it has been reported that *E. stabularis* can transmit pathogens such as *Coxiella burnetii* and *Rickettsia felis*. The genus *Palaeopsylla* is currently represented by only eight species in Turkey. Of them, *P.* (*P.*) *alpestris* Argyropulo, *P.* (*P.*) *aysenurae* Keskin & Beaucournu, *P.* (P.) *beaucournui* Keskin, *P.* (P.) *caucasica Argyropulo*, *P.* (*P.*) *incisa* Peus, *P.* (*P.*) *obliqua* Peus, *P.* (*P*) *obtusa* Peus and *P.* (*P.*) *soricis* Dale. *Palaeopsylla* (*P*) *beaucournui* was first described in 2019 from *T. levantis* from Turkey, which was also reported in this study. In conclusion, *Eulaelaps stabularis* was reported as a new host for *Talpa levantis* in Turkey with this study.

Anahtar Kelimeler: *Eulaelaps stabularis, Palaeopsylla beaucournui, Talpa levantis*

P16.

İzmir İli Sokak Kedilerinde *Hepatozoon* spp.'nin Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yöntemi ile Araştırılması

Mervenur GÜVENDİ[1], Hüseyin CAN[1,2], Ahmet Efe KÖSEOĞLU[1], Muhammet KARAKAVUK[2,3], Aysu DEĞİRMENCİ DÖŞKAYA[2,4], Sedef ERKUNT ALAK1, Mert DÖŞKAYA[2,4], Adnan Yüksel GÜRÜZ[2,4], Cemal ÜN[1,2]

[1]Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji AD, İZMİR; [2]Ege Üniversitesi Aşı Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi, İZMİR; [3]Ege Üniversitesi Ödemiş Meslek Yüksek Okulu, İZMİR; [4]Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, İZMİR

E-mail: mervenurguvendi1@gmail.com

300'den fazla tür ile temsil edilen ve Hepatozoidae familyasına ait eritrositleri enfekte eden bir apikompleksan parazit cinsi olan Hepatozoon, omurgalılarda ve çok sayıda kan emen omurgasızda tespit edilmiştir. Bu türler arasında *H. canis* ve *H. felis*, veterinerlik alanında önemli olan türler olup sırasıyla köpek ve kedilerde hepatozoonozise neden olurlar. Türkiye'de önceki çalışmalarda köpeklerden toplanan sert kene türleri içerisinde yer alan *R. sanguineus* ve kızıl tilkilerden toplanan *Haemaphysalis parva*'da *H. canis* tespit edilmiştir. Bu çalışmada, İzmir ili sokak kedilerinin kan materyalinden önceki bir çalışma için izole edilmiş DNA örneklerinde (n: 200) 18S rDNA geni hedeflenerek polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile *Hepatozoon* spp. araştırılması ve pozitif saptanan örneklerin genotipinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç için 5'-ATACATGAGCAAAATCTCAAC-3' ve 5'-CTTATTATTCCATGCTGCAG-3' primerleri ile daha önce tarif edildiği gibi (Inokuma ve ark., 2002) 2 mikrolitre DNA kullanılarak 25 mikrolitre hacimde PZR işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında elde edilen PZR ürünleri %1'lik agaroz jel elektroforezi ile yürütülmüş ve pozitif örnekler saflaştırılma işlemini takiben hizmet alımı ile sekanslanmıştır. Analiz edilen 200 kedi DNA örneğinin, 12'si *Hepatozoon* spp. pozitif bulunmuş ve prevalans %6 olarak saptanmıştır. Sekanslama ile elde edilen veriler NCBI üzerinden BLAST ile analiz edildip referans örnekler ile filogenetik ağaç oluşturulduğunda tüm pozitif örneklerin *H. felis* olduğu bulunmuştur. Referans örnekler ile pozitif saptanan örnekler karşılaştırıldığında ise nükleotit benzerlik oranının %98 ve %99 arasında olduğu görülmüştür. Ayrıca elde edilen sekans verilerinin analizi sonucunda hepsinin dünyada yaygın olarak saptanan bir genotip olan genotip I ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Sonuç olarak, elde edilen bulgular ile İzmir sokak kedilerinde ilk defa *H. felis* prevalansı yanında yine ilk kez genotip I'in varlığı da gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Hepatozoon* spp., genotip I, 18S rDNA

Kaynaklar

1. Aktas M, Özübek S, Ipek DNS. Molecular investigations of Hepatozoon species in dogs and developmental stages of Rhipicephalus sanguineus. Parasitol Res. 2013;112:2381–5. https://doi.org/10.1007/s00436-013-3403-6.
2. Orkun Ö, Nalbantoğlu S. Hepatozoon canis in Turkish red foxes and their ticks. Vet Parasitol Reg Stud Rep. 2018;13:35–7.https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.03.007.
3. Inokuma, H., Okuda, M., Ohno, K., Shimoda, K., & Onishi, T. (2002). Analysis of the 18S rRNA gene sequence of a Hepatozoon detected in two Japanese dogs. Veterinary Parasitology, 106(3), 265-271

P17.

2015–2021 Yılları Arasında Kayseri'de Sıtma Epidemiyolojisi

Emrah ERDOĞAN[1], Ozan YAMAN[1], Merve YÜRÜK[1], Eda SİVCAN[1], Orhan YILDIZ[2]

[1]Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ; [2]Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, KAYSERİ

E-mail: emrah@erciyes.edu.tr

Amaç: Sıtma global sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. 2019 yılında bildirilen yaklaşık 228 milyon yeni vakanın; 213 milyonu Afrika ülkelerinden, yaklaşık 1 milyonu Amerika ülkelerinden, yaklaşık 5 milyonu Doğu Akdeniz ülkelerinden, yaklaşık 8 milyonu Güneydoğu Asya ülkelerinden ve yaklaşık 2 milyonu Batı Pasifik ülkelerinden bildirilmiştir. Toplam ölümlerin %85'inin görüldüğü ülkeler; Nijerya, Demokratik Kongo Cumhuriyeti, Tanzanya, Nijer, Mozambik, Angola, Uganda, Burkina Faso, Kenya, Mali, Kamerun, Gana, Hindistan, Fildişi Sahili, Çad, Gine, Zambiya, Benin, Sierra Leone ve Malavi'dir. Yaptığımız çalışmada, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı rutin tanı laboratuvarlarında 2015–2021 yılları arasında klasik ve ileri tanı yöntemleri ile saptanan sıtma vakalarının epidemiyolojisinin yapılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri'nde 2015 ve 2021 yılları arasında sıtma ön tanısı ve tanısı alan 75 hasta retrospektif ve prospektif olarak izlendi. Yaş, cinsiyet, meslek, bulunduğu ülke, sıtma profilaksisi ve aldığı süre, şikayetlerin seyahat sonrası başlama süresi, başvuru dönemindeki klinik ve laboratuvar bulguları, uygulanan tedavi seçeneği ve tedaviye cevapları kaydedildi. Hastaların tamamının rutin tanı laboratuvarlarımıza gelen periferik kanlarından ince yayma ve kalın damla kan preparatları hazırlanarak Giemsa ile boyandı ve 100X objektifle mikroskopta incelendi. Tedavi sırasında günlük olarak periferik yayma yapılarak parazit varlığı araştırıldı. Ayrıca düşük parazitemi durumu göz önünde bulundurularak mikroskopta tanısı konulabilen veya konulamayan bütün örnekler Moleküler Parazitoloji Laboratuvarı'mızda DNA izolasyonu yapılana kadar -80°C'de saklandı. Altın standart olan mikroskop tanısında sıtma tanısı alan veya almayan bütün hastaların kan örneklerinden yapılan genomik DNA izolasyonları sonrası, kesin tanı ve tür tayini amacıyla *P. vivax, P. malariae, P. falciparum*, *P. ovale* ve *P. knowlesi* türlerine özgül 18S rRNA gen bölgelerini hedefleyen primerler ile prob bazlı qRt-PCR çalışması yapıldı. Özellikle *P. vivax* ve *P. ovale* ile enfekte hastalarda hipnozoid dönem akıldan çıkarılmayarak belirli aralıklarla kan örnekleri alınıp hastaların ileriye dönük takipleri yapıldı.

Bulgular: Son beş yıllık veriler değerlendirildiğinde hastaların yaş aralığı 1-78 olarak tespit edildi. Toplam 75 hastanın 16'sına sıtma tanısı konuldu. Tanı alan hastaların tamamı yurtdışı seyahat öyküsü bulunan hastalardı. Olguların 9'u Türkiye Cumhuriyeti vatandaşıydı. Pozitif tespit edilen 16 hastadan 6'sının *P. falciparum*, 2'sinin *P. vivax*, birinin *P. ovale*, 5'inin *P. falciparum* + *P. vivax*, birinin *P. vivax* + *P. knowlesi* ve birinin *P. vivax* + *P. falciparum* + *P. ovale* + *P. knowlesi* ile enfekte oldukları tespit edildi. Ayrıca *P. ovale* ile enfekte hastamızda Türkiye'ye döndükten 18 ay sonra nüks tespit edildi ve tedavi protokolü titizlikle uygulandı.

Sonuç: Sonuç olarak yaptığımız çalışmanın epidemiyolojik verilere önemli katkı sunacağı ve sıtmayla mücadele kapsamında koruyucu önlemlerin alınmasına yardımcı olacağı kanaatindeyiz.

Anahtar kelimeler: Sıtma, Kayseri, tanı, PCR, epidemiyoloji, koenfeksiyon, nüks

P18.

Trypanosoma cruzi, Leishmania tropica ve *Toxoplasma gondii* Parazitlerinin *ex vivo* Kültivasyonu ve Auranofin Antiparaziter İlaç Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Ahmet YILDIRIM, Ahmet ÖZBİLGİN, Kor YERELİ

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA

E-mail: ahmet.yildirim@cbu.edu.tr

Amaç: Çalışmamızda; Türkiye'de ilk kez *ex vivo* kültür yöntemiyle üretilen *T. cruzi*'nin yanısıra, *L. tropica* ve *T. gondii* parazitlerinin J774, Vero ve HeLa hücrelerinde *ex vivo* kültivasyon yöntemiyle virulans özelliklerini kaybetmeden kısa sürede fazla miktarda çoğaltılması ve bu parazitler üzerine auranofinin antiparaziter ilaç etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Sıvı azotta saklanan J774, Vero ve HeLa hücreleri birlikte *T. cruzi, L. tropica* ve *T. gondii* parazitleri kullanılarak yapılan *ex vivo* kültivasyonda ardışık 3'er pasaj yapılmıştır. Her pasaj sonrasında giemsa boyalı preparatlar hazırlanarak enfeksiyon oranları ışık mikroskobik incelemeyle değerlendirilmiştir. Auranofin in vitro ilaç etkinliği hemositometri ve celltiter-glo yöntemleri ile ve ex vivo ilaç etkinliği ise giemsa boyalı preparatların ışık mikroskobik incelenmesi ile araştırılmıştır. Ayrıca MTT ile Auranofinin sitotoksik aktivitesi incelenmiştir.

Bulgular: *Ex vivo* kültivasyon sonucunda *T. cruzi* ve *L. tropica* suşlarının ürediği en iyi hücre hatları sırasıyla J774, Vero ve HeLa, *T. gondii* suşunun ise sırasıyla HeLa, J774 ve Vero olduğu görülmüştür. Auranofinin IC50, CC50 ve SI verilerine göre sitotoksik aktivite göstermediği, *T. cruzi, L. tropica* ve *T. gondii* üzerine antiparaziter aktivite gösterdiği istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Sonuç: Türkiye'de ilk kez ex vivo kültür yöntemiyle üretilen *T. cruzi*'nin yanı sıra, *L. tropica* ve *T. gondii* suşları, *ex vivo* kültür yöntemiyle virulans özelliklerini kaybetmeden kısa sürede fazla miktarda başarılı bir şekilde üretilmiştir. Auranofinin IC50, CC50 ve SI verilerine göre sitotoksik aktivite göstermemesi ve *L. tropica* üzerine dünyada ilk kez olmasının yanısıra, *T. cruzi* ve *T. gondii* üzerine antiparaziter aktivite göstermesi önemli ve ümit verici bir gelişme olarak değerlendirilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Auranofin, *Ex vivo* kültivasyon, *Leishmania tropica*, Toxop*lasma gondii, Trypanosoma cruzi*

P19.

Visserotropizm Gösteren *Leishmania tropica* İzolatlarının *in vivo* Model Değerlendirmeleri

Ahmet ÖZBİLGİN[1], Nami Ege PERK[1], **İbrahim ÇAVUŞ[1]**, Yener ÖZEL[1], Şükran KÖSE[2], Talat YALÇIN[3], Cumhur GÜNDÜZ[4]

[1]Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA; [2]İzmir Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları AD, İZMİR; [3]İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Fen Fakültesi, Kimya AD, İZMİR; [4]Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İZMİR

E-mail: icvs26@yahoo.com

Amaç: Leishmaniasis, kamçılı bir protozoon olan *Leishmania* spp. parazitlerinin meydana getirdiği bir hastalıktır. Yaklaşık 200 ülkeden rapor edilmiş olan bu hastalık günümüzde 98 ülkede endemik olarak görülmekte ve her yıl yaklaşık 700 bin – 1 milyon yeni vaka ile önemini korumaktadır. Hastalığa bağlı her yıl yaklaşık 26 bin – 65 bin insan hayatını kaybetmektedir. Parazit insan vücudunda immün sistemin durumuna bağlı olarak kutanöz (KL), mukokutanöz (MKL) ve visseral (VL) tutulum gösterebilmektedir. Klinik tablo genellikle türe bağlı şekillenmektedir. Eski Dünya'da KL etkenleri çoğunlukla *L. tropica* ve *L. major*, VL etkenleri ise *L. infantum* ve *L. donovani* olarak kabul edilmektedir. Ancak literatürde nadir de olsa farklı türlerin farklı klinik tablolar oluşturduğunu bildiren raporlar mevcuttur. Bu çalışmada 7 adet L. tropica etkeni saptanan VL hastası ve bu hastalardan izole edilen 3 izolat *L. tropica* izolatı ile ile KL olgularından izole edilen L. tropica izolatlarının in vivo modellerde klinik semptomların değerlendirilerek farklılıklarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Visseral leishmaniasis öntanılı hastalardan alınan kemik iliği örneklerinden yayma preparatlar hazırlanarak giemsa ile boyanmış, NNN besiyerlerine ekim yapılmış ve ITS1 bölgesine özgü primer ve problar ile genotiplendirme yapılmıştır. Genotiplendirme sonrası *L. tropica* olduğu saptanan izolatlar RPMI-1640 besiyerinde üretilmiş, logaritmik faza giren parazitlerin 108 promastigot/ml miktara ulaştığında çalışmada kullanılmıştır. Kutanöz leishmaniasis grubu olarak daha önce bölgemizdeki KL hastalarının lezyonlarından örnek alınarak izole edilmiş olan *L. tropica* izolatları için VL izolatlarına benzer işlemler uygulanmıştır. Hem VL hem de KL hastalarından izole edilen izolatlardan 100 µl promastigot süspansiyonu 10 haftalık dişi, 20 – 25 gram ağırlığındaki Balb/C farelerin ayak tabanlarına enjekte edilmiştir. İnokülasyonu takip eden 3 ay boyunca her 15 günde bir farelerin ayak tabanı ve ağırlık ölçümü gerçekleştirilmiştir. Deney sonunda fareler sakrifiye edilmiş ve her farenin ayak tabanı, karaciğer ve dalaklarından Giemsa boyalı yayma preparatlar hazırlanarak mikroskop altında incelenmiştir. Aynı zamanda NNN kültürüne ekimi yapılan ayak tabanı, karaciğer ve dalak örneklerinde promastigot üremesi kontrol edilmiştir.

