T.C
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalı

KAYSERİ YÖRESİNDEKİ KEDİLERDE *TOXOCARA CATI'*NİN MOLEKÜLER PREVALANSI VE KARAKTERİZASYONU

Hazırlayan
Soner DEMİRPOLAT

Danışman
Doç. Dr. Önder DÜZLÜ

Yüksek Lisans Tezi

Aralık 2020
KAYSERİ

T.C
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

KAYSERİ YÖRESİNDEKİ KEDİLERDE *TOXOCARA CATI'*NİN MOLEKÜLER PREVALANSI VE KARAKTERİZASYONU

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Soner DEMİRPOLAT

Danışman
Doç. Dr. Önder DÜZLÜ

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından TYL-2020-10293 nolu proje ile desteklenmiştir.

Aralık 2020
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Soner DEMİRPOLAT

İmza :

YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

“Kayseri Yöresindeki Kedilerde *Toxocara cati*’nin Moleküler Prevalansı ve Karakterizasyonu”, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan	**Danışman**
Soner DEMİRPOLAT	Doç. Dr. Önder DÜZLÜ

Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM

Doç. Dr. Önder DÜZLÜ danışmanlığında **Soner DEMİRPOLAT** tarafından hazırlanan **"Kayseri Yöresindeki Kedilerde *Toxocara cati*'nin Moleküler Prevalansı ve Karakterizasyonu"** konulu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Parazitoloji** Anabilim Dalı'nda **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

28/12/2020

JÜRİ : **İmza**

Danışman **:** Doç. Dr. Önder DÜZLÜ .....

(Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri)

Üye **:** Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM .....

(Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri)

Üye **:** Doç. Dr. Gökmen Zafer PEKMEZCİ .....

(Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Samsun)

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun ……..tarih ve……..sayılı kararı ile onaylanmıştır.

……/…./…….

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarımın her aşamasında bilgi birikimiyle bana her zaman yol gösteren, ilgi ve tecrübesini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Önder DÜZLÜ'ye, her türlü bilgi birikimlerinden yararlandığım hocalarım Prof. Dr. Abdullah İNCİ, Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM, Dr. Öğr. Üyesi Zuhal ÖNDER ve Dr. Öğr. Üyesi Arif ÇİLOĞLU'na ve laboratuvar çalışmalarında desteğini aldığım Araş. Gör. Gamze YETİŞMİŞ'e, maddi ve manevi yönden desteklerini her zaman hissettiğim sevgili eşim Öğr. Gör. Gözde ŞAHİNGÖZ DEMİRPOLAT'a, yüksek lisans tezim süresince malzeme bazında TYL-2020-10293 kodlu proje ile destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

Soner DEMİRPOLAT,

Aralık 2020, KAYSERİ

KAYSERİ YÖRESİNDEKİ KEDİLERDE *TOXOCARA CATI'*NİN MOLEKÜLER PREVALANSI VE KARAKTERİZASYONU

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi, Aralık 2020
Danışman: Doç. Dr. Önder DÜZLÜ

ÖZET

Bu çalışmada, Kayseri yöresindeki sahipli ve sahipsiz kedilerden toplanan dışkı örneklerinde *Toxocara cati*'nin moleküler olarak araştırılması ve filogenetik analizlerinin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, 2019-2020 yılları arasında 115 kediden toplanan örnekler, *Toxocara cati* varlığı yönünden mikroskobik ve moleküler olarak incelenmiştir. Dışkı örneklerinden genomik DNA ekstraksiyonunu takiben izolatların moleküler prevalansının ve filogenetik karakterlerinin ortaya konulması için mt-COI gen bölgesininin 426 bp'lik kısmını amplifiye eden primerlerle PCR analizleri gerçekleştirilmiştir. Mt-COI gen bölgesinin PCR analizlerinde pozitif belirlenen ve uygun konsantrasyonda olan izolatlardan seçilmiş amplikonlar aynı primerlerle sekans analizine tabii tutulmuş ve hedef gen bölgesi dizilimleri elde edilmiştir. Sekans kromotogramları De Novo Assemble üzerinden işlenerek izolatlara ait konsensüs sekanslar elde edilmiştir. İlgili sekanslar GenBank veri tabanında Blastn analizlerine tabii tutularak moleküler identifikasyonları sağlanmış ve filogenetik analizler için elde edilen izolatlara ait sekansla birlikte Türkiye'den ve Dünyanın farklı ülkelerinden GenBank veri tabanına kaydedilmiş *T. cati, T. canis, T. vitulorum* ve *Toxascaris leonina* izolatlarını içeren 24 sekanstan oluşan mt-COI data seti oluşturulmuştur. Data set içerisinde haplotip çeşitliliği, inter ve intra spesifik nükleotid farklılıkları DnaSP ve Mega X üzerinden Tamura-Nei modeli ile analiz edilmiştir. Filogenetik ağaç oluşturulmasında Maximum Likelihood (ML) analizleri 1000 tekrarlı bootstrap kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada, Kayseri yöresinden toplanan 115 dışkı örneğinin mikroskobik olarak 17'sinde (%14,8), moleküler olarak ise 21'inde (%18,3) *T. cati* pozitifliği tespit edilmiştir. Filogenetik analizlerde, Kayseri yöresindeki kedilerden izole edilen *T. cati* izolatları arasında ERUTcat1, ERUTcat3, ERUTcat12, ERUTcat30 ve ERUTcat34 olmak üzere beş haplotip saptanmış ve bu izolatların *T. cati* grubu içerisinde üç farklı

dalda kümelendikleri belirlenmiştir. Beş haplotip arasında 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 bulunmuştur. 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 *T. leonina* arasında ise %9,7±1,7 genetik farklılık görülmüştür.

Sonuç olarak, bu çalışmayla 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.

Anahtar Kelimeler: *Toxocara cati*, moleküler prevalans, filogenetik karakterizasyon, Kayseri

MOLECULAR PREVALENCE AND CHARACTERIZATION OF *TOXOCARA CATI* IN CATS IN KAYSERI

Erciyes University, Graduate School of Health Science
Department of Veterinary Parasitology
M.Sc. Thesis, December 2020
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Onder DUZLU

ABSTRACT

In this study, it was aimed to molecularly investigate *Toxocara cati* in fecal samples collected from owned and stray cats in Kayseri region, and to perform phylogenetic characterization of the isolates. For this purpose, samples collected from 115 cats between 2019-2020 were examined microscopically and molecularly for the presence of *Toxocara cati*. Following genomic DNA extraction from fecal samples, PCR analyses were performed with primers that amplify 426 bp of the mt-COI gene region to reveal the molecular prevalence and phylogenetic characters of the isolates. Amplicons in the appropriate concentration selected from the positive isolates in the PCR analyses of the mt-COI gene region were sequenced with the same primers and target gene region sequences were obtained. The consensus sequences of the isolates were obtained by processing the sequence chromatograms on De Novo Assemble. Related sequences were subjected to BLAST analysis in the GenBank database, and mt-COI data set consisting of 24 sequences belonging to *T. cati, T. canis, T. vitulorum* and *Toxascaris leonina* isolates recorded in the GenBank database from Turkey and in different countries was created. In the data set, haplotype diversity, inter and intra-specific nucleotide differences were analyzed with Tamura-Nei model over DnaSP and Mega X softwares. Maximum Likelihood (ML) analyzes were performed by using 1000 repetitive bootstrap in phylogenetic tree construction.

In this study, *T. cati* positivity was detected in 17 (14.8%) and 21 (18.3%) out of 115 fecal samples collected from Kayseri region by microscopic and molecular analyses, respectively. Five haplotypes (ERUTcat1, ERUTcat3, ERUTcat12, ERUTcat30 and ERUTcat34) were identified among *T. cati* isolates in cats in Kayseri region, and these isolates were clustered in three different branches within the *T. cati* group in phylogenetic analyses. A total of nine point mutations were identified among the five

haplotypes. Mean haplotype diversity was determined as 1,000±0,126. The genetic similarity between ERUTcat1, ERUTcat3, ERUTcat12, ERUTcat30 and ERUTcat34 was 98.2-99.7%. On the other hand, an average of 1.1±0.3% genetic difference was found between *T. cati* isolates isolated from cats in Kayseri region and other *T. cati* isolates in the world. When the genetic difference between *T. cati, T. canis, T. vitulorum* and *T. leonina* groups was examined, genetic difference was observed as 13.0±2.0% between *T. cati* and *T. canis*, 9.6±1.7% between *T. cati* and *T. vitulorum*, and 9.7±1.7% between *T. cati* and *T. leonina*.

In conclusion, molecular prevalence and phylogenetic characteristics of mt-COI genes of *T. cati* isolates from cats in Kayseri region were revealed, the phylogenetic identity with similar isolates around the world was determined, and the first GenBank records (MW094215-MW094219) from Turkey was performed for mt-COI gene of *T. cati* with this study.

Key words: *Toxocara cati*, molecular prevalance, phylogenetic characterization, Kayseri

İÇİNDEKİLER

KAYSERİ YÖRESİNDEKİ KEDİLERDE *TOXOCARA CATI'*NİN MOLEKÜLER PREVALANSI VE KARAKTERİZASYONU

İÇ KAPAK ..... **i**
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK ..... **ii**
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI ..... **iii**
KABUL ONAY ..... **iv**
TEŞEKKÜR ..... **v**
ÖZET ..... **vi**
ABSTRACT ..... **viii**
İÇİNDEKİLER ..... **x**
TABLOLAR LİSTESİ ..... **xiii**
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **xiv**
1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**
2. GENEL BİLGİLER **1**
2.1. Toxocariasis 1
2.2. Kedi ve Köpeklerdeki *Toxocara* Türlerinin Morfolojik Özellikleri 3
2.2.1. *Toxocara canis* 3
2.2.2. *Toxocara cati* 3
2.2.3. *Toxascaris leonina* 4
2.3. Kedi ve Köpeklerdeki *Toxocara* Türlerinin Biyolojileri 4
2.4. *Toxocara Canis* ve *T. Cati*'nin Üçüncü Dönem Larvalarının Anatomisi 7
2.4.1. Genel Morfoloji 8
2.4.2. Diğer dokular 8
2.4.2.1. Hipodermis 8
2.4.2.2. Kütikül 9
2.4.2.3. Sinir Dokusu 9

2.4.2.4. Kaslar 10
2.4.2.5. Ağız ve Yemek Borusu 10
2.4.2.6. Bağırsak 11
2.4.2.7. Genital Organ Taslağı (primordium) 11
2.4.2.8. Boşaltım Hücresi 11
2.4.2.9. Boşaltım ve Salgı Ürünleri 12
2.5. İnsanlarda Toxocariasis 12
2.5.1. Visceral Larva Migrans sendrom (VLM) 14
2.5.2. Ocular Larva Migrans sendrom (OLM) (Ocular Toxocariasis) 15
2.5.3. Nörolojik Toxocariasis (NT) (Cerebral Toxocariasis) 15
2.5.4. Gizli ve Yaygın (Covert and Common) Toxocariasis 16
2.6. Toxocariasisin Epidemiyolojisi 16
2.6.1. Türkiyede Köpek ve Kedilerdeki *Toxocara* Türleri Üzerine Yapılan Çalışmalar 18
2.6.2. Dünyada Köpek ve Kedilerdeki *Toxocara* Türleri Üzerine Yapılan Çalışmalar 19
2.7. Teşhis 20
2.8. Tedavi 22
3. GEREÇ VE YÖNTEM 24
3.1. Araştırma Sahası 24
3.2. Dışkı Örneklerinin Toplanması 24
3.3. Morfolojik İdentifikasyon 25
3.4. Moleküler Analizler 25
3.4.1. Yumurta Süspansiyonlarından Genomik DNA İzolasyonu 25
3.4.2. Mitochondrial (mt) Cytochrome c Oxidase Subunit 1 (cox1) Gen Bölgesinin Amplifikasyonu 27
3.4.3. Mt-COI Gen Bölgesinin Gen Bölgesi Sekans ve Filogenetik Analizleri 28
4. BULGULAR 29

4.1. Dışkı Muayenesi Sonuçları 29
4.2. Moleküler Analiz Sonuçları 30
4.2.1. Mt-COI Gen Bölgesinin Amplifikasyon Sonuçları 30
4.2.2. Mt-COI Gen Bölgesi Sekans Analizi Sonuçları 31
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 46
6. KAYNAKLAR 56
ÖZGEÇMİŞ 71

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3.1. PCR'da *T. cati* identifikasyonunda kullanılan primerler 27

Tablo 4.1. Sahipli ve sahipsiz kedilerde *T. cati*'nin mikroskobik ve moleküler analiz sonuçları..... 31

Tablo 4.2. *Toxocara cati* Kayseri izolatlarının gen bölgesi, izolasyon kaynağı ve GenBank aksesyon numaraları..... 32

Tablo 4.3. Filogenetik analizlere dahil edilen diğer bazı *T. cati, T. canis, T. vitulorum* ve *T. leonina* izolatlarının aksesyon numaraları ve izolatlara ait bilgiler 37

Tablo 4.4. Filogenetik analizlere dahil edilen *T. cati, T. canis, T. vitulorum* ve *T. leonina* izolatlarının nükleotid kompozisyonları..... 38

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1. Araştırma sahası 24

Şekil 4.1. Dışkı örneklerinin *Toxocara* yumurtaları yönünden mikroskobik incelemesi (Orijinal)..... 29

Şekil 4.2. Dışkı örneklerinde belirlenen *Toxocara* yumurtaları (Orijinal) 30

Şekil 4.3. Dışkı örneklerinde belirlenen ergin parazitler (Orijinal)..... 30

Şekil 4.4. *Toxocara* izolatlarının Mt-COI gen bölgesini amplifiye eden primerler ile PCR sonucu elde edilen amplikonların jel elektroforezde görünümü. M: Marker (100bp);1- 26: Örnekler, 27: Pozitif kontrol; 28: No DNA 31

Şekil 4.5. ERUTcat1 izolatının Mt-COI gen bölgesi nükleotid ve aminoasit dizilimleri (MW094215) (Primer trimlenmiş hali) 32

Şekil 4.6. ERUTcat3 izolatının Mt-COI gen bölgesi nükleotid ve aminoasit dizilimleri (MW094216) (Primer trimlenmiş hali) 33

Şekil 4.7. ERUTcat12 izolatının Mt-COI gen bölgesi nükleotid ve aminoasit dizilimleri (MW094217) (Primer trimlenmiş hali) 34

Şekil 4.8. ERUTcat30 izolatının Mt-COI gen bölgesi nükleotid ve aminoasit dizilimleri (MW094218) (Primer trimlenmiş hali) 35

Şekil 4.9. ERUTcat34 izolatının Mt-COI gen bölgesi nükleotid ve aminoasit dizilimleri (MW094219) (Primer trimlenmiş hali) 36

Şekil 4.10. Filogenetik analizlere dahil edilen *T. cati, T. canis, T. vitulorum* ve *T. leonina* izolatlarının Mt-COI gen dizilimlerinin pairwise analizleri..... 39

Şekil 4.11. Filogenetik analizlere dahil edilen *T. cati, T. canis, T. vitulorum* ve *T. leonina* izolatlarının mt-COI gen bölgesine göre nükleotid dizilimlerinin alignmentları..... 43

Şekil 4.12. Analizlere dahil edilen *T. cati, T. canis, T. vitulorum* ve *T. leonina* izolatlarının mt-COI gen bölgesine göre filogenetik yakınlıkları 44

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Toxocariasis, dünyada en yaygın görülen zoonotik helmint enfeksiyonlarından biridir. Enfeksiyon, köpek ve kedi dışkılarındaki *T. canis* ve *T. cati* yumurtalarının insanlar tarafından alınmasıyla oluşmaktadır. Larvalar bağırsak duvarına penetre olur ve daha sonra dolaşım sistemine geçerek çeşitli organlara göç ederler. *Toxocara* türleri insanlarda çoğalma göstermezler. Larvalar insan vücudunda öldüğünde yangısal reaksiyon meydana gelir. Toxocariasis, gerek gelişmiş ülkelerde gerekse gelişmekte olan ülkelerde yüksek morbidite ve prevalans oranıyla seyreden çok önemli bir halk sağlığı problemidir. İnsanlarda toxocariasis'in dört klinik formu tanımlanmıştır; karaciğer, akciğer, beyin gibi ana organlarla ilişkili semptomları kapsayan visceral larva migrans (VLM), konağın üzerindeki patolojik etkilerinin göz ve optik sinirle sınırlı olduğu oküler larva migrans (OLM), nörolojik larva migrans (NLM) ve gizli veya asemptomatik toxocariasis (Glickman ve Schantz, 1981). Milyonlarca insanın toxocariasise yakalandığı tahmin edilse de seropozitiflik ve toxocariasis arasındaki ilişkiye dair küresel epidemiyolojik bilgiler sınırlıdır. Hali hazırda mevcut seroprevalans verileri tamamlanmamış olmasına rağmen, dünya çapında en yaygın zoonotik enfeksiyonlar arasında toxocariasise de yer verilmektedir (Chen ve ark, 2012).

Türkiye'de, toxocariasis'in spesifik semptomlarının olmaması, klinisyenlerin hastalığı göz ardı etmesi ve yetersiz teşhis sonucu olarak insanlarda toxocariasis nadir görülen bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Ancak insan enfeksiyonlarının çoğu asemptomatik olup klinik hastalıkların gelişmesi parazit yüküne ve larvaya karşı oluşan konak enflamatuar yanıtın yoğunluğuna bağlı olmaktadır. Türkiye'de günümüze kadar insan, kedi, köpek ve sığırlarda *T. cati, T. canis, T. leonina* ve *T. vitulorum*'un morfolojik kriterlere ve seroprevalansa dayalı prevalansı üzerine yapılmış çok sayıda çalışma bulunmakta olup, moleküler çalışmaların ise sınırlı olduğu dikkati çekmiştir. Bu çalışmada Türkiye'de ilk kez *T. cati* izolatlarının mt-COI gen bölgesine dayalı GenBank

kayıtlarının oluşturulması, *T. cati*'nin Kayseri yöresinde moleküler prevalansının belirlenmesi, elde edilen izolatların mt-COI gen bölgelerinin sekans analizleri ile moleküler karakterizasyonlarının ve filogenetik analizlerinin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Toxocariasis

Toxocariasis ekonomik açıdan önemli ve yaygın zoonoz hastalıklardan biridir. Toxocariasis, başlıca *T. canis* (Werner 1782) ve *T. cati* (Schrank 1788) türlerinden kaynaklanmakta ve insanlarda önemli hastalıklara neden olmaktadır. Bu türlerin her ikisi de Ascaridida takımı, Ascaridiodea üst ailesi, Toxocaridae familyasındaki askarid nematodlardır. Hastalık insanlar, köpekler, kediler ve vahşi konaklarla (özellikle de tilkilerle) taşınmaktadır (Glickman ve Schantz, 1981).

Toxocara canis ve *T. cati*'nin sistematikteki yeri;

Kök: Nemathelminthes

Sınıf: Nematoda

Takım: Ascaridida

Alt Takım: Ascaridata

Üst Aile: Ascaridoidea

Familya: Toxocaridae

Cins: *Toxocara*

Tür: *Toxocara canis* (Werner 1782)

Tür: *Toxocara cati* (Schrank 1788)

Toxocara spp. ilk olarak 1782'de Werner tarafından tanımlanmış, fakat cins düzeyinde tanımlanması ise Stiles tarafından 1905 yılında yapılmıştır (Woodruff, 1970). *Toxocara* türleri insanda ise, ilk olarak 1950'de Wilder tarafından tanımlanmıştır (Wilder, 1950).

Bir çocuğun retina granülomunda bilinmeyen türden bir nematod larvası tanımlanmış ve şu anda "Oküler Larva Migrans" (OLM) olarak bilinen durumun ilk tanımı sağlanmıştır. 1952'de Beaver ve ark., aşırı eozinofili, hepatomegali, solunum semptomları, anemi ve jeofajisi olan küçük çocukların karaciğerlerinin eozinofilik granülomlarındaki *Toxocara* larvalarını teşhis etmişler ve bu klinik sendromu tanımlamak için "Visceral Larva Migrans" (VLM) terimini kullanmışlardır (Beaver ve ark., 1952). Biyopside elde edilen dokuların histopatolojik kesitlerinde, *T. canis* veya *T. cati*'nin larvalarını sınıflandırmışlardır. O zamandan beri bu iki parazit türünün larvaları dünyanın her yerinden hastalarda gözün çeşitli lezyonlarında ve vücutta (Magnaval, 2001; Tost, 1998) tespit edilmiştir. Daha sonraki yıllarda Sprent, *T. canis*'in yaşam döngüsünün ilk ayrıntılı açıklamasını yapmıştır (Sprent, 1958). 1951'de Beautyman ve Woolf, *Ascaris lumbricus* olarak tanımlanan kapsüllenmiş larvaya bağlı nörolojik belirtileri olan klinik ve patolojik kanıta sahip bir çocuğun raporunu yayınlamışlardır (Beautyman ve Woolf, 1951). Bu çalışma, "Central Nervous System" (CNS) toxocariasis olgusunun ilk raporu olma özelliği taşımaktadır.

Toxocara seroprevalansı, coğrafi konum, sosyoekonomik durum ve beslenme alışkanlıkları gibi faktörlere göre değişmektedir. Hâlihazırda mevcut seroprevalans verileri tamamlanmamış olmasına rağmen, dünya çapında en yaygın zoonotik enfeksiyonlar arasında toxocariasise de yer verilmektedir. Bazı sanayileşmiş ülkelerde en yaygın insan helmintik enfeksiyonu olmasına rağmen (Hotez ve Wilkins, 2009), toxocariasis halk tarafından nispeten bilinmemektedir (Wells, 2007; Katagiri ve Oliveira- Sequeira, 2008).

Enfeksiyon için risk faktörlerinin başında coğrafi konum ve düşük eğitim seviyesi gelmektedir (Glickman ve Schantz, 1981). Toxocariasis özellikle hayvan tedavisinin ve popülasyon kontrolünün kısıtlı olduğu az gelişmiş tropik ve subtropik bölgelerde daha yaygındır. Aynı zamanda toxocariasis, özellikle çocuklarda ve sosyo-ekonomik açıdan dezavantajlı popülasyonlarda da önemli bir morbidite nedenidir (Torgerson ve Budke, 2006). *Toxocara cati* de dahil olmak üzere diğer *Toxocara* türlerinin önemi *T. canis*'e göre daha az anlaşılmıştır. Ancak toxocariasis enfeksiyonlarında *T. cati* göz ardı edilmemelidir (Fisher, 2003). Diğer *Toxocara* türleri ise Malezya ve Çin'deki kedilerde görülen *T. malaysiensis* (Mohd Zain ve ark., 2013), sığır, manda ve diğer ruminantlarda *T. vitulorum* (Rast ve ark., 2003), ABD, Avrupa ve Japonya'daki rakunlarda

Baylisascaris procyonis ve *Baylisascaris* spp. ve domuzlarda *Ascaris suum*'dur (Pinell ve ark., 2011). Dünyada *T. leonina*'nın ise köpeklerde, kedilerde ve çeşitli yabani canidelerde sınırlı zoonotik potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir. Enfeksiyon hakkında hayvan sahiplerinin zoonotik risk hakkında eğitilmeleri gerekmekte ve veteriner hekimlerin tüm hayvanlar için düzenli parazit taraması ve tedavisi yapması gerekmektedir (Morgan, 2013).

2.2. Kedi ve Köpeklerdeki *Toxocara* Türlerinin Morfolojik Özellikleri

2.2.1. *Toxocara canis*

Toxocara canis, köpek, kedi, kurt ve tilkilerin ince bağırsaklarında yaşamaktadır. Erkekleri; 4-10 cm uzunluğunda, 2-2,5 mm genişliğindedir. Dişileri; 5-18 cm uzunluğunda, 2,5-3 mm genişliğindedir. Servikal kanat mevcut olup, vücudun ön ucu ventrale doğru bükülmüş ve erkeklerin arka ucu parmak biçiminde bir uzantı taşımaktadır (Soulsby, 1986; Kassai, 1999). *Toxocara canis*, ovipar olup yumurtaları 75-95 µm çapında, yuvarlağa yakın, bazen de ovalimsi yapı gösterir. İçerisinde koyu kahve veya siyah renkte bir blastomer yer alır. Yumurta kabuğu oldukça kalın olup, üzeri pürüzlü ya da çıkıntılı-çöküntülü bir yapıdadır. Yumurta kabuğunun; en dışında albümin, bunun altında kitin, en içte de lipid tabakası bulunur. Albümin tabakasının üzeri, dişi parazitin uterus hücrelerince salgılanan bir madde ile kaplıdır. Albumin tabakası, ince yapıda olup altında bulunan kitin tabakasının şeklini alacak şekilde ona yapışmıştır. Kitin tabakası, yumurta kabuğunun en kalın bölümüdür ve iki kısımdan oluşur. Dış yüzeyinde küçük çıkıntılar yer alırken iç yüzeyi düzdür. Bu nedenle, yumurta kabuğunda görülen çıkıntı ve çöküntülerin esas kaynağını kitin tabakası oluşturur (Soulsby, 1986; Overgaauw, 1997). Enfektif yumurtalar uygun şartlarda en az bir yıl süreyle canlığını sürdürebilir ve ergin dişi parazitler günde 200.000 kadar yumurta üretebilirler (Overgaauw, 1997).

2.2.2. *Toxocara cati*

Kedi ve yabani felidelerin ince bağırsaklarında bulunur. Erkekleri 6-7 cm, dişileri 4-10 cm uzunlukta olup, servikal kanatlar ok ucu şeklindedir. *Toxocara cati* yumurtaları 65-75 µm büyüklüğünde, *T. canis* yumurtalarından daha az koyu ve daha az tırtıklı yapı

göstermekte olup ışık mikroskobunda ayırımları çok yapılamamaktadır (Soulsby, 1986; Kassai, 1999).

2.2.3. *Toxascaris leonina*

Köpek, kedi, tilki ve diğer karnivorların incebağırsaklarında yaşamaktadır. Servikal kanatlar uzun ve dardır. Erkekleri 6-7 cm uzunluğunda olup, arka kısım konik olarak sonlanmakta, parmak biçiminde bir uzantı vardır. Dişileri 6-10 cm uzunluğundadır (Soulsby, 1986). Yumurtaları hafif oval olup, 75-85x60-76 µm çapındadır. Yumurtalar kalın kabuklu ve kabuk dış yüzeyi düzdür. Yumurta kabuğu ile blastomer arasında lamelli bir tabaka mevcuttur (Soulsby, 1986).

2.3. Kedi ve Köpeklerdeki *Toxocara* Türlerinin Biyolojileri

Toxocara canis veya *T. cati*'nin yetişkin formları son konakların sırasıyla kanidlerin ve felidelerin üst sindirim sisteminde yaşamaktadır. Dişi parazitler günde 200.000'e kadar yumurta üretebilmektedir. Dışkı ile atılan yumurtalar enfektif değildir, bunun için toprakta bir süre embriyonlaşarak enfektif hale gelmesi gerekmektedir (Glickman ve Schantz, 1981). Enfeksiyon, konağın kontamine kaynaklardan (örn. toprak ve solucanlar vb.) embriyonlu yumurtaları almasıyla meydana gelebilir veya enfekte olmuş anneden (yani transplasental olarak) yavruya geçebilir. *T. canis* köpeklerde yumurta, paratenik konaklar, plasental ve galaktojen yolla enfeksiyon oluştururken, *T. cati*'de farklı olarak plasental enfeksiyon yoktur. Bunun tersine, insan yaşam döngüsünün tamamlanması açısından anormaldir. İnsanlarda enfektif larvalar, yumurtaların ağız yolu ile alınmasından sonra çatlar, ancak genç dönemler olgun formlara dönüşemezler. Bunun yerine, vücutta aylarca veya yıllarca dolaşırlar ve girdikleri dokuya zarar verirler (Despommier, 2003).

Toxocara'nın embriyonlaşmış yumurtalarının ağız yoluyla alınmasıyla hem son konak hem de anormal konakda enfeksiyon başlamaktadır. Çocuklar kum havuzlarından veya *Toxocara* yumurtaları ile kirlenmiş oyun alanlarında oynarken yumurtalara maruz kalmaktadır. Bu durum ise kedi veya köpeklerin bu alanlara gelişigüzel dışkılamasından kaynaklanmaktadır. Yutulduktan sonra yumurtalar çatlar ve ince bağırsağa nüfuz eden larvalar (juveniller) serbest kalır, dolaşıma girer ve sonra tüm organları istila ederek vücutta dolaşırlar. Bunların Larva 2 (L2) veya Larva 3 (L3) olup olmadığı konusunda

tartışmalar vardır (Despommier, 2003). Önceleri *T. canis*'te enfektif dönemin L2 olduğu belirtilmekteydi (Anderson, 2000; Nichols, 1956; Schacher, 1957 ve Webster, 1958). Ancak ilk defa Arajuo (1972) ışık mikroskobu ile yaptığı araştırmada yumurta içinde iki gömlek değiştirme olduğunu kaydetmiş, bunu takiben Brunaska ve ark. (1995) yaptıkları ultrastruktural çalışmada yumurta gelişiminin 11. ve 15. günlerinde yumurta içerisinde iki gömlek değiştirme görüldüğünü ve oluşan enfektif özellikteki larvanın L3 olduğunu saptamıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda da enfektif dönem larvanın L3 olduğu gösterilmiştir (Kassai, 1999; Macpherson, 2013; Roberts ve Janovy, 2006; Schnieder ve ark., 2011; Taylor ve ark., 2007; Özbakış, 2015).

