

T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAYSERİ PARKLARINDAKİ OYUN ALANLARININ
ASKARİT TÜRLEİ İLE KONTAMİNASYONUNUN
PARAZİTOLOJİK VE MOLEKÜLER ARAŞTIRILMASI

Tezi Hazırlayan
Özlem BOZKURT

Tezi Yöneten
Doç.Dr.Alparslan YILDIRIM

Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Aralık 2010
KAYSERİ

T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAYSERİ PARKLARINDAKİ OYUN ALANLARININ
ASKARİT TÜRLEİ İLE KONTAMİNASYONUNUN
PARAZİTOLOJİK VE MOLEKÜLER ARAŞTIRILMASI

Tezi Hazırlayan
Özlem BOZKURT

Tezi Yöneten
Doç.Dr.Alparslan YILDIRIM

Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSY.09.964
nolu proje ile desteklenmiştir.

Aralık 2010
KAYSERİ

Doç. Dr. Alparslan YILDIRIM danışmanlığında **Özlem BOZKURT** tarafından hazırlanan “**Kayseri Parklarındaki Oyun Alanlarının Askarit Türleri ile Kontaminasyonunun Parazitolojik ve Moleküler Araştırılması**” konulu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Parazitoloji** Anabilim Dalı’nda **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

07/01/2011

JÜRİ :

İmza

Üye : Prof. Dr. Abdullah İNCİ

Üye : Prof. Dr. Süleyman YAZAR

Üye : Doç. Dr. Alparslan YILDIRIM



ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun ..11/01/2011...tarih ve....491.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..11/01/2011

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü



TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımın her aşamasında beni cesaretlendiren, bilgi, beceri ve tecrübesinden faydalandığım, eleştirileri ve yardımları ile her zaman yol gösterici olan, çalışma disiplini, işine gösterdiği hassasiyet ile örnek aldığım hocam ve tez danışmanım sayın Doç. Dr. Alparslan YILDIRIM başta olmak üzere, saha ve laboratuvar çalışmalarım esnasında her türlü destek ve yardımlarını esirgemeyen Parazitoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Abdullah İNCİ ve diğer öğretim elemanları Yrd. Doç. Dr. Önder DÜZLÜ ve Öğretim Görevlisi Zuhâl BİŞKİN'e, çalışma süresince malzeme bazında TSY-09-964 kodlu proje ile destek sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne ve pozitif kontrol izolat temininde destek sağlayan University of Physical Education, Biology and Environmental Protection Department'dan, Dr. Renata Fogt-Wyrwas'a sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

**KAYSERİ PARKLARINDAKİ OYUN ALANLARININ ASKARİT
TÜRLERİ İLE KONTAMİNASYONUNUN PARAZİTOLOJİK VE
MOLEKÜLER ARAŞTIRILMASI**

ÖZET

Bu çalışma, Kayseri merkez ilçelerde toplam 20 mesire alanı ve parkdaki çocuk oyun alanlarından toplanan 248 adet toprak örneğinin köpek ve kedi askarit türleri ile kontaminasyon durumunu saptamak amacıyla yürütülmüştür. Bu amaçla Ağustos-Ekim 2009 ayları arasında her bir parktan 250-300 gr toprak numunesi tekniğine uygun olarak alınmış ve örnekleme sahası köpek ve kedi dışkılarının varlığı yönünden kontrol edilmiştir. Laboratuvarda toprak ve dışkı örnekleri helmint yumurtalarının varlığı yönünden mikroskopik olarak incelenmiştir. Askarit yumurtası belirlenen örneklerden genomik DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Askarit türlerini belirleme amacıyla elde edilen genomik DNA ekstraktları *Toxocara canis*, *Toxocara cati* ve *Toxascaris leonina* tür spesifik primerleri ile PCR analizine tabii tutulmuştur. Parazitolojik incelemesi yapılan 20 parktan 10'u (%50,0) ve bu parklardan örneklenen toplam 248 adet toprak örneğinin 33'ü (%13,3) askarit ve diğer bazı helmint yumurtaları ile kontamine bulunmuştur. En yaygın tür %7,3 ile *Toxocara* sp. bulunmuş, bunu sırasıyla *T. leonina* (%4,0), *Spirocerca lupi* ve *Taenia* sp. (%0,8) ve *Ancylostoma caninum* (%0,4) izlemiştir. Bu çalışmada Türkiye'de ilk kez *S. lupi* yumurtaları ile park çocuk alanlarının kontaminasyonu ortaya konmuştur. 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. Türlerin yayılışı arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,001$). Sonuç olarak bu çalışma ile Kayseri parklarındaki oyun alanlarında zoonotik karakterli askarit enfeksiyonlarının yaygınlığı ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: Ascarit enfeksiyonları, Park, PCR, Kayseri, Kontaminasyon