Bulgular: Visseral leishmaniasis hastalarından izole edilen izolatların, insanlarda gösterdiği visserotropik davranışı *in vivo* modellerde de gösterdiği saptanmış ve farelerde KL hastalarından izole edilen izolatlar ile klinik tablo eş zamanlı olarak karşılaştırılmıştır. Deney süresi boyunca her iki *in vivo* model grubunun ayak tabanlarında değişen büyüklüklerde lezyon oluştuğu gözlemlenmiştir. KL hastalarından izole edilen L. tropica' ların ayak tabanında VL hastalarından izole edilen izolatlara göre daha şiddetli enfeksiyon oluşturduğu saptanmıştır. Bunun yanı sıra VL grubundan izole edilmiş *L. tropica* ile enfekte gruplarda parazitin dermo-visserotropik davranış gösterdiği, kilo kaybı, tüm vücutta kutanöz lezyonlar, splenomegali, lenfadenopati ve tüy dökülmesi gibi klinik semptomlar meydana

getirerek VL tablosu oluşturduğu gözlemlenmiştir. Sakrifikasyon sonrası tüm grupların ayak tabanlardan hazırlanan yayma preparatlarda amastigotlar saptanmış ve kültür ortamında promastigotların çoğaldığı görülmüştür. VL grubundan izole edilen izolatlar ile enfekte farelerin dalak ve karaciğer numunelerinden hazırlanan yayma preparatlarda amastigotlar saptanmış ve kültür ortamında promastigotların ürediği gözlemlenmiştir. KL hastalarından izole edilen izolatlar ile enfekte grubun dalak ve karaciğer numunelerinden hazırlanan preparatlarda parazite rastlanmamış ve kültür ortamında üreme gözlemlenmemiştir.

Sonuç: Çalışmamızda genellikle KL etkeni olarak kabul edilen ancak farklı coğrafyalarda visseral tutulum gösterebilen *L. tropica*'nın ülkemizdeki hastalarda da VL klinik tablosu oluşturabildiği gösterilmiştir. Bu çalışma ülkemizdeki VL hastalarından izole edilen parazitlerin genotiplendirilmesindeki önemi vurgulamaktadır. Aynı coğrafyada bulunan KL etkeni *L. tropica* ve VL klinik tablosu oluşturabilen *L. tropica* izolatlarının genomik ve proteomik farklılıklarına yönelik yapılacak ileri çalışmalar ile hastalığın prognozunu tahmin edebilecek biyomarkırlar ile yeni tanı kitleri oluşturulabilecek, saptanan farklı proteinlere yönelik veriler yeni ilaç ve aşı çalışmalarına katkıda bulunabilecektir.

Anahtar Kelimeler: *In vivo, Leishmania tropica*, visseral leishmaniasis, visserotropik

Bu çalışma, TÜBİTAK 1001 - Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı'nın 119S469 no'lu projesi ile desteklenmiştir. TÜBİTAK'a 119S469 no'lu projeyi desteklediği ve gerçekleşmesini sağladığı için teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Magill AJ, Grögl M, Gasser RA Jr, Sun W, Oster CN. Visceral infection caused by Leishmania tropica in veterans of Operation Desert Storm. N Engl J Med. 1993 May 13;328(19):1383-7. doi: 10.1056/NEJM199305133281904. PMID: 8292114.
2. Ghatee MA, Mirhendi H, Karamian M, Taylor WR, Sharifi I, Hosseinzadeh M, Kanannejad Z. Population structures of Leishmania infantum and Leishmania tropica the causative agents of kala-azar in Southwest Iran. Parasitol Res. 2018 Nov;117(11):3447-3458. doi: 10.1007/s00436-018-6041-1. Epub 2018 Aug 13. PMID: 30105405.

P20.

Türkiye'den Vissero-tropik Davranış Gösteren *Leishmania tropica* Olguları: Mr Hyde ve Dr. Jekyll

Ahmet ÖZBİLGİN[1], İbrahim ÇAVUŞ[1], **Nami Ege PERK[1]**, Şükran KÖSE[2], Talat YALÇIN[3], Cumhur GÜNDÜZ[4]

[1]Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA; [2]İzmir Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları AD, İZMİR; [3]İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Fen Fakültesi, Kimya AD, İZMİR; [4]Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İZMİR

E-mail: egeprk@gmail.com

Giriş: Ülkemizin de içerisinde bulunduğu yaklaşık 200 ülkeden rapor edilen leishmaniasis, günümüzde 98 ülkede endemik olarak görülen paraziter bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre ihmal edilen tropikal hastalıklar listesinde bulunan bu hastalık sebebiyle her yıl 65 bine varan ölüm meydana geldiği tahmin edilmektedir. Hastalık günümüzde endemik bölgelerde yaşayan yaklaşık bir milyar insan için risk oluşturmaktadır. Hastalığın dermal (Kutanöz leishmaniasis, KL) ve visseral (Visseral leishmaniasis, VL) formları mevcuttur ve genellikle klinik tablo türlere bağlı olarak şekillenmektedir. Genellikle *Leishmania infantum* ve *L. donovani* visseral, *L. tropica* ve *L. major* dermal tutulum göstermektedir. Ancak son yıllarda dünyanın farklı bölgelerinden araştırmacıların raporlarında visseral tutulum gösterdiği kabul edilen türlerin dermal, dermal tutulum gösterdiği kabul edilen türlerin ise visseral klinik tablolara neden olabildiği olgular bildirilmektedir. Bu olgu sunumunda ülkemizde de etkenin *L. tropica* olabildiği VL olgulara ve tanı konan olgularda genotiplendirmenin önemine dikkat çekmek istedik.

Olgu Sunumu: Yurtdışı öyküsü bulunmayan ve sistemik hiçbir hastalığı olmayan 7 – 55 yaşları arasındaki 7 hastaya VL öntanısı konulmuştur. Tüm hastalarda halsizlik, iştahsızlık, bulantı ve ishal gibi spesifik olmayan semptomlar görülmüş, hastaların beşinde kilo kaybı gözlemlenmiştir. Yedi hastanın altısında ateş mevcuttur. Hastaların altısında hepatosplenomegali, birinde ise yalnızca splenomegali geliştiği gözlemlenmiştir. Altı hastada pansitopeni, bir hastada ise lökopeni ve trombistopeni görülmüştür. Hastaların ikisinde burun ve diş eti kanamaları kendini göstermiştir. Hastaların kemik iliğinden alınan örneklerden hazırlanan Giemsa ile boyalı yayma preparatlarında *Leishmania* amastigotları görülmüş ve hastalara VL tanısı konulmuştur. Hastaların kemik iliği materyallerindeki amastigotların ve Zenginleştirilmiş NNN besiyerinden elde edilen promastigotların DNA'ları parazitin ITS-1 bölgesine özgü tasarladığımız primer ve problar ile gerçek zamanlı çevrim içi PCR ile yapılan genotiplendirme çalışmalarında etken türün *L. tropica* olduğu saptanmıştır. Bu VL hastalarından elde edilen izolatlardan 3 tanesi DSÖ Leishmania Referans Merkezi'ne (Centre National de Reference des Leishmania, Montpellier, France) gönderilmiş ve orada da *L. tropica* oldukları teyit edilmiştir (MON 315, MON 54, MON 55).

Sonuç: Türkiye'de KL etkeni olan *L. tropica* türlerinin de VL etkeni olmaya başladığı görülmektedir. Bu durum değişen ve ülkemizi tehdit eden enfeksiyonlar kategorisinde değerlendirilerek leishmaniasise ait yeni klinik, tedavi ve korunma prosedürleri tekrar gözden geçirilmesi zorunluluğunu doğurmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Leishmania tropica*, visseral leishmaniasis, visserotropik

Bu çalışma, TÜBİTAK 1001 - Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı'nın 119S469 no'lu projesi ile desteklenmiştir. TÜBİTAK'a 119S469 no'lu projeyi desteklediği ve gerçekleşmesini sağladığı için teşekkür ederiz.

P21.

Aydın ve Çevresinde Kanin Leishmaniasis (KanL) Şüpheli Köpeklerde IFA Tekniği ile KanL Seropozitifliğinin Araştırılması

Evren TİLEKLİOĞLU[1], Erdoğan MALATYALI[1], İbrahim YILDIZ[1], Mehmet GÜLTEKİN[2], Sema ERTUĞ[1], Hatice ERTABAKLAR[1]

[1]Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, AYDIN; [2]Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinik Bilimler Bölümü Veterinerlik İç Hastalıkları AD; AYDIN

E-mail: etileklioglu@gmail.com

Amaç: Kanin leishmaniasis dünyada 70'den fazla ülkede endemik olan, *Leishmania infantum*'un neden olduğu vektör kaynaklı zoonotik bir hastalıktır. Köpeklerde önemli protozoon hastalıklarından biri olarak kabul edilen KanL'ye *Phlebotomus* türleri vektörlük yapmaktadır. Enfekte köpeklerde kilo kaybı, anoreksi, burun kanaması, lenfadenopati ve hepatosplenomegali gibi semptomlar görülebilmekle birlikte enfeksiyon uzun süre asemptomatik de seyredebilmektedir. Parazitin doğrudan saptanamaması ve değişken klinik bulgular enfeksiyonun tanısını zorlaştırmaktadır. Bu nedenlerle tanıda başta Indirekt Fluoresan Antikor Testi (IFAT) olmak üzere serolojik testler ve moleküler yöntemler önemli yer tutmaktadır. Bu çalışmanın amacı Aydın ve çevresinde bulunan özel veteriner kliniklerine getirilen KanL şüpheli köpeklerde anti-*Leishmania* IgG antikorların varlığının araştırılmasıdır.

Yöntem: Çalışma kapsamına Aydın ve çevre illerdeki bazı özel veteriner kliniklerinden sahipli, bir veya daha fazla klinik bulgusu olan köpeklere ait serum örnekleri Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD laboratuvarına getirilmiş ve kullanılıncaya kadar -20°C'de saklanmıştır. Ayrıca köpeklerin demografik özellikleri kayıt altına alınmıştır. Çalışmada yaşları 4 ay ile 12 yaş arasında değişen toplam 795 köpek (Aydın: 16, Kuşadası: 321, Söke: 184, Bodrum: 256 ve Selçuk: 18) serumu IFA yöntemi ile anti-*L. infantum* IgG antikorları varlığı yönünden değerlendirilmiştir. Köpek serumları PBS ile 1/16, 1/64, 1/128, 1/256 ve 1/512 oranında sulandırılmıştır. Testte antijen olarak *L.infantum* (MON-1) promastigotları, konjuge olarak FITC işaretli tavşan anti-dog IgG kullanılmıştır.

Bulgular: Toplam 795 köpek serumunun 337'sinde (%42) (183 erkek, 154 dişi) IFAT ile seropozitiflik saptanmıştır. Bölgelere göre sırasıyla pozitiflik oranları Kuşadası'nda %40, Bodrum'da %34, Söke'de %22, Selçuk'ta %3 ve Aydın'da %1 olarak bulunmuştur. Antikor titreleri ve pozitiflik yüzdeleri ise 1/16'da %7, 1/64'de %24, 1/128'de %12, 1/256'da %20 ve son olarak 1/512'de %36 olarak belirlenmiştir. Köpeklerin yaşları değerlendiğinde 4 ay-4 yaş arasındaki 107 köpeğin %39'unda, 4-8 yaş arasındaki 108 köpeğin %52'sinde, 8-12 yaş arasındaki 34 köpeğin %38'inde seropozitiflik saptanmıştır. Semptomatik olgularda sırasıyla en sık iştahsızlık, deri lezyonları ve tırnaklarda uzama, ateş, burunda ülseratif mukokutanöz lezyonlar, kilo kaybı, oküler lezyonlar, lenfadenopati ve anemi bulguları görülmüştür. Seropozitif köpeklerde negatif olanlara göre daha fazla semptom gösterdiği belirlenmiştir. Seropozitif olguların Mart (%13), Haziran (%11) ve Ağustos (%10) aylarında daha fazla başvuru yaptığı dikkati çekmektedir.

Sonuç: Evcil hayvan popülasyonu ve köpeklerin KanL için rezervuar olduğu göz önüne alındığında Aydın ve çevresinde sahipli köpeklerde seropozitifliğin %42 olarak saptanması hastalığın bölgemizdeki önemine dikkat çekmektedir. Ayrıca 4-8 yaş arasındaki köpeklerde saptanan yüksek pozitiflik bu yaş grubunda enfeksiyon riskinin daha yüksek olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda yaz aylarında daha fazla KanL seropozitifliği saptanmıştır. Bu nedenle kontrol ve taramaların bu aylarda yapılmasının daha uygun olduğu düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Aydın, IFAT, KanL, Köpek, Leishmaniasis

P22.

Kutanöz Leishmaniasis Tanı ve İzolasyonunda NNN Besiyeri Olmadığı Durumda RPMI-1640 Besiyeri Kullanılabilir mi? Olgu Sunumu

İbrahim ÇAVUŞ[1], **Tülay AKSOY[1]**, Ahmet YILDIRIM[1], Mustafa Turhan ŞAHİN[2], Ahmet ÖZBİLGİN[2]

[1]Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA;
[2]Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji AD, MANİSA

E-mail: tulay.aksoy@inonu.edu.tr

Amaç: Leishmaniasis, 98 ülkede 12 milyon insanı etkileyen vektör kaynaklı endemik bir tropikal hastalıktır. Hastalığın laboratuvar tanısı kültür, mikroskobik inceleme, serolojik ve moleküler yöntemlere dayanmaktadır. Altın standart yöntem, mikroskobik incelemede amastigotların görülmesi ve NNN (Novy, MacNeal, Nicolle) besiyerinde promastigotların üremesidir. Tüm dünyada kültür için sıklıkla NNN besiyeri kullanılmaktadır. Bu çalışmada kutanöz leishmaniasis (KL) tanısında altın standart NNN besiyeri olmadığı durumlarda RPMI-1640 besiyeri kullanımın uygun bir yöntem olup olmadığı tartışılmıştır.

Yöntem: Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Dermatoloji Polikliniği'ne başvuran ve kutanöz leishmaniasis şüphesi uyandıran lezyonlara sahip hastadan, Tıbbi Parazitoloji laboratuvarında KL tanısı için iğne aspirasyon sıvısı örneği alınmıştır ve direkt olarak RPMI-1640 sıvı besiyerine ekimi yapılarak 26 °C'de inkübe edilerek promastigot varlığı araştırılmıştır. İnkübasyon sonrası ardışık günlerde promastigot üremesi açısından kontrol edilmiştir. Lezyondan hazırlanan yayma preparatlar ise Giemsa ile boyanarak amastigot varlığı açısından incelenmiştir. Üremesi sağlanan izolatın gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yardımıyla internal transcribed spacer-1 (ITS-1) gen bölgesine özgü primer ve problar ile genotiplemesi yapılmıştır.

Bulgular: Hastadan alınan iğne aspirasyon sıvısı örneği RPMI-1640 sıvı besiyerinde 3.günden itibaren promastigot üremesi görülmüştür. Boyalı preparatların mikroskobik incelemesinde ise amastigot formu görülmüştür. Ayrıca KL hastasından elde edilen izolatın genotipleme ile yapılan tür tayini sonucunda Leishmania tropica olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Sonuç olarak KL tanısında RPMI-1640 sıvı besiyeri; rutinde kullanılan besiyerine alternatif, parazitoloji laboratuvarlarında kolaylıkla temin edilebilen bir besiyeri olması açısından önemlidir. RPMI-1640 sıvı besiyerinin, NNN besiyerinin temin edilemediği laboratuvarlarda KL tanısı ve izolasyonunda yardımcı bir besiyeri olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Kutanöz leishmaniasis, Kültür, *Leishmania tropica*, RPMI-1640 besiyeri

P23.

Leishmania tropica'da İlaç Direnci Morfolojiyi Etkiliyor mu?