Embriyon toprakta bir hafta içinde meydana gelmektedir. Daha uzun süren inkübasyon süreleri ise daha düşük sıcaklıklardan kaynaklanmaktadır. *Toxocara canis* yumurtaları dışkı ile atıldığında embriyonlaşmamış olup, 25-30°C sıcaklık, %85-95 nisbi nem gibi optimal şartlar altında enfektif larvanın gelişmesi 9-15 günde tamamlanırken (Schacker, 1957) toprak tipi ve iklim şartlarına bağlı olarak 3-6 hafta arasında değişebilmektedir. Yumurtadaki enfektif dönem en az 1 yıl canlı kalabilmektedir.

Embriyonlaşmış *Toxocara* yumurtaları, memelileri enfekte eden larvaları içerir ve birkaç yıl boyunca çevrede enfektif kalabilmektedir. Bir köpek veya kedi *Toxocara*'nın embriyonlu yumurtalarını ağız yolu ile aldığında, larvalar ince bağırsakta yumurtadan çıkar. Daha sonra bir kan damarına girerler ve karaciğer ve akciğerlerden sol kalbe giderler ve burada sistemik dolaşım ile yayılırlar. *Toxocara* larvaları 3 hafta içinde yetişkin parazitlere dönüşebilir ve konakların bağırsaklarına yumurta bırakabilir. (Niclotte, 2013)

Bu larva, konakdan konağa geçerken değişmeden kalır ve son konağın mide-bağırsak yoluna gidene kadar aynı vücut formunda uzun süreler yaşamaktadır. *Toxocara cati* larvalarının anatomisi ve ince yapısı üzerinde daha az çalışma yapılmıştır, ancak genel olarak, *T. canis*'inkine çok benzer görünmektedir, tek belirgin fark, larvaların çap olarak birkaç mikron daha ince olmasıdır. (Bowman, 2020)

L1'de vücut duvarları, sinir sistemi, salgısal kanallar ve sindirim sistemi gelişmekte, L2'de sadece salgısal kanallarda küçük değişiklikler olmakta, L3'de sindirim sistemi daha çok gelişirken, üreme organları cinsiyet ayırımı yapabilecek düzeye gelmektedir. L4 ve L5'de ise ağız çevresinde dudak yapıları ve cinsel organlar tam anlamıyla

gelişmektedir (Özcel, 2007). Enfeksiyonun dört farklı gelişme şekli vardır: Optimal sıcaklıklarda enfektif L3'ü ihtiva eden yumurta 4 haftada gelişmektedir. Köpekler tarafından ağız yoluyla alınan bu yumurtalardan ince bağırsakta larvalar serbest kalır, kan yoluyla karaciğer ve akciğerlere gelerek, burada L3 üzerinde L2 döneminden kalan gömleği değiştirmektedir. Larvalar trakea yoluyla son iki gömlek değiştirme yeri olan bağırsağa döner ve göçün bu şekli sadece yaklaşık 3 aylığa kadar olan köpeklerde görülmektedir (Özcel, 2013). Üç aylıktan daha büyük köpeklerde hepatik-trakeal göç daha az oluşmakta, 4-6 aylık köpeklerde trakeal göç hemen hemen biterken, bunun yerini somatik göç almaktadır. Somatik göçü takiben de hypobiosis oluşmaktadır. Ancak bazı köpeklerde ve erişkinlerde hepatik trakeal göçün yerine L3 ler, dolaşıma karışarak karaciğer, akciğer, beyin, kalp ve iskelet kasları ile sindirim sistemi duvarının alanına gitmektedir (Özcel, 2013). Gebe köpeklerde prenatal enfeksiyon oluşmaktadır. Doğumun yaklaşık 3 hafta öncesinde L3 ler harekete geçmeye başlar ve fetüsün akciğerlerine göç etmektedir. Doğumdan hemen önce gömlek değiştiren larvalar, yeni doğan yavrularda, larvaların trakea yoluyla son gömlek değiştiği yer olan bağırsağa göç etmesiyle biyolojik döngü tamamlanmaktadır. Bir defa enfekte olan dişi köpek, enfeksiyonla tekrar karşılaşmasa bile bütün gebeliklerinde yavruları enfekte edecek yeterli larva bulunmaktadır. Harekete geçen çok sayıda larva uterusa gitmek yerine anne köpekte normal göçünü tamamlamakta ve olgunlaşanlar geçici bir süre yumurta üretmektedir. Doğumu takip eden haftalarda dışkıda Toxocara yumurtalarının sayısında belirgin bir artış olmaktadır (Özcel, 2013).

Süt emen yavru köpekler laktasyonun ilk 3 haftasında sütteki L3'ün alınmasıyla enfekte olabilmektedirler. Bu yolla oluşan enfeksiyonlarda yavru köpeklerde göç olmaz iken, rodentler ve kuşlar gibi paratenik konaklar enfektif yumurtaları alabilmekte, L3'ler bu paratenik konakların dokularına göç etmektedirler. Köpekler tarafından bu konaklar yenildiğinde larvalar sindirim sisteminde gelişimlerine devam etmektedirler (Özcel, 2013). Anne köpekler geç gebelik ve laktasyon esnasında tekrar enfekte olabilmekte, bu da emen yavruların direkt olarak meme enfeksiyonuna yol açan yeni bir komplikasyon olarak değerlendirilmektedir. Patent enfeksiyon bir kez dişide oluştuğunda, yumurtayla çevre kontaminasyonuna sebep olmaktadır (Özcel, 2013). Bilinen prepatent sürelerin yumurtalarla ya da paratenik konaklardaki larvaların alınmasıyla oluşan direkt

enfeksiyonlarda 4-5 hafta, prenatal enfeksiyonda 2-3 hafta olduğu bilinmektedir (Taylor ve ark., 2007).

Toxocara cati'nin biyolojisinde L2'yi ihtiva eden yumurtalar kediler tarafından alındığında vücut içinde göç görülürken, L3'le meme enfeksiyonunda ya da paratenik konakların alınmasından sonra göç görülmektedir. Yumurtalar alındıktan sonra larvalar mide duvarına girer, kana karışarak karaciğer, akciğer, trakeaya, oradan da tekrar mideye göç etmektedir. L3 gömlek değiştirerek L4 haline gelmektedir. Rodent enfeksiyonlarıda bu parazitin biyolojisinde önemli rol oynamaktadır. Bunlarda larvalar ikinci dönem olarak bulunmakta, enfekte fare bir kedi tarafından yenildiğinde L2'ler sindirimle serbest kalmakta ve kedinin mide duvarında L3 haline gelmektedir. Fare yanında diğer paratenik konaklar yer solucanları, dışkı böcekleri, tavuklar, koyunlar ve enfektif yumurtaları alan diğer hayvanlarda olabilmektedir (Özcel, 2013). Meme yoluyla enfeksiyon laktasyon boyunca görülmektedir. Prenatal enfeksiyon oluşmamaktadır. Yumurta enfeksiyonlarında prepatent sürenin yaklaşık 8 hafta olduğu ve *T. cati*'de somatik göç ile larvaların çoğunlukla kaslara yerleştiği bilinmektedir (Taylor ve ark.,2007; Umur ve ark., 2011).

2.4. *Toxocara Canis* ve *T. Cati*'nin Üçüncü Dönem Larvalarının Anatomisi

Yumurtadan çıkan ve enfekte insanlar da dâhil olmak üzere çeşitli paratenik konakların dokularında devam eden üçüncü dönem larvalar konakdan konağa geçerken değişmeden kalır ve son konağın mide-bağırsak yoluna gidene kadar aynı vücut formunda uzun süreler yaşarlar. *Toxocara cati* larvalarının anatomisi ve ince yapısı üzerinde daha az çalışma yapılmıştır, ancak genel olarak *T. canis*'inkine çok benzerdir tek belirgin fark ise larvaların çap olarak birkaç mikron daha ince olmasıdır. Her iki *Toxocara*'nın yumurtalarından çıkan L3'ler, son konak enfektif yumurtaları veya paratenik konakları yediğinde gelişen larvalardır. Aynı larvalar, tüm paratenik konaklarda uzun süre boyunca, örneğin bir farenin yaşamı boyunca veya primatlarda yıllarca kalabilirler. Aynı zamanda bunlar dokularda örneğin deri altı, peritonal veya intravitreal paratenik konaklar arasında aktarılabilen larvalarla aynıdır. Yumurtalardan çıkan larvalar basit kültür ortamında aylarca veya yıllarca yaşayabilir. Bu larvalar, son konağın dokularında eozinofiller içeren granülomlarla çevrilidirler. Granülomlu dokular başka bir konak tarafından yutulduğunda hala canlı ve enfektiftir. *Toxocara* larvaları dokularda

Trichinella türlerine göre daha uzun süre varlığını sürdürür ve *Trichinella* türlerinin larvalarına göre konak tarafından kireçlenmeye maruz kalma olasılığı daha düşüktür (Despommier, 1993). Bu nedenle, insanlar da dahil olmak üzere paratenik konaklarda *Toxocara* larvalarının neden olduğu enfeksiyon, tek bir larva türü olan üçüncü evre larvadan kaynaklanmaktadır. *Toxocara* larvalarının daha fazla incelenmesiyle biyoloji ve parazitoloji çalışmalarına önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

2.4.1. Genel Morfoloji

Yumurtadan çıkan aşama üçüncü dönem larvadır. Enfektif aşamaya ulaşmış yumurtalardan birkaç larva dikkatlice çıkarılır ve incelenirse, larvaların bazılarında iki kütikül ortaya çıkmaktadır. Larvalar yumurta içinde daha uzun süre kaldığından ve yumurta kabuğu içinde hareket ettiğinden, ilk aşamadaki kütikül genellikle larva yumurtadan çıkmadan önce parçalanır. Genel olarak, *Toxocara* larvalarının toplam uzunluğu yaklaşık 410 μm 'dir. Beaver ve ark. (1952), yaptıkları çalışmada, başın şekline, yemek borusunun uzunluğuna ve genişliğine göre larva morfolojisini açıkça göstermiştir. *Toxocara canis* ve *T. cati* larvalarının yumurtalarda ki ve paratenik konaklarda ki morfolojisi, Dr Beaver'ın öğrencilerinden biri olan Robert L Nichols tarafındanda tanımlanmıştır. *Toxocara cati*'nin larvalarının *T. canis*'den yalnızca maksimum vücut genişliğinde farklılık göstererek çok benzer olduğuna dair kanıt sağlanmıştır. Ve incelenen larvaların mekanik olarak enfektif yumurtalardan çıkmış olması veya murin dokular, karaciğer, akciğer, beyin, böbrek, kalp veya deriden geri kazanılmış olması durumunda herhangi bir büyük morfolojik fark olmadığı tespit edilmiştir.

2.4.2. Diğer dokular

2.4.2.1. Hipodermis

Hipodermis, solucanın uzunluğu boyunca kütikülün altındaki dokudur ve büyüme ve deri değiştirme için gerektiğinde kütikül rejenerasyonundan ve kütikülün yeniden düzenlenmesinden sorumludur (Bowman, 2020).

2.4.2.2. Kütikül

Kütikül, nematodların vücut planının ve yaşam döngüsünün kritik bir parçasıdır. Tüm nematodlar özel kolajen formlarından yapılmış bir kütikül içerir. Nematodlar dört kez kütiküllerini ve derilerini değiştirir ve yeni kütikül oluştuktan sonra eski kütikülü atarlar. Bu yüzey özelliklerinde ve vücut açıklıklarında değişikliklere izin vermek için meydana gelir. Nematoda ile diğer birçok Ecdysozoan arasındaki en büyük fark, nematodların deri değiştirdikten sonra büyük ölçüde büyüyebilmeleridir. Bu işlem, hayatlarının ilk birkaç yılında sürekli meydana gelebilir.

Toxocara canis ve *T. cati*'nin larvaları söz konusu olduğunda, paratenik konaklarda deri değiştirme yoktur ve bu nedenle, eski kütikülün altında yeni kütikülün üretildiği ve düzenlendiği mekanizmayla ilgilenmeye gerek yoktur. Kütikül larvada yapısal olarak değişmez, örneğin vücut büyüklüğünde değişiklik ve yeni papilla veya cinsel açıklıklar yoktur. Larvaların yüzeyindeki kütikül, yalnızca birkaç açıklık içerir, bunlar yemek borusunun girişine açılan bukkal kapsül, bağırsak yolunun dışındaki uçtaki anüs ve boşaltım bezini ortama açan boşaltım gözeneğidir. Bukkal açıklığın her iki tarafında birer tane olmak üzere iki amphid için "açıklıklar" vardır bu, dördüncü evre larvaların ve yetişkinlerin iki subventral dudağının her bir dış-dorsal yüzeyindeki amphid olacaktır. Genel yapı olarak amphidlere benzeyen phasmidler, dördüncü evre ve yetişkin *T. canis* ve *T. cati* kuyruklarının uçlarının yakınında meydana gelir (Schacher, 1957; Sprent, 1956, 1958) ve phasmidler ayrıca *Toxascaris mystax, Baylisascaris procyonis, Lagochilascaris sprenti* ve *Hexametra leidyi*'nin üçüncü aşama larvalarının kuyruklarında da tanımlanmıştır (Bowman, 1987). Bukkal kapsül, vestibül ve özofagus, besleme sırasında vestibülün açılmasını sağlayan vestibül seviyesinde kütikülü kaplayan özofagusa bağlı kas hücrelerini tanımlamaktadır. Ayrıca, ön kalınlaşmış kütikül yemek borusunun girişine açılan bir açıklık görevi görür. Alae, boşaltım hücre çekirdeği seviyesinde en uzundur. Yanal olarak çıkıntı yapan bu "kanatlar", muhtemelen bunların ve diğer nematod larvalarının dokularda hareket etmesini sağlayan yapıdır. **(**Bowman, 2020)

2.4.2.3. Sinir Dokusu

Tüm nematodlar, ventral ve dorsal sinir kordonlarından oluşur ve ventral kord dorsalden daha büyük çapa sahiptir. Çoğu hayvan sisteminin aksine nematodlarda, somatik kas

hücreleri, demetlenmiş sinir hücrelerine bağlantı gönderir. Bu nedenle, tarihsel olarak, larvaların sinir dokusu, yalnızca görünür gangliyon kütlelerinin konumlarına göre göreceli olarak tanımlanabilir. Talluri ve ark. (1986), tarafından gösterilen üçüncü evre larvanın ön ucunda, olgun solucanların iki subventral dudağının iki ventral papillasının her biri, solucanın ön tarafında tek bir yapı olarak görünen bukkal boşluğun çıkıntılı ventral kütikülünün önüne doğrudur. Ve amphidler bukkal kapsülün daha kısa bölümünü oluşturan dorsal dudağa katıldığı ventral dudağın her iki yan tarafında yarıklar olarak görünür. Amphidler kemosensör yapılar olarak görev yaparlar ve larvada nöron demetleri, amfidiyal açıklıktan sinir halkasına kadar ilgili subventral bölgeden hipodermisin lateral kordları boyunca uzanır. Ön uçtan geriye doğru hareket edildiğinde, sinir liflerinden oluşan sinir halkasının önünde bulunan yemek borusu çevresinde bir araya toplanmış çok sayıda çekirdek görülebilir. Sinir halkasının hemen arkasından, boşaltım gözeneğinin açılması boşaltım hücresi, ardından kıvrımlı boşaltım hücre kanalı ile serpiştirilmiş muhtemelen sinir dokusu olan daha fazla çekirdek takip eder. Aynı bölümde deirid olan bir papilla vardır Talluri ve ark. (1986), deiridi duyusal yapılar olarak tanımlamışlardır.

2.4.2.4. Kaslar

Işık mikroskobu düzeyinde kas yapısını anlamak güçtür çünkü vücut duvarının her bir çeyreğinde kaç kas hücresinin göründüğünü belirlemek oldukça zordur. Ayrıca, larvalar kütikül katmanlarına veya sinir bağlantılarının varlığına göre fazla farklılaşmaya izin vermeyecek kadar küçüktür. Bowman ve ark. (1993), somatik kas yapısının bukkal kapsülün hemen arkasında başladığını ve kuyruğun ucuna yakın bir yere kadar uzandığını bildirmiştir. Kas hücreleri meromyarian ve platymyarian tiptedir. Önde, kadran başına iki hücre vardır ve sinir halkasından özofagus tabanına kadar her kadranda üç hücre vardır. Kas hücresi başına genellikle birkaç miyofibril demeti vardır. Kas hücrelerinin sitoplazmik kısımları, çok sayıda mitokondri ve glikojen (ve ayrıca kas hücresi çekirdeği içerir.

2.4.2.5. Ağız ve Yemek Borusu

Yemek borusu yaklaşık 135 µm uzunluğunda veya tüm vücudun yaklaşık üçte biri uzunluğundadır (Nichols, 1956). Bukkal kapsül fincan şeklindedir ve solucanın ventral yüzeyinde öne doğru uzanır, bu nedenle dorsal taraftan daha ileriye doğru çıkıntı yapar.

Bukkal boşluğun ön kısmında bulunana lamellar ağı denmiştir ve Talluri ve ark. (1986) tarafından tanımlanmıştır; yazarlar bu yapının kabuklularda, amfibilerde, kuşlarda, sürüngenlerde ve memelilerde görülen diğer osmoregülasyon hücresel yapılarıyla paralelliklere dayalı olarak boşaltımdan ziyade osmoregülasyon amacıyla kullanıldığını ifade etmişlerdir. Yemek borusu bölümlerinde arkaya doğru hareket edildiğinde, özofagus bezi bulunmaktadır. Son konakdaki gelişmekte olan larvada daha belirgin hale gelen ventrikül, özofagus tabanında bulunan çekirdekleriyle iki subventral bezi içerir. Yemek borusunda da sinir hücresi çekirdekleri vardır (Bowman, 2020).

2.4.2.6. Bağırsak

Nichols (1956), bağırsakların yedi hücreden oluştuğunu ve görünür bir lümen içermediğini keşfetmiştir. Bowman ve ark. (1993), tarafından yapılan çalışmada da lümen görülmemiştir. En arka bağırsak hücresi, ince bir kütiküler tüp ile bağlandığı anüsün yaklaşık 25 µm önünde bitmektedir (Nichols, 1956).

2.4.2.7. Genital Organ Taslağı (primordium)

Genital primordium dört hücreden oluşur ve ön uçtan vücut uzunluğunun yaklaşık üçte ikisi kadar ventral gövde duvarından oluşur (Nichols, 1956). Erkek solucanlarda primordium bölünür ve yalnızca arkadan büyür, dişide ise büyür ve arka kısım dördüncü evrenin son dönemindeki larvalarda ve ergin dişilerde bulunan yumurtalıkların iki ayrı bölgesini oluşturmak için dallanır (Sprent, 1956).

2.4.2.8. Boşaltım Hücresi

L3'deki en büyük yapı çapı büyük olan ve toplam vücut uzunluğunun yaklaşık % 45'i bir uzunluğa sahip boşaltım hücresidir. Kondo ve ark. (1987), ve Vegni-Talluri ve Dallai (1989), tarafından *T. canis*'de boşaltım hücresinin (veya boşaltım bezi hücresinin) ince yapısı açıklanmıştır. Genel olarak, genel morfolojisi ve yapısı bakımından *Caenorhabditis elegans*'ın boşaltım bezi hücresininkine çok benzerdir. Toxocara larvasındaki hücre: büyük boyutu, büyük çekirdeği, çok sayıda mitokondrisi, golgi gövdeleri, bol miktarda pürüzlü endoplazmik retikülümü ve baştan sona zara bağlı veziküllerle dolu olan özelliklere sahiptir. Boşaltım hücresi yaklaşık 175 um uzunluğundadır. Özofagus tabanının yaklaşık 35µm önünden yemek borusunun ucunun

yaklaşık 100 μm arkasına uzanan iki yan sütun ile “H” şeklindedir (Altun ve Hall, 2009).

2.4.2.9. Boşaltım ve Salgı Ürünleri

Boşaltım hücresinin ve içerdiği veziküllerin işlevi tam olarak açıklanmamıştır (Altun ve Hall, 2009). Ancak Oshima ve ark. (1963) ve De Savigny (1975), larvaların konak tarafından immünolojik olarak tanınan materyaller ürettiğini açıklamıştır. *T. canis* veya *T. cati* larvaları bir CO_2 atmosferinde 37 °C'de tutulduğunda, kültürde oldukları süre boyunca sürekli olarak teşhis açısından önemli antijenler olarak hizmet eden ürünler üretmeye devam etmektedirler (Badley ve ark., 1987; Lee ve ark., 2009; Kondo ve ark., 1987; De Savigny, 1975). Ve deneysel olarak enfekte olmuş fareler ve primatlardaki kalıcı titrelere dayanılarak, canlı oldukları sürece bu proteinleri rutin olarak salgılamaya devam ettikleri görülmüştür. Hücrenin diğer işlevininde deri değiştirmede rol oynayabileceğidir. Önerilen diğer işlevler arasında osmoregülasyon (Beherenz, 1956), ekzodigestion (Lee, 1970; Mueller, 1929), asetilkolin inhibisyonu (Ogilvie ve Jones, 1971), proteaz ve substrat sekresyonunu yer almaktadır (Bird, 1990).

2.5. İnsanlarda Toxocariasis

İnsanlarda parazitin yaşam döngüsünü tamamlanması anormaldir. Enfektif larvalar yumurta yutulduktan sonra yumurtadan çıkar, ancak juvenil evrelerden yetişkin parazitler gelişemezler. Bunun yerine, uzun süre (birkaç aydan birkaç yıla kadar) vücutta dolaşırlar ve girdikleri dokuya zarar verirler. Embriyonize *Toxocara* yumurtalarının yutulmasından sonra larvalar paratenik konaklarda aynı somatik göç yolunu izlerler. Larvalar karaciğer, akciğerler, kalp, göz ve beyine gidebilirler (Wilder, 1950; Dent ve ark., 1956). Genellikle eozinofiller ile ilişkili kanama, nekroz ve iltihaplanma ile karakterize göç yolları oluşmakta ve larvalar yıllarca yaşayabilecekleri bir halde granülomlar içinde kapsüllenmektedirler. Göç eden larvalara karşı konak bağışıklık tepkilerinin, larva excretory-secretory antijenlere (TES-Ag) yönelik olduğu görülmektedir. Bu antijenler, spesifik antikorlar tarafından bağlandığında kolayca parçalanan epikutiküllerinden larvalar tarafından salınır (Page ve ark., 1992). Helmint enfeksiyonları hem humoral hem de hücresel yanıtları indükleyerek enfeksiyon sırasında immünolojik Th1 ve Th2 yanıtı arasında hassas bir denge sağlar. Th1 yanıtının parazit yıkımından sorumlu olduğu düşünülse de, Th2 yanıtı interlökinlerde kademeli

artışla (IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 ve IL-13) IgE'nin indüksiyonu, eozinofillerin ve mast hücrelerinin aktivasyonunu ve patolojik değişiklikler meydana getiren immünolojik baskı yaratır (MacDonald ve ark., 2002; Wagner ve Newton, 2009). Bununla birlikte, dokulardaki *Toxocara* larvalarının öldürüldüğü ve elimine edildiği kesin mekanizma bilinmemektedir. Aylar veya yıllar sonra larvalar kendiliğinden veya bağışıklık sisteminin ısrarcı saldırısını takiben ölürler ve doku reaksiyonu tamamen ortadan kalkabilir (Despommier, 2003).

Asemptomatik enfeksiyondan ciddi organ hasarına kadar değişen insanlarda toxocarisisin klinik spektrumu parazit yükü, larva göçü bölgeleri ve konağın enflamatuar tepkisi ile belirlenir (Pawlowski, 2001). Konağın hasarının derecesi ve bununla birlikte belirti ve semptomların ortaya çıkması, hangi dokunun istila edildiğine göre değişir; gözlerde (Ruiz ve ark., 2000) dahil olmak üzere karaciğer (Hartleb ve Januszewski, 2001) akciğer (Kuziemski ve ark., 1999) ve merkezi sinir sistemi (CNS) (Magnaval ve ark. 1997) en duyarlı organlardır. Göç eden larvaların sayısı ve konağın yaşı, bireyin klinik durumu açısından önemli iki ek faktördür. Patolojik sonuçlar, büyük ölçüde larvaların ölümüne bağlıdır. *Toxocara* türlerinin larvaları, insanlarda iki ana klinik sendromla ilişkilendirilmiştir: Viseral larva migrans (VLM) ve Oküler larva migrans (OLM). Bazı yazarlar bu enfeksiyonların tek nedeni olarak *T. canis*'i suçlamaktan kaçınmıştır (Gillespie, 1993) ve *T. cati*'nin de insanlarda larva migransının bir nedeni olduğundan söz etmişlerdir (Smith, 1193). Bununla birlikte bazı yazarlar ise, *T. canis'*i ana ve belki de tek suçlu olarak kabul etmiş ve *T. cati* nadiren zoonotik olarak kabul edilmiş, bu nedenle çoğu ilgi *T. canis*'in zoonotik potansiyeline odaklanmıştır. Yakın zamanlarda, insanlarda daha az şiddetli iki sendrom tanımlanmıştır: esas olarak çocuklarda görülen "gizli toxocariasis" (Bass ve ark., 1983) ve çoğunlukla yetişkinlerde görülen "yaygın toxocariasis" (Glickman ve ark., 1987). Enfekte insanlarda solunum, nörolojik ve kutanöz belirtiler de görülmüştür (Rubinsky-Elefant ve ark., 2010).

Oluşan enfeksiyonun şiddetine göre klinik olarak Toxocariasis;

a) Visceral Larva Migrans sendrom (VLM),

b) Ocular Larva Migrans sendrom (OLM) (Ocular Toxocariasis)

c) Nörolojik Toxocariasis (NT) (Cerebral Toxocariasis)

d) Gizli ve Yaygın (Covert and Common) Toxocariasis olmak üzere dört grupta sınıflandırılmaktadır

2.5.1. Visceral Larva Migrans sendrom (VLM)

VLM, nematod larvalarının insan iç organlarının dokusu içinden göç etmesinden kaynaklanan zoonotik bir hastalıktır. Bu göç tamamlanamaz ve tesadüfi olarak larvalar çeşitli doku ve organlarda dolaşır ve sonunda hipobiyoza girerler. Oluşan bu sendromada Visceral Larva Migrans (VLM) adı verilir. *Baylisascaris procyonis*, *Capillaria hepatica*, *Ascaris suum* ve bazı *Ancylostoma* türleri gibi çeşitli etiyolojik ajanlar arasında *Toxocara*, VLM'nin ana nedenidir (Lee ve ark., 2010). İnsanlar tarafından oral yolla alınan enfektif dönem larva taşıyan *T. canis* yumurtaları ince bağırsakta açılarak bağırsak duvarına girer ve hepato-pulmonar yol ile somatik göç yaparlar. Larvalar çeşitli dokularda yerleşim göstererek bulundukları dokularda konak tarafından oluşturulan yangısal reaksiyonlar sonucu granülomlar ile çevrelenirler (Kassai, 1999; Overgaauw ve van Knapen, 2008). Esas olarak VLM küçük çocukların (>5 yaşında) bir hastalığıdır (Worley ve ark., 1984). VLM ateş, karın ağrısı, iştah azalması, huzursuzluk, öksürük, hırıltılı solunum, bunlara ek olarak karaciğerin genişlemesi ve nekrozu (Rayes ve ark., 2001); dalağın genişlemesi; alt solunum semptomları (özellikle astıma benzeyen bronkospazm); eozinofili (Arango, 1988); ve immünoglobulin M (IgM), IgG ve IgE sınıflarının hipergammaglobulinemisi ile kendini gösterir. Bu belirtilerin sonunda, IgE / anti-IgE immün komplekslerinin seviyelerinin artmasıyla semptomlar daha da belirginleşir. Miyokardit (Prunier ve ark., 2001), nefrit (Shetty ve Aviles, 1999) ve CNS'nin tutulumu tanımlanmıştır. CNS tutulumu nöbetlere, nöropsikiyatrik semptomlara veya ensefalopatiye yol açabilir. Göç eden larvalara uzun süreli maruz kalmanın bir sonucu olarak daha güç algılanan klinik belirtiler ortaya çıkabilir. Farelerdeki deneysel enfeksiyonlar, VLM'nin bağışıklık tepkilerinin genel modeli üzerindeki etkilerinede ışık tutmuştur. *T. canis* larvaları ile enfekte edilmiş kendi içinde melezlenmiş C3H/HeN fareleri, parazitin hayatta kalmasını desteklediği varsayılan sitokin tepkilerinin değişmiş modellerine sahiptir. Kontrollere kıyasla enfekte grupta hem IL-12 hem de tümör nekroz faktörü alfa önemli ölçüde azalmış (Kuroda ve ark., 2001) ve IL-5 *Nippostrongylus braziliensis* de direnç ile ilişkilendirilsede, *T. canis*'in göç eden larvalarına karşı hiçbir etkisi bulunmamıştır (Dent ve ark., 1999). Koruyucu bağışıklık yavaş gelişmektedir. Bunun başlıca nedeni, büyük olasılıkla larvaların antijenik sinyalini periyodik olarak değiştirebilme yeteneği ile ilgili faktörlerdir.