Nami Ege PERK, İbrahim ÇAVUŞ, Yener ÖZEL, Ahmet ÖZBİLGİN

Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA

E-mail: egeprk@gmail.com

Amaç: Leishmaniasis, subtropikal ve tropikal bölgelerde önemli halk sağlığı problemi oluşturan vektör kaynaklı paraziter bir hastalıktır. Hastalığın visseral (VL), kutanöz (KL) ve mukokutanöz (MKL) formları mevcuttur. Tedavi edilmediği takdirde ölümcül olabilen bu hastalık için en sık kullanılan kimyasal ajanlar meglumin antimonat ve sodum stiboglukonattır. Meglumin antimonat ile sodyum stiboglukonat beş değerlikli antimon bileşikleridir ve bu bileşikler son 50 yıldır tedavide ilk seçenek olarak kullanılmaktadır. Ancak geçtiğimiz yıllarda yapılan çalışmalarda ülkemizin de içerisinde olduğu dünyanın farklı bölgelerinde beş değerlikli antimon bileşiklerine karşı direnç görülmeye başlandığı rapor edilmektedir. Dirençli izolatların mikroskobi veya moleküler yöntemlerle saptanması hem hastanın tedavisinin sorunsuz gerçekleştirilmesi hem de direnç durumunun artması ve yayılmasının önüne geçmek açısından son derece önemlidir. Bu çalışmada KL hastalarından izole edilen L. tropica izolatlarının in vitro ortamda dirençli hale getirilmesi ve direncin *L. tropica* promastigotlarının morfolojilerinde değişime sebep olup olmadığının saptanması amaçlanmıştır.

Yöntem: Ülkemizdeki 3 KL hastasından alınan örnekler Giemsa boyası ile boyanarak mikroskop altında incelenmiş, NNN besiyerlerine ekilmiş ve ITS1 bölgesine özgü primer ve problar ile genotiplendirilmiştir. NNN besiyerlerinde üreyen bu 3 izolat RPMI-1640 besiyerlerine aktarılmıştır. Her izolattan birer grup dirençli ve dirençsiz olacak şekilde kültivasyona alınmıştır. Dirençli izolatlar oluşturmak amacıyla besiyerlerine 5 hafta boyunca haftada 10 mg/ml, bunu takiben 9 hafta boyunca haftada 50 mg/ml artan konsantrasyonlarda meglumin antimonat eklenmiştir. Ardından mikroplak dilüsyon yöntemi ile izolatların direnç durumu belirlenmiş, dirençli ve dirençsiz gruplar mikroskop altında morfolojik olarak karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Kutanöz leishmaniasis hastalarından izole edilen ve genotiplendirme sonucu L. tropica olduğu saptanmıştır. Mikroplak dilüsyon yöntemi ile yapılan çalışmaların sonucunda, 14 hafta boyunca boyunca meglumin antimonat eklenen grupların ilaca direnç geliştirdiği ve 500 mg/ml ilaç konsantrasyonunda yaşayabildiği gözlemlenmiştir. Dirençli ve dirençsiz suşların morfolojileri karşılaştırıldığında dirençli suşların promastigotlarının daha ince ve uzun olduğu, dirençsiz *L.tropica*'lara promastigotlarından morfolojik olarak ayrıldığı saptanmıştır.

Sonuç: Bu çalışmadan elde edilen veriler, yanlış veya eksik olarak uygulanan ilaç konsantrasyonunun parazitin direnç geliştirmesine sebep olduğunu göstermektedir. Diğer bir yandan meglumin antimonata karşı geliştirilen direncin aynı zamanda *L. tropica* promastigotlarının morfolojilerinde de değişime neden olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Direnç, *in vitro*, leishmaniasis, *Leishmania tropica*

P24.

İzmir İli Sokak Kedilerinden Toplanan Dışkı Örneklerinde *Cryptosporidium* spp.'nin Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yöntemi ile Araştırılması ve Alt Tiplendirilmesi

Ahmet Efe KÖSEOĞLU[1], Hüseyin CAN[1,2], Muhammet KARAKAVUK[2,3], **Mervenur GÜVENDİ[1]**, Aysu DEĞİRMENCİ DÖŞKAYA[2,4], Pumla Bhekiwe MANYATSİ[1], Sedef ERKUNT ALAK[1], Mert DÖŞKAYA[2,4], Adnan Yüksel GÜRÜZ[2,4], Cemal ÜN[1,2]

[1]Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji AD, İZMİR; [2]Ege Üniversitesi Aşı Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi, İZMİR; [3]Ege Üniversitesi Ödemiş Meslek Yüksek Okulu, İZMİR; [4]Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, İZMİR

E-mail: mervenurguvendi1@gmail.com

Cryptosporidium türleri insanlara ve diğer hayvanlara kontamine olmuş su, gıda veya doğrudan temas yoluyla bulaşan ve gastrointestinal enfeksiyonlara neden olan zorunlu hücre içi apikompleksan parazitlerdir. *Cryptosporidium* spp. için rezervuar konak olarak kabul edilen kedilerde *Cryptosporidium felis* (*C. felis*) en yaygın saptanan tür iken, *C. parvum* ve *C. muris*'in ise daha az sıklıkta saptandığı belirtilmiştir. Bu çalışmada *Cryptosporidium* spp.'nin moleküler prevalansı, 18S rRNA genini hedefleyen Nested PCR kullanılarak, sokak kedilerinden toplanan 399 dışkı örneğini tarayan kapsamlı bir çalışma ile ilk kez araştırılmıştır. Ayrıca *Cryptosporidium* spp. pozitif örneklerin tür tayini, RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) analizi yanında 18S rRNA geninin sekanslanması ile gerçekleştirilmiş ve gp60 geninin sekans analizi ile de alt tipleri belirlenmiştir. İncelenen dışkı örneklerinden 12 tanesi (%3) *Cryptosporidium* spp. pozitif saptanmış ve RFLP ve 18S rRNA geninin sekans analizi ile tüm pozitif örneklerin *C. felis* olduğu tespit etmiştir. *C. felis* izolatlarının alt tipleme analizlerine göre hepsi XIXa alt tip ailesi içinde sınıflandırılmıştır. Sonuç olarak bu kapsamlı çalışma, insanla yakın temasta olan sokak kedilerinde *C. felis*'in varlığını düşük bir prevalans oranıyla gösterse de elde edilen sonuçlar, *Cryptosporidium* spp.'nin insanlara veya diğer hayvanlara bulaşmasında sokak kedilerinin potansiyel rolünü göstermesi açısından önemli bir bulgudur. Ayrıca kedilerde ve insanlarda *C. felis*'in baskın alt tipi olan XIXa'nın varlığı ilk kez İzmir sokak kedilerinde gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Cryptosporidium felis*, RFLP, prevalans, 18S rRNA, gp60, XIXa

***Teşekkür**: Bu çalışma Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje numarası: TGA-2021-22513).*

Kaynaklar

1. Alves, M. E. M., Martins, F. D. C., Bräunig, P., Pivoto, F. L., Sangioni, L. A., & Vogel, F. S. F. (2018). Molecular detection of Cryptosporidium spp. and the occurrence of intestinal parasites in fecal samples of naturally infected dogs and cats. Parasitology research, 117(9), 3033-3038.
2. Jiang, W., Roellig, D.M., Lebbad, M., Beser, J., Troell, K., Guo, Y., Li, N., Xiao, L., Feng, Y., 2020. Subtype distribution of zoonotic pathogen Cryptosporidium felis in humans and animals in several countries. Emerg. Microbes. Infect. 9, 2446–2454.

P25.

Trichomonas vaginalis'in Katı Besiyerinde Üretilmesi

Yener ÖZEL[1], İbrahim ÇAVUŞ[2], Gülhan VARDAR ÜNLÜ[1], Ahmet ÖZBİLGİN[2], Mehmet ÜNLÜ[1]

[1]Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, BALIKESİR;
[2]Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA

E-mail: yener_ozel@hotmail.com

Amaç: *Trichomonas vaginalis*, trichomoniasis'e neden olan protozoon bir parazittir. Erken doğum, HIV, kısırlık ve gonokokal olmayan üretrit ile ilişkilidir. Parazitin laboratuvar tanısı, direk mikroskopi, kültür ve moleküler yöntemlere dayanmaktadır. Özellikle ilaç ve tanı kiti geliştirilmesine yönelik araştırmalarda parazitin izolasyonu için kültür teknikleri zorunludur ve sıvı kültür yöntemi altın standart olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada, *T. vaginalis*'in katı besiyeri ortamında üretilmesi ve koloni morfolojisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada klinik örnekten izole edilmiş ve Trypticase-yeast extract-maltose (TYM) besiyerinde üretilmiş *T. vaginalis* suşu kullanıldı. Denenen katı besiyeri, rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında sıklıkla bulunabilen Columbia Agar'ın modifiye edilmesi ile hazırlandı. Modifiye Columbia Agara (MCA), belirli miktarda zenginleştirici maddeler eklenip, 121 ^{0}C'de otoklavlandı. Besiyeri, 50-55 ^{0}C'ye kadar soğutulduktan sonra antibiyotik ve steril at serumu ilave edildi. Besiyeri 60 mm çapında petri kaplarına dökülerek UV altında katılaşmaya bırakıldı. TYM besiyerinde logaritmik faza girmiş *T. vaginalis* trofozoitleri, katı besiyeri yüzeyinde tek koloni düşürmek amacıyla seyreltme ekim yöntemi ile ekildi. Katı besiyeri plakları anaerobik ortam şartlarında 37 ^{0}C'de inkübe edildi. Altı günlük inkübasyon süresi sonunda MCA besiyerleri, *T. vaginalis* kolonisinin varlığı yönünden stereomikroskop altında incelendi. Bu kolonilerden tekrar TYM ve MCA besiyerine pasajlar alınarak alt kültürler yapıldı.

Bulgular: İnkübasyon süresi dolan MCA besiyerlerinin yüzeyinde küçük, şeffaf ve düzensiz koloniler görüldü. Koloni yapısı mikroskop altında incelendiğinde, tek düşen kolonilerin yuvarlak, ortası çıkıntılı, şeffaf ve merkezden çevreye doğru ışınsal yapılar içerdiği tespit edildi. Yoğun üremelerin olduğu bölgelerde ise etrafı düzensiz koloni yığınları şeklinde yapılar izlendi. Bir öze yardımı ile besiyeri yüzeyinden alınan koloni, serum fizyolojik ile karıştırılarak lam lamel arası preparatları hazırlandı ve önce 10X sonra 40X büyütmede ışık mikroskobunda incelendi. Her bir mikroskop alanında çok sayıda yuvarlak şekil almış trofozoit formların kümeler oluşturduğu görüldü. Kümelenmiş parazit yığınının merkezindeki trofozoitler hareketsiz iken, çevrede bulunan hücrelerin kamçı hareketleri net olarak izlendi. Zaman geçtikçe kümelerinin dağıldığı ve trofozoitlerin bağımsız olarak hareketlendiği gözlendi. TYM ve MCA besiyerine yapılan alt kültürlerde de parazit üremesi saptandı.

Sonuç: Bu çalışmada, *T. vaginalis* trofozoitlerinin MCA besiyerinde ürediği ve koloni oluşturabildiği gözlendi. *T. vaginalis*'in MCA besiyerinde üretilebilmesi, ilaç direnç testlerinde disk difüzyon ve agar dilüsyon gibi yöntemlerin kullanılabilir olmasına, etken molekül tarama, tanı kiti geliştirilmesi ve moleküler çalışmalar için tek koloniden saf parazit eldesine imkân vermesi bakımından önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Columbia agar, katı besiyeri, Tek koloni, *T. vaginalis*

P26.

Erzurum Yöresi Koyunlarında Anaplasmosisin Mikroskobik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması

Rıdvan KİRMAN, Muzaffer AKYÜZ, Esin GÜVEN

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ERZURUM

E-mail: ridvan.kirman@atauni.edu.tr

Amaç: Erzurum yöresi koyunlarında anaplasmosisin mikroskobik ve moleküler yöntemlerle araştırılması, koyunları enfeste eden kene türlerinin belirlenmesi ve bu kene türlerinin anaplasmosisin naklindeki rolünün araştırılmasıdır.

Yöntemler: Proje materyalini, Anabilim Dalı'mız bünyesinde yürütülmüş olan BAP (Proje No: TSA-2018-6883) projesi kapsamında Erzurum ilçelerinde koyunlardan elde edilen 1533 kan örneği ve bu koyunlardan toplanan 1612 ixodid kene oluşturdu. Erzurum iline bağlı 20 ilçedeki 68 farklı işletmede yer alan koyunlardan rastgele seçilerek EDTA'lı tüplere kan örnekleri ve enfeste koyunlardan ixodid keneler toplandı. Kan örneklerinden hazırlanan ince yayma frotiler %5'lik Giemsa solüsyonu ile boyanarak ışık mikroskobu ile incelendi. Aynı örnekler, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile 16S rRNA gen bölgesini amplifiye eden 16S8FE ve GA1B primer çiftleri kullanılarak Anaplasma spp. varlığı yönünden incelendi. Kenelerin tür teşhisi, morfolojik kriterler doğrultusunda stereo mikroskop altında yapıldı. Tür tayini yapılan kenelerden doymuş dişiler uygun sıcaklık ve nem koşullarında yumurtlamaya ayrıldı. Keneler tür, doyma derecesi ve konak kriterlerine göre ayrılarak 100 havuz oluşturuldu. Kenelerden tek tek DNA ekstraksiyonu ve aynı primer çiftleri ile PZR analizi yapıldı. Moleküler analizler ile *Anaplasma* spp. yönünden pozitif bulunan kan ve kene örneklerine ait amplikonlar çift yönlü sekans analizi için ticari firmaya gönderildi.

Bulgular: Kan örneklerinin mikroskobik bakısında %7 (107/1533) *Anaplasma* spp. pozitifliği saptandı. Riketsemi oranı %0,01-0,18 olarak hesaplandı. Moleküler analiz ile %44,81 (687/1533) örnekte *Anaplasma* spp. pozitifliği tespit edildi. Sekans verileri incelendiğinde %3,3 *Anaplasma ovis* (*A. ovis*) varlığı saptandı. Yapılan tür teşhisi sonucunda kenelerin *Dermacentor marginatus* (*D. marginatus*) (%63,7), *Haemaphysalis parva* (*Hae. parva*) (%35,4) ve *Haemaphysalis punctata* (%0,9) türleri olduğu gözlemlendi. Kene homojenatlarının moleküler analizinde, *D. marginatus* ve *Hae. parva*'da *A. ovis* pozitifliği belirlendi.

Sonuç: Bu çalışma ile Erzurum ili koyunlarında ve koyunlardan toplanan kenelerde *A. ovis* varlığı ve yaygınlığı ortaya konmuştur. Bu çalışma sonuçları ile bölge için anaplasmosise ait güncel verilere ulaşılması sağlanmıştır. Bu bilgilerin koyun yetiştiricileri, saha veteriner hekimleri ve ilgili kurum ve kuruluşlarla paylaşılması ve böylelikle anaplasmosise yönelik etkili koruma ve kontrol stratejilerinin planlanmasına katkı sunulması öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Anaplazmozis, Erzurum, koyun, mikroskobi, PZR

P27.

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Çevresinden Toplanan Farelerde (*Mus musculus*) *Toxoplasma gondii* ve *Trichinella* sp. Varlığının Araştırılması

Hakan KANLIOĞLU[1,2], Heycan Berk AYDIN[1,2], Çisem MERİÇ[1,2], Metin PEKAĞIRBAŞ[1], Selin HACILARLIOĞLU[1], Hüseyin Bilgin BİLGİÇ[1], Serkan BAKIRCI[1], Tülin KARAGENÇ[1]

[1]Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD, AYDIN;
[2]Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, AYDIN

E-mail: vet.hakan09@gmail.com

Amaç: Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi çevresinde oldukça fazla sayıda bulunan kedi, fare ve domuz varlığı sebebiyle zoonotik önemleri olan Toxoplasma gondii ve Trichinella spp.'nin varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmanın materyalini Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi (ADÜ) çevresinde belirlenen alanlardan toplanan serbest olarak yaşayan fareler oluşturmaktadır. Beş adet canlı tuzak kurularak toplanacak fareleri canlı tuzaklara çekebilmek için cezbedici yemler bırakılmış ve belirli periyotlarla tuzaklarda bulunan yemler değiştirilmiştir. Ardışık günlerde tuzaklar toplanmış ve tuzaklar yardımıyla yakalanan toplam 35 fare alınarak ADÜ Veteriner Fakültesi Parazitoloji anabilim dalı laboratuvarlarına getirilmiştir. Kemirgenler eterle anesteziye tabi tutulduktan sonra servikal dislokasyon uygulaması yapılarak ötenazi işlemi gerçekleştirilmiş ve ardından nekropsileri yapılmıştır. Nekropsileri gerçekleşen farelerde *T. gondii* yönünden inceleme yapmak üzere akciğer, beyin ve karaciğerleri alınarak -20°C dondurucularda muhafaza edilmiştir. Daha sonra DNA izole edilen bu örneklerde *T. gondii*'nin 200-300 kez tekrarlayan geninin 529bp bölümünü amplifiye eden primerler (TOX4:5'-CGCTGCAGGGAGGAAGACGAAAGTTG-3' ve TOX5: 5'- CGCTGCAGACACAGTGCATCTGGATT-3') kullanılarak PZR analizi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca nekropsisi yapılan farelerde *Trichinella* spp.'nin olup olmadığını belirlemek amacıyla farelerden alınan masseter kasları trişinoskop kullanılarak mikroskobik olarak incelenmiştir.

Bulgular: *Toxoplasma gondii* yönünden incelenen 35 fareye ait doku kisti taşıyabilecek organlardan (karaciğer, akciğer, beyin) elde edilen DNA örneklerine yapılan PZR analizi sonucunda herhangi bir pozitif örnek tespit edilememiştir. *Trichinella* spp. larvalarını teşhis etmek için masseter kasından alınan örneklerle yapılan trişinoskop ile muayenede *Trichinella* spp.'ye ait larvalara rastlanılamamıştır.

Sonuç: Yapılan çalışmada, az sayıda yakalanan farede zoonotik öneme sahip olan Toxoplasma gondii ve *Trichinella* spp. yönünden bölgede yaşayan canlılar için herhangi bir potansiyel hastalık riski tespit edilememiştir. Ekolojik sistemde av-avcı temeline dayanan fare ile kedi ilişkisi ve son zamanlarda artan kedi-insan ilişkisi zoonoz karakter taşıyan bu paraziti halk sağlığı açısından daha da önemli hale getirmektedir. Kedilerin *T. gondii* ile enfekte olduktan sonra iki hafta boyunca dışkıyla ookist çıkarması ve ookistlerin uygun ısı ve nemli ortamda 1 yıla kadar canlı kalabilmesi parazitin zoonotik önemini arttırmaktadır. Kedilerin, hayvan çiftliğinin bulunduğu meralara giriş çıkışının serbest olması, meradaki hayvanların yem ve su ile birlikte etkeni ağız yoluyla almasıyla meradaki hayvanlarda doku kisti oluşmakta, plasenta yoluyla yavruya geçebilmekte ve aynı zamanda çiğ süt ile bulaşma olmaktadır. Kedilerin ve farelerin hem fakülte çevresinde bulunan hayvanların yaşam alanına hem de aktif olarak eğitim gören öğrenci popülasyonunun bulunduğu bölgeye serbest giriş-çıkışı dolayısıyla fare-kedi-sığır-insan ilişkileri ve teması zoonotik öneme sahip bu hastalıkların periyotlar halinde kontrol edilmesini gerekli kılmıştır. Domuzlar ve fareler arasında kanibalizm ile bulaşan *Trichinella* spp., domuz ve hastalığı taşıyan farelerin insanların yaşadıkları ortamda bulunması sebebiyle parazitin zoonoz önemini arttırmaktır.

Anahtar kelimeler: *Toxoplasma gondii, Trichinella* spp, *Mus musculus*, PZR, trişinoskop

P28.

Molecular Investigation of the Existence and Prevalence of Some Bacteria (*Coxiella burnetii, Mycoplasma haemocanis, Candidatus mycoplasma haematoparvum, Wolbachia*) in Ticks in Siirt Province of Turkey

Burçak ASLAN ÇELİK[1], **Özgür Yaşar ÇELİK[2]**, Adnan AYAN[3], Ali YILMAZ[4], Özlem ORUNÇ[5] KILINÇ, Ezgi ŞABABOĞLU[6], Özge OKTAY AYAN[7]

[1]Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Siirt University, SİİRT, TURKEY; [2]Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Siirt University, SİİRT, TURKEY; [3]Department of Genetics, Faculty of Veterinary Medicine, Van Yuzuncu Yil University, VAN, TURKEY; [4]School of Health, Van Yuzuncu Yil University, VAN, TURKEY; [5]Özalp Vocational School, Van Yuzuncu Yil University, VAN, TURKEY; [6]Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Mehmet Akif Ersoy University, BURDUR, TURKEY; [7]Department of Medical Parasitology, Van Yuzuncu Yil University School of Medicine, VAN, TURKEY

E-mail: oyc@siirt.edu.tr

Aim: One of the most prominent vectors along with mosquitos, especially considering zoonotic diseases, are the ticks. Due to their hematophagous nature, they are involved in transmitting numerous pathogens between animals and/or humans. Ticks can transmit a wide variety of pathogens, including viruses, protozoa, and bacteria. *Rhipicephalus sanguineus* ticks are the most common type of ticks worldwide. Although dogs are the main host of this tick species, it has been reported that it also infests humans in various parts of the world. This study aimed to assess the presence of certain emerging zoonotic bacteria in ticks sampled from dogs.

Methods: The collection of ticks was performed from a total of 85 dogs in the Siirt province, which is located in the Southeastern Anatolia Region of Turkey.

Results: A total of 350 ticks were collected and morphologically identified as *R. sanguineus* species. Coxiella DNA was detected in 3 (0.85%) out of 350 ticks using Nested PCR (687 base pairs). None of the samples were found to contain *Mycoplasma haemocanis, Candidatus Mycoplasma haematoparvum,* and *Wolbachia* DNA.

Conclusion: Considering the zoonotic nature of the Q disease, it is very important for dog owners and related institutions to periodically spray animals against ticks, and to take any other necessary precautions.

Anahtar Kelimeler: *C. burnetii, Mycoplasma haemocanis, Candidatus Mycoplasma haematoparvum, Wolbachia, R. sanguineus*, Turkey

P29.

Crohn Hastalarında *Dientamoeba fragilis*'in Moleküler Prevalansı

Merve YÜRÜK, Eda SİVCAN, Ozan YAMAN, Emrah ERDOĞAN

Erciyes Üniversitesi Tıp fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-mail: yuruk_merve@hotmail.com

TAM METİN

ÖZET

Amaç: Crohn hastalığı, gastrointestinal (GI) yolunun granulomatöz, anormal inflamasyonu ile belirlenen ilerleyici, sistemik otoimmün bir hastalık olup enflamatuar bağırsak hastalıkları (IBD'ler) ile gruplandırılır. GI yolunun herhangi bir kısmı, ağızdan anüse kadar etkilenebilir. Crohn hastalığına doğrudan lümendeki mikroorganizmaların neden olduğuna dair bir kanıt olmamasına rağmen, temelde regüle edilemeyen bir immün sistem için, bu mikroorganizmaların dolaylı olarak antijenik tetikleyiciyi sağlaması büyük olasılıktır. Crohn hastalığıyla GIS yerleşimli protozoon parazitlerin ilişkisi tam olarak bilinmemektedir. Ancak oluşturdukları patolojiler nedeniyle bu parazitlerin Crohn hastalığının etiyolojisinde yer almaları olasıdır. *Dientamoeba fragilis* (*D. fragilis*) insan vücudunda çekum veya kalın bağırsak lümenine yerleşerek dientamoebiosise neden olan bir protozoondur. *D. fragilis*'i sadece taze dışkılarda değil boyama yöntemi ile bile teşhis etmek zordur. Mikroskopi ile birlikte PCR gibi diğer tekniklerin bir arada kullanılması *D. fragilis*'in görülebilirliğini büyük ölçüde arttırdığını gösterilmiştir. Çalışmada *D. fragilis* ile Crohn hastalığı arasındaki ilişki moleküler tabanlı bir test olan RT-QPCR yöntemleri ile incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Crohn hastalığı tanısı alan hastalardan toplanan 124 dışkı örneğinin ve sağlıklı gönüllülerden toplanan 20 örneğin nativ lügol ile direkt bakısı yapılarak DNA izolasyonu yapılmak üzere 150-200 mg kadarı -20^{0}C'de saklanmıştır. Pozitif kontrol olarak kullanılan referans DNA'dan amplifiye edilen hedef gen bölgesi pJET plazmidine klonlanmıştır. DNA izolasyonu (QIAamp Fast Stool Mini Kit, QIAGEN, Almanya) sonrası 124 hasta örneği, 20 sağlıklı gönüllünün örneği ve pozitif kontrol SSU rDNA gen bölgelerinin hedef alındığı *D. fragilis* spesifik F (5'-GGGACTCCCTGCGTCTAAG-3'), R (5'-TTCCTGTAGTGCCTGGACAA-3') primerleri ve prob (5'-GGAGGAAG-3') ile 95°C'de 10 dk 1 döngü, 10 sn 95^{0}C'de, 30 sn 60^{0}C'de, 1 sn 72^{0}C'de 45 döngü ve 40^{0}C'de 30 sn 1 döngü olacak şekilde belirlenen koşullara göre Light Cycler 480 (Roche Diagnostic, Almanya) cihazında RT-QPCR'ı yapılmıştır. RT-QPCR analizlerinde kullanılacak bileşenler 10 µl 2x Probes Master Miks, 0,4 µl UPL Probe, 1'er µl F ve R primerleri kullanılarak toplamda 20 µl olarak belirlenmiştir. Cq değerleri 'second maximum derivate yöntemi' ile hesaplanarak karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Crohn hastalığı tanısı almış hastaların rutin dışkı muayenesi yapılarak direkt bakı sonrasında parazit görülmediği kaydedilmiştir. Aynı örneklere RT-QPCR yapılarak *D. fragilis* bakımından incelendiğinde 124 olguya ait hasta örneğinin 13'ünün (%10,5) pozitif olduğu tespit edilmiştir. Sağlıklı gönüllüler ile karşılaştırıldığında çalışma grubunda bu durum istatistiksel olarak anlamlı çıkmıştır ($p<0.05$).

Sonuç: Crohn hastalarında *D. fragilis*'in görülme sıklığının hastalık ile bir ilişkisi olduğu yönündeki şüphelerimizi desteklemektedir. Bu durum, crohn hastalarına ait dışkı örnekleri incelenirken direk

mikroskobi ile saptanması güç olan parazitin gözden kaçırılmamasının, tanısının konulmasının gerekliliğini göstermektedir. Dolayısıyla, crohn hastalarında eksiksiz bir tedavinin sağlanması bakımından *D. fragilis*'in araştırılması önemlidir. Ayıca elde edilen veriler doğrultusunda ileride gerçekleştirilebilecek moleküler çalışmalar için de temel teşkil etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Crohn Hastalığı, *Dientamoeba fragilis,* PCR, RT-QPCR, Moleküler Prevalans

GİRİŞ

Crohn hastalığı, gastrointestinal (GI) yolun granulomatöz, anormal inflamasyonu ile belirlenen ilerleyici, sistemik otoimmün bir hastalıktır (1). GI yolun herhangi bir kısmı, ağızdan anüse kadar etkilenebilir (2). Crohn hastalığı gelişen bireylerde genetik yatkınlık, özellikle de ailesel agregasyon, en güçlü bağımsız gösterge gibi görünmektedir. Makroskobik lezyonlar mukozada ortaya çıkmakta ve altında lenfoid nodüller bulunan küçük odaklar şeklinde aft benzeri ülserasyonlar oluşmaktadır. Bu ülserasyon alanları gerileyip kaybolabilirken bazen de bağırsak duvarının tüm katları tutularak ilerler ve bağırsak duvarının kalınlaşmasına neden olur. Submukoza tabakasında lenfödem ve lenfosit infiltrasyonu meydana gelir ve ardından yaygın bir fibrosis gelişir. Hastalık kronik, aralıklı veya uzun süreli remisyonda olabilir. Enflamasyon; karnın sağ alt kadranında ağrı ve hassaiyete neden olur. Crohn hastalığının bilinen özel bir tedavisi yoktur. Geleneksel olarak Crohn hastalığı için tedavi, öncelikle farmakolojik terapilere başvurulurken gerekli görüldüğünde cerrahi müdahale ile yapılmaktadır. İlaçlar hastalık sürecinin aşamasına (aktif hastalık veya remisyon), hastalık aktivitesinin seviyesine (hafif-orta şiddette, orta-şiddetli veya şiddetliden fulminana) ve penetrasyon (fistül) varlığına dayanılarak belirlenir (3). Crohn hastalığının doğrudan lümendeki mikroorganizmaların neden olduğuna dair bir kanıt olmamasına rağmen, temelde regüle edilemeyen bir immün sistem için, bu mikroorganizmaların dolaylı olarak antijenik tetikleyiciyi sağlaması büyük olasılıktır. Mukozal tolerans kaybında ve mikrobiyal floranın olumsuz yönde değişim göstermesinde, parazitlerin etkisinin gösterildiği literatürde kısıtlı bazı çalışmalar yukarı anlatıldığı gibi mevcuttur (4). Crohn hastalığıyla GIS yerleşimli protozoon parazitlerin ilişkisi tam olarak bilinmemekle beraber *Dientamoeba fragilis* (*D. fragilis*) gibi patojen parazitlerin oluşturdukları patolojiler nedeniyle Crohn hastalığının etiyolojisinde yer almaları olasıdır. *D. fragilis*; insan vücudunda çekum veya kalın bağırsak lümenine yerleşerek dientamoebiosise neden olmaktadır. Bu parazit ile enfekte bireylerde en sık görülen belirtiler arasında karın ağrısı, şişkinlik, yorgunluk, iştahsızlık, ishal, bulantı ve eozinofilinin görülebileceği bildirilmiştir (5). *D. fragilis*'i sadece taze dışkılarda değil boyama yöntemi ile teşhis etmek zordur (6). Mikroskopi ile birlikte PCR gibi diğer tekniklerin bir arada kullanılması parazitin görülebilirliğini büyük ölçüde arttırdığını gösterilmiştir (7-9).

Bu çalışmada; nativ-lugol yöntemi ile direkt mikroskobik incelemeler ve moleküler tabanlı testler olan RT-QPCR yöntemleri ile karşılaştırmalı olarak *D. fragilis* varlığı Crohn hastalarına ait dışkı örneklerinde incelenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Örneklerin Toplanması

Çalışmada kullanılan olan dışkı örnekleri, Tıp Fakültesi laboratuarına başvuran ve tetkik için Parazitoloji Anabilim Dalı'na gelen Crohn hastalığı tanılı hastalar ile sağlıklı gönüllülerden oluşan kontrol grubundan alınmıştır. Dışkı örneği alınan hastalar ile sağlıklı gönüllüler bilgilendirilip yazılı onamları alındıktan sonra çalışmaya dahil edileceklerdir.