2.5.2. Ocular Larva Migrans sendrom (OLM) (Ocular Toxocariasis)

OLM tipik olarak çocuklarda (5-10 yaş) ve genç yetişkinlerde ortaya çıkar. En yaygın semptom, günler ile haftalar arası bir süre boyunca ortaya çıkan görme kaybıdır. Fundoskopi ve biyomikroskopik incelemede genellikle üveit, endoftalmitis, papillit (Gass ve Braunstein, 1983), retinal granülomatöz lezyonlar (Gillespie ve ark., 1993) veya periferik vitrözde iltihaplı kitleler (kar bankaları) (Tran ve ark., 1999) ortaya çıkar. Bazı kişilerde bu belirtiler yıllar içinde artabilir veya azalabilir. Görmenin keskinliği bozukluğunun derecesine bağlıdır ve körlük yaygındır. Oküler enfeksiyon ayrıca subklinik olabilir ve yalnızca rutin göz muayenesinde farkedilebilir.

Yapılan bir çalışmada *T. cati* larvalarının Moğol gerbillerinde önemli göz lezyonlarına neden olduğu, bildirildirilmiştir. Her ne kadar bu çalışmadaki enfektif doz vücut ağırlığının gramı başına 17 embriyonlu yumurta olduğu için muhtemelen ideal bir model değildir çünkü insanlarda OLM'nin sadece birkaç larvadan kaynaklandığına inanılmaktadır. Bu nedenle, araştırmalar bu larvaların insan hastalıklarındaki rolü için daha fazla bilgi ve kanıt üreten *T. canis*'e odaklanmıştır (Akao ve ark., 2000)

T. cati'nin özellikle insan enfeksiyonu nedeni olarak tanımlandığı birkaç vaka vardır. Petithory ve ark. (1993), OLM'li on hasta üzerinde yapılan mikro-Ouchterlony test sonuçlarında bağışıklık tepkilerine göre hastalardan biri *T. canis* ve *T. cati*'ye eşit tepki göstermiş, üçü *T. canis*'e göre *T. cati*'ye daha fazla tepki göstermiş ve bu da *T. cati*'nin OLM'nin bir nedeni olarak düşünülmesi gerekliliği açısından önem arz etmektedir. Bu testlerde kullanılan antijenler, L2 tarafından üretilen boşaltım-salgılama (ES) antijenleriydi.

2.5.3. Nörolojik Toxocariasis (NT) (Cerebral Toxocariasis)

Toxocara larvalarının MSS invazyonu sonucu beyin ve omurilikte bulunması sonucu gelişmektedir. İlişkili klinik semptomlar arasında miyelit, ensefalit, zihin bulanıklığı ve / veya menenjit yer alır. NT, konakçı genetiği, yutulan yumurta sayısı ve önceden maruz kalma gibi birçok faktörden etkilenebilir. Vakaların otopsi çalışmalarında, leptomeninges, serebrum, serebellum, talamus ve omuriliğin gri ve beyaz maddesinde *Toxocara* larvalarına rastlanmıştır (Dent ve ark., 1956; Moore, 1962; Schochet, 1967; Hill ve ark., 1985). Bu vakaların çoğu klinik nörolojik belirtiler göstermemiştir. Bu

nedenle, *Toxocara* larvalarının ölümcül olmayan vakalardaki lokalizasyonu ve hastalığın klinik önemi ve gerçek sıklığı bilinmemektedir (Moreira-Silva ve ark., 2004).

2.5.4. Gizli ve Yaygın (Covert and Common) Toxocariasis

Covert ya da Common toxocariasis, seropozitif çocuk ve erişkinlerde asemptomatik ya da ılımlı non-spesifik semptomlar halinde devam eden enfeksiyona verilen isimdir. Popülasyon temelli anketlerde tespit edilen seropozitif denekler asemptomatiktir veya sadece spesifik olmayan ve hafif semptomlara sahiptir. Gizli toxocariasis ilk defa İrlanda'da bir vaka-kontrol çalışmasının sonuçlarına göre seropozitif çocuklarda yeni bir klinik semptom olarak tanımlanmıştır (Taylor ve ark., 1987). Semptomlar ateş, baş ağrısı, davranışsal ve uyku bozuklukları, öksürük, iştahsızlık, karın ağrısı, hepatomegali, bulantı ve kusma ile ilişkilidir. Fransız yetişkinlerde yapılan başka bir vaka-kontrol çalışması, kronik solunum güçlüğü ve halsizlik, kutanöz döküntü, kaşıntı ve abdominal ağrıyı içeren bir sendrom olan ve yüksek IgE seviyeleri gösteren "yaygın toxocariasis" tanımına yol açmıştır (Glickman ve ark., 1987). "Gizli" ve "yaygın" toxocariasis, sırasıyla çocuklarda ve yetişkinlerde hafif toxocara enfeksiyonlarının klinik spektrumunda küçük farklılıklar ile birbirinden ayrılmaktadır. Bu hastalar genellikle antelmintiklerle tedavi edilebilirler (Rubinsky-Elefant ve ark., 2010).

2.6. Toxocariasisin Epidemiyolojisi

Toxocara canis ve *T. cati* evcil köpek ve kedilerin yaygın parazitleridir. Bu nedenle toxocariasis, insanların köpek ve kedilerle özellikle yakın ilişkide olduğu zamanlarda meydana gelen, dünyada en sık bildirilen zoonotik helmint enfeksiyonlarından biridir. Güvenilir barınaklardan veya evcil hayvan dükkanlarında satılanlar bile yetişkin solucanları barındırabilir. Bunun nedeni, yaşam döngüsünü ele alan bölümde belirtildiği gibi, yavru köpeklerin *Toxocara* yumurtalarını enfekte anneden transplasental olarak almalarıdır. Bu nedenle, evde köpek yavrusu bulundurmak önemli bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır (Marmor, 1987). Pika hastası çocukların, bu davranışı sergilemeyenlere göre topraktan embriyonlu yumurtaları yutma riski daha yüksektir. Gelir seviyesi düşük bir yerde büyümek, toxocariasis için orta gelir grubuna göre daha yüksek seropozitiflik oranı ile ilişkilendirilmktedir. Bununla birlikte, ülkelerin veya şehirlerin genel nüfusunu temsil etmeyecek demografik çalışmalarda çeşitli örneklerden

toplanan mevcut serolojik araştırma verilerinden yaygınlığı hakkında güvenilir tahminler elde etmek zordur (Rubinsky-Elefant ve ark., 2010).

Kentsel ve kenar mahallelerdeki açık hava parklarında insanlar rutin olarak evcil hayvanlarını gezdirdikleri için *T. canis* ve *T. cati*'nin embriyonlu yumurtaları ile oldukça kirlenmiştir (Castillo ve ark., 2000; Giacometti ve ark., 2000; Mizgajska, 2001). Büyük şehir merkezlerindeki popülasyonlarda enfeksiyonu sınırlandırmak için çocukların uğrak yeri olan oyun alanlarında köpek ve kedi dışkısının ayrım gözetmeksizin birikmesini önlemek gerekmektedir. Japonya'da yapılan bir çalışmada, kum havuzlarının üzerine gece vakti şeffaf vinil plastik örtüler yerleştirmek evcil hayvanların buraları dışkılama bölgeleri olarak kullanmaktan etkili bir şekilde caydırıyor gibi görünmektedir. Böylece oyun alanlarının *Toxocara* açısından güvenli hale getirilebileceği düşünülmektedir. Köpeklerin ve kedilerin ivermektin, mebendazol veya diğer ilgili benzimidazollerle rutin tedavisinin, bu esnek parazit grubunun yayılmasını önlemede etkili olabileceği düşünülmektedir (Uga ve Kataoka, 1995).

Ilıman ülkelerden toplanan toprak örneklerinde ki yumurtaların çoğu, tamamen embriyonlaşmıştır (Rubinsky-Elefant ve ark., 2010). Maruz kalma oranları çocuklar arasında geophagia, onychophagia ve pica nedeniyle daha yüksektir bunların yanı sıra köpek sahipliği, sıhhi tesislerin eksikliği ve sosyoekonomik parametrelerinde etkili olduğu çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda gösterilmiştir (Malla ve ark., 2002; 2004; Rubinsky-Elefant ve ark., 2010). Zihinsel engelli kişilerde de yüksek seroprevalans oranları gösterilmiştir (Nelson ve ark., 1996; Kaplan ve ark., 2004). Bugün genel olarak halk sağlığı topluluğu toxocariasisin tüm klinik formlarıyla büyük bir sağlık riski oluşturduğunu kabul etmektedir.

Veteriner hekimlerde evcil hayvan sahipleri tarafından kendilerine getirilen çok sayıda köpek ve kediyi tedavi ettikleri durumlarda *Toxocara* enfeksiyonunun yayılmasıyla mücadelede önemli bir rol oynamaktadır. Düzenli dışkı muayenelerinin ve kemoterapötik ajanların sık kullanımının enfeksiyonu kontrol etmede etkili olduğu kanıtlanmıştır (Despommier, 2003).

2.6.1. Türkiyede Köpek ve Kedilerdeki *Toxocara* Türleri Üzerine Yapılan Çalışmalar

Toxocariasis, Türkiye'de nadir görülen bir hastalık nedeni olarak kabul edilmektedir. Spesifik ve kesin hastalık bulgularının olmaması, klinisyenlerin larval toxocariasis vakalarının sayısını hafife almasına neden olmaktadır ve böylece, *Toxocara* spp.'nin neden olduğu larva migransının gerçek prevalansı Türkiye'de çok az bilinmektedir. Nadir görülmesine rağmen, pratisyen hekimler sendromun yerel vakalarda tanımlandığı 1970 yılından beri Türkiye'de toxocariasisin varlığının farkındadır (Merdivenci, 1970). Ayrıca Türkiye'de şaşılık (Berk ve ark., 2000), retina dekolmanı (retina yırtılması) (Acar ve ark., 2007), üveit (Özdal ve ark., 2012) ve nöroretinit (görme siniri ve retinanın iltihabı) (Karaca ve ark., 2018) ile ilişkili oküler larva migrans bildirimleri de bulunmaktadır. İlk seroepidemiyolojik çalışma Türkiye'nin batısında İzmir'de yapılmıştır (Kuman ve Altıntaş, 1984).

Öge ve ark. (2000a), Ankara'da 46 halka açık parktan 170 toprak örneği toplamış ve bunların % 31'inin embriyonlaşmış *Toxocara* yumurtaları içerdiğini tespit etmiştir. Şimsek ve ark. (2005), Elazığda aynı toprak örneklerini kullanarak üç farklı tekniği karşılaştırmış ve *Toxocara spp.* yumurtaları sırasıyla NaCl, MgSO4 ve tuz / şeker çözeltisi ile yüzdürme yöntemi kullanılarak örneklerin % 7, % 13 ve % 23'ünde pozitiflik elde etmiştir. Türk askeri Belçikalı Malinois köpeklerinde, erkeklerin dişilere göre daha yüksek enfeksiyon prevalansına sahip olduğu bulunmuştur (Senlik ve ark., 2006). Bu köpeklerin saç örneklerinin % 22'sinin yumurta içerdiği ve bu yumurtalardan % 20'sinin embriyonlaşmış ve dolayısıyla enfektif olduğu tespit edilmiştir. Saç gramına düşen yumurtaların varlığı ile yaş, cins, tüy tipi veya saç uzunluğu arasında hiçbir ilişki bulunamamış ancak enfekte köpeklerin % 82'sinin bir yaşın altında olması nedeniyle köpeklerin yaşının oldukça önemli olduğunun altı çizilmiştir (Aydenizöz-Özkayhan ve ark., 2008).

Toxocara cati, ülkenin farklı bölgelerinden gelen kedilerde %13-82 oranında bulunmuştur (Korkmaz ve ark., 2016; Oge ve ark., 2014; Yaman ve ark., 2006). Bozkurt ve ark. (2012), Kayseri merkez ilçelerde toplam 20 mesire alanı ve parkdaki çocuk oyun alanlarından 248 adet toprak örneği toplamış ve askarit kontaminasyonu belirlenen toprak örneklerinde moleküler analiz sonuçlarına göre en yaygın tür (%12,0) ile *T. canis*

belirlenmiş, bunu sırasıyla *T. leonina* (%7,5) ve *T. cati* (%3,0) izlemiştir. Öge ve ark. (2014), Ankara'da köpek ve kedilerin saç ve dışkılarında *Toxocara* yumurtalarının varlığını karşılaştırmış ve kontamine olmuş kedi tüylerinin sayısının köpek tüylerine göre daha fazla olduğu (sırasıyla %22 ve %14), ancak yumurtaların sayısı köpeklerde (köpek başına 136) kedilerden (kedi başına 58) daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Oguz ve ark. (2018), tarafından yapılan çalışmada, Van sokak kedileri ve köpeklerin dışkılarından elde edilen *Toxocara spp.*'nin ITS-2 dizileri ile yapılan moleküler analizlerinde 20 erişkin ascaridden 17'sinin *T. canis* ve 3'ünün *T. cati* olduğu görülmüştür. Öge ve ark. (2019), Ankaranın çeşitli semtlerinden 224 adet köpek dışkısı toplamışlar ve santrifüj flotasyon ve sedimentasyon yöntemi ile 21 köpekde (%9.38) *Toxocara spp.* yumurtalarını tespit etmişlerdir. Daha sonra pozitif örnekleri PCR analizine tabi tutmuşlar ve 21 *Toxocara* izolatı arasından 5'i (%23,8) *T.canis* için PCR-pozitif ve geri kalan 16 örneğin PCR-negatif olduğunu bildirmişlerdir. Sonuçlar, PCR'nin enfekte köpeklerin dışkısında *T. canis* DNA'sını saptayabildiğini, ancak sedimantasyon / yüzdürme tekniği ile karşılaştırıldığında etkinliğinin düşük olduğunu göstermektedir. Köpek ve kedilerde bulunan askarit türleri üzerine yapılan moleküler çalışmaların sınırlı olduğu görülmektedir. Bu çalışma ile Kayseri yöresinde bulunan kedilerde *T.cati*'nin moleküler analizlerinin yapılması amaçlanarak sınırlı sayıdaki çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

2.6.2. Dünyada Köpek ve Kedilerdeki *Toxocara* Türleri Üzerine Yapılan Çalışmalar

Köpek ve kedilerde bulunan *Toxocara* türleri üzerine yapılan moleküler çalışmaların sınırlı olduğu görülmektedir. Li ve ark., (2007), *Toxocara canis, Toxocara cati, Toxocara malaysiensis* ve *Toxascaris* leonina türlerinin nuclear ribosomal DNA bölgesi (rDNA internal transcribed spacers (ITS-1 and ITS-2) üzerine çalışmalar yapmışlar ve dizayn ettikleri spesifik primerler ile moleküler olarak bu parazitlerin identifikasyonunun daha duyarlı ve epidemiyolojik çalışmalarda daha güvenilir sonuçlar elde edileceğini söylemişlerdir.

Fogt-Wyrwas ve ark. (2007), askarit türleri ile kontamine toprak örneklerinde spesifik primerlerle uygulanan PCR neticesinde, bu yöntemin *Toxocara spp.'*nin identifikasyonunda oldukça spesifik olduğunu kaydetmişlerdir. Borecka ve ark. (2008),

Varşovada konut sitelerindeki kum havuzlarından 36 adet kum örneği toplamışlardır. Bu 36 örnekten 8'inin (%22,2) *Toxocara* türleri ile kontamine olduğunu flotasyon tekniği ile doğrulamışlardır. Moleküler analizler için bu pozitif örneklerden gDNA izolasyonu yapmışlar ve 2 örneğin *T. canis*, 3 örneğin *T. cati* ve geri kalan 3 örneğinde her iki türün DNA'sını içerdiğini tespit etmişlerdir. Fahrion ve ark. (2011), yaptıkları çalışmada İsviçrenin değişik bölgelerinden 36 kedi ve 35 köpek dışkısı toplamışlar ve PCR (ITS-2) analizlerine tabi tutmuşlardır. Bu analizler sonucunda köpeklerden köken alan izolatların 24'ü (%68,5) *T. canis* ve 11'i (%31,5) *T. cati* olarak belirlenmiştir. Kedilerden alınan tüm numunelerde sadece *T. cati* tespit edilmiştir. Mikaeii ve ark. (2013), 2011 yılında İranın Shiraz bölgesinde 30 kedi üzerinde bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada ergin parazitler kedilerin diseksiyonundan sonra sindirim sisteminden çıkarılmış ve mokelüler analizler için gDNA'lar ITS-rDNA bölgesi ve pcox1 mitokondriyal 1 bölgesi PCR analizlerine tabi tutularak 30 kediden 8'inin (%26,7) *Toxocara* nematodları ile enfekte olduğu gözlenmiştir. Khademvatan ve ark. (2013), iranın Ahvaz kentinde Ocak-Mayıs 2012 tarihleri arasında rastgele toplanan 140 dışkı örneğinin flotasyon yöntemi ile %45'inin *Toxocara* spp. yumurtalarını barındırdığı tespit etmişlerdir. Daha sonra yapılan moleküler analizlerde pozitif 63 numunenin %96,8'sında *T. cati*, %6,34'ünde *T. canis* yumurtası bulmuşlardır. İran'da Khademvatan ve ark. (2014), tarafından yapılan çalışmada, 210 adet toprak örneği toplanmış ve önekler flotasyon ve PCR yöntemleri ile incelenmiştir. *Toxocara* yumurtaları sırasıyla mikroskopi ve PCR yöntemleriyle 64 ve 71 toprak örneğinde bulunmuştur. ITS2 analizlerine göre, numunelerin %28'i *T. cati* ve % 5,7'si *T. canis* olarak teşhis edilerek ve karışık kontaminasyon gözlenmemiştir.

2.7. Teşhis

Visceral Larva Migrans'ta hastalar parazitin herhangi bir gelişme dönemini vücuttan dışarı atmadığından teşhis zor olmaktadır (Lee ve ark., 2010). Ayrıca vakaların çoğunda belirtilerin asemptomatik olması teşhiste VLM'nin gözden kaçmasına ya da yanlış teşhisine neden olmaktadır (Roberts ve Janovy, 2006). Açıklanamayan ateşli bir hastalığı ve eozinofili olan herhangi bir pediyatrik hastada VLM olduğundan şüphelenilmelidir. Hepatosplenomegali, multisistem hastalığı ve pika öyküsü, VLM tanısını daha olası kılmaktadır. Teşhis daha çok hastanın anamnezinden yola çıkılarak yapılmaktadır. Hastanın köpeklerle ve kedilerle yakın ilişkisinin olması, pika veya

jeofajisinin bulunması, astım-mental problemlerinin olması ya da toprakla ilişkili meslek grubunda yer alması VLM'nin olabileceğini düşündürmektedir.

Toxocara spp. larvalarının biyopside görülmesi, serebrospinal sıvıda ya da okular sıvıda bulunması ile kesin teşhis konmaktadır. (Fillaux ve Magnaval, 2013). Görüntüleme yöntemleri de VLM teşhisinde yardımcı olmaktadır. *Toxocara* spp. larvalarının oluşturduğu lezyonlar için görüntüleme yöntemlerinden; Ultrasonography (USG), Computed Tomography (CT) ve Magnetic Resonance Imaging (MRI) kullanılmaktadır. Teşhis için kullanılan yöntemlerden biri de immunolojik testlerdir. Bunlar; Presipitin test, IHAT, ELISA ve Western Blot (WB)'dır (Özbakış, 2015).

Tek taraflı görme kaybı ve şaşılığı olan her çocukta OLM'den şüphelenilmelidir. OLM, öncelikle bir göz muayene sırasında klinik kriterlere göre teşhis edilmelidir. VLM için kullanılan immünodiyagnostik testler, OLM için yeterince güvenilir olmamaktadır. İmmunodiagnoziste TES-ELISA'nın spesifitesi ve sensitivitesi VLM teşhisi için kullanılırken, OLM'nin teşhisinde bu testlerin sensitivitesi oldukça düşüktür (Fan ve ark., 2015; McCarthy ve Moore, 2011).

Nörotoxocariasis teşhisi *T. canis* antikorlarının yüksek serum titreleri, kanda veya CSF'de eozinofili, anti-*T. canis* antikorlarının intratekal sentezinin gösterilmesi ve köpeklerle yakın temas öyküsü gibi birkaç bulguya dayanmaktadır. Çoğu vakada MSS'de var olan toxocarosisin antikor titresi kanda negatif bulunurken, serebrospinal sıvıda pozitif bulunmaktadır. Larvalar merkezi sinir sistemine girmiş ise eozinofili ve cerebrospinal sıvıda pleositozis görülmektedir. Antihelmintik tedavi sırasında BOS parametrelerinin normalleşmesi kadar klinik ve radyolojik iyileşme de tanıyı desteklemektedir (Xinou ve ark., 2003; Graeff-Teixeira ve ark., 2009). Eozinofili hemen hemen her zaman VLM'de bulunabilir, ancak gizli veya yaygın toxocariasisi olan hastalarda ve ayrıca OLM veya CNS (Magnaval ve ark., 2001) olan hastalarda bulunmayabilir. BOS proteinleri, toxocariasis hastalarının yaklaşık yarısında hafifçe yükselir ve glukoz seviyeleri genellikle normaldir (Eberhardt ve ark., 2005). Mevcut enfeksiyonun kesin teşhisi ancak enfekte dokunun histolojik incelemesi ile elde edilebilir.

Toxocara türlerinin larva ve diğer gelişim aşamalarındaki spesifik teşhislerinin sınırlı olması, çalışmaları geleneksel parazitolojik yaklaşımlardan moleküler çalışmalara

yöneltmiştir. Günümüzde insanlardaki toxocarosisin rutin teşhisinde serolojik testler (TES ELISA ve TES WB) kullanılmaktadır. Bu testler, enfeksiyonun olduğunu ancak oluşan sendroma hangi parazitlerin (*T. canis*, *T. cati*, vb.) neden olduğunu tür bazında ayırt edememekte ve multiparazitizmi olan hastalarda çapraz reaksiyonlar vermektedir. Bu sebeple insan dokusundaki larvaların teşhisi ve etken türlerinin belirlenmesi için moleküler tekniklerin kullanılması elzemdir (Gasser ve ark., 2006 ve Li ve ark., 2007).

2.8. Tedavi

Toxocariasisin tedavisinde albendazol genellikle tercih edilmektedir. Yapılan çalışmalar ile 5 günlük albendazol tedavisi gören hastaların (iki bölünmüş dozda 10 mg/kg vücut ağırlığı/gün), tiyabendazol ile tedavi gören hastalara göre daha iyi bir iyileşme gösterdiği kanıtlanmıştır (Sturchler ve ark., 1989). Günde iki kez 5 gün boyunca 400 mg albendazol dozu şu anda önerilen tedavi şeklidir. Mebendazolde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kortikosteroid uygulaması dahil semptomatik tedavi, enfeksiyonun yoğun alerjik belirtilerini bastırmada yardımcı olmaktadır. OLM ise cerrahi (vitrektomi), antelmintik kemoterapi ve/veya kortikosteroidlerle tedavi edilebilmektedir (Dinning ve ark., 1988; Small ve ark., 1989).

Nörotoxocariasis tedavisine ilişkin kontrollü çalışmaların genel olarak eksikliği, hastalığın nadir görülmesinden kaynaklanmaktadır. Nörolojik tutulumlu toxocariasis tedavisinde tiyabendazol (TBZ), mebendazol (MBZ), albendazol veya dietilkarbamazin (DEC) karışık şekilde uygulanmaktadır (Magnaval ve ark., 2001). 3 ile 7 gün süreyle 25 ile 50 mg/kg dozunda TBZ, VLM'nin klinik belirtilerinde %50 azalma ile sonuçlanırken, 3 hafta boyunca günlük 20-25 mg/kg dozunda MBZ, klinik belirtilerde %70 azalma ile sonuçlanmıştır. MBZ, VLM için DEC ile benzer şekilde etkili görünmesine rağmen DEC yüksek bir alerjik reaksiyon riski ile karakterizedir (Magnaval ve ark., 2001).

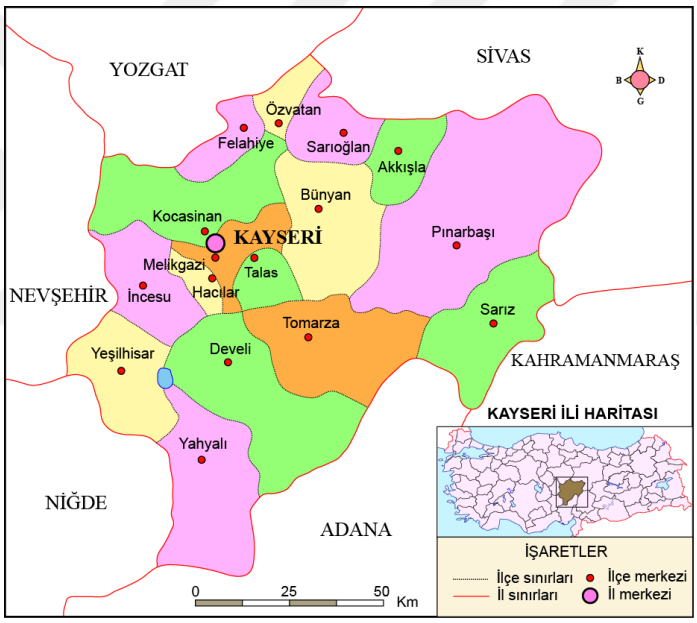
Albendazolün bağırsak nematod enfeksiyonu ve sistiserkoz ve hidatidoz gibi bazı nörohelmintlerin tedavisinde de etkili olduğu kanıtlanmıştır. Genel olarak, albendazol, VLM tedavisinde tiyabendazolden biraz daha etkili görünmektedir (Magnaval ve ark., 2001; Vidal ve ark., 2003). Çalışmalar, nörotoxocariasisin tedavisinde albendazolün farmakolojik profili nedeniyle diğer antelmintik ilaçlardan daha iyi olduğunu göstermektedir. 5 gün süreyle günde 5-15 mg/kg albendazol dozu önerilmektedir ancak

doz nörolojik hastalarda değerlendirilmemiştir (Pawlowski, 2001). CNS toksokariyazının tedavisinde kortikosteroidlerin kullanımı konusunda bir fikir birliği yoktur. Toxocariasisin bazı vaka raporlarında, tek başına antelmintik ile iyileşme bildirirken, yoğun inflamatuar yanıt veya immün vaskülit varlığının neden olduğu ciddi nörolojik semptomları olan hastaların kortikosteroid tedavisinden de fayda gördükleri bildirilmiştir (Vidal ve ark., 2003).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Sahası

Çalışma, 2019-2020 yılları arasında Kayseri yöresindeki sahipli ve sahipsiz 115 kedi dışkısı örneği üzerinde yürütülmüştür (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Araştırma sahası

3.2. Dışkı Örneklerinin Toplanması

Araştırma süresi içerisinde kedilerin dışkılamasını takiben yerden toplanan örnekler naylon poşetlere konularak protokol numarası verilmiş ve laboratuvara getirilmiştir. Örneklerin alımı sırasında herhangi bir kontaminasyonun olmasını engellemek amacıyla titiz ve tekniğine uygun olarak çalışılmış ve her bir örnek alımından sonra eldivenler değiştirilmiştir. Örnekler, ivedilikle soğuk zincirde laboratuvara intikal ettirilerek analizler yürütülmüştür.

3.3. Morfolojik İdentifikasyon

Laboratuvara getirilen örnekler *T. cati* yumurtalarının varlığı yönünden Fülleborn'un doymuş tuzlu su flotasyon yöntemi ile kontrol edilmiş ve pozitif örnekler belirlenmiştir.

3.4. Moleküler Analizler

3.4.1. Yumurta Süspansiyonlarından Genomik DNA İzolasyonu

Kedilere ait dışkı örneklerinden genomik DNA izolasyonu için Yıldırım ve ark. (2015), tarafından geliştirilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır.

Takip edilen basamaklar;

- Dışkı örneğinden karıştırıldıktan sonra 4 gr tartılarak içerisinde 42 ml distile su olan steril dışkı kabına aktarılmıştır.
- Steril baget ile homojen olana dek karıştırıldıktan sonra steril gazlı bez ile steril cam huni yardımıyla 50 ml falkon tüpe süzülerek üzerine 50 ml olacak şekilde steril distile su eklenmiştir.
- Süspansiyon 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiş ve santrifüj sonunda 2 ml sediment bırakılarak süpernatant dikkatlice atılmıştır.
- 2 ml çöküntü üzerine tekrar 50 ml olacak şekilde steril distile su eklenerek 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonunda 2 ml bırakılarak süpernatant dikkatlice atılmış ve bu sediment 15 ml santrifüj tüpüne aktarılmıştır.
- Üzerine 15 ml tamamlayacak şekilde doymuş şekerli su eklenerek kapağı kapatılıp 1.500 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonunda tüpler üzerinde şekerli su ile bombe oluşturulup üzerine taşırmayacak şekilde lamel kapatılmış ve tüpler 10 dk oda ısısında bekletilip süre sonunda lamel alınarak steril distile su ile her defasında 100 µl olacak şekilde 2 ml mikrosantrifüj tüplerine yıkanmıştır.
- Tüpler üzerine tekrar lamel kapatılarak aynı işlem ikinci kez tekrarlanmıştır.
- Mikrosantrifüj tüpler steril deiyonize su ile 2 ml'ye tamamlanarak ultra santrifüjde 15.300 rpm'de 3 dk santrifüj edilerek yumurtaların çökmesi sağlanmıştır.