Mikroskobik İnceleme; Örneklerinin Konvansiyonel Yöntemlerle İncelenmesi

Crohn hastalığı tanılı hastaların ve kontrol grubuna ait dışkı örnekleri öncelikle Nativ-Lugol (N-L) yöntemi ile örnekler toplandıktan sonra en fazla bir saat içinde incelenmiştir. DNA izolasyonunda kullanılmak üzere tüm dışkı örneklerinden her bir test için 180-220 mg alınarak -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Moleküler inceleme; Dientamoeba fragilis RTQ –PCR analizleri

Moleküler incelemeler için RTQ-PCR analizlerinde kullanılmak üzere toplanan ve DNA izolasyonu için örnekler -20⁰C'de muhafaza edilen örnekler, QIAamp Fast Stool Mini Kit (QIAGEN, Almanya) kullanılarak kitin önerisine göre gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonunun ardından *D. fragilis* bakımından incelenecek örnekler için pozitif kontrol olarak kullanılan DNA'nın 364 bç'lik SSU rRNA kısmi gen bölgesi PCR ile çoğaltılmış ve plazmite klonlanmıştır. Bunun için, DFpn_1f (5'-GCC AAG GAA GCA CAC TAT GG-3') ve DFpn_364r (5'-GTA AGT TTC GCG CCT GCT-3') primerleri kullanılmıştır. Reaksiyon bileşenleri optimize edilerek toplam 25 µl'lik bir karışım hazırlanmıştır. Amplikasyon, 15 dakika 95⁰C'de ilk denatürasyondan sonra, 94⁰C'de 30 saniye, 65⁰C'de 30 saniye, 72⁰C'de 30 saniye 35 döngü ve son uzatma 72⁰C'de 5 dakika olacak şekilde PCR koşulları ayarlanarak PCR tüpleri thermal cycler (SENSEQUEST, Almanya) cihazına yerleştirilmiştir. PCR ürünü Bio-Rad Chemidoc MP (ABD) jel görüntüleme cihazı ile görüntülenmiştir. Elde edilen PCR ürünü pürifikasyon kiti kullanılarak jelden pürifiye edilerek pozitif kontrol olarak kullanılmak üzere plazmite klonlanmıştır.

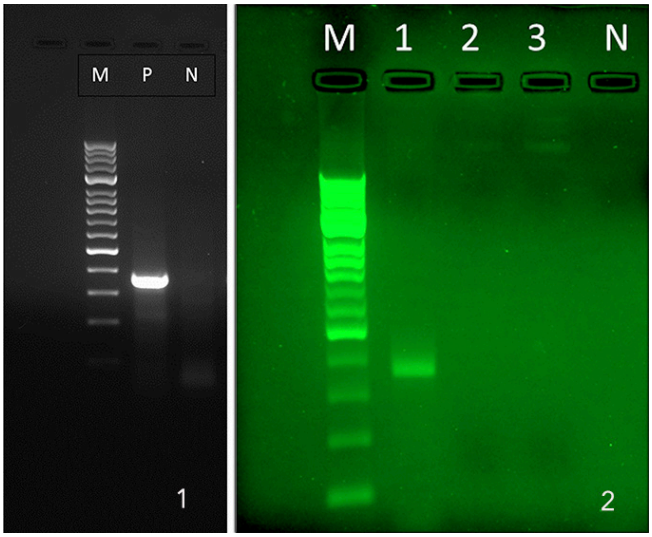
Klonlama için CloneJET PCR Clonning Kit (Thermo Scientific, ABD) kullanılarak kit prosedürüne göre 20 µl hacimde ligasyon ürünü elde edilmişitir. Transformasyon için, rekombinant plazmid 25 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra 3 µl'si kullanılmış ve buz üzerinde tutulan E. coli TOP 10 hücreleri üzerine eklenerek 30 dk inkübasyona bırakılmıştır. Hücreler önce 42⁰C'de 1 dk, daha sonra buz üzerinde 4 dk bekletilip üzerine 250 µL SOC medium eklenmiştir. 37⁰C'de çalkalayıcı üzerinde 1,5 saat inkübe edilerek transformasyon karışımı, uygun konsantrasyonda ampicilin ihtiva eden LB (Lurie-Bertani) katı besi yerine ekilerek kolonilerin gelişimi için bir gece 37⁰C'de inkübe edilmiştir. LB katı besi yerinde üreyen kolonilerden izolat başına 2 koloni seçilmiş ve steril kürdanlar ile bu koloniler alınarak işaretlenmiş LB katı besi yeri içeren plakalar üzerine (her plaka bölünerek her bölmeye bir koloni geçilmiştir) tekrar ekilerek 37⁰C'de 1 gece inkübasyona bırakılmıştır. LB katı besiyerinde üreyen kolonilerin rekombinant plasmidi içerip içermediğini anlamak için aynı koloniye ait her bir işaretlenmiş bölgeden tek bir koloni seçilerek PCR ile koloni tarama yapılmıştır. PCR sonucu oluşan amplikonlar %2'lik agaroz jelde yürütülüp görüntülenmiştir ve vektör+insert varlığı yönünden konfirmasyonu sağlanmıştır. Vektör+insert varlığı yönünden teyit edilen kolonilerden (İşaretlenmiş pleytlerde aynı bölmede bulunan kolonilerden) en az iki adedi seçilerek steril özeler ile alınarak ve uygun konsantrasyonda ampicilin ihtiva eden 5 ml hacimde LB sıvı besi yerlerine ekimleri yapılarak 37⁰C'de çalkalayıcı üzerinde bir gece inkübasyona bırakılmıştır. Sıvı besi yerinde üretilen hücrelerden 2 ml alınarak 8000 rpm'de 2 dk santrifüj edilerek hücrelerin çökmesi sağlanmıştır. Santrifüj sonrası üstteki sıvı kısım dökülüp hücresel peletten plazmid pürifikasyonu yapılmış, aynı örneklere ait diğer bir kısım hücresel pelletler ihtiyaç halinde kullanılmak üzere -20⁰C'de muhafaza edilmiştir. Elde edilen plazmidler insertlerin varlığı yönünden vektör spesifik pJET1.2 forward ve pJET1.2 reverse primerleri ile prosedürüne uygun olarak PCR'da analize tabi tutulmuştur.

Elde edilen plazmidler pozitif kontrol olarak kullanılmak üzere QPCR analizleri yapılmaya başlanana kadar -20⁰C'de muhafaza edilmiştir.

Elde edilen genomik DNA örnekleri, AY730405 GenBank aksesyon numarası ile bildirilen *D. fragilis* SSU rRNA gen bölgesi hedef alınarak dizayn edilen spesifik primer F (5'-GGGACTCCCTGCGTCTAAG-3'), R (5'-TTCCTGTAGTGCCTGGACAA-3') ve prob (5'-GGAGGAAG-3') çalışmada kullanılarak Light Cycler 480 (Roche Diagnostic, Almanya) cihazında 95°C'de 10 dk 1 döngü, 10 sn 95⁰C'de, 30 sn 60⁰C'de, 1 sn 72⁰C'de 45 döngü ve 40⁰C'de 30 sn 1 döngü olacak şekilde belirlenen koşullara göre QPCR ile analiz edilmiştir. RTQ-PCR analizlerinde kullanılan bileşenler 10 µl 2x Probes Master Miks, 0,4 µl UPL Probe, 1'er µl F ve R primerleri ile toplamda 20 µl olarak hazırlanmıştır. Cq değerleri 'second maximum derivate yöntemi' ile hesaplanarak karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. İstatistik analizleri IBM SPSS Statistics 20 yazılımında gerçekleştirilmiştir. İncelenen örneklerde *D.fragilis* ile Crohn hastalığı arasındaki ilişkisi araştırılmıştır.

BULGULAR

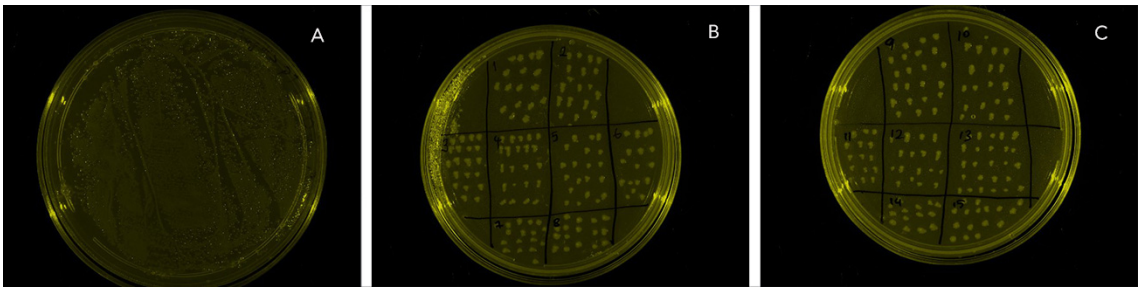
DNA bankamızda saklanan *D. fragilis* genomik DNA'sından SSU rRNA genine özel primerler kullanılarak yapılan PCR sonucunda 365 bç'lik PCR ürünü elde edilmiştir (Şekil 1). Saflaştırılan PCR ürünün 4 µl'si klonlama da kullanılmıştır. Klonlamada ligasyon reaksiyonu CloneJET PCR Kit (Thermo Scientific, ABD) prosedürü modifiye edilerek yapılmıştır. Pürifiye edilen PCR ürünü ve ligasyon sonrası elde edilen rekombinant plazmidin 1 ve 3 µl'si agoroz jele yüklenerek görüntülenmiştir (Şekil 2).



Şekil 1. Pozitif kontrol olarak kullanılan örneğin PCR örüntüsü; **M:** İşaretleyici (100 bç, ThermoScientific), **P:** DFpn_1f ve DFpn_364r primerleri ile amplifiye edilen PCR ürünü, **N:** Negatif kontrol.

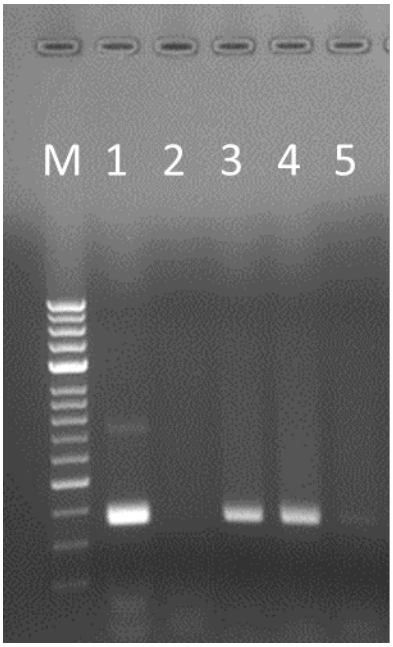
Şekil 2. Pürifiye amplikonun pJET'e klonlanmasından sonra ilgili gen bölgesine ve rekombinant plazmide ait PCR görüntüsü; **M:** İşaretleyici (100 bç, ThermoScientific), **1:** rekombinat plazmidin DFpn_1f ve DFpn_364r primerleri ile doğrulandığı PCR ürünü, **2:** rekombinat plazmidin 1 µl'si, **3**: rekombinat plazmidin 3 µl'si

Ligasyon sonucu elde edilen rekombinant plazmidin 5 µl'si Topo Chemically Competent E. coli hücrelerine transforme edilmiş ve antibiyotikli LB katı besiyerine ekimi yapılarak gece boyu 37 ºC'de inkübe edilmiştir (Şekil 3A). Transformasyon sonucu oluşan kolonilerin başka bir antibiyotikli LB katı besi yerine tek nokta ekimi yapılmıştır (Şekil 3B, 3C).



Şekil 3A. Rekombinat plazmidin transformasyon sonrası ekimi; **3B.** Koloni tarama yapılmak üzere tek koloni ekimi; **1-8** nolu koloniler; **3C**. Koloni tarama yapılmak üzere tek koloni ekimi; **9-15** nolu koloniler

Transformasyon yapıldıktan sonra oluşan kolonilerdeki rekombinant plazmidin varlığı PCR ile koloni tarama yapılarak gösterilmiştir. Transformasyon sonrası elde edilen kolonilerin *D. fragilis* SSU rDNA kısmi gen bölgesini içeren rekombinant plazmid olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4).



Şekil 4. PCR ile koloni tarama; **M:** İşaretleyici (100 bç, ThermoScientific), **1-5:** DFpn_1f ve DFpn_364r primerleri ile PCR'ı yapılan rekombinat plazmid içeren koloniler

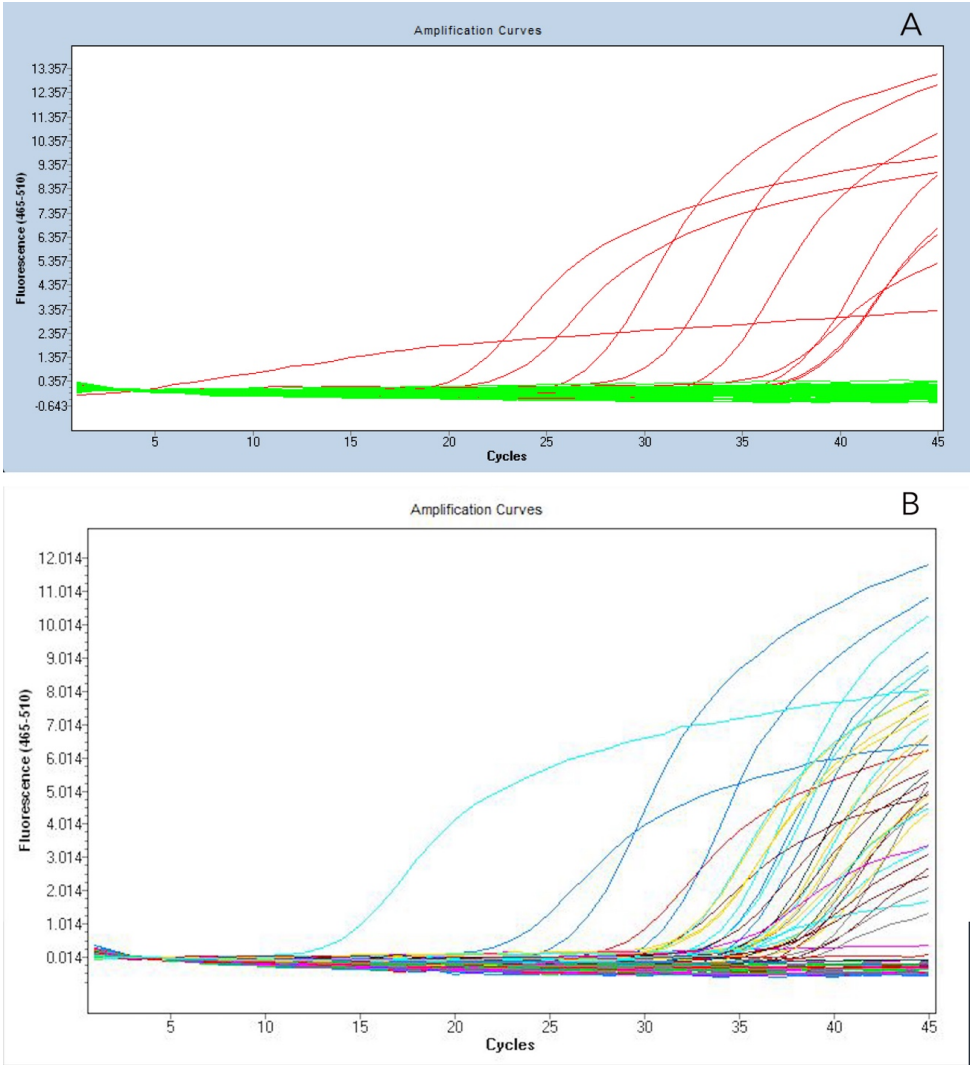
PCR ile koloni tarama ile pozitifliği doğrulanan bir koloniden Plasmid DNA Minipreps Kiti kullanılarak kit prosedürüne uygun şekilde *D. fragilis* SSU rDNA geni içeren rekombinant plazmitler saflaştırılmıştır. Rekombinant plazmit miniprep ürününden totalde 20µl olacak şekilde PCR yapılmış ve rekombinant plazmit ürünün *D. fragilis* SSU rDNA geni içerdiği doğrulanarak RT-QPCR testinde pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Çalışmaya, Crohn hastalığı olan toplam 124 hasta ve 20 kişilik kronik rahatsızlığı olmayan, sağlıklı gönüllülerden oluşan kontrol grubu dahil edilmiştir. Toplam 124 dışkı örneğinin tümü öncelikle Nativ-Lugol yöntemiyle incelenmiş olup, bu hastaların dışkı muayenesi sonucunda çoğunlukla parazit görülmemekle birlikte bazı örneklerde bol veya nadir lökosit ve *D. fragilis* bakımından negatif çıkan 3 hastada ayrı ayrı sadece *Blastocystis hominis*, *Entamoeba coli* ve *Entamoeba hartmani* görülmüştür. İncelenen bu örneklerin tamamına RT-QPCR yötemi uygulanış 13'ünün *D. fragilis* bakımından pozitif olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5A, 5B).

TARTIŞMA

Enflamatuar bağırsak hastalıkları, gastrointestinal sistemi etkileyen bağışıklık sisteminin aracılık ettiği genetik heterojenliğe sahip çok faktörlü, poligenik hastalıklardır ve iki ana şekilde; Crohn Hastalığı (CH) ve ülseratif kolit (ÜK) olarak görülür (10). Genetik yatkınlığa ek olarak, çeşitli çevresel faktörler ve konak faktörleri enflamatuar bağırsak hastalıklarının patogenezinde önemli bir rol oynar (11). Crohn hastalığı, gastrointestinal (GI) yolunun granulomatöz, anormal inflamasyonu ile belirlenen ilerleyici, sistemik otoimmün bir hastalıktır. GI yolunun herhangi bir kısmı, ağızdan anüse kadar etkilenebilmektedir (1, 2). Crohn hastalığına doğrudan lümendeki mikroorganizmaların neden olduğuna dair bir kanıt olmamasına rağmen, temelde regüle edilemeyen bir immün sistem için, bu mikroorganizmaların dolaylı olarak antijenik tetikleyiciyi sağlaması büyük olasılıktır. Crohn hastalığıyla GIS yerleşimli protozoon parazitlerin ilişkisi tam olarak bilinmemekte ancak oluşturdukları patolojiler nedeniyle bu parazitlerin Crohn hastalığının etiyolojisinde yer alabileceği düşünülmektedir. Bazı çalışmalar, birçok parazitin sadece parazite özgü bağışıklığı indükleyebileceğini değil, aynı zamanda konağın bağışıklık tepkilerini de değiştirdiğini göstermiştir (12). Bu nedenle çalışmada *D. fragilis* ile Crohn hastalığı arasındaki ilişki moleküler tabanlı bir test olan RT-QPCR yöntemleri ile incelenmesi amaçlanmıştır. *Dientamoeba fragilis*, insanlarda gastrointestinal sisteme yerleşen patojen bir

parazittir. Yaşam döngüsü, bulaş yolu hakkında bilgi eksikliği, aksenik kültürde üretilememesi ve tanı testlerininyetersizliği gibi kısıtlılıklar D.fragilis ile ilgili epidemiyolojik çalışmaların artmasınasebep olmuştur (13-17). Parazitin kullanılan tanı yöntemlerine göre direkt bakı ve boyamayöntemleri ile tanısı zor olması sebebiyle dünyadaki insidansı değişiklik göstermektedir (18-20).



Şekil 5A. Amplifikasyon eğrileri; Pozitif kontroller, **5B.** Amplifikasyon eğrileri; RTQ-PCR ile pozitif saptanan örnekler

Sonuç olarak; çalışma kapsamında incelenen 124 crohn hastası ve 20 sağlıklı gönüllüden alınan örnekler incelenmiştir. Crohn hastalarına ait örneklerin 13'ünde *D.fragilis* pozitifliğinin saptanmıştır. Bu durum crohn Hastalarında D. fragilis'in görülme sıklığının hastalık ile bir ilişkisi olabileceği ve hastalık patogenezinde rol alabileceği yönündeki şüphelerimizi desteklemektedir. Crohn hastalarına ait gayta örnekleri incelenirken direk mikroskobi ile saptanması güç olan bu parazitin gözden kaçırılmaması, tanısının konulmasının gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla, crohn hastalarında eksiksiz bir tedavinin sağlanması bakımından D. fragilis'in araştırılması önemlidir. Ayıca elde edilen veriler, ileride gerçekleştirilebilecek moleküler karakterizasyon yapılarak moleküler seviyede hastalıkla ilişkili olabilecek varyasyonların tespiti gibi çalışmalar için de temel teşkil etmektedir.

Kaynaklar

1. Jonathan RM, Crohn disease: pathophysiology, diagnosis, and treatment, Radiologic technology, 2014, 85(3): 297-316.
2. William JH, Crohn's disease of the colon, rectum, and anüs, Surg Clin N Am, 2015, 95: 1195-1210.
3. Cheifetz AS, Management of Active Crohn Disease, JAMA, 2013, 309(20): 2150–2158.
4. Mohammadi R, Hosseini-Safa A, Ehsani Ardakani MJ, Rostami-Nejad M, The relationship between intestinal parasites and some immune-mediated intestinal conditions, Gastroenterol Hepatol Bed Bench, 2015, 8(2):123-131.
5. Stark D, Barratt J, Roberts T, Marriot D, Harkness J, Ellis J, A review of the clinical presentations of dientamobiasis, Am J Trop Med Hyg, 2010, 82: 614-619.
6. Stark D, Barratt J, Roberts T, Marriot D, Harkness J, Ellis J, comparision of microscopy, two xenic culture tecniques, conventional and RT-PCR for the detection of Dientamoeba fragilis in clinical stool samples. Eur J Clin Microbiol İnfect Dis, 2010, 29: 411-416.
7. Bruijnesteijn van Coppenraet LE, Wallinga JA, Ruijs Gj, Bruins MJ, Verveij JJ. Parasitological diagnosis, combining an internally controlled RT-PCR assay for the detection of four protozoa in stool samples with a testing algorithm for microscopy. Clin Microbiol Infect, 2009, 15: 869-874.
8. Röser D, Nejsum P, Carlsgart AJ, Nielsen HV, Stensvold CR. DNA of Dientamoeba fragilis detected within surface-sterilized eggs of Enterobius vermicularis. Exp Parasitol 2013, 133(1): 57-61.
9. Sivcan E, Charyyeva A, Ceylan S Ş, Yürük M, Erdoğan E, Şahin İ. Gastrointestinal Şikayeti Olan Hastalarda Dientamoeba fragilis Enfeksiyonu. Mikrobiyoloji Bülteni, 2018, 52(2).
10. Mentella MC, Scaldaferri F, Pizzoferrato M, Gasbarrini A, Miggiano GAD, IBD and gut microbiota: a review, Nutrients, 2020, 12(944): 1-20.
11. Lakatos PL, Fischer S, Lakatos L, Gal I, Papp J, Current concept on the pathogenesis of inflammatory bowel diseasecrosstalk between genetic and microbial factors: pathogenic bacteria and altered bacterial sensing or changes in mucosal integrity take "toll" ?, World J Gastroenterol, 2006, 12(12): 1829-1841.
12. Mann EA, Saeed SA, Gastrointestinal infection as a trigger for inflammatory bowel disease, Curr Opin Gastroenterol, 2012, 28(1): 24–29.
13. Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Detection of Dientamoeba fragilis in fresh stool specimens using PCR. Int J Parasitol 2005; 35(1): 57-62.
14. Peek R, Reedeker FR, van Gool T. Direct amplification and genotyping of Dientamoeba fragilis from human stool specimens. J Clin Microbiol 2004; 42(2): 631-5.
15. Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Prospective study of the prevalence, genotyping, and clinical relevance of Dientamoeba fragilis infections in an Australian population. J Clin Microbiol 2005; 43(6): 2718-23.
16. Johnson JA, Clark CG. Cryptic genetic diversity in Dientamoeba fragilis. J Clin Microbiol 2000; 38(12): 4653-4.
17. Windsor J, Clark C, Macfarlane L. Molecular typing of Dientamoeba fragilis. Br J Biomed Sci 2004; 61(3): 153.
18. Stark D, Barratt J, Roberts T, Marriott D, Harkness J, Ellis J. Comparison of microscopy, two xenic culture techniques, conventional and real-time PCR for the detection of Dientamoeba fragilis in clinical stool samples. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2010; 29(4): 411-6.
19. Windsor J, Macfarlane L, Hughes-Thapa G, Jones SK, Whiteside TM. Detection of Dientamoeba fragilis by culture. Br J Biomed Sci 2003; 60(2): 79-83.
20. Verweij JJ, Mulder B, Poell B, van Middelkoop D, Brienen EA, van Lieshout L. Real-time PCR for the detection of Dientamoeba fragilis in fecal samples. Mol Cell Probes 2007; 21(5-6): 400-4.

P30.

Rattus norvegicus'a Özelleşmiş Bir Parazit: *Trichosomoides crassicauda*

Ali Tümay GÜRLER[1], Sadık DEMİRTAŞ[2], Öykü BARILI[1], **Tuğçe TUYGUN[1]**, Cenk Soner BÖLÜKBAŞ[1], Mustafa AÇICI[1], Şinasi UMUR[1]

[1]Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, AD, SAMSUN;
[2]Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, SAMSUN

E-mail: tugce.tuygun@outlook.com

Amaç: *Trichosomoides crassicauda* (Bellingham, 1840) kahverengi ratlarda (*Rattus norvegicus*)'da bulunmuş ve isimlendirilmiştir. Direkt gelişen parazit boşaltım sisteminde yerleşim gösterir, ergin parazitlere idrar kesesinde rastlanır. Dünya genelinde Avrupa, Asya, Afrika ve Amerika kıtalarında farklı birçok ülkede görülen parazitin, Rattus norvegicus dışında, konak çeşitliliği yok denecek kadar azdır. Bu çalışmada, *T. crassicauda*'nın farklı kemirgen türlerinde varlığı araştırılmıştır.

Yöntem: Araştırma materyalini 115O281 nolu TÜBİTAK projesi kapsamında toplanan kemirgenler ve Samsun'da yol kenarında ölü bulunan ratlar oluşturmuştur. Toplam olarak 23 farklı türden 852 kemirgenin idrar kesesi parazitolojik olarak incelenmiştir. Enfekte hayvanlarda parazitler stereo mikroskop altında toplanmış, ışık mikroskobu altında teşhis edilmiştir.

Bulgular: İncelenen 23 farklı tür kemirgenden yalnız bir kemirici türünde parazite rastlanmıştır. İdrar kesesi incelenen 17 *R. norvegicus*'dan 9 (%52,9)'undan toplam 70 *T. crassicauda* toplanmış, parazit yoğunluğu 1-23 (ort. 7,8) arasında değişmiştir. Bu çalışma ile *T. crassicauda* Türkiye'de yabani ratlardan ilk olarak bildirilmiştir.

Sonuç: *Trichosomoides crassicauda* konak çeşitliği çok az olan bir parazit olup, İtalya'da *Rattus rattus*'da, Bulgaristan'da *Apodemus agrius*'da rastlandığı bildirilmiştir. Bunun yanında Nijerya'da dışkı bakısına göre yapılan bir çalışmada *M. musculus* ve *Sorex* sp.'de trichosomoid tip yumurtalar bulunmuş, ancak tür teşhisleri yapılmamıştır. Dolayısıyla bu yumurtaların, Afrika'da kemirgenlerin burun boşluğunda parazitlenen *T. nasalis* de olabileceği düşünülmelidir. Türkiye'de ise parazite yalnız laboratuvar ratlarında rastlanmıştır. Bu araştırma sonucunda, incelenen 23 farklı kemirgen türünden, dünya genelinde olduğu gibi yalnız *R. norvegicus*'da parazite rastlanmış, *T. crassicauda* Türkiye'de yabani ratlardan ilk bildirim olmuştur.

Anahtar kelimeler: *Rattus norvegicus, Trichosomoides crassicauda*, Türkiye

Bu çalışma, 115O281 nolu TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmiştir.

P31.

Bir kurtta (*Canis lupus*) *Echinococcus granulosus sensu stricto* ve *Echinococcus multilocularis* olgusu

Hamza AVCIOĞLU, Rıdvan KİRMAN, **Muzaffer AKYÜZ**, İbrahim BALKAYA, Esin GÜVEN

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ERZURUM

E-mail: muzaffer.akyuz@atauni.edu.tr

Amaç: Bu çalışmada ölü olarak bulunan bir erişkin kurtta echinococcosis varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Erzurum'un Yakutiye ilçesinde ölü olarak bulunan kurdun nekropsisi gerçekleştirildi. Sedimentasyon-counting tekniği ile bağırsak içeriği stereo mikroskop altında incelendi. *Echinococcus granulosus* erişkini cytochrome c oxydase subunit 1 (COI) gen bölgesini amplifiye eden JB3-JB4.5, E. multilocularis erişkini de 12S rRNA gen bölgesini amplifiye eden Emnest/for ve Emnest/rev primer çiftleri ile Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) analizine tabi tutuldu ve sekans analizine gönderildi.

Bulgular: Sedimentasyon-counting tekniği ile *Echinococcus* spp. erişkinleri tespit edildi. Tespit edilen erişkinlerin morfolojik kriterlere göre yapılan tür identifikasyonunda, *E. granulosus* ve *E. multilocularis* oldukları saptandı. *Echinococcus granulosus* erişkinlerinden PZR ile elde edilen amplikonlar, sekans analizi sonucunda G1 suşu olarak GenBank veri tabanına kaydedildi. *E. multilocularis* 12S rRNA gen bölgesinin PZR sonucu elde edilen amplikonların sekans analizi ile doğrulandı.

Sonuç: Bu çalışma ile bir kurtta hem erişkin *E. granulosus sensu stricto* hem de *E. multilocularis* tespit edildi. Zoonoz karakter gösteren her iki parazitin de son konak kurtta bulunmuş olması bölgenin kistik ve alveolar ekinokokkozis yönünden endemik olduğunu destekler niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: *Echinococcus granulosus sensu stricto, E. multilocularis*, Kurt, PZR

P32.

Echinococcus multilocularis İçin Yeni Arakonak: *Microtus guentheri*

Ali Tümay GÜRLER[1], Cenk Soner BÖLÜKBAŞ[1], Sadık DEMİRTAŞ[2], **Elif Burcu GENÇAY TOPÇU[1]**, Öykü BARILI[1], Efe KARACA[3], Mustafa AÇICI[1], Şinasi UMUR[1]

[1]Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, AD, SAMSUN; [2]Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, SAMSUN; [3]Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji AD, SAMSUN

E-mail: burcu.gencay@omu.edu.tr

Amaç: *Echinococcus multilocularis* insanlarda alveolar ekinokokkozise (AE) neden olan, en önemli zoonoz parazitlerden birisidir. Son konakları başta kızıl tilki olmak üzere çeşitli karnivor türleri olan parazitin, dünya genelinde 40'tan fazla kemirgen türünü arakonak olarak kullandığı tespit edilmiştir. Bu poster bildirisinde, *E. multilocularis* için yeni bir arakonak tür olan *Microtus guentheri*'nin dünyadaki ilk kaydının verilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Araştırma materyalini Konya'nın Selçuk ilçesinde yakalanan ergin erkek bir tarla faresi oluşturmuştur. Kemirgenin karaciğeri parazitolojik olarak makroskobik ve mikroskobik olarak incelenmiştir. Tespit edilen alveolar kistler sayılmış, ölçümleri yapılmış, fotoğraflanmış, protoskoleks varlığı bakımından mikroskobik olarak incelendikten sonra moleküler analizi yapılmak üzere saklanmıştır. Ayrıca, enfekte bulunan kemirgenin moleküler tür analizi de yapılmıştır.