- Santrifüj işlemi sonrasında dikkatlice süpernatant uzaklaştırılarak ependorf tüp içerisinde 120 µl hacimde yumurta süspansiyonu bırakılmıştır.
- Genomik DNA izolasyonuna geçmeden önce her bir örneğe ait yumurta süspansiyonu spin-vortekslenerek homojenize hale getirildikten sonra 10'ar µl iki kez örnek alınarak lam lamel arasında ışık mikroskobunda yumurta varlığı yönünden konfirme edilmiş ve yumurta sayımı yapılmıştır.
- Sonraki basamakta, elde edilen yumurta süspansiyonları 0,5 mm cam boncuklarla 5 dk homojenizatörde (Tissue Lyser LT; Qiagen) mekanik parçalanmaya tabii tutulmuştur.
- Sonrasında tüpler birer dakika olmak üzere 8 siklus sıvı azot ve kaynar suda tutularak yumurtaların tamamen parçalanması sağlanmıştır.

Daha sonra tüplerin üzerine 180 µl Digestion solüsyonu ve 20µl proteinase K ilave edilerek hemen vortekslenmiştir, 56°C'de 3 saat su banyosunda tutulmuştur. Tüplerden DNA ekstraksiyonu genomik DNA ekstraksiyon kiti (Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit) ile üreticinin açıklamalarına göre aşağıdaki gibi yapılmıştır.

a) Su banyosundan çıkartılan örneklerin üzerine 20 µL of RNase A solüsyonu eklenerek 10 dk oda ısısında beklemeye bırakılmıştır.
b) Süre sonunda 200 µL Lysis Solution eklenerek homojen bir karışım elde edilinceye kadar 15 saniye vortekslenmiştir.
c) 400 µL %50'lik etanol eklenerek vortekslenmiştir.
d) Hazırlanan lizat GeneJET Genomic DNA Purification Column tüpüne aktarılarak 6000×g'de santrifüj edilmiştir.
e) GeneJET Genomik DNA Purification Column yeni bir 2 mL collection tüpüne yerleştirilmiştir.
f) Üzerine 500 µL Wash Buffer I eklenerek 8000×g de 1 dk santrifüj edilmiştir.
g) Columndan süzülerek ependorfun dibine çöken sıvı uzaklaştırılmış ve columnlar tekrar bu tüplerin içerisine yerleştirilmiştir. Üzerine 500 µL Wash Buffer II eklenerek maksimum devirde (12000×g) 3 dk santrifüj edilmiştir
h) Santrifüjden sonra alttaki kısım tekrar dökülerek herhangi bir solüsyon eklenmeden boş tüpler maksimum devirde 1 dakika daha santrifüj edilmiştir.

i) Herbir örneğe ait columnlar 1,5 ml'lik yeni steril ependorf tüplerine yerleştirilmiştir. Üzerlerine, 50 µl Elution buffer ilave edilerek oda ısısında 2 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 8000×g'de 1 dakika santrifüj yapılarak genomik DNA elde edilmiştir. Elde edilen DNA'lar analize tabi tutulana kadar derin dondurucuda (-20ºC) muhafaza edilmiştir.

Elde edilen genomik DNA ekstraktlarından alınacak örnekler Qubit® Fluorometric Quantitation (Life Technologies) cihazında işlenerek DNA izolasyon etkinliği ve total genomik DNA miktarları (ng/µl) belirlenmiştir.

3.4.2. Mitochondrial (mt) Cytochrome c Oxidase Subunit 1 (cox1) Gen Bölgesinin Amplifikasyonu

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 ilgili protokole göre PCR analizleri gerçekleştirilmiştir (Fava ve ark., 2020).

Tablo 3.1. PCR'da *T. cati* identifikasyonunda kullanılan primerler

Hedef tür	Primer	Gen bölgesi	Referans
T. cati	ToxCoIF(5'-GATTTTACCTGCTTTTGGTATTATTAG-3')	COX1	(Fava ve ark., 2020)
	ToxCoIR(5'-CCAAAGACAGCACCCAAACT-3')		

PCR reaksiyonları 25µl final konsantrasyonda hazır kullanımlık Dream Taq Hot Start Green PCR Master Mix (2X) (Thermo Fisher Scientific), 0.4 µM her bir primer ve 10-20 ng kalıp DNA olacak şekilde hazırlanmıştır. Örnekler C1000 Touch thermalcycler cihazına (BioRad) yerleştirilerek, termal profil 94°C'de 5 dk; 35 siklus 94°C'de 1 dk, 52°C'de 40 sn ve 72°C'de 90 sn; 72°C'de 15 dk olarak ayarlanmış ve amplifikasyon gerçekleştirilmiştir.

PCR analizlerinin geçerliliğinin ve herhangi bir kontaminasyonun olup olmadığının test edilmesi amacıyla her analizde pozitif kontrol olarak ergin *T. cati*'den elden edilen genomik DNA'lar, negatif kontrol olarak ise sterilize edilmiş deiyonize su kullanılmıştır. PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen amplikonların görüntülenmesi amacıyla yatay elektroforez tankı (BioRad) kullanılmıştır. Toplam hacim 1 lt olacak

şekilde; 980 ml deiyonize su üzerine 20 ml 1XTAE (Tris-acetate-EDTA) buffer eklenerek elde edilen solüsyon hem jel hazırlanmasında hem de elektroforez tankının içerisinin doldurulmasında kullanılmıştır. Ürünlerin görüntülenmesinde %1,5'lik agaroz jel hazırlanmıştır. Elde edilen PCR ürünlerinin her birinden 5 µl alınıp 130 V'da 30 dk, jel elektroforeze tabii tutulmuştur. Sonuçlar Gene Snap from Syngene analiz programı (UVP INC Uplant, CA) ile görüntülenip analiz edilmiştir.

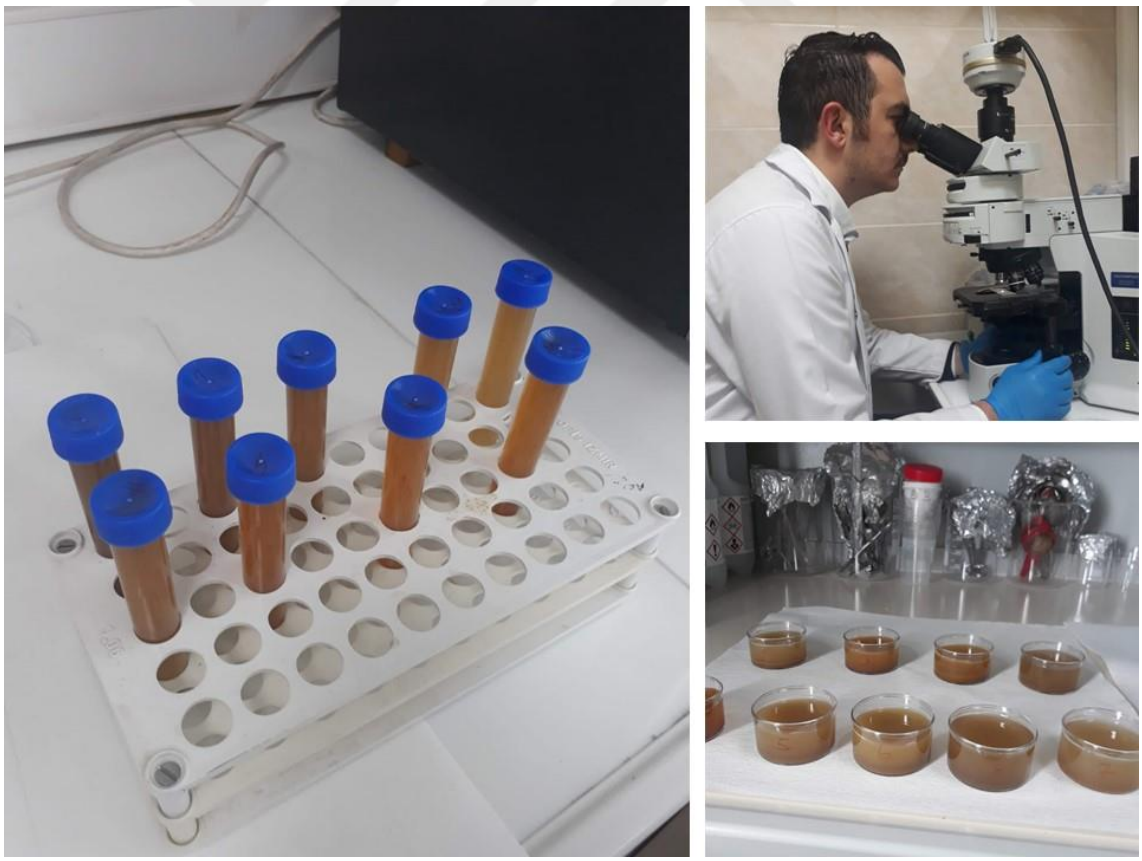
3.4.3. Mt-COI Gen Bölgesinin Gen Bölgesi Sekans ve Filogenetik Analizleri

PCR analizleri sonrası elde edilen *T. cati* yönünden pozitif amplikonların sekans analizleri gen spesifik forward ve reverse primer dizileri ile çift yönlü olarak gerçekleştirilmiştir (Macrogen Europe). Çift yönlü DNA dizisi belirlenen amplikonlara ait kromotogramlar dikkatlice analiz edildikten sonra Geneious Prime 2020.2.4 (Kearse ve ark., 2012) yazılımı ile forward ve reverse dizilimlerin ikili birleştirilmeleri yapılarak 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 (Kearse ve ark., 2012) üzerinden BLASTn (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) algoritması kullanılarak mevcut homolog veya yakın izolatlara ait ilgili gen bölgesi sekanslarıyla çoklu hizalamaları yapılarak moleküler karakterizasyonları sağlanmış ve akabinde GenBank kayıtları sağlanmıştır. Çalışmada karakterize edilen izolatlarda DNA polimorfizmi ve haplotip yapısının belirlenmesinde DnaSP 6.12.03 (Librado ve Rozas, 2009) yazılımı kullanılmıştır. Intra ve interspesifik genetic farklılıklar Tamura-Nei uzaklık modeli (Kimura, 1980; Nei ve Kumar, 2005) kullanılarak MEGA X 10.0.5 yazılımında (Tamura ve ark., 2013) 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 (Posada, 2008) kullanılmış ve en düşük AIC (Akaike Information, Criterion, correction) değerine sahip belirlenen modeller filogenetik ağaçların oluşturulmasında kullanılmıştır. ML analizleri Geneious Prime 2020.2.4 (Kearse ve ark., 2012) yazılımı üzerinden sırasıyla PhyML (Guindon ve Gascuel, 2003) plugin kullanılarak gerçekleştirilmiştir. ML analizleriyle oluşturulan ağaçların güvenilirliğinin tespit edilmesinde 1000 tekrarlı Bootstrap testi kullanılmıştır.

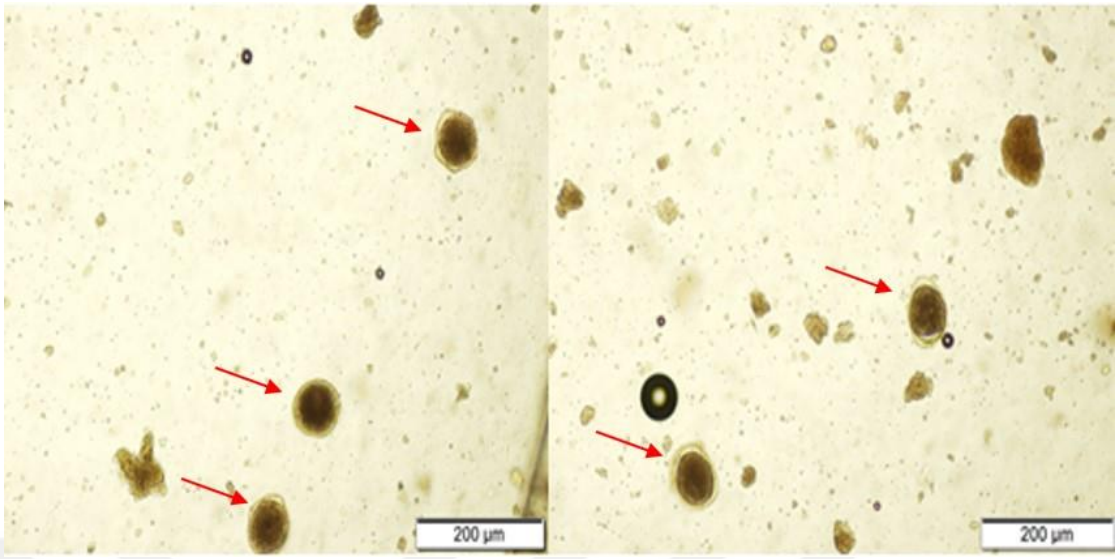
4. BULGULAR

4.1. Dışkı Muayenesi Sonuçları

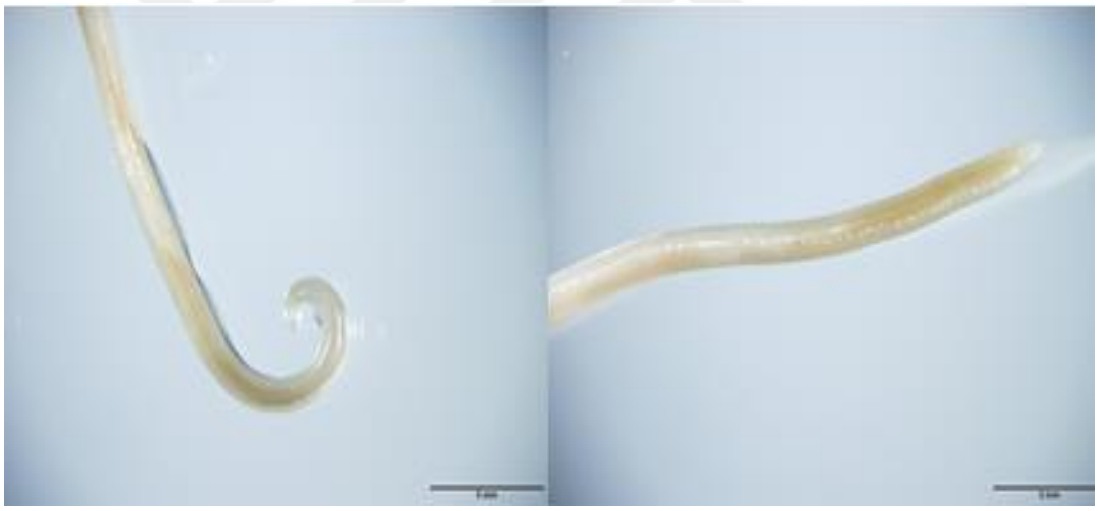
Araştırma sahasından toplanan toplam sahipli veya sahipsiz 115 kedi dışkısının flotasyon yöntemi ile incelenmesi (Şekil 4.1) sonucunda 17 (%14,8) dışkı örneğinin *Toxocara* yumurtaları yönünden pozitif (Şekil 4.2) olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.1). Aynı zamanda dışkının makroskobik incelemesi sırasında ergin parazitler de tespit edilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.1. Dışkı örneklerinin *Toxocara* yumurtaları yönünden mikroskobik incelemesi (Orijinal)



Şekil 4.2. Dışkı örneklerinde belirlenen *Toxocara* yumurtaları (Orijinal)



Şekil 4.3. Dışkı örneklerinde belirlenen ergin parazitler (Orijinal)

4.2. Moleküler Analiz Sonuçları

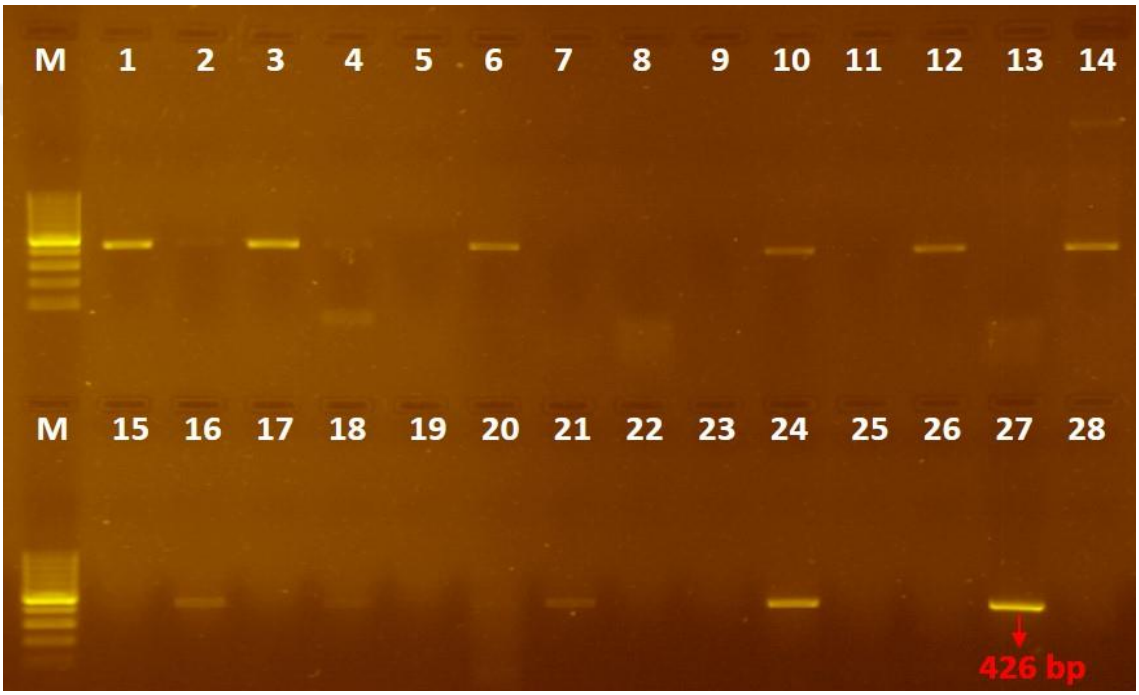
4.2.1. Mt-COI Gen Bölgesinin Amplifikasyon Sonuçları

Kayseri yöresindeki 115 kediye ait dışkı örneklerinden elde edilen gDNA'lardan *T. cati* türlerinin mt-COI gen bölgesini çoğaltan ToxCoIF-ToxCoIR primerleriyle yapılan PCR analizleri sonucu 21 (%18,3) örneğin pozitif olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Sahipli ve sahipsiz kedilerde *T. cati*'nin mikroskobik ve moleküler analiz sonuçları

Teşhis Yöntemi	Sahipli Kedi (Pozitif/n) (%)	Sahipsiz Kedi (Pozitif/n) (%)	Toplam
Mikroskobik bakı	1/18 (%5,6)	16/97 (%16,5)	17/115 (%14,8)
PCR	1/18 (%5,6)	20/97 (%20,6)	21/115 (%18,3)

Analizlerde amplifikasyonu sonucu yaklaşık 426 bp uzunluğu arasında band elde edilen örnekler pozitif olarak kabul edildi. PCR analizleri ile pozitif belirlenen bazı izolatların agaroz jel üzerinde görünümleri Şekil 4.4'de verilmiştir.



Şekil 4.4. *Toxocara* izolatlarının Mt-COI gen bölgesini amplifiye eden primerler ile PCR sonucu elde edilen amplikonların jel elektroforezde görünümü. M: Marker (100bp);1- 26: Örnekler, 27: Pozitif kontrol; 28: No DNA

4.2.2. Mt-COI Gen Bölgesi Sekans Analizi Sonuçları

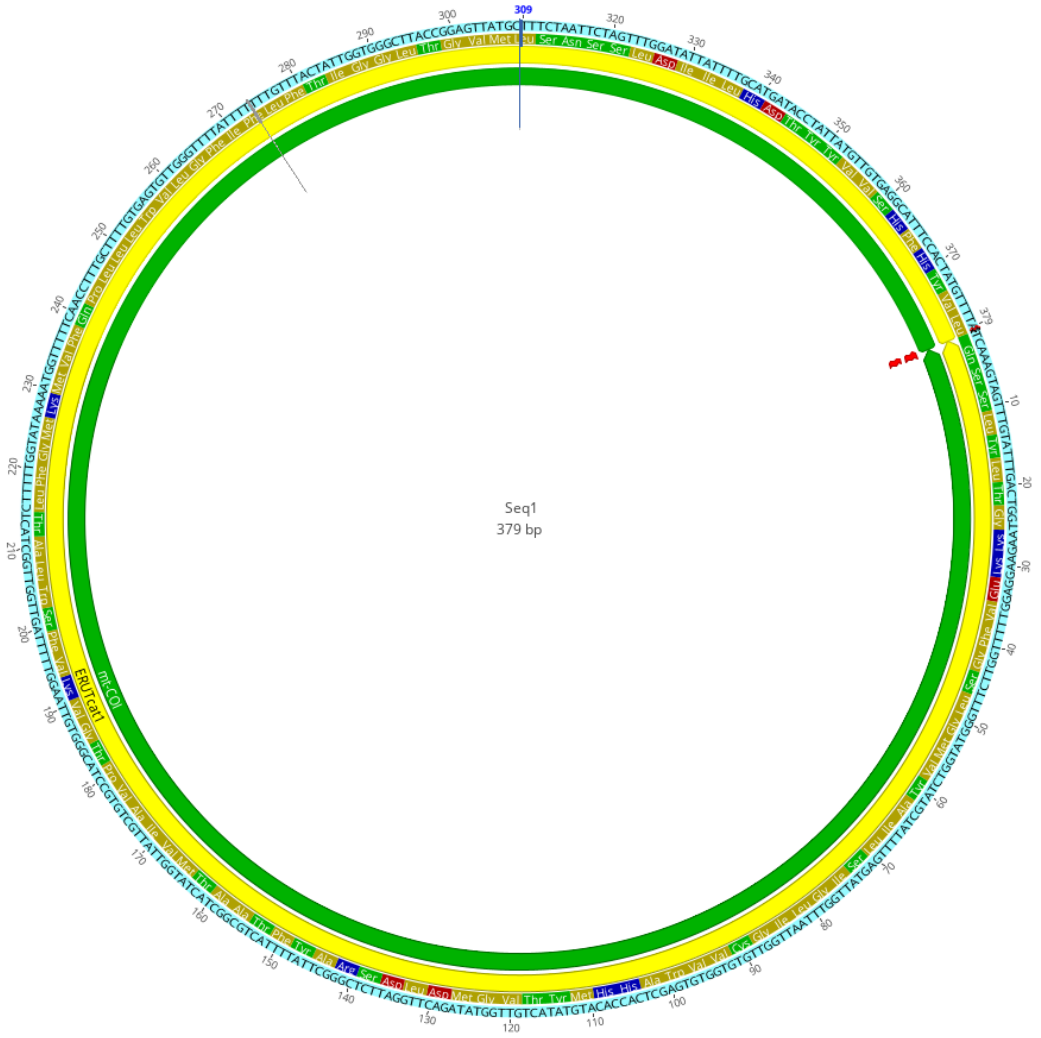
PCR analizleri ile pozitif belirlenen 21 izolat sekans analizlerine tabii tutulmuştur. İlgili izolatların mt-COI amplikonları ToxCoIF ve ToxCoIR primerleri ile sekanslanmış ve sonrasında kalite soru yüksek (q>20) kromotogramlar elde edilmiştir. Forward ve reverse dizilimlerin De Novo analizleri ile birleştirilmesi sonucu izolatlara ait yüksek kalitede skorlarına sahip ortak dizilim elde edilmiştir.

Toxocara cati izolatlarından %100 identik olanlardan 5 izolatın GenBank kaydı gerçekleştirilmiştir (Tablo 4.2) (Şekil 4.5-4.9). İlgili sekanslar GenBank veri tabanında

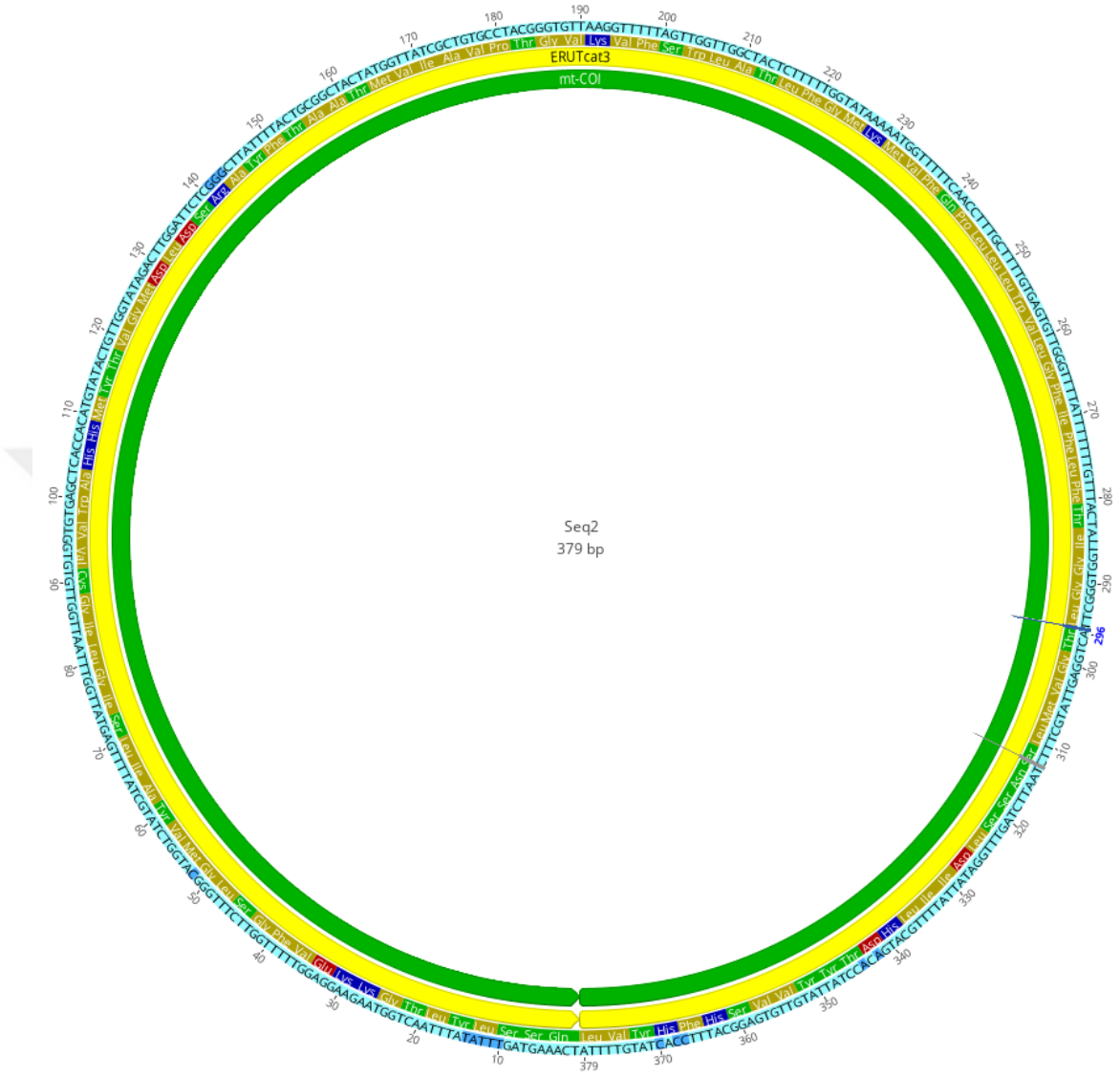
Blastn analizlerine tabii tutularak moleküler identifikasyonları sağlanmış ve filogenetik analizler için elde edilen izolatlara ait sekansla birlikte Türkiye ve Dünyanın farklı bölgelerinden GenBank veri tabanına kaydedilmiş *T. cati*, *T. canis*, *T. vitulorum* ve *Toxascaris leonina* izolatlarını içeren toplam 24 sekanstan oluşan Mt-COI data seti oluşturulmuştur.

Tablo 4.2. *Toxocara cati* Kayseri izolatlarının gen bölgesi, izolasyon kaynağı ve GenBank aksesyon numaraları

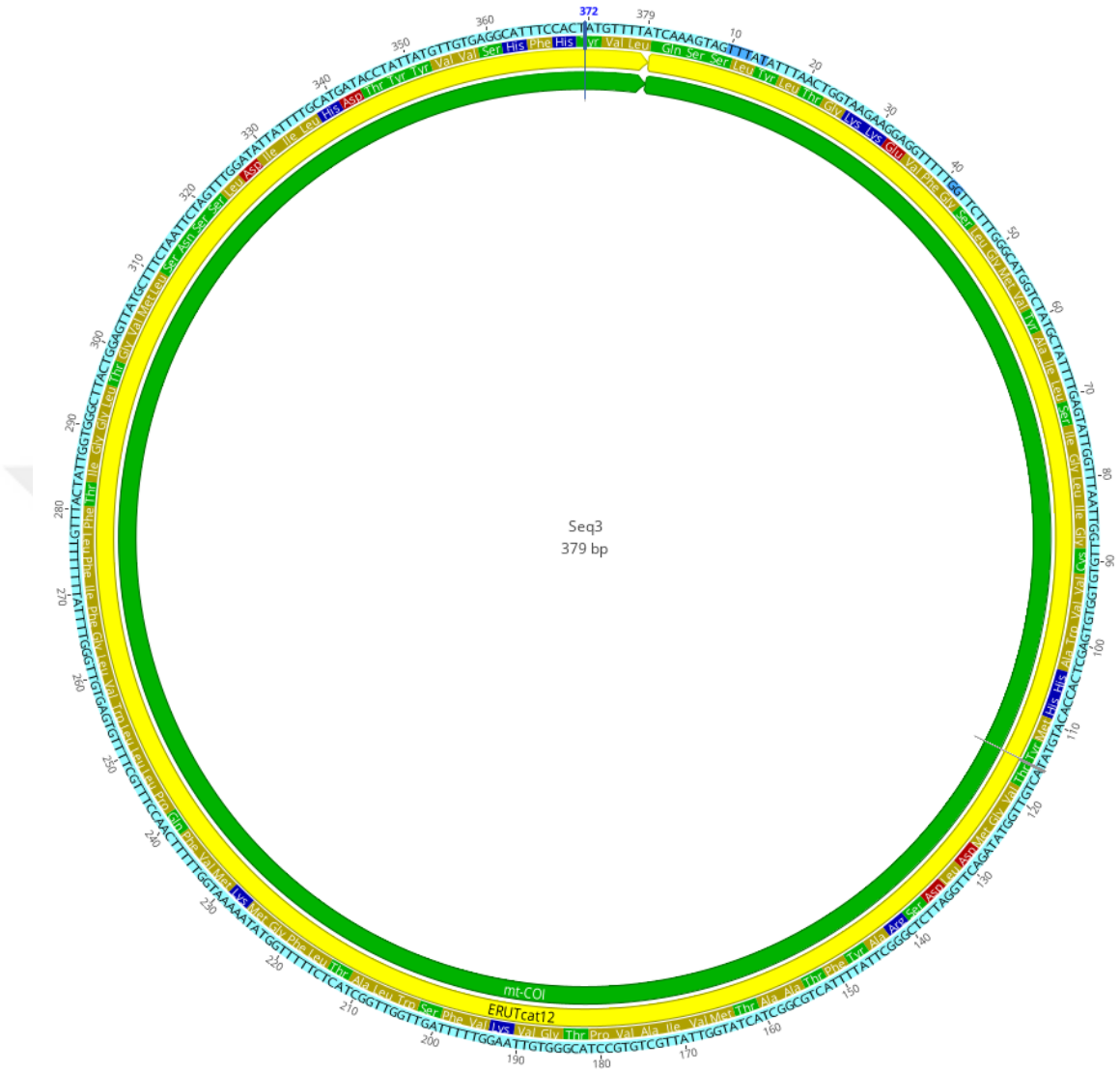
İzolat	Gen Bölgesi	İzolasyon kaynağı	GenBank Aksesyon Numarası
ERUTcat1	Mt-COI	Kedi dışkısı	MW094215
ERUTcat3	Mt-COI	Kedi dışkısı	MW094216
ERUTcat12	Mt-COI	Kedi dışkısı	MW094217
ERUTcat30	Mt-COI	Kedi dışkısı	MW094218
ERUTcat34	Mt-COI	Kedi dışkısı	MW094219



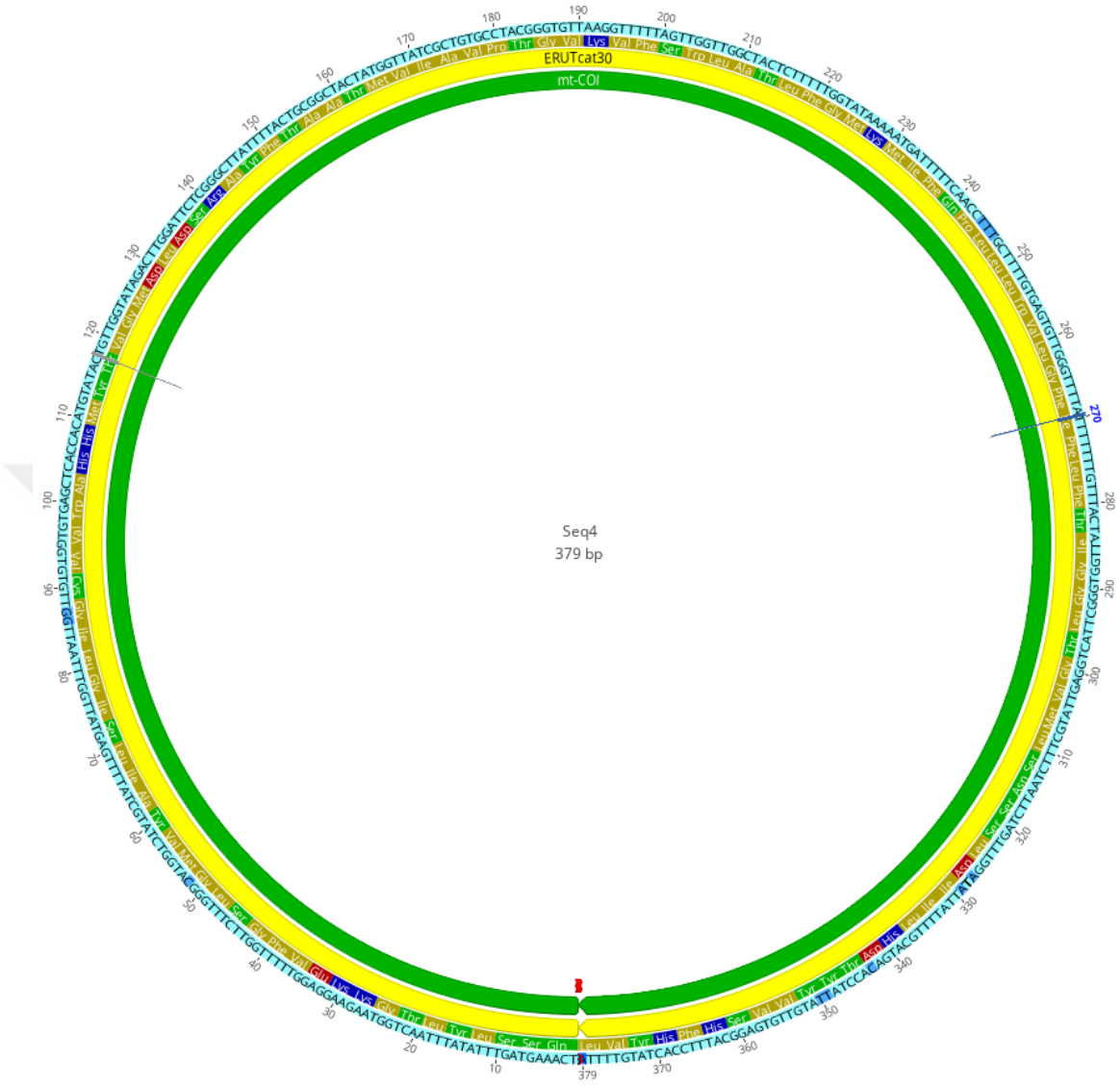
Şekil 4.5. ERUTcat1 izolatının Mt-COI gen bölgesi nükleotid ve aminoasit dizilimleri (MW094215) (Primer trimlenmiş hali)



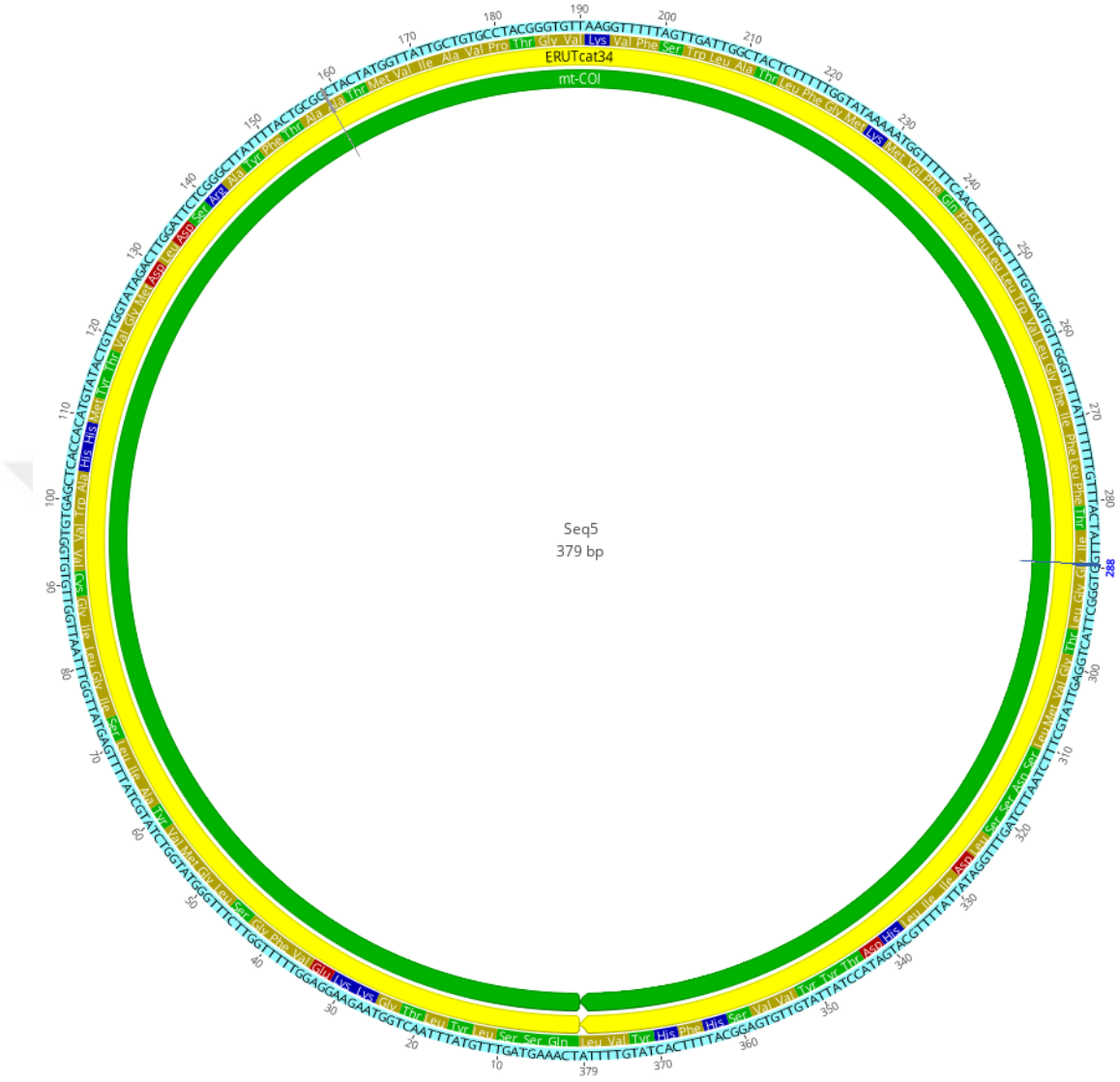
Şekil 4.6. ERUTcat3 izolatının Mt-COI gen bölgesi nükleotid ve aminoasit dizilimleri (MW094216) (Primer trimlenmiş hali)



Şekil 4.7. ERUTcat12 izolatının Mt-COI gen bölgesi nükleotid ve aminoasit dizilimleri (MW094217) (Primer trimlenmiş hali)



Şekil 4.8. ERUTcat30 izolatının Mt-COI gen bölgesi nükleotid ve aminoasit dizilimleri (MW094218) (Primer trimlenmiş hali)



Şekil 4.9. ERUTcat34 izolatının Mt-COI gen bölgesi nükleotid ve aminoasit dizilimleri (MW094219) (Primer trimlenmiş hali)

Kayseri yöresindeki kedilerden toplanan dışkı örneklerinde saptanan *Toxocara cati* izolatlarıyla, Türkiye'den ve dünyanın farklı coğrafik bölgelerinden izole edilip GenBank veri tabanına kaydedilmiş diğer bazı *T. cati, T. canis, T. vitulorum* ve *T. leonina* izolatlarının Mt-COI gen bölgesi yönünden blastn kıyaslaması yapılmış olup bu izolatlara ait bilgiler ve aksesyon numaraları Tablo 4.3'de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Filogenetik analizlere dahil edilen diğer bazı *T. cati, T. canis, T. vitulorum* ve *T. leonina* izolatlarının aksesyon numaraları ve izolatlara ait bilgiler

Tür	İzolat	Orijin	İzolasyon kaynağı	Gen Bölgesi	Aksesyon Numarası
Toxocara cati	Tcat3	İngiltere	Kedi	Mt-COI	AJ920057
Toxocara cati	-	Çin	Kedi	Mt-COI	AM411622
Toxocara cati	Tcat1	İran	Kedi	Mt-COI	KC200179
Toxocara cati	Tcat4	İran	Kedi	Mt-COI	KC200182
Toxocara cati	Tcat10	İran	Kedi	Mt-COI	KC200188
Toxocara cati	Tcat34	İran	Kedi	Mt-COI	KC200212
Toxocara cati	-	Polonya	Kedi	Mt-COI	KX963446
Toxocara cati	CML1	Malezya	Kedi	Mt-COI	MT359293
Toxocara cati	CRU3	Rusya	Kedi	Mt-COI	MT359305
Toxocara cati	Tcat2	İran	Kedi	Mt-COI	MT942617
Toxocara canis	-	Çin	Köpek	Mt-COI	AM411108
Toxocara canis	Tcat7	İran	Köpek	Mt-COI	KC293905
Toxocara canis	CL36-13-NEMa-intestines_W16	Almanya	Köpek	Mt-COI	KX962441
Toxocara canis	DJA1	Japonya	Köpek	Mt-COI	MT359301
Toxocara canis	DRU6	Rusya	Köpek	Mt-COI	MT359314
Toxocara vitulorum	-	Almanya	Sığır	Mt-COI	KY313642
Toxocara vitulorum	TV3	Türkiye	Sığır	Mt-COI	MG911730
Toxascaris leonina	Tleo3-1	Avustralya	Köpek	Mt-COI	AJ920063
Toxascaris leonina	T.leo2	İran	Köpek	Mt-COI	KC293927

Kayseri yöresindeki kedilerden toplanan dışkı örneklerinde saptanan *Toxocara cati* izolatlarıyla, Türkiye'den ve dünyanın farklı coğrafik bölgelerinden izole edilip GenBank veri tabanına kaydedilmiş diğer bazı *T. cati, T. canis, T. vitulorum* ve *T. leonina* izolatlarının çoklu hizalama analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizler sonucu, Mt-COI gen bölgesi için elde edilen nükleotid kompozisyonları Tablo 4.4'de verilmiş

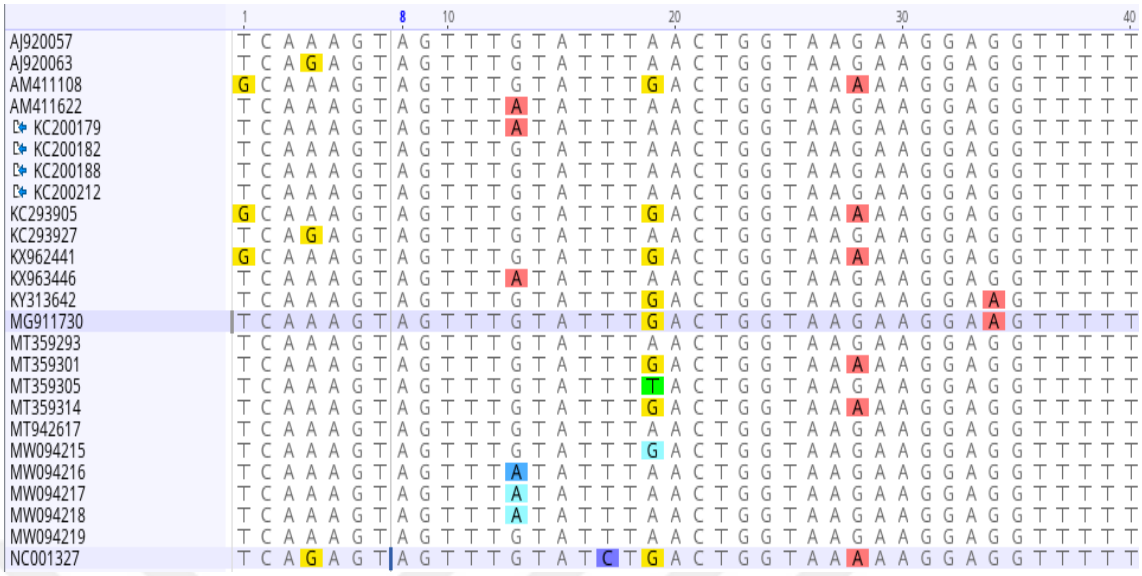
olup tüm izolatlar arasındaki genetik farklılıklar Şekil 4.10'da ve her izolata ait sekans farklılıklarının kıyaslamalı görüntüsü ise Şekil 4.11'de gösterilmiştir.

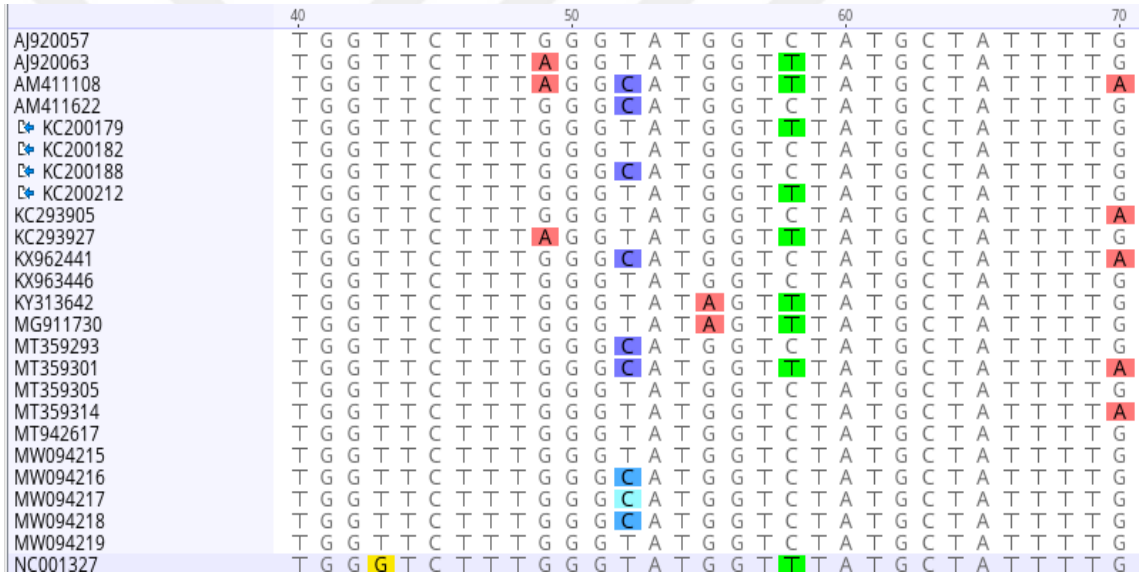
Tablo 4.4. Filogenetik analizlere dahil edilen *T. cati, T. canis, T. vitulorum* ve *T. leonina* izolatlarının nükleotid kompozisyonları

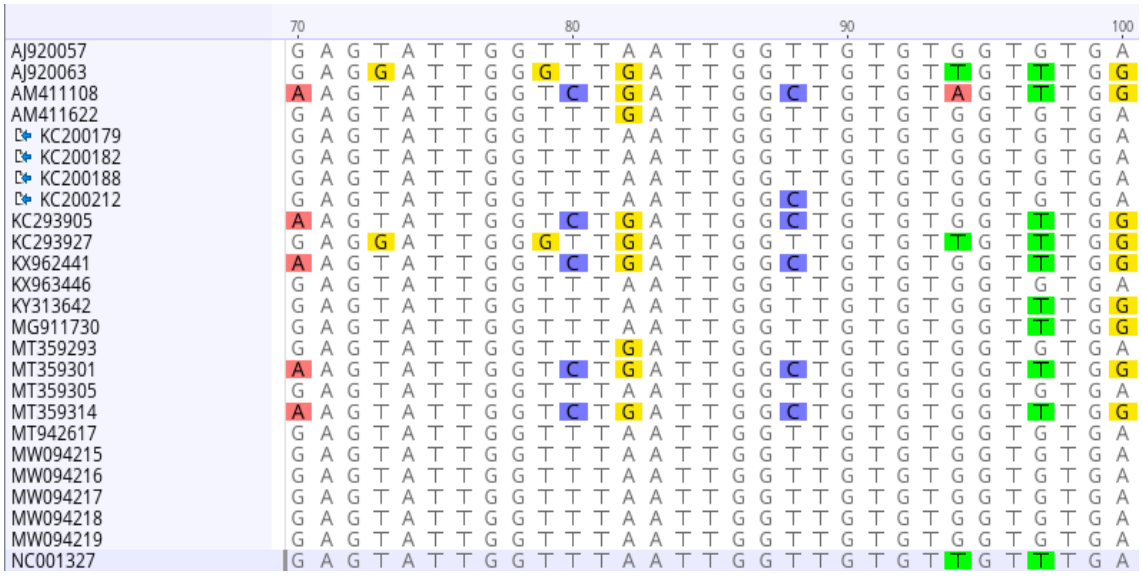
Aksesyon No	T (%)	C (%)	A (%)	G (%)	A+T (%)	G+C (%)	Toplam nükleotid sayısı
AJ920057	45,6	10,8	18,3	25,3	63,9	36,1	360,0
AJ920063	47,2	8,6	18,1	26,1	65,3	34,7	360,0
AM411108	42,8	11,7	18,3	27,2	61,1	38,9	360,0
AM411622	44,7	11,7	18,3	25,3	63,1	36,9	360,0
KC200179	45,6	10,8	18,6	25,0	64,2	35,8	360,0
KC200182	45,6	10,8	18,3	25,3	63,9	36,1	360,0
KC200188	45,3	11,1	18,3	25,3	63,6	36,4	360,0
KC200212	45,6	10,8	18,3	25,3	63,9	36,1	360,0
KC293905	43,3	10,8	17,8	28,1	61,1	38,9	360,0
KC293927	46,7	8,9	18,1	26,4	64,7	35,3	360,0
KX962441	42,8	11,4	17,8	28,1	60,6	39,4	360,0
KX963446	45,6	10,8	18,9	24,7	64,4	35,6	360,0
KY313642	46,4	10,6	18,6	24,4	65,0	35,0	360,0
MG911730	46,7	10,6	18,6	24,2	65,3	34,7	360,0
MT359293	44,4	11,9	17,8	25,8	62,2	37,8	360,0
MT359301	42,2	12,2	17,8	27,8	60,0	40,0	360,0
MT359305	45,8	10,8	18,1	25,3	63,9	36,1	360,0
MT359314	43,3	11,1	17,8	27,8	61,1	38,9	360,0
MT942617	45,6	10,8	18,3	25,3	63,9	36,1	360,0
MW094215	45,3	11,1	18,1	25,6	63,3	36,7	360,0
MW094216	44,7	11,7	18,6	25,0	63,3	36,7	360,0
MW094217	45,3	11,1	18,6	25,0	63,9	36,1	360,0
MW094218	44,7	11,7	18,9	24,7	63,6	36,4	360,0
MW094219	45,6	10,8	18,6	25,0	64,2	35,8	360,0
NC001327	46,7	10,6	18,6	24,2	65,3	34,7	360,0
Ortalama	45,1	10,9	18,3	25,7	63,4	36,6	360,0

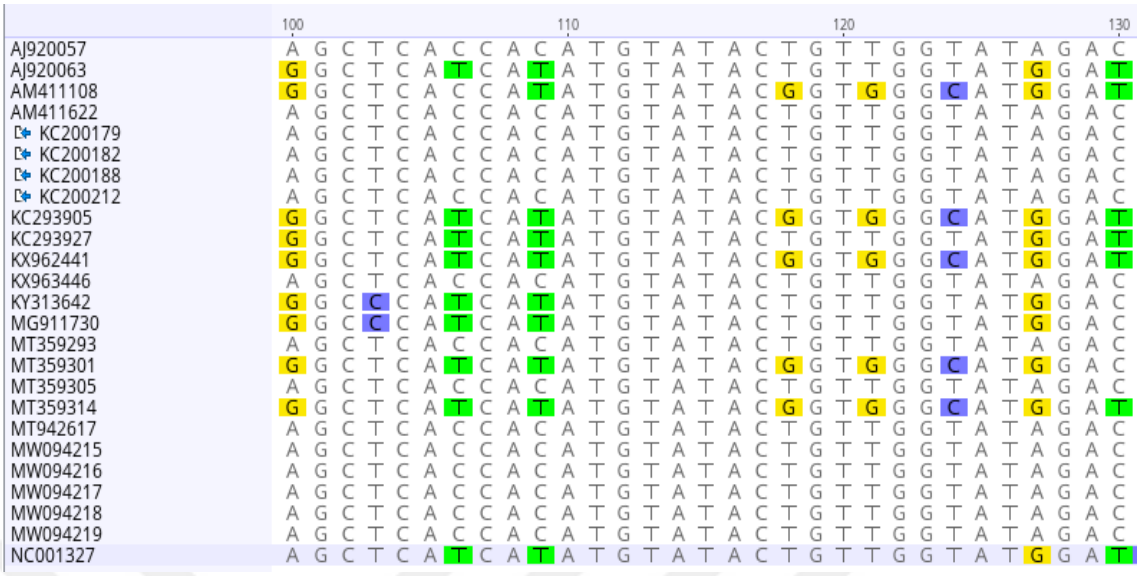
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1. AJ920057 Toxocara cati isolate Tcat3 United Kingdom		0.02	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.02	0.02	0.00	0.02	0.02	0.01	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.02
2. AJ920063 Toxascaris leonina isolate Tleo3-1 Australia	0.09		0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.00	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
3. AM411108 Toxocara canis China	0.15	0.12		0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03
4. AM411622 Toxocara cat China	0.01	0.11	0.15		0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02
5. KC200179 Toxocara cati isolate Tcat1 Iran	0.01	0.09	0.15	0.02		0.00	0.01	0.00	0.02	0.02	0.02	0.00	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.00	0.01	0.01	0.00	0.01	0.01	0.02
6. KC200182 Toxocara cati isolate Tcat4 Iran	0.00	0.09	0.15	0.01	0.01		0.00	0.00	0.02	0.02	0.02	0.00	0.02	0.02	0.01	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.02
7. KC200188 Toxocara cati isolate Tcat10 Iran	0.00	0.10	0.14	0.01	0.01	0.00		0.00	0.02	0.02	0.02	0.00	0.02	0.02	0.01	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.02
8. KC200212 Toxocara cati isolate Tcat34 Iran	0.01	0.09	0.14	0.02	0.01	0.01	0.01		0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	0.00	0.02	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.02
9. KC293905 Toxocara canis isolate T.can7 Iran	0.12	0.12	0.03	0.13	0.13	0.12	0.13	0.12		0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.00	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
10. KC293927 Toxascaris leonina isolate T.leo2 Iran	0.09	0.01	0.13	0.10	0.09	0.09	0.09	0.09	0.12		0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
11. KX962441 Toxocara canis CL36-13-NEMa-intestines W16 Germany	0.12	0.13	0.04	0.13	0.13	0.12	0.12	0.12	0.01	0.13		0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03
12. KX963446 Toxocara cati Poland	0.01	0.10	0.15	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.12	0.09	0.12		0.02	0.02	0.01	0.02	0.00	0.02	0.00	0.01	0.01	0.00	0.01	0.00	0.02
13. KY313642 Toxocara vitulorum Germany	0.09	0.12	0.15	0.11	0.09	0.09	0.09	0.09	0.13	0.12	0.14	0.10		0.00	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
14. MG911730 Toxocara vitulorum isolate TV3 Turkey	0.09	0.11	0.15	0.11	0.09	0.09	0.10	0.09	0.14	0.12	0.15	0.10	0.00		0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
15. MT359293 Toxocara cati isolate CML1 Malaysia	0.02	0.11	0.15	0.01	0.03	0.02	0.01	0.02	0.13	0.10	0.12	0.02	0.10	0.11		0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02
16. MT359301 Toxocara canis isolate DJA1 Japan	0.13	0.14	0.04	0.13	0.13	0.13	0.13	0.12	0.03	0.14	0.04	0.13	0.13	0.13	0.12		0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03
17. MT359305 Toxocara cati isolate CRU3 Russia	0.00	0.10	0.15	0.02	0.01	0.00	0.01	0.01	0.12	0.09	0.12	0.01	0.09	0.09	0.02	0.13		0.02	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.02
18. MT359314 Toxocara canis isolate DRU6 Russia	0.12	0.12	0.04	0.13	0.13	0.12	0.13	0.12	0.01	0.12	0.01	0.12	0.13	0.14	0.13	0.03	0.12		0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03
19. MT942617 Toxocara cati isolate Tcat2 Iran	0.00	0.09	0.15	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.12	0.09	0.12	0.01	0.09	0.09	0.02	0.13	0.00	0.12		0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.02
20. MW094215 Toxocara cati isolate ERUTcat1 Turkey	0.01	0.10	0.15	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.12	0.09	0.12	0.01	0.09	0.09	0.02	0.13	0.01	0.12	0.01		0.01	0.01	0.01	0.00	0.02
21. MW094216 Toxocara cati isolate ERUTcat3 Turkey	0.01	0.11	0.15	0.00	0.01	0.01	0.01	0.02	0.14	0.10	0.13	0.01	0.10	0.11	0.01	0.13	0.01	0.14	0.01	0.02		0.00	0.00	0.01	0.02
22. MW094217 Toxocara cati isolate ERUTcat12 Turkey	0.01	0.10	0.15	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.13	0.09	0.12	0.01	0.10	0.10	0.02	0.13	0.01	0.13	0.01	0.01	0.01		0.01	0.00	0.02
23. MW094218 Toxocara cati isolate ERUTcat30 Turkey	0.01	0.11	0.16	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02	0.14	0.11	0.13	0.01	0.11	0.11	0.01	0.13	0.02	0.14	0.01	0.02	0.00	0.01		0.01	0.02
24. MW094219 Toxocara cati isolate ERUTcat34 Turkey	0.00	0.10	0.15	0.02	0.01	0.00	0.01	0.01	0.13	0.09	0.13	0.01	0.09	0.10	0.02	0.13	0.01	0.13	0.00	0.01	0.01	0.01	0.02		0.02
25. NC001327 Ascaris suum	0.11	0.08	0.16	0.13	0.11	0.11	0.11	0.11	0.15	0.08	0.17	0.12	0.11	0.11	0.13	0.16	0.11	0.15	0.11	0.10	0.13	0.12	0.13	0.11	