Bulgular: Enfekte kemirgenin yalnız karaciğerinde olmak üzere toplam 13 kist (3'ü 5-8 mm, 10'u 1 mm'den küçük) toplanmıştır. Kontrol edilen kistlerin tamamının fertil olduğu görülmüştür. Yapılan moleküler analiz sonucu kistlerin alveolar kist olduğu, İran ve Çin örnekleri ile %100 identik olduğu tespit edilmiştir. Yakalanan enfekte kemirgen morfolojik olarak M. guentheri olarak teşhis edilmiş ve bu bulgu moleküler olarak da doğrulanmıştır.

Sonuç: Türkiye'de *E. multilocularis* için bilinen tek arakonak türü *Microtus irani*'dir. Bu tür Doğu Anadolu Bölgesinin bilinen yaygın bir kemirgenidir ve yapılan çalışma da Erzurum'da gerçekleştirilmiştir. Bu bildiride sunulan enfekte kemirgen örneği ise Konya'da yakalanmış ve *M. guentheri* olarak teşhis edilmiştir. *Microtus guentheri* İç Anadolu Bölgesinin bilinen yaygın bir türüdür ve av-avcı ilişkisi kapsamında tilkilerin av menüsünde bulunması sebebiyle *E. multilocularis*'in biyolojik döngüsünde rol oynama potansiyeline sahiptir. Bu nedenle, tilkilerin av menüsünde bulunan, bölgesel olarak yaygın olan bir tarla faresinde parazite rastlanması önemli bir bulgudur. Ayrıca M. guentheri *E. multilocularis* için dünyada ilk arakonak bildirimi olmuştur.

Anahtar kelimeler: *Echinococcus multilocularis, Microtus guentheri*, Türkiye

Bu çalışma, 115O281 nolu TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmiştir.

P33.

Bir Bozayıda (*Ursus arctos*) *Dicrocoelium dendriticum* ve *Uncinaria* sp.

Rıdvan KİRMAN, Muzaffer AKYÜZ, İbrahim BALKAYA, Esin GÜVEN

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ERZURUM

E-mail: ridvan.kirman@atauni.edu.tr

Amaç: Ölü olarak bulunan erişkin bir bozayıda sindirim sistemi helmintleri varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Erzurum'un Pasinler ilçesinde ölü olarak bulunan bir bozayının nekropsisi gerçekleştirildi. İç organlar makroskobik olarak, mide-bağırsak içeriği ise stereo mikroskop altında incelendi.

Bulgular: Safra kesesinin makroskobik incelenmesinde *Dicrocoelium dendriticum*, bağırsak içeriğinin stereo mikroskop altında incelenmesiyle *Uncinaria* spp. erişkinleri tespit edildi.

Sonuç: Bu çalışma ile bozayıda *D. dendriticum* ve *Uncinaria* sp. olgusu tespit edildi. Yabani hayvanlarda paraziter etkenlerin yaygınlığına yönelik çalışma az sayıdadır. Hem paraziter etkenlerin çeşitliliği hem de yaygınlığı göz önünde bulundurulduğunda yabani hayvanlarda paraziter fauna durumunun araştırılmasının gerekliliği ön plana çıkmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Boz ayı, *Dicrocoelium dendriticum*, *Uncinaria*, Yaban hayatı

P34.

Türkiye'nin Kuzey Doğusunda İnsanlarda Kistik Ekinokokkozis Sıklığı

Neriman MOR[1], Hilal BEDİR[1], Eray ATALAY[2], Mükremin ARSLAN[1]

[1]Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, KARS;
[2]Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, KARS

E-mail: nery.man@hotmail.com

Amaç: Kistik ekinokokkozis (KE) dünyada global zoonotik paraziter hastalıkların başında gelmektedir. Hastalık kırsal alanlarda ve hayvancılık yapılan bölgelerde yaygındır. Bu nedenle çalışma; Türkiye'nin Kuzey Doğusunda insanlarda KE görülme sıklığını belirlemek için yapılmıştır.

Yöntem: Ocak 2017 ile Aralık 2020 süresince dört yıl Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi İç Hastalıkları polikliniğine rutin tarama amaçlı ve olası kist hidatid tanılı müracaat eden 3218 hastanın kan serum örnekleri serolojik olarak ELISA (Enzim Linked Immunosorbent Assay) ve IHA (İndirekt Hemaglütinasyon) yöntemleriyle Parazitoloji Laboratuvarında incelenmiştir.

Bulgular: İncelenen 3218 kan serumunun 49'unda (%1,5) anti-*E. granulosus* antikorları seropozitif olarak bulunmuştur. Seropozitiflik oranı 2017 yılında ELISA ile %1,8 (25/1401), 2018'de IHA ile %0,9 (9/1043), 2019'da IHA ile %2,0 (14/704) ve Covid-19 pandemisi nedeniyle daha az örneğin işlendiği 2020 yılında ise IHA ile %1,4 (1/70) olarak tespit edilmiştir. Çalışmada ELISA ile incelenen 1401 serum örneğinin 25'inde (%1,8) ve IHA testi ile değerlendirilen 1817 kişinin ise 24'ünde (%1,3) anti-E. granulosus antikorları saptanmıştır. Araştırmanın yürütüldüğü 3218 İç Hastalıkları polikliniği hastasının 1477'si (%45,90) erkek ve 1741'i (%54,10) ise kadından oluşmuştur. Kistik ekinokokkozis seropozitifliği kadınlarda (%1,8) erkeklere (%1,2) göre daha yüksek bulunmuştur (P>0,05). Yaş gruplarına göre en yüksek seropozitiflik %2,4 oranı ile 31-45 yaş grubundakilerde tespit edilmiştir (P>0,05). Ayrıca hem erkek (%2,0) hem de kadınlarda (%2,8) 31-45 yaş grubundakilerde seropozitiflik oranı diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuştur (P>0,05). Kars çevresinde insanlarda kistik ekinokok genel görülme sıklığı %1,5 oranında saptandığı halde 31-45 yaş grubuyla (%2,4) 76 ve üzerindeki yaş grubunda (%2,1) daha yüksek düzeyde belirlenmiştir. Çalışma süresince 0-15 yaş aralığında olan 12-15 yaşlarındaki 16 kişide KE saptanmamıştır. İHA ile yapılan titrasyonlarda ise 1/160 ve altı negatif olarak değerlendirilmiştir. İHA testi ile 2018-2020 yıllarına ait incelenen 1817 serum örneğinin 38'i (%2,1) 1/160 ve üzeri titrelerde reaksiyon vermiştir. Bu titrelerden 1/320 ve üzeri olan 24 vaka pozitif olarak kabul edilmiştir. Bu 24 vakanın IHA titrelerine göre dağılımı; 1/320'de 7 (%29,2), 1/640'da 3 (%12,5), 1/1280'de 4 (%16,7) ve 1/2560'da ise 10 (%41,7) olarak belirlenmiştir.

Sonuç: İnsanlarda Kistik ekinokokkozis yönünden endemik bölge olan Türkiye'nin Kuzey Doğusunda yer alan Kars ilindeki Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi dâhiliye polikliniğine rutin tarama amaçlı ve olası kist hidatid tanılı müracaat eden kişilerde KE görülme sıklığı %1,5 oranında saptanmıştır. Bu sonuç oldukça yüksek ve önemli bir veridir. Bu tip çalışmaların saha şartlarında koyunculuk yapan ve çoban köpeği irtibatı olan kişilerde yürütülmesi KE'in bölgedeki epidemiyolojisini belirlemek için ışık tutacaktır.

Anahtar Kelimeler: Kistik Ekinokokkozis, Kist Hidatid, anti-*E. granulosus*, İnsan

P35.

Türkiye'nin Kuzey Doğu'sunda Kistik Ekinokokkozis Klinik Ön Tanılı Hastalarda anti-*Echinococcus granulosus* Antikorları Seropozitifliği

Mükremin Özkan ARSLAN, Neriman MOR, Hilal BEDİR

Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, KARS

E-mail: ozkanarslan@gmail.com

Amaç: Kistik ekinokokkozis (KE) *Echinococcus granulosus* larvası kist hidatidlerin insanlarda neden olduğu küresel zoonotik hastalıktır. Hastalık mera hayvancılığı, özellikle de koyun yetiştiriciliği yapılan bölgelerde ve kırsal yörelerde yaygındır. Bu çalışma belirtilen bu risk faktörlerinin olduğu, tarım ve hayvancılık bölgesi olan Türkiye'nin Kuzeydoğusunda KE klinik ön tanılı hastalarda anti-*Echinococcus granulosus* seropozitifliğini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Çalışma; Türkiye'nin Kuzeydoğusunda yer alan Kars ilinde bulunan Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesinde yürütülmüştür. Bu hastane Kars, Ardahan, Iğdır başta olmak üzere, nadiren de Ağrı ve Artvin'den hasta kabul etmektedir. Araştırma materyalini; Ocak 2018 ile Aralık 2020'de üç yıl boyunca Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesine müracaat eden ve KE klinik ön tanılı hastalardan Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarına KE teşhisi için gönderilen 498 kan örneği oluşturmuştur. Parazitoloji Laboratuvarında kan örneklerinden elde edilen kan serumları indirekt hemaglutinasyon (IHA) yöntemiyle KE yönünden incelenmiştir.

Bulgular: Kistik ekinokokkozis klinik ön tanılı 498 hastanın 298'i (%59,8) kadın ve 200'ü (%40,2) erkeklerden oluşmuştur. Çalışmada kist hidatid yönünden klinik ön tanılı 498 hastanın 74'ünde (%14,9) anti-*Echinococcus granulosus* antikorları saptanmıştır. Kistik ekinokokkozis seropozitifliği kadınlarda %17,8 erkeklerde ise %10,5 oranında bulunmuştur. KE saptanan pozitif vakaların 53'ü (%71,6) kadınlarda, 21'i ise (%28,4) erkeklerde görülmüştür (P<0,05). Anti-Echinococcus granulosus antikorları en yaygın olarak 16-30 yaş grubunda (%32,9) saptanmış olup (P<0,05), 16-60 yaş aralığında ise %19,3 olarak saptanmıştır. KE seropozitif olan vakaların yaşa göre değerlendirmesi yapıldığında en genç beş yaşında ve en yaşlı kişinin ise 78 yaşında olduğu belirlenmiştir. Çalışmada saptanan 74 pozitif vakanın %85,1'i (63/74) 16-60 yaşlarındaki kişilerde görülmüştür. Bu çalışmada IHA ile incelenen 498 KE klinik ön tanılı hastaya ait kan serum örneğinin 108'inde (%21,7) reaksiyon oluşarak çökelti oluşmuş ve 390'nında (%78,3) ise herhangi bir reaksiyon görülmemiştir. Bu nedenle 108 serum örneği titrasyona tabi tutulmuştur. IHA testi ile yapılan titrasyon sonucu 1/160 ve altı negatif, 1/320 ve üzeri ise pozitif olarak kabul edilmiştir. Pozitif örneklerin IHA test titrelerinin 19'u 1/320, 7'si 1/640, 12'si 1/1280 ve 36'sı 1/2560'da reaksiyon vermiştir.

Sonuç: Hastaneye müracaat eden klinik ön tanılı kişilerde anti-*Echinococcus granulosus* antikorlarının seropozitifliğinin önemli düzeyde olduğu bu çalışma ile ortaya konulmuştur. Endemik olan bu bölgede halk sağlığı açısından KE göz ardı edilmemelidir. Dünyada, özellikle Tıp ve Veteriner Hekimliğin ortak problemi olan KE Tek Sağlık konsepti içerisinde değerlendirilen önemli paraziter zoonotik hastalıklardan birisidir. Bu nedenle, KE ile ilgili köpekler, çiftlik hayvanları ve insanlarda, eş zamanlı olarak epidemiyolojik çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Köpeklerin kontrol altına alınması, kesimhanelerin kontrolü ve halk sağlığı eğitimlerine sürdürülebilir bir şekilde devam edilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Kistik Ekinokokkozis, Anti-*Echinococcus granulosus*, Seropozitif, İnsan, Türkiye

P36.

Bir Eşekte *Echinococcus equinus*'un Moleküler Karakterizasyonu ve Haplotiplerinin Belirlenmesi

Harun Kaya KESİK[1], **Figen ÇELİK[2],** Şeyma GÜNYAKTI KILINÇ[1], Sami ŞİMŞEK[2]

[1]Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, BİNGÖL;
[2]Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, ELAZIĞ

E-mail: f.celik@firat.edu.tr

Amaç: Kistik Ekinokokkozis (KE), *Echinococcus granulosus sensu lato*'nun larva evresinin neden olduğu parazitik bir zoonozdur. KE enfeksiyonu eşek, at ve katırlarda çok yaygın olmamakla birlikte sporadik vakalara rastlanmaktadır. Bu çalışma, kist hidatik ile doğal olarak enfekte bir eşekten elde edilen hidatik kistlerin moleküler karakterizasyonu ve haplotip çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na doğal nedenlerle ölmüş olarak getirilen bir eşeğin otopsisi yapıldı ve bu eşeğin karaciğerinde lokalize olmuş 10 hidatik kist bu çalışmanın materyalini oluşturdu. Germinal membranlar ayrı ayrı olarak toplandı ve %70'lik etanol içinde çalışılıncaya kadar saklandı. Her bir kist izolatından ayrı ayrı genomik DNA izole edildi, ardından spesifik primerler kullanılarak mitokondriyal sitokrom c oksidaz subunit 1 (mt-CO1) geninin 875 bp'lik bölgesi PCR ile çoğaltıldı. Daha sonra PCR ürünleri pürifiye edilip dizi analizi yaptırıldı. Sekanslara ek olarak bugüne kadar Genbank'a kaydedilmiş referans sekanslar ile birlikte alignment yapılıp, filogenetik ağaç oluşturuldu. Popülasyon çeşitlilik indeksleri DnaSP 6 kullanılarak hesaplanıp, PopART-1.7 yazılımı kullanılarak haplotip ağı oluşturuldu.

Bulgular: Hidatik kist izolatlarına ait mt-CO1 geninin kısmi sekansları, yayınlanmış referans sekanslarla karşılaştırıldığında izolatların hepsinin *Echinococcus equinus* olduğu saptandı. *E. equinus*'un mt-CO1 sekansları (EB1-EB10) ve yayınlanmış sekanslar ile birlikte beş farklı haplotip tespit edildi. Dokuz izolat (EB1-EB9) ana haplotipte (Hap01) yer alırken bir izolat (EB10) tek nükleotidlik fark ile Hap03'te yer almıştır.

Sonuç: Bu çalışma Türkiye'de *E. equinus*'un haplotipik profillerinin belirlendiği ilk rapordur. Bu nedenle, *E. equinus*'ta artan haplotip çeşitliliğinin ilerleyen zamanlarda kontrol önlemlerinin uygulanmasında zorluklara neden olabileceği tahmin edilmektedir.

Anahtar kelimeler: *Echinococcus equinus*, eşek, haplotip, kist hidatik, Türkiye.

P37.

Bir Keçide Enfeksiyona Yol Açan *Moniezia expansa*'nın Filogenetik Karakterizasyonu

Faruk KARABULUT, Zuhal ÖNDER, Önder DÜZLÜ, Gamze YETİŞMİŞ, Arif ÇİLOĞLU, Abdullah İNCİ, Alparslan YILDIRIM

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-mail: farukf1664@gmail.com

Amaç: Bu çalışmada, Kayseri yöresinde enfekte bir keçiden toplanan *Moniezia* sp.'nin filogenetik karakterizasyonunu sağlamak amaçlanmıştır.