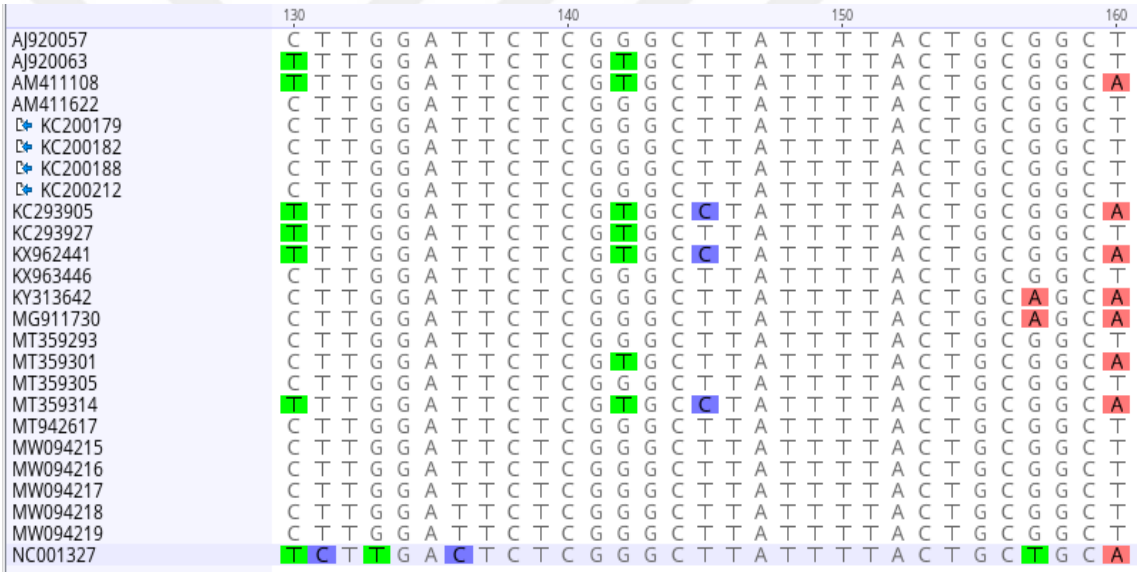
Şekil 4.10. Filogenetik analizlere dahil edilen *T. cati, T. canis, T. vitulorum* ve *T. leonina* izolatlarının Mt-COI gen dizilimlerinin pairwise analizleri

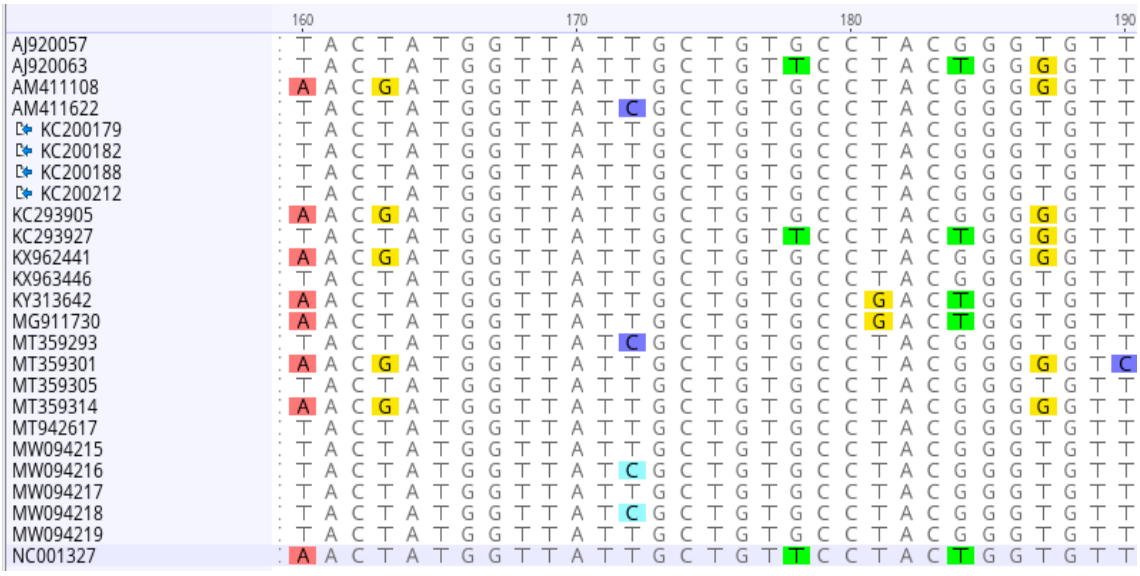

1 8 10 20 30 40
AJ920057 TCAAAGTAGTTGTATTTAACTGGTAAGAAGGAGGTTTTT
AJ920063 TCAGAGTAGTTGTATTTAACTGGTAAGAAGGAGGTTTTT
AM411108 GCAAAGTAGTTGTATTTGACTGGTAAAAAGGAGGTTTTT
AM411622 TCAAAGTAGTTTATATTTAACTGGTAAGAAGGAGGTTTTT
KC200179 TCAAAGTAGTTTATATTTAACTGGTAAGAAGGAGGTTTTT
KC200182 TCAAAGTAGTTGTATTTAACTGGTAAGAAGGAGGTTTTT
KC200188 TCAAAGTAGTTGTATTTAACTGGTAAGAAGGAGGTTTTT
KC200212 TCAAAGTAGTTGTATTTAACTGGTAAGAAGGAGGTTTTT
KC293905 GCAAAGTAGTTGTATTTGACTGGTAAAAAGGAGGTTTTT
KC293927 TCAGAGTAGTTGTATTTAACTGGTAAGAAGGAGGTTTTT
KX962441 GCAAAGTAGTTGTATTTGACTGGTAAAAAGGAGGTTTTT
KX963446 TCAAAGTAGTTATATTTAACTGGTAAGAAGGAGGTTTTT
KY313642 TCAAAGTAGTTGTATTTGACTGGTAAGAAGGAGAGTTTTT
MG911730 TCAAAGTAGTTGTATTTGACTGGTAAGAAGGAGAGTTTTT
MT359293 TCAAAGTAGTTGTATTTAACTGGTAAGAAGGAGGTTTTT
MT359301 TCAAAGTAGTTGTATTTGACTGGTAAAAAGGAGGTTTTT
MT359305 TCAAAGTAGTTGTATTTTACTGGTAAGAAGGAGGTTTTT
MT359314 TCAAAGTAGTTGTATTTGACTGGTAAAAAGGAGGTTTTT
MT942617 TCAAAGTAGTTGTATTTAACTGGTAAGAAGGAGGTTTTT
MW094215 TCAAAGTAGTTGTATTTGACTGGTAAGAAGGAGGTTTTT
MW094216 TCAAAGTAGTTATATTTAACTGGTAAGAAGGAGGTTTTT
MW094217 TCAAAGTAGTTATATTTAACTGGTAAGAAGGAGGTTTTT
MW094218 TCAAAGTAGTTATATTTAACTGGTAAGAAGGAGGTTTTT
MW094219 TCAAAGTAGTTGTATTTAACTGGTAAGAAGGAGGTTTTT
NC001327 TCAGAGTAGTTGTATCTGACTGGTAAAAAGGAGGTTTTT

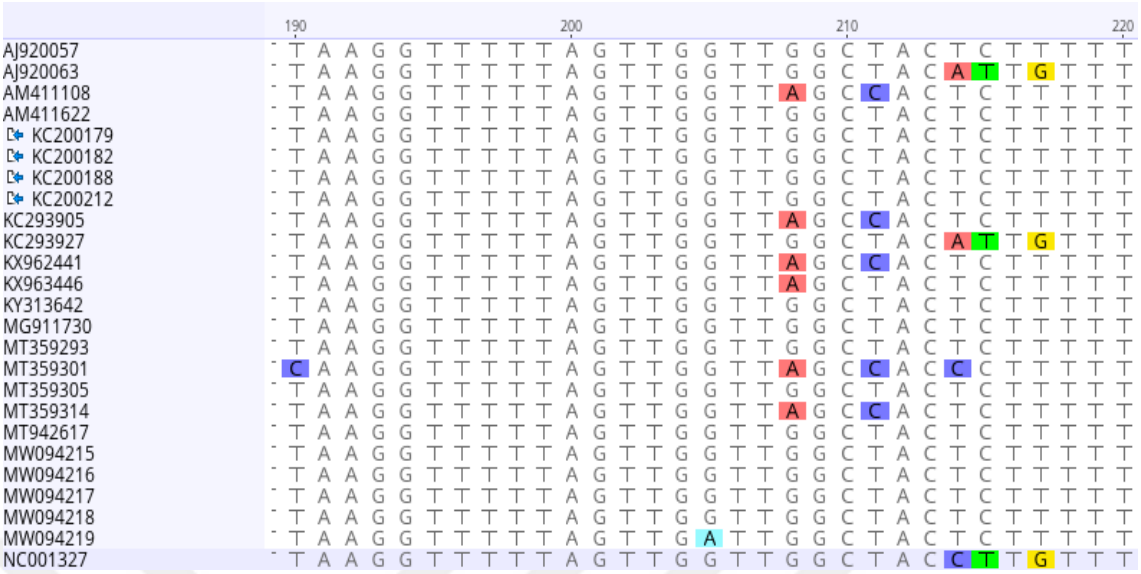

40 50 60 70
AJ920057 TGGTTCTTTGGGTATGGTCTATGCTATTTTG
AJ920063 TGGTTCTTTAGGTATGGTTTATGCTATTTTG
AM411108 TGGTTCTTTAGGCATGGTTTATGCTATTTTA
AM411622 TGGTTCTTTGGGCATGGTCTATGCTATTTTG
KC200179 TGGTTCTTTGGGTATGGTTTATGCTATTTTG
KC200182 TGGTTCTTTGGGTATGGTCTATGCTATTTTG
KC200188 TGGTTCTTTGGGCATGGTCTATGCTATTTTG
KC200212 TGGTTCTTTGGGTATGGTTTATGCTATTTTG
KC293905 TGGTTCTTTGGGTATGGTCTATGCTATTTTA
KC293927 TGGTTCTTTAGGTATGGTTTATGCTATTTTG
KX962441 TGGTTCTTTGGGCATGGTCTATGCTATTTTA
KX963446 TGGTTCTTTGGGTATGGTCTATGCTATTTTG
KY313642 TGGTTCTTTGGGTATAGTTTATGCTATTTTG
MG911730 TGGTTCTTTGGGTATAGTTTATGCTATTTTG
MT359293 TGGTTCTTTGGGCATGGTCTATGCTATTTTG
MT359301 TGGTTCTTTGGGCATGGTTTATGCTATTTTA
MT359305 TGGTTCTTTGGGTATGGTCTATGCTATTTTG
MT359314 TGGTTCTTTGGGTATGGTCTATGCTATTTTA
MT942617 TGGTTCTTTGGGTATGGTCTATGCTATTTTG
MW094215 TGGTTCTTTGGGTATGGTCTATGCTATTTTG
MW094216 TGGTTCTTTGGGCATGGTCTATGCTATTTTG
MW094217 TGGTTCTTTGGGCATGGTCTATGCTATTTTG
MW094218 TGGTTCTTTGGGCATGGTCTATGCTATTTTG
MW094219 TGGTTCTTTGGGTATGGTCTATGCTATTTTG
NC001327 TGGGTCTTTGGGTATGGTTTATGCTATTTTG

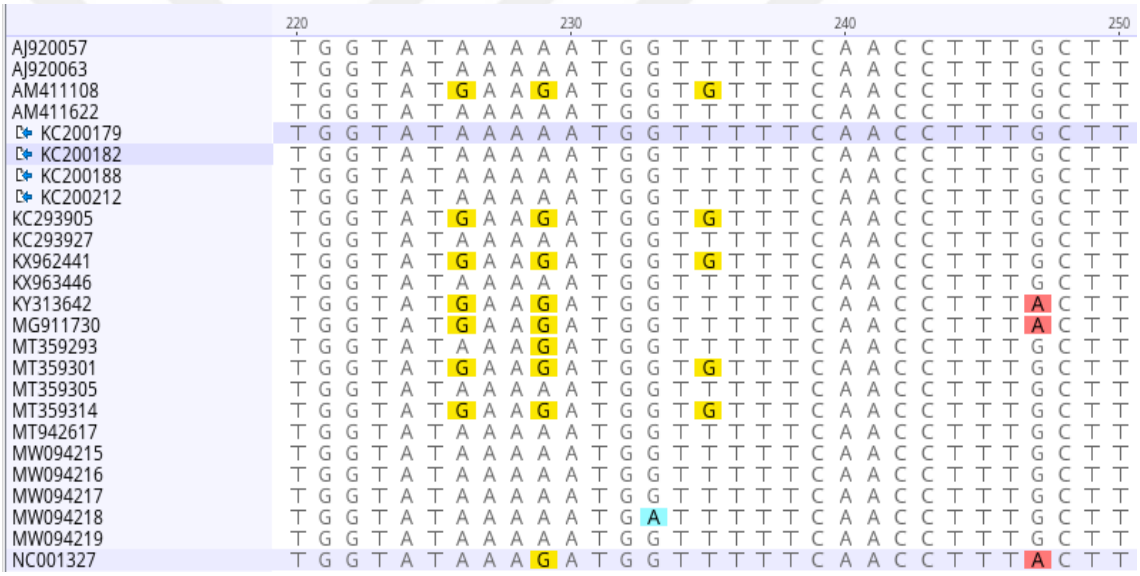

70 80 90 100
AJ920057 GAGTATTGGTTTAATTGGTTGTGTGGTGA
AJ920063 GAGGATTGGGTTGATTGGTTGTGTTGTGA
AM411108 AAGTATTGGTCTGATTGGCTGTGTAGTGG
AM411622 GAGTATTGGTTTGATTGGTTGTGTGGTGA
KC200179 GAGTATTGGTTTTAATTGGTTGTGTGGTGA
KC200182 GAGTATTGGTTTTAATTGGTTGTGTGGTGA
KC200188 GAGTATTGGTTTTAATTGGTTGTGTGGTGA
KC200212 GAGTATTGGTTTTAATTGGCTGTGTGGTGA
KC293905 AAGTATTGGTCTGATTGGCTGTGTTGGTG
KC293927 GAGGATTGGGTTGATTGGTTGTGTTGTGG
KX962441 AAGTATTGGTCTGATTGGCTGTGTTGGTG
KX963446 GAGTATTGGTTTAATTGGTTGTGTGGTGA
KY313642 GAGTATTGGTTTAATTGGTTGTGTTGGTG
MG911730 GAGTATTGGTTTAATTGGTTGTGTTGGTG
MT359293 GAGTATTGGTTTGATTGGTTGTGTGGTGA
MT359301 AAGTATTGGTCTGATTGGCTGTGTTGGTG
MT359305 GAGTATTGGTTTTAATTGGTTGTGTGGTA
MT359314 AAGTATTGGTCTGATTGGCTGTGTTGGTG
MT942617 GAGTATTGGTTTAATTGGTTGTGTGGTGA
MW094215 GAGTATTGGTTTAATTGGTTGTGTGGTGA
MW094216 GAGTATTGGTTTAATTGGTTGTGTGGTGA
MW094217 GAGTATTGGTTTAATTGGTTGTGTGGTGA
MW094218 GAGTATTGGTTTAATTGGTTGTGTGGTGA
MW094219 GAGTATTGGTTTAATTGGTTGTGTGGTGA
NC001327 GAGTATTGGTTTAATTGGTTGTGTTGTGA

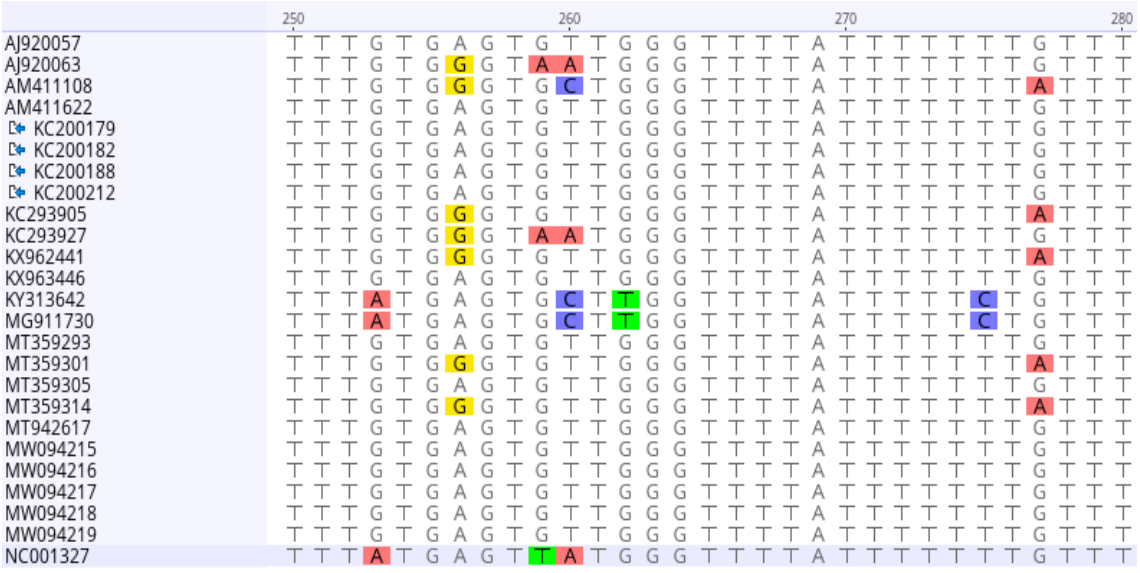

100
110
120
130
AJ920057 A G C T C A C C A C A T G T A T A C T G T T G G T A T A G A C
AJ920063 G G C T C A T C A T A T G T A T A C T G T T G G T A T G G A T
AM411108 G G C T C A C C A T A T G T A T A C G G T G G G C A T G G A T
AM411622 A G C T C A C C A C A T G T A T A C T G T T G G T A T A G A C
KC200179 A G C T C A C C A C A T G T A T A C T G T T G G T A T A G A C
KC200182 A G C T C A C C A C A T G T A T A C T G T T G G T A T A G A C
KC200188 A G C T C A C C A C A T G T A T A C T G T T G G T A T A G A C
KC200212 A G C T C A C C A C A T G T A T A C T G T T G G T A T A G A C
KC293905 G G C T C A T C A T A T G T A T A C G G T G G G C A T G G A T
KC293927 G G C T C A T C A T A T G T A T A C T G T T G G T A T G G A T
KX962441 G G C T C A T C A T A T G T A T A C G G T G G G C A T G G A T
KX963446 A G C T C A C C A C A T G T A T A C T G T T G G T A T A G A C
KY313642 G G C C C A T C A T A T G T A T A C T G T T G G T A T G G A C
MG911730 G G C C C A T C A T A T G T A T A C T G T T G G T A T G G A C
MT359293 A G C T C A C C A C A T G T A T A C T G T T G G T A T A G A C
MT359301 G G C T C A T C A T A T G T A T A C G G T G G G C A T G G A C
MT359305 A G C T C A C C A C A T G T A T A C T G T T G G T A T A G A C
MT359314 G G C T C A T C A T A T G T A T A C G G T G G G C A T G G A T
MT942617 A G C T C A C C A C A T G T A T A C T G T T G G T A T A G A C
MW094215 A G C T C A C C A C A T G T A T A C T G T T G G T A T A G A C
MW094216 A G C T C A C C A C A T G T A T A C T G T T G G T A T A G A C
MW094217 A G C T C A C C A C A T G T A T A C T G T T G G T A T A G A C
MW094218 A G C T C A C C A C A T G T A T A C T G T T G G T A T A G A C
MW094219 A G C T C A C C A C A T G T A T A C T G T T G G T A T A G A C
NC001327 A G C T C A T C A T A T G T A T A C T G T T G G T A T G G A T

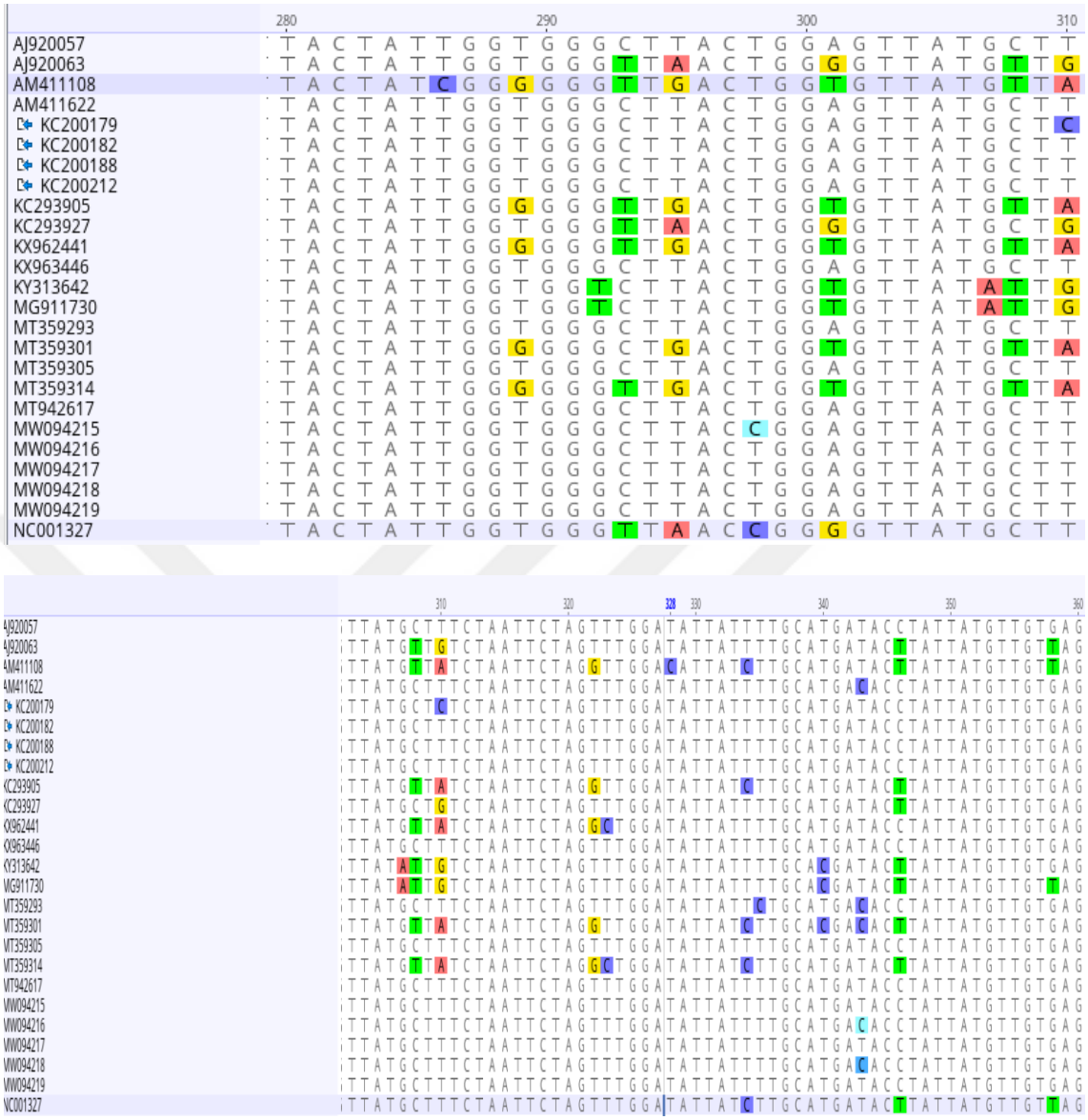

130
140
150
160
AJ920057 C T T G G A T T C T C G G G C T T A T T T T A C T G C G G C T
AJ920063 T T T G G A T T C T C G T G C T T A T T T T A C T G C G G C T
AM411108 T T T G G A T T C T C G T G C T T A T T T T A C T G C G G C A
AM411622 C T T G G A T T C T C G G G C T T A T T T T A C T G C G G C T
KC200179 C T T G G A T T C T C G G G C T T A T T T T A C T G C G G C T
KC200182 C T T G G A T T C T C G G G C T T A T T T T A C T G C G G C T
KC200188 C T T G G A T T C T C G G G C T T A T T T T A C T G C G G C T
KC200212 C T T G G A T T C T C G G G C T T A T T T T A C T G C G G C T
KC293905 T T T G G A T T C T C G T G C C T A T T T T A C T G C G G C A
KC293927 T T T G G A T T C T C G T G C T T A T T T T A C T G C G G C T
KX962441 T T T G G A T T C T C G T G C C T A T T T T A C T G C G G C A
KX963446 C T T G G A T T C T C G G G C T T A T T T T A C T G C G G C T
KY313642 C T T G G A T T C T C G G G C T T A T T T T A C T G C A G C A
MG911730 C T T G G A T T C T C G G G C T T A T T T T A C T G C A G C A
MT359293 C T T G G A T T C T C G G G C T T A T T T T A C T G C G G C T
MT359301 C T T G G A T T C T C G T G C T T A T T T T A C T G C G G C A
MT359305 C T T G G A T T C T C G G G C T T A T T T T A C T G C G G C T
MT359314 T T T G G A T T C T C G T G C C T A T T T T A C T G C G G C A
MT942617 C T T G G A T T C T C G G G C T T A T T T T A C T G C G G C T
MW094215 C T T G G A T T C T C G G G C T T A T T T T A C T G C G G C T
MW094216 C T T G G A T T C T C G G G C T T A T T T T A C T G C G G C T
MW094217 C T T G G A T T C T C G G G C T T A T T T T A C T G C G G C T
MW094218 C T T G G A T T C T C G G G C T T A T T T T A C T G C G G C T
MW094219 C T T G G A T T C T C G G G C T T A T T T T A C T G C G G C T
NC001327 T C T T G A C T C T C G G G C T T A T T T T A C T G C T G C A


160
170
180
190
AJ920057 T A C T A T G G T T A T T G C T G T G C C T A C G G G G T G T T
AJ920063 T A C T A T G G T T A T T G C T G T T C C T A C T G G G G T T
AM411108 A A C G A T G G T T A T T G C T G T G C C T A C G G G G G T T
AM411622 T A C T A T G G T T A T C G C T G T G C C T A C G G G G T G T T
KC200179 T A C T A T G G T T A T T G C T G T G C C T A C G G G G T G T T
KC200182 T A C T A T G G T T A T T G C T G T G C C T A C G G G G T G T T
KC200188 T A C T A T G G T T A T T G C T G T G C C T A C G G G G T G T T
KC200212 T A C T A T G G T T A T T G C T G T G C C T A C G G G G T G T T
KC293905 A A C G A T G G T T A T T G C T G T G C C T A C G G G G G T T
KC293927 T A C T A T G G T T A T T G C T G T T C C T A C T G G G G T T
KX962441 A A C G A T G G T T A T T G C T G T G C C T A C G G G G G T T
KX963446 T A C T A T G G T T A T T G C T G T G C C T A C G G G G T G T T
KY313642 A A C T A T G G T T A T T G C T G T G C C G A C T G G T G T T
MG911730 A A C T A T G G T T A T T G C T G T G C C G A C T G G T G T T
MT359293 T A C T A T G G T T A T C G C T G T G C C T A C G G G G T G T T
MT359301 A A C G A T G G T T A T T G C T G T G C C T A C G G G G G T C
MT359305 T A C T A T G G T T A T T G C T G T G C C T A C G G G G T G T T
MT359314 A A C G A T G G T T A T T G C T G T G C C T A C G G G G G T T
MT942617 T A C T A T G G T T A T T G C T G T G C C T A C G G G G T G T T
MW094215 T A C T A T G G T T A T T G C T G T G C C T A C G G G G T G T T
MW094216 T A C T A T G G T T A T C G C T G T G C C T A C G G G G T G T T
MW094217 T A C T A T G G T T A T T G C T G T G C C T A C G G G G T G T T
MW094218 T A C T A T G G T T A T C G C T G T G C C T A C G G G G T G T T
MW094219 T A C T A T G G T T A T T G C T G T G C C T A C G G G G T G T T
NC001327 A A C T A T G G T T A T T G C T G T T C C T A C T G G T G T T


190 200 210 220
AJ920057 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T G G C T A C T C T T T T T
AJ920063 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T G G C T A C A T T G T T T
AM411108 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T A G C C A C T C T T T T T
AM411622 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T G G C T A C T C T T T T T
KC200179 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T G G C T A C T C T T T T T
KC200182 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T G G C T A C T C T T T T T
KC200188 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T G G C T A C T C T T T T T
KC200212 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T G G C T A C T C T T T T T
KC293905 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T A G C C A C T C T T T T T
KC293927 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T G G C T A C A T T G T T T
KX962441 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T A G C C A C T C T T T T T
KX963446 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T A G C T A C T C T T T T T
KY313642 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T G G C T A C T C T T T T T
MG911730 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T G G C T A C T C T T T T T
MT359293 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T G G C T A C T C T T T T T
MT359301 - C A A G G T T T T T A G T T G G T T A G C C A C C T T T T T
MT359305 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T G G C T A C T C T T T T T
MT359314 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T A G C C A C T C T T T T T
MT942617 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T G G C T A C T C T T T T T
MW094215 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T G G C T A C T C T T T T T
MW094216 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T G G C T A C T C T T T T T
MW094217 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T G G C T A C T C T T T T T
MW094218 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T G G C T A C T C T T T T T
MW094219 - T A A G G T T T T T A G T T G A T T G G C T A C T C T T T T T
NC001327 - T A A G G T T T T T A G T T G G T T G G C T A C C T T G T T T

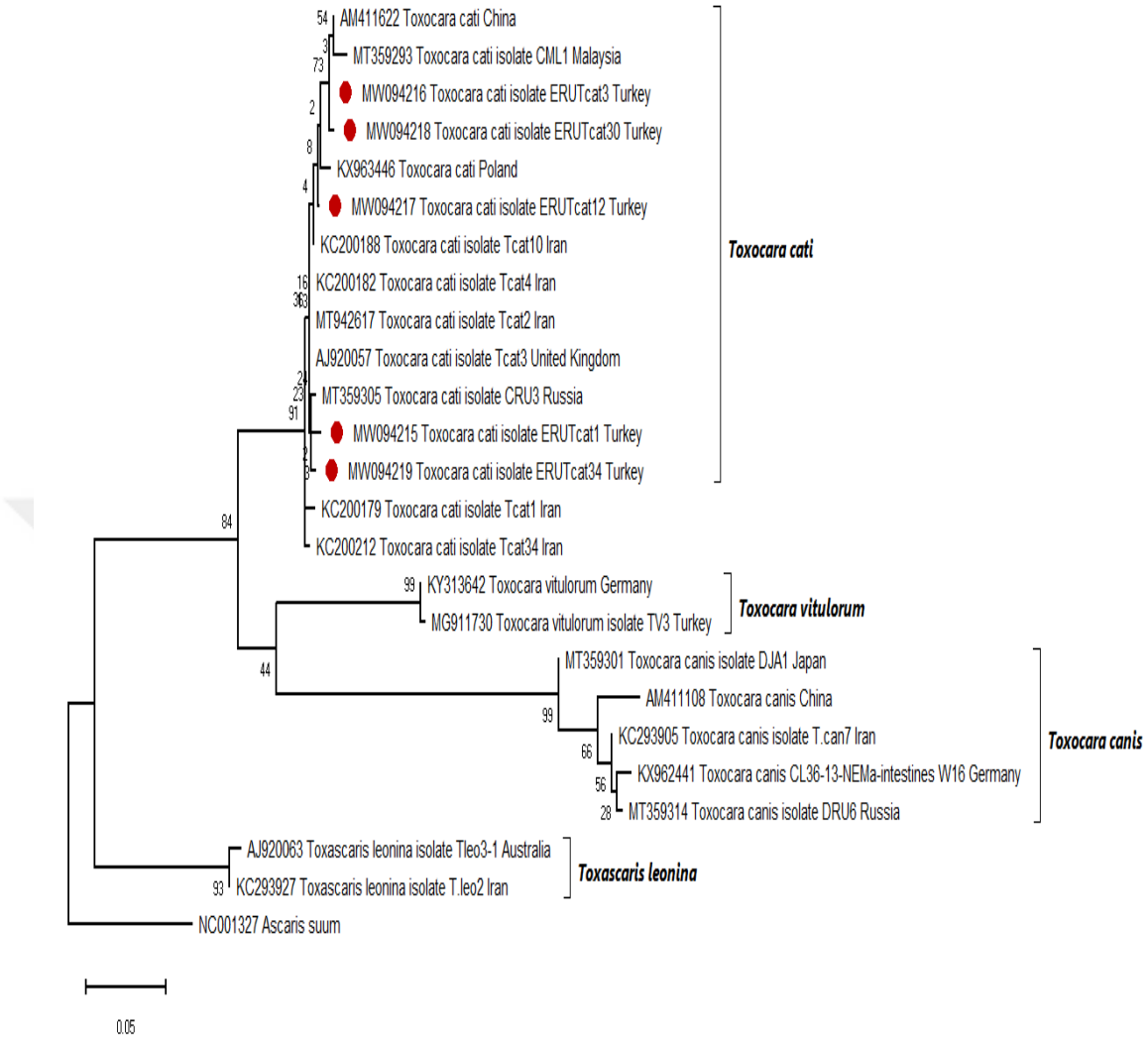

220 230 240 250
AJ920057 T G G T A T A A A A A T G G T T T T T C A A C C T T T G C T T
AJ920063 T G G T A T A A A A A T G G T T T T T C A A C C T T T G C T T
AM411108 T G G T A T G A A G A T G G T G T T T C A A C C T T T G C T T
AM411622 T G G T A T A A A A A T G G T T T T T C A A C C T T T G C T T
KC200179 T G G T A T A A A A A T G G T T T T T C A A C C T T T G C T T
KC200182 T G G T A T A A A A A T G G T T T T T C A A C C T T T G C T T
KC200188 T G G T A T A A A A A T G G T T T T T C A A C C T T T G C T T
KC200212 T G G T A T A A A A A T G G T T T T T C A A C C T T T G C T T
KC293905 T G G T A T G A A G A T G G T G T T T C A A C C T T T G C T T
KC293927 T G G T A T A A A A A T G G T T T T T C A A C C T T T G C T T
KX962441 T G G T A T G A A G A T G G T G T T T C A A C C T T T G C T T
KX963446 T G G T A T A A A A A T G G T T T T T C A A C C T T T G C T T
KY313642 T G G T A T G A A G A T G G T T T T T C A A C C T T T A C T T
MG911730 T G G T A T G A A G A T G G T T T T T C A A C C T T T A C T T
MT359293 T G G T A T A A A G A T G G T T T T T C A A C C T T T G C T T
MT359301 T G G T A T G A A G A T G G T G T T T C A A C C T T T G C T T
MT359305 T G G T A T A A A A A T G G T T T T T C A A C C T T T G C T T
MT359314 T G G T A T G A A G A T G G T G T T T C A A C C T T T G C T T
MT942617 T G G T A T A A A A A T G G T T T T T C A A C C T T T G C T T
MW094215 T G G T A T A A A A A T G G T T T T T C A A C C T T T G C T T
MW094216 T G G T A T A A A A A T G G T T T T T C A A C C T T T G C T T
MW094217 T G G T A T A A A A A T G G T T T T T C A A C C T T T G C T T
MW094218 T G G T A T A A A A A T G A T T T T T C A A C C T T T G C T T
MW094219 T G G T A T A A A A A T G G T T T T T C A A C C T T T G C T T
NC001327 T G G T A T A A A G A T G G T T T T T C A A C C T T T A C T T


250 260 270 280
AJ920057 T T T G T G A G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T G T T T
AJ920063 T T T G T G G G T A A T G G G T T T T A T T T T T T T G T T T
AM411108 T T T G T G G G T G C T G G G T T T T A T T T T T T T A T T T
AM411622 T T T G T G A G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T G T T T
KC200179 T T T G T G A G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T G T T T
KC200182 T T T G T G A G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T G T T T
KC200188 T T T G T G A G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T G T T T
KC200212 T T T G T G A G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T G T T T
KC293905 T T T G T G G G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T A T T T
KC293927 T T T G T G G G T A A T G G G T T T T A T T T T T T T G T T T
KX962441 T T T G T G G G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T A T T T
KX963446 T T T G T G A G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T G T T T
KY313642 T T T A T G A G T G C T T G G T T T T A T T T T T C T G T T T
MG911730 T T T A T G A G T G C T T G G T T T T A T T T T T C T G T T T
MT359293 T T T G T G A G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T G T T T
MT359301 T T T G T G G G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T A T T T
MT359305 T T T G T G A G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T G T T T
MT359314 T T T G T G G G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T A T T T
MT942617 T T T G T G A G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T G T T T
MW094215 T T T G T G A G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T G T T T
MW094216 T T T G T G A G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T G T T T
MW094217 T T T G T G A G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T G T T T
MW094218 T T T G T G A G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T G T T T
MW094219 T T T G T G A G T G T T G G G T T T T A T T T T T T T G T T T
NC001327 T T T A T G A G T T A T G G G T T T T A T T T T T T T G T T T



Şekil 4.11. Filogenetik analizlere dahil edilen *T. cati, T. canis, T. vitulorum* ve *T. leonina* izolatlarının mt-COI gen bölgesine göre nükleotid dizilimlerinin alignmentları

Şekil 4.11'de görüldüğü gibi Mt-COI gen bölgesine göre çalışmamızda elde ettiğimiz *Toxocara cati* izolatları arasında birçok nükleotid varyasyonu saptanmıştır. *Toxocara cati* izolatlarının Mt-COI gen bölgesine göre Maximum Likelihood metodu ve Tamura-Nei modeli (G) (1000 boostrap) ile oluşturulan filogenetik ağacı Şekil 4.12'de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. Analizlere dahil edilen *T. cati*, *T. canis*, *T. vitulorum* ve *T. leonina* izolatlarının mt-COI gen bölgesine göre filogenetik yakınlıkları (Maximum Likelihood metodu, Tamura-Nei modeli, Gamma Distributed (G), 1000 boostrap). Ölçek çizgisi bölgeye göre nükleotid değişimini göstermektedir. ● *T. cati* Kayseri izolatları

Şekil 4.12'de görüldüğü üzere Kayseri yöresindeki kedilerden izole edilen izolatların *T. cati* grubu içerisinde üç farklı dalda kümelendikleri dikkati çekmektedir (ERUTcat3 ve ERUTcat30; ERUTcat12; ERUTcat1 ve ERUTcat34). İlgili türlere ait elde edilen mt-COI 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. Filogenetik analizlerde, çalışmamızda elde ettiğimiz ERUTcat3 ve ERUTcat30 izolatlarının en yakın benzerliği sırasıyla %99,7 ve %99,5 ile Çin'den bildirilen (AM411622) izolatla, ERUTcat12 izolatının en yakın benzerliği %99,7 ile İran'dan bildirilen Tcat10 (KC200188) izolatıyla, ERUTcat1 ve ERUTcat34 izolatlarının en yakın benzerliği sırasıyla %99,4 ve %99,7 ile İran'dan bildirilen Tcat2 (MT942617) ve Tcat4 (KC200182) izolatlarıyla gösterdiği görülmüştür.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Toxocariasis, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde görülen en önemli sağlık problemlerinden biridir. Enfeksiyon etkenlerinden *T. canis* ve *T. cati* köpek ve kedigillerin bağırsaklarına yerleşim gösteren yaygın parazitlerdendir. Toxocariasis, sanitasyon eksikliği olan bölgelerde yaşayan insanlar açısından yüksek risk oluşturmaktadır. İnsanlarda enfeksiyon genellikle embriyonize *Toxocara* yumurtaları ile kontamine toprakla temas yoluyla gerçekleştiğinden bu alanlarda (kum havuzları, çocuk parkları vs.) oynayan çocuklar için önemli bir risk kaynağıdır (Gürel ve ark., 2005).

Türkiye'de, *Toxocara* türlerinin gerek insanlarda gerekse son konak hayvanlarda (köpek, kedi, sığır) mikroskobik, serolojik ve moleküler prevalanslarına dair çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Özellikle tesadüfi ara konak olan insanlarda *Toxocara* seropozitifliğinin, diğer ülkelerle karşılaştırıldığında benzer olarak Türkiye'de de en çok cinsiyet olarak erkeklerde, dönem olarak çocukluk döneminde, yaşam tarzı olarak kırsal bölgelerde yaşayan düşük gelir düzeyine sahip olanlarda, köpek sahibi olanlarda, tırnaklarını ısırma veya jeofaji eğilimi gösterenlerde daha yaygın olduğu rapor edilmiştir. Türkiye'nin farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda, çocuk oyun alanlarından alınan örneklerde potansiyel toprak enfeksiyon kaynakları incelemiş ve *Toxocara* spp. prevalansının %4-64 arasında olduğu bildirilmiştir (Akdemir, 2010; Avcıoğlu ve Balkaya, 2011; Avcıoğlu ve Burgu, 2008; Ayaz ve ark., 2003; Aydenizoz Özkayhan, 2006; Gürel ve ark., 2005; Öge ve Öge, 2000a, b; Şimşek ve ark., 2005; Bozkurt ve ark., 2012; Aydın, 2020; Taylan-Ozkan, 2020). Afyonkarahisar'da 10 farklı lokasyondan 2 haftalık aralarla toplanan 240 arıtılmamış atık su örneğinin %6'sında *Toxocara* spp. yumurtaları tespit edilmiş olup, kontamine atık su kullanımının *Toxocara* yumurtaları ile kontaminasyon için başka bir risk kaynağı olduğu gösterilmiştir (Kozan ve ark., 2007). Türkiye'de toxocariasis ile ilgili çalışmaların çoğu belirli tanımlanmış popülasyonlardan gelen verilere dayanmaktadır ve bu nedenle makro ve mikroepidemiyolojik ölçekler, farklı çalışmalarda insanların parazite maruz kalma

düzeyinde farklı olabilmektedir. Ayrıca neden olan ajan ile hastalık oluşumu arasındaki ilişkiyi anlamak zordur ve oküler toxocariasis ile ilgili epidemiyolojik veriler oldukça eksiktir. Bütün bunlar, hastalığın halk sağlığı açısından önemini değerlendirmeyi zorlaştırmaktadır (Selek ve Baylan, 2013). Türkiye'de VLM ile ilgili çok sayıda seroepidemiyolojik çalışma olmasına rağmen, serolojik testler standardize edilmediğinden aralarında bir karşılaştırma yapmak zordur. Teşhis yöntemlerinin standardizasyonu ve moleküler tekniklerin kullanımı bu hastalıkların gerçek epidemiyolojisine daha fazla ışık tutabilir.

Son konaklardaki yaygınlık oranına bakıldığında; Türkiye'nin farklı bölgelerinde yapılan çeşitli çalışmalarda son konak köpeklerde *T. canis* yaygınlığının %4-69 arasında değiştiği bildirilmiştir (Ataş ve ark., 1997; Budak ve ark., 1984; Çiçek ve Yılmaz, 2012; Doğanay, 1983; Doğanay ve Öge, 1993 ; Kozan ve ark., 2007; Kuru ark., 2013; Öge ve ark., 2014, 2017a, b, 2019; Orhun ve Ayaz, 2006; Sayin lpek ve Kochan, 2017; Saygi ve ark., 1990; Senlik ve ark., 2006; Yaman ve ark., 2006; Taylan-Ozkan, 2020). Yine Türkiye'de kedilerde *T. cati* yaygınlığı ise %13-82 oranında rapor edilmiştir (Korkmaz ve ark., 2016; Öge ve diğerleri, 2014; Yaman ve ark., 2006). Mevcut çalışmamızda gerek mikroskobik bakıya göre (%14,8) gerekse moleküler sonuçlara göre (%18,3) belirlediğimiz *T. cati* prevalansının, benzer şekilde Türkiye'den daha önce bildirilmiş prevalans oranları sınırının içerisinde olduğu dikkati çekmiştir. Ayrıca çalışmamızda mikroskobik ve moleküler analizlerin her ikisinde de prevalans oranlarının sahipli kedilere oranla sahipsiz kedilerde çok daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu durumun, kedi sahiplerinin hayvanlarına gerek tedavi gerekse kontrol amaçlı anthelmentik tedavisi yaptırmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Toxocara soyundaki askaritlerin identifikasyonları geleneksel olarak morfolojik özellikleri ve spesifik konaklarına göre yapılmaktadır (Skrjabin ve ark., 1991; Bowman, 2009). Bu soyda farklı hayvan konaklarında farklı türler tarif edilmiştir. Buna karşın, bu geleneksel metotların *Toxocara* soyundaki bazı türlerin özellikle de yumurta ve larval dönemlerinde taksonomik yapılanmalarında problemler görülebilmektedir (Zhu ve ark., 1998; Gasser ve ark., 2006). Son yıllarda *Toxocara* türlerinin teşhisinde mikroskobik incelemenin yanısıra moleküler yöntemler de sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Mikroskobik inceleme yöntemi diğer teşhis yöntemlerine göre duyarlılığı düşük olmasına rağmen gerek çabuk sonuç vermesi gerekse diğerlerine nazaran daha ucuz

maliyetli olması sebebiyle tanıda sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak mikroskobi yönteminin gerek türlerin ayırımında yetersiz olması ve uzmanlık gerektirmesi gerekse yanlış pozitiflikler saptanabilmesi dolayısıyla bu yöntemin yerini moleküler çalışmalar almaktadır. Bu kapsamda son yıllarda *Toxocara* türlerinin tür tayinlerinin yapılabilmesi için DNA barkodlanmasına dayalı teşhis yöntemleri geliştirilmiştir. Ribozomal DNA'daki (rDNA) genetik markerları kullanan DNA tabanlı teknikler, birçok parazitin klasifikasyon ve filogenik yapılanmalarının ortaya çıkarılmasında kullanılmaktadır. Ribozomal DNA'nın internal transcript spacer gen bölgesi (ITS-1 ve ITS-2) özellikle nematodların barkodlanması ve filogenetik yapılanmalarında en sık kullanılan gen bölgelerindendir. Türkiye'de ve dünyada *Toxocara* türlerinin moleküler prevalansı ve genotiplendirilmeleri üzerine ITS-1 ve ITS-2 gen bölgeleri yönünden birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmaların genellikle *Toxocara* spp. üzerine yapıldığı görülmektedir. Ancak *T. cati* ele alındığında bu çalışmaların oldukça sınırlı olduğu görülmüştür. Bozkurt ve ark. (2012), Kayseri'de yaptıkları çalışmada 248 adet toprak örneği incelenmiş ve moleküler analiz sonuçlarına göre en yaygın tür %12,0 ile *T. canis* belirlenmiş, bunu sırasıyla *T. leonina* (%7,5) ve *T. cati* (%3,0) izlemiştir. Oguz ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada, Van sokak kedileri ve köpeklerin dışkılarından elde edilen *Toxocara* spp.'nin ITS-2 dizileri ile yapılan moleküler analizlerinde 20 erişkin askaritten 17'sinin *T. canis* ve 3'ünün *T. cati* olduğu bildirmiştir. Dünyada *T. cati* ile yapılan moleküler çalışmalara bakıldığında ise Li ve ark., (2007), *T. canis*, *T. cati*, *T. malaysiensis* ve *T. leonina* türlerinin internal transcribed spacers (ITS-1 ve ITS-2) spesifik gen bölgelerini amplifiye eden primerler ile uyguladıkları PCR sonuçlarına göre, moleküler yöntemlerin duyarlı olduğunu ve daha sağlıklı epidemiyolojik verilerin elde edilebileceğini kaydetmişlerdir. Fogt-Wyrwas ve ark., (2007), askarit türleri ile kontamine toprak örneklerinde spesifik primerlerle uygulanan PCR neticesinde, bu yöntemin *Toxocara* spp.'nin identifikasyonunda oldukça spesifik olduğunu kaydetmişlerdir. Borecka ve ark. (2008), Varşovada konut sitelerindeki kum havuzlarından 36 adet kum örneği toplamışlardır. Bu 36 örnekten moleküler analizlerle iki örneğin *T. canis,* üç örneğin *T. cati* ve üç örneğin de her iki türün DNA'sını içerdiğini tespit etmişlerdir. Fahrion ve ark. (2011), yaptıkları çalışmada İsviçrenin değişik bölgelerinden 36 kedi dışkısı toplamışlar ve PCR (ITS-2) analizlerine tabi tutmuşlardır ve kedilerden alınan tüm numunelerde sadece *T. cati* tespit edilmiştir.

İranda Khademvatan ve ark. (2014) topladıkları 210 adet toprak örneğinde ITS2 analizlerine göre, numunelerin % 28'inin *T. cati* pozitif olduğunu bildirmişlerdir.

Son yıllarda, ITS-1 ve ITS-2 gen bölgelerinin yanısıra nükleer genlere oranla tür içi ve türler arası çok daha yüksek mutasyon oranlarına sahip mitokondriyal genlerin parazitlerin popülasyon genetik yapılarının, sistematiklerinin ve filogenetik durumlarının belirlenmesinde kullanılmaya başlanmıştır. Mt-COI geni tabanlı DNA barkodlamanın, dolayısıyla farklı kaynaklardan kıyaslamalı sonuçların elde edilebilmesinde kolaylıkla standardize edilebilen alternatif bir tür identifikasyon tekniği olduğu belirtilmiştir (Hu ve ark., 2004; Hu ve Gasser, 2006). Bu kapsamda *Toxocara* soyundaki askaritlerin filogenetik yakınlıklarının belirlenmesi amacıyla *T. canis, T. cati* ve *T. malaysiensis*'in (Li ve ark., 2008a) komple mitokondriyal sekanslarının, *T. vitulorum*'un (Wickramasingheet ve ark., 2009) ise hemen hemen 2/3'lik kısmının (10,486 bp) sekanslarının elde edildiği bildirilmiştir. Dünyanın farklı coğrafik bölgelerindeki hayvanlarda saptanan *T. canis, T. cati, T. malaysiensis, T. vitulorum* ve *T. leonina* türlerinin ayrımında genetik marker olarak Li ve ark. (2008b), tarafından parsiyal mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 (cox1), NADH dehydrogenase subunits 1 ve 4 (nad1 ve pnad4) gen bölgeleri kullanılmıştır. Bu çalışmada Li ve ark. (2008b), tür içi spesifik sekans varyasyonların cox 1 için %0,2-3,7, nad1 için %0-2,8 ve nad4 için %0-2,3 olduğu; türler arasındaki varyasyonun ise cox1 için %7,9-12,9, nad1 için %10,7-21,1 ve nad4 için %12,9-21,7 olduğu rapor edilmiştir. Yine Çin'in Guangdong bölgesindeki kediler üzerinde yapılan bir çalışmada (He ve ark., 2017), mt-cox1 gen bölgesine göre *T. cati* izolatlarının tür içi genetik farklılığının %0-3,6, *T. canis, T. malaysiensis* ve *T. vitulorum* türleriyle türler arası farklılığın ise %8,6 olduğu rapor edilmiştir. Benzer şekilde İran'da kedi ve köpeklerdeki askarit türleri üzerine yapılan çalışmada (Mikaeili ve ark., 2015), *T. cati, T. canis* ve *T. leonina* izolatları arasındaki tür içi farklılığın cox1 gen bölgesine göre sırasıyla %0-2,3, %0-1,3 ve %0-1,0 olduğunu, türler arası farklılığın ise %9,5-16,6 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Mevcut çalışmamızda da Kayseri yöresindeki sahipli ve sahipsiz kedilerin dışkılarından elde edilen *T. cati* yumurtalarının moleküler analizleri ve filogenetik yapılarının belirlenmesinde, mt-COI gen bölgesi sahip olduğu yüksek spesifite ve mutasyon oranlarıyla tercih edilen gen bölgesi olmuştur. Yapılan analizlerde Kayseri yöresindeki kedilerden izole edilen izolatların *T. cati* grubu içerisinde üç farklı dalda kümelendikleri

dikkati çekmiştir. İlgili türlere ait elde edilen mt-COI 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. Kayseri yöresindeki kedilerden izole edilen *T. cati* izolatlarıyla dünyadaki diğer *T. cati* izolatları arasında ise ortalama %1,1 tür içi 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, *T. cati* ile *T. vitulorum* arasında %9,6, *T. cati* ile *T. leonina* arasında %9,7 genetik farklılık saptanmıştır. Mevcut çalışma sonuçlarımızın mt-COI barkodlama çalışma sonuçlarıyla gerek tür içi gerekse türler arası genetik farklılıklar açısından benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmayla;

- ✓ Kayseri yöresindeki sahipli ve sahipsiz kedilerde *T. cati*'nin mikroskobik ve moleküler prevalansı belirlenmiş,
- ✓ Pozitif izolatların mt-COI gen bölgesinin moleküler karakterleri ortaya çıkarılarak genotipleri belirlenmiş,
- ✓ Dünyanın farklı coğrafyalarındaki farklı hayvan gruplarından elde edilmiş benzer izolatlarla filogenetik yakınlıkları saptanmış,
- ✓ Türkiye'nin biyolojik çeşitlilik varlığının ve dağılımının belirlenmesi kapsamında mt-COI gen bölgesi yönünden Türkiye'den ilk GenBank kayıtları gerçekleştirilmiş,
- ✓ Mt-COI gen bölgesinin *Toxocara* soyundaki *T. cati, T. canis, T. vitulorum* ve *T. leonina* türlerinin genotiplendirilmesinde önemli ve belirleyici bir marker olduğu teyit edilmiş,
- ✓ Çalışmada örnekleme yapılan Kayseri yöresinin enfeksiyonlar yönünden risk potansiyelleri ortaya konulmuştur.

6. KAYNAKLAR

Acar N, Kapran Z, Utine CA, Buyukbabani N. Pars plana vitrectomy revealed *Toxocara canis* organism. Int. Ophthalmol, 2007; 27: 277–280.

Akao N, Takayanagi TH, Suzuki R, Tsukidate S, Fujita K. Ocular larva migrans caused by *Toxocara cati* in Mongolian gerbils and a comparison of ophthalmologic findings with those produced by *T. canis*. J. Parasitol, 2000; 86: 1133–1135.

Akdemir C. Visceral larva migrans among children in Kutahya (Turkey) and an evaluation of playgrounds for *T. canis* eggs. Turk. J. Pediatr, 2010; 52: 158–162.

Altun ZF, Hall DH. Excretory system. In: Herndon, L.A. (Ed.), WormAtlas.

Anderson RC. Nematode Parasites of Vertebrates Their Development and Transmission. CABI Publishing, UK, 2000; 303-307.

Arango CA. Visceral larva migrans and the hypereosinophilia syndrome. S. Med. J, 1998; 1: 882–883.

Araujo P. Observacoes pertinentes as priméiras ecdises de larvas de *Ascaris lumbricoides*, *A. suum* e *Toxocara canis*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 1972; 14(2): 83-90.

Atas AD, Ozcelik S, Saygi G. Helminth species seen in Sivas stray dogs, their spread and importance in terms of public health (in Turkish). Turk. Parazitol. Derg, 1997; 21: 305–309.

Avcioglu H, Balkaya I. The relationship of public park accessibility to dogs to the presence of Toxocara species ova in the soil. Vector Borne Zoonotic Dis, 2011; 11: 177–180.

Avcioglu H, Burgu A. Seasonal prevalence of Toxocara ova in soil samples from public parks in Ankara, Turkey. Vector Borne Zoonotic Dis, 2008; 8: 345–350.

Ayaz E, Yaman N, Gul AN. Prevalence of *Toxocara spp*. eggs in soil of public parks in Van, Turkey. Indian Vet. J, 2003; 80: 574–576.

Aydenizoz Ozkayhan M. Soil contamination with ascarid eggs in playgrounds in Kirikkale, Turkey. J. Helminthol, 2006; 80:15–18.

Aydenizoz-Ozkayhan M, Yagci BB, Erat S. 2008. The investigation of *Toxocara canis* eggs in coats of different dog breeds as a potential transmission route in human toxocariasis. Vet.Parasitol,2008;25:94–100.

Aydın MF. Presence of *Toxocara* spp. and Other Zoonotic Parasites Ova in Children's Playground in Karaman, Turkey. Turkiye Parazitol Derg, 2020;44(1):17-20.

Badley JE, Grieve RB, Bowman DD, Glickman LT, Rockey JD. Analysis of *Toxocara canis* larval excretory-secretory antigens: physiochemical characterization and antibody recognition. J. Parasitol, 1987; 73: 593–600.

Bass JL, Mehta KA, Glickman LT, Eppes BM. Clinically inapparent Toxocara infection in children. N Engl J Med, 1983; 308: 723–724.