Yöntem: Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesinde tedavi sonrası bir keçiden elde edilen parazitler çalışma materyalini oluşturmuştur. Bunun yanında enfekte hayvana ait dışkı örneği doymuş şekerli su ile yapılan flotasyon sonucu ışık mikroskobu altında incelenmiş ve görüntüleri kaydedilmiştir. Parazit halkasından genomik DNA ekstraksiyonu yapılmış ve mitokondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) gen bölgesini amplifiye eden primerlerle PCR analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen uygun konsantrasyondaki bir amplikon saflaştırıldıktan sonra PCR primerleri ile çift yönlü olarak sekanslanmıştır. İleri ve geri yönlü okumalara ait sekans kromotogramlarının kalite skorları kontrol edildikten sonra De Novo Assemblage aracı ile in-silico olarak işlenmiş ve ilgili izolata ait konsensüs sekans elde edilmiştir. Çalışmada belirlenen COI sekansı GenBank veri tabanında Blastn analizine tabii tutularak tür teşhisi moleküler olarak konfirme edilmiştir. Filogenetik analizler için elde edilen izolatla birlikte Dünyanın farklı ülkelerinden GenBank veri tabanına kaydedilmiş izolatları içeren 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: Makroskobik ve mikroskobik analizlerle parazit halkalarının ve yumurtalarının M. expansa'ya ait olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada parazit halkalarından elde edilen gDNA izolatlarının COI gen bölgesini amplifiye eden standart primerlerle PCR analizi sonucu 444 bp büyüklüğünde amplikonlar agaroz jel üzerinde belirlenmiştir. Uygun konsantrasyonda belirlenen bir amplikonun jel pürüfiye sonrası çift yönlü olarak sekanslanması sonucu elde edilen kromotogramlardan PCR primerleri trimlenmiş ve DeNovo analizleri ile yüksek kalite skoruna sahip 396 bp uzunluğundaki COI konsensüs sekansı elde edilmiştir. İlgili izolata ait COI sekansının blastn analizleri M. expansa tür identifikasyonunu doğrulamıştır. COI data setin filogenetik analizinde M. expansa izolatlarının monofiletik üst grup içerisinde 4 filogrup oluşturduğu belirlenmiş ve çalışmada karakterize edilen izolatın en yaygın filogrup içerisinde yer aldığı ve en yüksek identikliği Vietnam'da *Capra aegagrus hircus*'dan bildirilen *M. expansa* izolatıyla (LC422633) gösterdiği tespit edilmiştir.

Sonuç: Bu çalışma ile koyun tenyası olarak bilinen fakat keçi ve sığırlarda da bildirilen *M. expansa*'nın Türkiye'deki popülasyonları için ilk mt-DNA sekans verileri sağlanmış ve filogenetik ilişkileri ortaya çıkarılmıştır. Türkiye'de yayılış gösteren M. expansa popülasyonlarının genetik çeşitliliğinin ortaya çıkarılması için farklı coğrafyalardan daha fazla örneklem üzerinde araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Filogenetik analiz, keçi, Moniezia expansa, moleküler karakterizasyon

P38.

Kayseri Yöresindeki Kedilerde *Toxocara cati*'nin Prevalansı ve Filogenetik Karakterizasyonu

Soner DEMİRPOLAT, Önder DÜZLÜ

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, KAYSERİ

E-mail: sonerdpt@gmail.com

Amaç: Bu çalışmada, Kayseri yöresindeki sahipli ve sahipsiz kedilerden toplanan dışkı örneklerinde *Toxocara cati*'nin moleküler olarak araştırılması ve filogenetik analizlerinin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: 2019-2020 yılları arasında Kayseri yöresindeki sahipli ve sahipsiz 115 kedi dışkısı *T. cati* yumurtalarının varlığı yönünden Fülleborn'un doymuş tuzlu su flotasyon yöntemi ile kontrol edilmiş ve pozitif örnekler belirlenmiştir. Kedilere ait dışkı örneklerinden optimize edilen ön homojenizasyon işlemlerini takiben yumurta süspansiyonlarından genomik DNA kitleri ile gDNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Genomik DNA izolatlarının konsantrasyonları belirlendikten sonra *T. cati*'nin moleküler karakterizasyon ve filogenetik analizleri için mitochondrial (mt) cytochrome c oxidase subunit 1 (cox1) gen bölgesini amplifiye eden spesifik primerlerle (ToxCoIF-ToxCoIR) ilgili protokole göre PCR analizleri gerçekleştirilmiştir. PCR analizleri sonrası elde edilen *T. cati* yönünden pozitif amplikonların sekans analizleri gen spesifik forward ve reverse primer dizileri ile çift yönlü olarak gerçekleştirilmiş ve final dizilimler elde edilmiştir. Filogenetik analizler amacı ile elde edilen ribozomal DNA sekanslarında mt-COI gen bölgesi sekansları kullanılmıştır. Mt-COI sekanslarının Geneious Prime 2020.2.4 yazılımı üzerinden BLASTn algoritması kullanılarak mevcut homolog veya yakın izolatlara ait ilgili gen bölgesi sekanslarıyla çoklu hizalamaları yapılarak moleküler karakterizasyonları sağlanmış ve GenBank kayıtları sağlanmıştır. Çalışmada karakterize edilen izolatlarda DNA polimorfizmi ve haplotip yapısının belirlenmesinde DnaSP 6.12.03 yazılımı kullanılmıştır. Intra ve interspesifik genetik farklılıklar Tamura-Nei uzaklık modeli kullanılarak MEGA X 10.0.5 yazılımında gerçekleştirilmiştir. *T. cati* türlerinin filogenetik yapılanmalarının belirlenmesinde Maximum Likelihood (ML) analizleri uygulanmıştır. ML analizlerinde sekans evrimi için en uygun substitution modelin belirlenmesinde jModelTest v.0.1.1 kullanılmış ve en düşük AIC (Akaike Information, Criterion, correction) değerine sahip belirlenen modeller filogenetik ağaçların oluşturulmasında kullanılmıştır. ML analizleri Geneious Prime 2020.2.4 yazılımı üzerinden sırasıyla PhyML plugin kullanılarak gerçekleştirilmiştir. ML analizleriyle oluşturulan ağaçların güvenilirliğinin tespit edilmesinde 1000 tekrarlı Bootstrap testi kullanılmıştır.

Bulgular: Çalışmada, araştırma sahasından toplanan toplam sahipli veya sahipsiz 115 kedi dışkısının flotasyon yöntemi ile incelenmesi sonucunda 17 (%14,8) dışkı örneğinin *Toxocara* yumurtaları yönünden pozitif olduğu belirlenmiştir. Moleküler analizlerde ise 115 kediye ait dışkı örneklerinden elde edilen gDNA'lardan *T. cati* türlerinin mt-COI gen bölgesini çoğaltan ilgili primerlerle yapılan PCR analizleri sonucu 426 bp uzunluğunda band elde edilen 21 (%18,3) örneğin pozitif olduğu belirlenmiştir. PCR analizleri ile pozitif belirlenen 21 izolat sekans analizlerine tabii tutulmuştur. *Toxocara cati* izolatlarından %100 identik olanlardan 5 izolatın GenBank kaydı gerçekleştirilmiştir. İlgili sekanslar GenBank veri tabanında Blastn analizlerine tabii tutularak moleküler identifikasyonları sağlanmış ve filogenetik analizler için elde edilen izolatlara ait sekansla birlikte Türkiye ve Dünyanın farklı bölgelerinden

GenBank veri tabanına kaydedilmiş *T. cati, T. canis, T. vitulorum* ve *Toxascaris leonina* izolatlarını içeren toplam 24 sekanstan oluşan Mt-COI data seti oluşturulmuştur. Çalışmada, Kayseri yöresindeki kedilerden izole edilen izolatların *T. cati* grubu içerisinde üç farklı dalda kümelendikleri belirlenmiştir (ERUTcat3 ve ERUTcat30; ERUTcat12; ERUTcat1 ve ERUTcat34). İlgili türlere ait elde edilen mtCOI barkod gen bölgesi sekanslarının GenBank veri tabanındaki referans sekanslarla birlikte analizlerinde 21 pozitif *T. cati* izolatları arasında ERUTcat1, ERUTcat3, ERUTcat12, ERUTcat30 ve ERUTcat34 olmak üzere beş haplotip tespit edilmiştir. Beş haplotip arasında 13, 19, 52, 172, 205, 233, 298, 343 ve 367. nükleotidlerde toplam dokuz nokta mutasyonu tespit edilmiştir. Ortalama haplotip diversitesi 1.000±0,126 olarak belirlenmiştir. ERUTcat1, ERUTcat3, ERUTcat12, ERUTcat30 ve ERUTcat34 arasındaki genetik benzerlik %98,2-99,7 olarak belirlenmiştir. Kayseri yöresindeki kedilerden izole edilen *T. cati* izolatlarıyla dünyadaki diğer *T. cati* izolatları arasında ise ortalama %1,1±0,3 genetik farklılık saptanmıştır. *Toxocara cati, T. canis, T. vitulorum* ve *T. leonina* grupları arasındaki genetik farklılık incelendiğinde T. cati ile T. canis arasında %13,0±2,0, T. cati ile *T. vitulorum* arasında %9,6±1,7, *T. cati* ile *Toxascaris leonina* arasında %9,7±1,7 genetik farklılık saptanmıştır.

Sonuç: Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2020-10293 kodlu proje ile desteklenmiş olan bu tez çalışması ile Kayseri yöresindeki kedilerden izole edilen *T. cati* türlerinin moleküler prevalansı ve mt-COI gen bölgesinin moleküler karakterleri ortaya çıkarılmış, dünyadaki benzer izolatlarla filogenetik yakınlıkları belirlenmiş ve mt-COI gen bölgesi yönünden Türkiye'den ilk GenBank kayıtları (MW094215-MW094219) gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmanın *T. cati* üzerine yürütülecek moleküler araştırmalara katkı sağlayacağı ve model oluşturacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Toxocara cati*, moleküler prevalans, filogenetik karakterizasyon, Kayseri

P39.

Parazit Bankası: Geçmişten Günümüze

Ahmet ÖZBİLGİN, **İbrahim ÇAVUŞ**

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD, MANİSA

E-mail: icvs26@yahoo.com

İlk olarak 1984 yılında Leishmania promastigotlarının dondurulması ile başlayan ve her geçen yıl giderek büyüyen Parazit Bankası, özellikle parazit hastalıklarıyla mücadelede kullanılacak ilaç, tanı kiti gibi temel araştırmalara kaynak sağlaması ve tıp öğrencilerinin, uzman doktorların ve doktora öğrencilerinin eğitiminde kullanılan materyal ve preparatların temin edilmesi amacı ile faaliyetlerine devam etmektedir. Parazit Bankasında, gelen örnekten veya kültür ortamında çoğaltılarak elde edilmiş parazitlerin DNA'ları arşivlenmeden önce genetik özelliklerini saptamak amacıyla tiplendirmeleri yapılmaktadır. Parazitlerin DNA'ları, kodlaması ve tiplendirmesi yapılmış olarak -200C derin dondurucuda DNA bankasında arşivlenmektedir. Genel olarak genotiplemesi yapılan parazitler internal kriyoprotektan olan dimetilsülfoksit yardımıyla dondurulmaktadır. Parazit cinsine göre dondurma işlemi farklılık göstermektedir. Dondurma işlemlerinde başlıca yavaş dondurma (slow freezing), hızlı dondurma (rapid freezing) ve vitrifikasyon (vitrification) yöntemlerinden biri kullanılmaktadır. Dondurulan parazitler -1960C sıvı azot içinde arşivlenmektedir. Arşivlenen parazitler, kullanılması gerektiğinde 370C'lik su banyosunda hızlı bir şekilde çözdürülerek canlandırılmakta ve araştırmacılar tarafından bilimsel çalışmalarda kullanılmaktadır. Bankada farklı cins/türden çok sayıda parazit arşivlenmektedir. Ayrıca dünya araştırma merkezlerinin tüm çalışmalarda kontrol olarak kullandığı referans parazitler de arşivde bulunmaktadır. Parazit Bankası kurulduğundan bu yana sağlık alanında başta TÜBİTAK olmak üzere kamu ve özel sektör tarafından desteklenen, parazit hastalıklarıyla mücadelede aşı, ilaç, tanı kitleri ve hastalığı önleyecek moleküllerin araştırılması ve kullanıma sunulması konusundaki temel araştırmalara kaynak oluşturmuştur. Bunun yanı sıra tıp öğrencilerinin, uzman hekimlerin ve doktora öğrencilerinin eğitiminde kullanılan materyal ve preparatlar hazırlanarak kamu ve özel üniversitelerin kullanımına sunulmuştur. Parazit bankası Türkiye'de ilk ve tek dünya da ise sayılı bankalardandır.

Anahtar Kelimeler: Kriyoprezervasyon, Manisa, Parazit Bankası, Türkiye

P40.

Sand Fly Identification and Screening for *Leishmania* spp. in Adıyaman Province, Southeast Turkey

Suha K. ARSERİM[1], **Zeph N. OMONDI[2]**, M. Emin LİMONCU[1], Cankut KARABULUT[3], Kardelen YETİŞMİŞ[4], İbrahim ÇAVUŞ[3], İ. Cüneyt BALCIOĞLU[3], Seray TÖZ[4], M. Kirami ÖLGEN[5], Yusuf ÖZBEL[4]

[1]Manisa Celal Bayar University Vocational School of Health Sciences, MANISA, TURKEY; [2]Ege University Faculty of Science, Department of Zoology, Bornova, İZMIR, TURKEY; [3]Celal Bayar University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, MANISA, TURKEY; [4]Ege University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Bornova, İZMIR, TURKEY; [5]Ege University Faculty of Literature, Department of Geography, İZMIR, TURKEY

E-mail: moodle@mail.ege.edu.tr

Aim: Sand flies spread *Leishmania*, bacteria and viruses that affect humans and animals in many countries around the world and also cause canine leishmaniasis (CanL) in dogs. In this study, we aimed to determine the sand fly fauna, distribution of vector species and the presence of parasites of the genus *Leishmania* in Adıyaman province located in the South-eastern Anatolia region where Cutaneous Leishmaniasis (CL) caused by *Leishmania tropica* is seen in Turkey.

Method: The study was carried out in the areas where leishmaniasis cases were reported in Adıyaman province in July 2019. Sand fly samples were collected by setting up light traps for 6 nights. Male and female specimens were dissected for species identification and identifications were made using written keys. DNA isolation was made from the obtained female sand flies by preparing 90 pools. Real-time PCR test with ITS1 probe was applied to investigate the presence of *Leishmania*. Genotyping of the examined species was carried out according to melting curves of reference species by melting curve analysis.

Results: A total of 1457 sspecimen, 422 males and 1035 females, belonging to 10 species were identified from the samples collected. As a result of the species identification, *Phlebotomus perfiliewi* (38.85%), *P. papatasi* (23.06%) and *P. sergenti* (13.11%) were identified as the dominant species. *P. major* s.l. (7.48%), *P. tobbi* (5.97%), *Adlerius* spp. (5.35%), *P. alexandri* (4.67%), *P. kandelakii* (0.14%) and *S. dentata* (1.37%) species were also identified. Since morphological identification of female specimens of the *Adlerius* subgenus was not possible, they were identified at the subgenus level. Male individuals were identified as *P. simici* (0.27%) and *P. brevis* (0.07%). From result of melting curve analysis in real-time PCR test with ITS1 probe applied to DNA samples, it was determined that *L. tropica* DNA was positive in a sand fly pool belonging to the subgenus of female *Adlerius*.

Conclusion: Detection of *L. tropica* in the *Adlerius* subgenus by real-time PCR confirms possible vectorial role in Adıyaman province. This information is also important in terms of strategic planning for the control of the disease in the region.

Key words: Sand fly, leishmaniasis, *L. tropica*, Adıyaman, Turkey

This study is supported by The Scientific and Technological Research Council of Turkey (Project No: 118Z362).