Beautyman W, Woolf AL. An ascaris larva in the brain in association with acute anterior poliomyelitis. J Pathol Bacteriol, 1951; 63: 635–647.

Beaver PC, Snyder CH, Carrera GM, Dent JH, Lafferty JW. Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans: report of three cases. Pediatrics, 1952; 9: 7–19.

Beherenz KW. Vergleichende physiologische Untersuchungen iiber die Exkretion parastitischer Nematoden mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopic. Z. Wiss. Zool, 1956; 159: 129–164.

Berk TA, Oner HF, Saatci OA. Underlying pathologies in secondary strabismus. Strabismus, 2000; 8: 69–75.

Bird AF. Vital staining of glycoprotein secreted by infective third stage larvae of H *Haemonchus contortus* prior to exsheathment. Int. J. Parasitol, 1990; 20: 619–624.

Borecka A, Gawor J. Modification of gDNA extraction from soil for PCR designed for the routine examination of soil samples contaminated with *Toxocara spp*. eggs. Journal of Helminthology, 2008; 82: 119–122.

Bowman DD, Oaks JA, Grieve RB. Ultrastructure of the infective-stage larva of *Toxocara canis* (Nematoda: Ascaridoidea). J. Helminthol. Soc. Wash, 1993; 60: 183–204.

Bowman DD. Diagnostic morphology of four larval ascaridoid nematodes that may cause visceral larva migrans. *Toxascaris leonina*, *Baylisascaris procyonis*, *Lagochilascaris sprenti*, and *Hexametra sprenti*. J. Parasitol, 1987; 73: 1198–1215.

Bowman DD. Heartworm Biology, Treatment, and Control. Animal Practice, 2009; 39 (6): 1127-1158.

Bowman DD. The anatomy of the third-stage larva of *Toxocara canis* and *Toxocara cati.* Advences in Parasitology. 2020; 109: 39-61.

Bozkurt Ö, Yıldırım A, İnci A, Çiloğlu A, Düzlü Ö, Önder Z. Kayseri Parklarındaki Oyun Alanlarının Askarit Türleri ile Kontaminasyonunun Parazitolojik ve Moleküler Araştırılması. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 2012; 18: 175-180.

Brrunska M, Dubınsky P, Reiterova K. *Toxocara canis*: ultrastructural aspects of larval moulting in the maturing eggs. Int J Parasitol, 1995; 25(6): 683-690.

Budak S, Sermet İ, Uner A. Prevalence of ascaride in stray dogs in and around Izmir (in Turkish). Turk. Parazitol. Derg, 1984; 1: 57–65

Castillo D, Paredes C, Zanartu C. Environmental contamination with *Toxocara spp.* eggs in public squares and parks from Santiago, Chile, 1999. Bol. Chil. Parasitol, 2000; 55: 86–91.

Chen J, Zhou DH, Nisbet AJ, Xu MJ, Huang SY, Li MW, Wang CR, Zhu XQ. Advances in molecular identification, taxonomy, genetic variation and diagnosis of *Toxocara spp*. Infect. Genet. Evol, 2012; 12: 1344–1348.

Çicek M, Yilmaz H. Prevalence of toxocariasis in humans and dogs in Van Province (in Turkish). Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg, 2012;18:531–536.

De Savigny DH. In vitro maintenance of *Toxocara canis* larvae and a simple method for the production of Toxocara ES antigen for use in serodiagnostic tests for visceral larva migrans. J. Parasitol, 1975; 61: 781–782.

Dent JH, Nichols RL, Beaver PC, Carreea GM, Staggers RJ. Visceral larva migrans; with a case report. Am J Pathol, 1956; 32: 777–803.

Dent, LA, Daly CM, Mayrhofer G. Interleukin-5 transgenic mice show enhanced resistance to primary infections with Nippostrongylus braziliensis but not to primary infections with *Toxocara canis*. Infect. Immun, 1999; 67: 989–993.

Despommier DD. Toxocariasis: Clinical Aspects, Epidemiology, Medical Ecology, and Molecular Aspects. Clin Microbiol. Rev, 2003; 16: 265-272.

Despommier DD. *Trichinella spiralis* and the concept of niche. J. Parasitol, 1993; 379, 472–482.

Dinning WJ, Gillespie SH, Cooling RI, Maizels RM. Toxocariasis: a practical approach to management of ocular disease. Eye, 1988; 2: 580–582.

Doğanay A, Öge S. The prevalence of ascariasis in stray dogs in Ankara. Ank. Univ. Vet. Fak. Derg, 1993; 40: 552–562.

Doğanay A. 1983. Helminth species in Ankara stray dogs, their distribution and importance in terms of public health (in Turkish). Ank. Univ. Vet. Fak. Derg, 1983; 30: 550–561.

Eberhardt O, Bialek R, Nägele T, Dichgans J. Eosinophilic meningomyelitis in toxocariasis: case report and review of the literature. Clin Neurol Neurosurg, 2005; 107: 432-8.

Fahrıon AS, Schnyder M, Wıchert B, Deplazes P. Toxocara eggs shed by dogs and cats and their molecular and morphometric species-specific identification: is the finding of *T. cati* eggs shed by dogs of epidemiological relevance? Vet Parasitol, 2011; 177: 186-189.

Fan CK, Holland CV, Loxton K, Barghouth U. Cerebral toxocariasis: silent progression to neurodegenerative disorders? Clin Microbiol Rev, 2015; 28(3): 664-686.

Fava NMN, Curya MC, Santos HA, Takeuchi-Storm N, Strube C, Zhue XQ, Tairaf K, Odoevskaya I, Panovag O, Mateus TL, Nejsum P. Phylogenetic relationships among *Toxocara spp.* and *Toxascaris sp.* from different regions of the world. Vet. Parasitol, 2020; 282.

Fisher M. *Toxocara cati*: an underestimated zoonotic agent. Trends Parasitol, 2003;19: 167–170.

Fogt-Wyrwas R, Jarozy W, Mızgajska-Wıktor H. Utilizing a polymerase chain reaction method for the detection of *Toxocara canis* and *T. cati* eggs in soil. J Helminthol, 2007; 81, 1: 75-8.

Gass JD, Braunstein RA. Further observations concerning the diffuse unilateral subacute neuroretinitis syndrome. Arch Ophthalmol, 1983; 101: 1689–1697.

Gasser RB, Zhu XQ, HU M, Jacobs DE, Chılton NB. Molecular Genetic Characterization of Members of the Genus Toxocara-Taxonomic, Population Genetic and Epidemiological Considerations. In: Toxocara the enigmatic parasite, Ed.: Holland, C.V., Smith, H.V., CABI Publishing, Oxfordshire, 2006; 18-31.

Giacometti A, Cirioni O, Fortuna M. Environmental and serological evidence for the presence of toxocariasis in the urban area of Ancona, Italy. Eur. J. Epidemiol, 2000; 16: 1023–1026.Gillespie SH, Dinning WJ, Voller A. (1993). The spectrum of ocular toxocariasis. Eye (Lond) 7: 415–418. 226 A

Gillespie SH, Dinning WJ, Voller A, Crowcroft NS. The spectrum of ocular toxocariasis. Eye (Lond), 1993; 7: 415–418. 226 A

Gillespie SH. The clinical spectrum of human toxocariasis. In Toxocara and Toxocariasis: Clinical, Epidemiological and Molecular Perspectives (Lewis, J.W. and Maizels, R.M., eds) 1993; 55–62, The British Society for Parasitology with the Institute of Biology.

Glickman LT, Magnaval JF, Domanski LM, Shofer FS, Lauria SS, Gottstein B, Brochieret B. Visceral larva migrans in French adults: a new disease syndrome? Am J Epidemiol, 1987; 125: 1019–1034.

Glickman LT, Schantz PM. Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis. Epidemiol. Rev, 1981; 3: 230–250.

Graeff-Teixeira C, Da Silva AC, Yoshimura K. Update on eosinophilic meningoencephalitis and its clinical relevance. Clin Microbiol Rev, 2009; 22: 322–348.

Gurel FS, Ertug S, Okyay P. Prevalence of *Toxocara* spp. eggs in public parks of the city of Aydin, Turkey. Turk. Parazitol. Derg, 2005; 29: 177 –179.

Hartleb M, Januszewski K. Severe hepatic involvement in visceral larva migrans. Eur. J. Gastroenterol. Hepatol, 2001; 13: 1245–1249.

He X, Lv MN, Liu GH, Lin RQ. Genetic analysis of *Toxocara cati* (Nematoda: Ascarididae) from Guangdong province, subtropical China. Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal, 2018; 29(1):132-135.

Hill IR, Denham DA, Scholtz CL. *Toxocara canis* larvae in the brain of a British child. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1985; 79: 351–354.

Hotez PJ, Wilkins PP. Toxocariasis: America's most common neglected infection of poverty and a helminthiasis of global importance? PLoS Negl Trop Dis, 2009; 3: e400.

Hu M, Chilton NB, Gasser RB. The mitochondrial genomics of parasitic nematodes of socio-economic importance: recent progress, and implications for population genetics and systematics. Adv Parasitol, 2004; 56: 133-212.

Hu M, Gasser RB. Mitochondrial genomes of parasitic nematodes--progress and perspectives. Trends Parasitol, 2006; 22(2): 78-84. doi: 10.1016/j.pt.2005.12.003.

Karaca I, Menteş J, Nalcaci S. Toxocara neuroretinitis associated with raw meat consumption. Turk. J. Ophthalmol, 2018;48:258–261.

Kassai T. Veterinary Helminthology. Butterworth-Heinemann, Linarce House, Jordon Hill, Oxford, 1999; 103-108.

Katagiri S, Oliveira-Sequeira TC. Prevalence of dog intestinal parasites and risk perception of zoonotic infection by dog owners in Sao Paulo State, Brazil. Zoonoses Public Health, 2008; 55: 406–413.

Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S, Duran C, Thierer T, Ashton B, Meintjes P, Drummond A. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. Bioinformatics, 2012; 28(12): 1647-9.

Khademvatana S, Abdizadehb R, Tavalla M. Molecular characterization of *Toxocara spp*. from soil of public areas in Ahvaz southwestern Iran. Acta Tropica, 2014; 135: 50–54.

Khademvatana S, Rahim F, Tavalla M, Abdizadehb R, Hashemitabar M. PCR-based molecular characterization of *Toxocara spp*. using feces of stray cats: a study from Southwest Iran. PLoS One, 2013; 3: 8(6):e65293.

Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. J Mol Evol, 1980; 16: 111-20.

Kondo K, Akao N, Konishi Y, Yoshimura H, Hirose H. Immunoelectron microscopic observation of excretory cell of *Toxocara canis* larva. Jpn. J. Parasitol, 1987; 36: 187–189.

Korkmaz UF, Gokpinar S, Yildiz K. Prevalence of intestinal parasites in cats and their importance in terms of public health. Turk. Parazitol. Derg, 2016; 40: 194–198.

Kozan E, Sevimli FK, Kose M, Eser M, Cicek H. Examination of helminth contaminated wastewaters used for agricultural purposes in Afyonkarahisar (in Turkish). Turk. Parazitol. Derg, 2007, 31: 197 –200.

Kuman HA, Altıntaş N. Toxocariasis cases diagnosed by serology in Aegean Region (in Turkish). Turk. Parazitol. Derg, 1984; 1–2: 113–119.

Kuroda E, Yoshida Y, Shan BE. Suppression of macrophage interleukin-12 and tumor necrosis factor-alpha production in mice infected with *Toxocara canis*. Parasite Immunol, 2001; 23:305–311.

Kuru BB, Aypak S, Aysul N. Prevalence of *Echinococcus granulosus* determined with polymerase chain reaction in dogs in Aydin district (in Turkish). Turk. Parazitol. Derg, 2013; 37: 78–83.

Kuziemski K, Jassem E, Mierzejewska E. Lung manifestation of visceral larva migration syndrome due to *Toxocara canis* infection. Pneumonol. Alergol. Pol, 1999; 67: 554–557.

Lee DL. The fine structure of the excretory system in adult *Nippostrongylus brasiliensis* (Nematoda) and a suggested function for the “excretory glands”. Tissue Cell, 1970; 2, 225–231.

Lee IH, Kim ST, Oh DK, Kim H-J, Kim KH, Jeon P, Byun HS. MRI findings of spinal visceral larva migrans of *Toxocara canis*. Eur J Radiol, 2010; 75: 236–240.

Lee SU, Yu JR, Huh H. Ultrastructural localization of *Toxocara canis* larval antigen reacted with a seropositive human serum. Korean J. Parasitol, 2009; 45: 65–68.

Li MW, Lin RQ, Chen HH, Sani RA, Song HQ, Zhu XO. PCR tools for the verification of the specific identity of ascaridoid nematodes from dogs and cats. Mol Cell Probes, 2007; 21: 349-354.

Li MW, Lin RQ, Song HQ, Sani RA, Wu XY, Zhu XQ. Electrophoretic analysis of sequence variability in three mitochondrial DNA regions for ascaridoid parasites of human and animal health significance. Electrophoresis, 2008; 29(13): 2912-7.

Li MW, Lin RQ, Song HQ, Wu XY, Zhu XQ. The complete mitochondrial genomes for three Toxocara species of human and animal health significance. BMC Genomics, 2008; 16: 9:224.

Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics, 2009; 25: 1451-2.

Macdonald AS, Araujo MI, Pearce EJ. Immunology of parasitic helminth infections. Infect Immun, 2002; 70: 427–433.

Macpherson CNL. The epidemiology and public health importance of toxocariasis: A zoonosis of global importance. Int J Parasitol, 2013; 43: 999-1008.

Magnaval JF, Galindo V, Glickman LT, Clanet M. Human Toxocara infection of the central nervous system and neurological disorders: a case-control study. Parasitology, 1997; 115: 537–543.

Magnaval JF, Glickman LT, Dorchies P, Morassin B. Highlights of human toxocariasis. Korean J. Parasitol, 2001; 39: 1–11.

Malla N, Aggarwal AK, Mahajan RC. A serological study of human toxocariasis in north India. Natl Med J India, 2002; 15: 145–147.

Marmor M, Glickman L, Shofer F. *Toxocara canis* infection of children: epidemiologic and neuropsychologic findings. Am. J. Public Health, 1987; 77: 554–559.

Mccarthy JS, Moore TA. Section II: Pathogens Part I: Nematode Infections Chapter 109 Toxocariasis and Larva Migrans Syndromes. In: tropical infectious diseases: principles, pathogens and practice, Eds: Guerrant, R.L., Weller P.F., Elsevier Saunders, Canada, 2011; 763-767.

Merdivenci A. Visceral larva migrans in man and host-parasite relations in larval toxocariasis (in Turkish). Saglik Derg,1970; 44: 3–24.

Mikaeili F, Hossein Mırhendı H, Hosseını M, Asgarı Q, Eshrat Beigom Kıa EB. Toxocara Nematodes in Stray Cats from Shiraz, Southern Iran: Intensity of Infection and Molecular Identification of the Isolates. Iranian J Parasitol, 2013; 8: 593-60.

Mikaeili F, Mirhendi H, Mohebali M, Hosseini M, Sharbatkhori M, Zarei Z, Kia EB. Sequence variation in mitochondrial cox1 and nad1 genes of ascaridoid nematodes in cats and dogs from Iran. J Helminthol, 2015; 89(4):496-501.

Mizgajska H. Eggs of *Toxocara* spp. in the environment and their public health implications. J. Helminthol, 2001; 75: 147–151.

Mohd Zain SN, Sahimi, Pal P, Lewis JW. Macroparasite communities in stray cat populations from urban cities in Peninsular Malaysia. Vet. Parasitol, 2013; 13: 206–209.

Moore MT. Human *Toxocara canis* encephalitis with lead encephalopathy. J Neuropathol Exp Neurol, 1962; 21: 201–218.

Moreira-Silva SF, Rodrigues MG, Pimenta JL, Gomes CM, Freire LH, Pereira FEL. Toxocariasis of the central nervous system: with report of two cases. Rev Soc Bras Med Trop, 2004; 37: 169–174.

Morgan ER. Dogs and nematode zoonoses. In: Macpherson, CNL, Meslin FX, Wandeler A. (Eds), Dogs, Zoonoses and Public Health, second ed. CAB, Wallingford, Oxon, UK. 2013: 153-161.

Mueller JF. Studies on the microscopical anatomy and physiology of *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris megalocephala*. Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 1929; 8: 362–403.

Nei M, Kumar S. Molecular evolution and phylogenetics. Oxford University Press, New York, 2005: 1-48.

Nelson S, Greene T, Ernhart CB. Toxocara canisinfection in preschool age children: risk factors and the cognitive development of preschool children. Neurotoxicol Teratol, 1996; 18: 167–174.

Nichols RL. The etiology of visceral larva migrans I. Diagnostic morphology of infective second stage *Toxocara* larvae. J Parasitol, 1956; 42(4): 349-362.

Nicoletti A. Handbook of Clinical Neurology. In: Garcia HH, Tanowitz HB, Del Brutto OH (eds), Toxocariasis. Neuroparasitology and Tropical Neurology, 2013; 114.

Ogilvie BM, Jones VE. *Nippostrongylus brasiliensis*: a review of immunity and the host/parasite relationship in the rat. Exp. Parasitol, 1971; 29: 138–177.

Oguz B, Ozdal N, Serdar Deger M. Genetic analysis of *Toxocara spp*. in stray cats and dogs in Van Province, Eastern Turkey. J. Vet. Res, 2018; 62: 291–295.

Orhun R, Ayaz E. Prevalence of helminths in dogs in the Region of Van and their potential public health significance (in Turkish). Turk. Parazitol. Derg, 2006; 30: 103–107.

Oshima T, Nishi S, Kihata M. In vitro cultivation on *Toxocara canis* larvae with chemically defined media. Jpn. J. Parasitol, 1963; 12: 314–315.

Overgaauw PAM, Knapen VF. Toxocarosis, an important zoonosis. EJCAP, 2008; 18(3): 259-266.

Overgaauw PAM. Aspects of *Toxocara* epidemiology: human toxocarosis. Clin Rew Microbiol, 1997; 23: 215-231.

Ozdal PC, Sen E, Yazici A, Ozturk F. Patterns of childhood-onset uveitis in a referral center in Turkey. J. Ophthalmic. Inflamm. Infect, 2012; 2: 13–19.

Öge H, Öge S, Gonenc B, Sarimehmetoglu O, Özbakis G. Coprodiagnosis of *Echinococcus granulosus* infection in dogs from Ankara, Turkey. Vet. Parasitol, 2017b; 242: 44–46.

Öge H, Öge S, Ozbakis-Beceriklisoy G. Detection and identification of *Toxocara canis* in infected dogs using PCR. Helminthologia, 2019; 56: 118–123.

Öge H, Öge S, Özbakis G, Gurcan S. Comparison of Toxocara eggs in hair and faecal samples from owned dogs and cats collected in Ankara, Turkey. Vet. Parasitol, 2014; 206: 227–231.

Öge H, Öge S, Özbakis G, Gürcan IS. Helminth infections by coprological examination in sheep-dogs and their zoonotic importance. Turk. Parazitol. Derg, 2017a; 41: 22–27.

Öge S, Öge H. Prevalence of *Toxocara spp.* eggs in the soil of public parks in Ankara, Turkey. Dtsch. Tierarztl. Wochenschr, 2000a; 107: 72–75.

Özbakış G. *Toxocara canis* ile deneysel enfekte farelerde visceral larva migrans'ın PCR ile teşhisi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2015: 104.

Özcel MA. Kedi ve köpeklerde görülen paraziter hastalıklar, Veteriner hekimliğinde paraziter hastalıklar, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No:24, İzmir, 2013.

Özcel MA. Özcel'in Tıbbı Paraziter hastalıkları. Meta Basım Matbaacılık, Bornova, İZMİR.

Page AP, Hamilton AJ, Maizels RM. *Toxocara canis*: monoclonal antibodies to carbohydrate epitopes of secreted (TES) antigens localize to different secretion-related structures in infective larvae. Exp Parasitol, 1992; 75: 56–71.

Pawlowski Z. Toxocariasis in humans: clinical expression and treatment dilemma. J Helminthol, 2001; 75: 299–305.

Petithory JC, Chaumeil C, Liotet S, Rosseau M, Bisognani C. Immunological studies on ocular larva migrans, In Lewis JW, Maizels RM (eds), Toxocara and toxocariasis; clinical, epidemiological and molecular perspectives, London, UK, The British Society for Parasitology with the Institute of Biology, 199; 81-89.

Pinell E, Herremans T, Harms MG, Hoek D, Kortbeek LM. Toxocara and Ascaris seropositivit among patients suspected of visceral and ocular larva migrans in

the Netherlands: trends from 1998 to 2009. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis, 2011; 30: 873–879.

Posada D. jModel Test: phylogenetic model averaging. Mol Biol Evol, 2008; 25:1253-6.

Prunier F, Delpine S, Victor J. Lofflerís fibroblastic endocarditis. A report of a case complicating toxocariasis. Arch. Maladies Cour Vaisseau, 2001; 94: 226–230.

Rast L, Lee S, Nampanya S, Toribio JA, Khounsy S, Windsor PA. Prevalence and clinical impact of in cattle and buffalo calves in northern Lao PDR. Trop. Anim. Health Prod, 2013; 45: 539–546.

Rayes AA, Teixeira D, Serufo JC, Nobre V, Antunes CM, Lambertucci JR. Human toxocariasis and pyogenic liver abscess: a possible association. Am. J. Gastroenterol, 20019; 6: 563–566.

Roberts LS, Janovy J. Gerald D. Schmidt & Larry S. Roberts' Foundations of Parasitology. Mc-Graw Hill, Newyork, 2006; 431-443.

Rubinsky-Elefant G, Hirata CE, Yamamoto JH, Ferreira MU? Human toxocariasis: diagnosis, worldwide seroprevalences and clinical expression of the systemic and ocular forms. Ann Trop Med Parasitol, 2010; 104: 3–23.

Ruiz de Ybanez MR, Garijo M, Goyena M, Alonso FD. Improved methods for recovering eggs of *Toxocara canis* from soil. J. Helminthol, 2000; 74:349–353.

Saygı G, Özcelik S, TemizkanN. Helminths we found in the small intestine of Sivas Street Dogs (in Turkish). Turk. Parazitol. Derg, 1990; 14: 81–93.

Sayin İpek DN, Kochan A. Gastrointestinal helminths seen in stray dogs in Diyarbakir (in Turkish). Harran Univ. Vet. Fak. Derg, 2017; 6: 133–137.

Schacher JF. A contribution to the life history and larval morphology of *Toxocara canis*. J Parasitol, 1957; 43: 599-612.

Schnieder T, Laabs EM, Welz C. Larval development of *Toxocara canis* in dogs. Vet Parasitol, 2011; 175: 193-206.

Schochet SS. Human *Toxocara canis* encephalopathy in a case of visceral larva migrans. Neurology, 1967; 17: 227–229.

Selek MB, Baylan O. Human toxocariasis (in Turkish). Turk Hij. Deney. Biyol. Derg, 70, 113–134.

Senlik B, Cirak VY, Karabacak A. Intestinal nematode infections in Turkish military dogs with special reference to *Toxocara canis*. J. Helminthol, 2006; 80: 299–300.

Shetty AK, Aviles DH. Nephrotic syndrome associated with *Toxocara canis* infection. Ann. Pediatr,1999; 19:297–300.

Skrjabin KI, Shikhobalova NP, Mozgovoi AA. Skrjabin KI (Ed.), Key to Parasitic Nematodes, Amerind Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi 1991.

Small KW, McCuen BW, De Juan E, Machemer R. Surgical management of retinal retraction caused by toxocariasis. Am. J. Ophthalmol, 1989; 108:10–14.

Smith HV. Antibody reactivity in human toxocariasis. In Toxocara and Toxocariasis: Clinical, Epidemiological and Molecular Perspectives, In (eds): Lewis JW, Maizels RM, The British Society for Parasitology with the Institute of Biology, 1993; 91–110.

Soulsby EJL. Helminths, Artropods and Protozoa of Domesticated Animals. Bailliere Tindall, London 1986; 136-156.

Sprent JF. Observations on the development of *Toxocara canis* (Werner, 1782) in the dog. Parasitology, 1958; 48: 184–209.

Sprent JFA. The life history and development of *Toxocara cati* (Schrank, 1788) in the domestic cat. Parasitology, 1956; 46: 54–78.

Sturchle D, Schubarth P, Gualzata M. Thiabendazole vs. albendazole in treatment of toxocariasis: a clinical trial. Ann. Trop. Med. Parasitol, 1989; 83: 473–478.

Şimsek S, Utuk AE, Koroglu E. Prevalence *Toxocara* spp. of eggs in some school gardens in Elazig (in Turkish). Fırat Univ. Sağlık Bilimleri Derg, 2005; 19 (2): 133–136.

Talluri MV, Paggi L, Orecchia P, Dallai R. Fine structure of buccal cavity and esophagus in *Toxocara canis* (Nematoda Ascarididae) infective larvae. J. Ultrastruct. Mol. Struct. Res, 1986; 97: 144–157.

Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Mol Biol Evol, 2013; 30: 2725-9.

Taylan-Ozkan A. Sources and seroprevalence of toxocariasis in Turkey. Adv Parasitol, 2020; 109: 465-482.

Taylor MA, Coop RL, Wall RL. Veterinary Parasitology, Blackwell Publishing, Oxford, 2007; 361-363.

Taylor MR, Keane CT, O'connor P, Girdwood RW, Smithet H. Clinical features of covert toxocariasis. Scand J Infect Dis, 1987; 19: 693–696.

Torgerson PR, Budke CM. Economic impact of *Toxocara spp.* In: (Eds.) Smith CV, Smith HV. Toxocara: The Enigmatic Parasite. CABI Publishing, Wallingford, 2006: 281–293.

Tost F, Hellman A, Ockert G. *Toxocara canis* infection. Environmental, parasitologic and epidemiologic studies. Ophthalmology, 1998; 95: 486– 489.

Tran VT, Lumbroso L, Lehoang P, Herbort CP. Ultrasound biomicroscopy in peripheral retinovitreal toxocariasis. Am J Ophthalmol, 1999; 127: 607–609.

Uga S, Kataoka N. Measures to control Toxocara egg contamination in sandpits of public parks. Am. J. Trop. Med. Hyg, 1995; 52: 21–24.

Umur Ş, Köroğlu E, Güçlü F, Tınar R. Nematoda, In: Tınar R, Helmintoloji, Nobel Basımevi, Ankara, 2011, 325-334.

Vegni-Talluri M, Dallai R. Ultrastructure of the excretory-secretory system in *Toxocara canis* (Nematoda, Ascarididae) infective larvae. Boll. Zool, 1989; 56: 285–290.

Vidal JE, Sztajnbok J, Seguro AC. Eosinophilicmeningoencephalitis due to *Toxocara canis*: case report and review of the literature. Am J Trop Med Hyg, 2003; 69: 341–343.

Wagner RG, Newton CR. Do helminths cause epilepsy? Parasite Immunol, 2009; 31: 697–705.

Webster GA. A report on *Toxocara canis* Werner, 1782. Can J Comp Med, 195; 22(8): 272-279.

Wells DL. Public understanding of toxocariasis. Public Health, 2007; 121: 187–188.

Wickramasinghe S, Yatawara L, Rajapakse RPVJ, Agatsuma T. *Toxocara vitulorum* (Ascaridida: Nematoda): mitochondrial gene content, arrangement and composition compared with other Toxocara species. Mol Biochem Parasitol, 2009; 166(1):89-92.

Wilder HC. Nematode endophthalmitis. Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol, 1950; 55: 99-109.

Woodruff AW. Toxocariasis. Br Med J, 1970; 3: 663-669.

Worley G, Green IA, Frothingham TE. *Toxocara canis* infection: clinical and epidemiological associations with seropositivity in kindergarten children. J. Infect. Dis, 1984; 149: 591–597.

Xinou E, Lefkopoulos A, Gelagoti M, Drevelegas A, Diakou A, Milonas I, Dimitriadis AS. CT and MR imaging findings incerebral toxocaral disease. AJNRAm J Neuroradiol, 2003; 24: 714–718.

Yaman M, Ayaz E, Gul A, Mu MN. Investigation of helminth infections of cats and dogs in the Hatay Province. Turk. Parazitol. Derg, 2006; 30: 200–204.

Yıldırım A, Düzlü Ö, İnci A. İç Anadolu Yöresinde Sığır Coccidiosis'ine Yol Açan Patojen Eimeria Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu ve Teşhiste Türe Özgü Real Time PCR Tekniğinin Geliştirilmesi. TÜBİTAK, 2015 Contract No: 113 O 597 Sonuç Raporu.

Zhu XQ, Jacobs DE, Chilton NB, Sani RA, Cheng NA, Gasser RB. Molecular characterization of a *Toxocara* variant from cats in Kuala Lumpur, Malaysia. Parasitology, 1998; 117: 155–164.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Soner DEMİRPOLAT

Uyruğu : (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri : 27 Haziran 1989, Ankara

Medeni Durumu : Evli

Tel : +90 05312182786

E-mail : sonerdpt@gmail.com

Yazışma Adresi : Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Melikgazi/ KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lise	Yahya Kemal Beyatlı Lisesi	2006
Lisans	Erciyes Üniversitesi, Fen Fakültesi /Biyoloji	2013

YABANCI DİL

İngilizce (Orta)