**PARASITOLOGICAL AND MOLECULAR INVESTIGATION OF
CONTAMINATION WITH ASCARIT SPECIES IN
PLAYGROUNDS IN KAYSERİ PARKS**

ABSTRACT

This study was designed to determine the contamination status of playgrounds with ascaris species of dogs and cats in Kayseri parks and was carried out on totally 248 sand samples collected from children playgrounds in 20 picnic areas and parks which are all in the Kayseri Centrum. For this aim 250-300 gr sand sample was technically collected from each park between August-October 2009 and each sampling area was inspected for the presence of dog and/or cat feces. Sand and feces samples were examined by microscopically for the presence of helminth eggs in the laboratory. Genomic DNA's were extracted from samples which were positive for ascaris eggs. PCR was performed to obtain genomic DNA's with primers specific to *Toxocara canis*, *Toxocara cati* and *Toxascaris leonina*. According to parasitological results, 10 (50.0%) of 20 parks and 33 (13.3%) of 248 sand samples collected from these parks were found to be contaminated with ascaris and some other helminth eggs. *Toxocara* sp. was found as the most prevalent species with the ratio of 7.3% and this was followed by *T. leonina* (4.0%), *Spirocerca lupi* and *Taenia* sp. (0.8%) and *Ancylostoma caninum* (0.4%). Contamination with *S. lupi* eggs in children playgrounds in parks was firstly determined in Turkey with this study. Molecular analysis results revealed that *T. canis* was the most prevalent species with the ratio of 12.0% in the ascaris contaminated sand samples, and this was followed by *T. leonina* (7.5%) and *T. cati* (3.0%). The differences among the prevalence rates of species were found statistically significant ($p < 0.001$).

Consequently, the prevalence of zoonotic ascaris species was designated in the playgrounds of Kayseri parks with this study.

Key words: Ascarit infections, Park, PCR, Kayseri, Contamination

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
İÇ KAPAK	I
KABUL VE ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. ASKARİT ENFEKSİYONLARI	3
2.1.1. <i>Toxascaris leonina</i> (Linstow, 1902).....	4
2.1.2. <i>Toxocara canis</i> (Werner, 1782).....	4
2.1.3. <i>Toxocara cati</i> (Zeder, 1800).....	5
2.2. <i>TOXOCARA CANİS</i> VE <i>T. CATİ</i> 'NİN ZOONOTİK ÖNEMİ.....	6
2.3. <i>TOXOCARA</i> TÜRLERİNİN TÜRKİYE'DE SONKONAKLARDAKİ YAYILIŞI.....	7
2.4. PARKLARDAKİ OYUN ALANLARINDA ASCARİT KONTAMİNASYONU ÜZERİNE ÇALIŞMALAR	7
2.5. KÖPEK VE KEDİLERDEKİ ASCARİT TÜRLERİ ÜZERİNE YAPILAN MOLEKÜLER ÇALIŞMALAR	11
3. GEREÇ VE YÖNTEM	12
3.1. SAHA ÇALIŞMALARI	12
3.1.1. Araştırma Sahası.....	12
3.1.2. Toprak ve Dışkı Örneklerinin Toplanması.....	12
3.2. LABARATUVAR ÇALIŞMALARI	14
3.2.1. Parazitolojik İnceleme	14
3.2.2. Moleküler İnceleme	15
3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	17
4. BULGULAR	18
4.1. PARAZİTOLOJİK İNCELEME SONUÇLARI.....	18
4.2. MOLEKÜLER İNCELEME SONUÇLARI.....	23
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	31
6. KAYNAKLAR.....	36
ÖZGEÇMİŞ	

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Dünyada parklarda çocuk oyun alanlarının askarit türleri ile kontaminasyon durumu	8
Tablo 3.1. İncelemesi yapılan parklardan toplanan toprak ve dışkı örneklerinin dağılımı	13
Tablo 4.1. Toprak örnekleme yapılan parkların helmint yumurtaları ile kontaminasyon durumu	19
Tablo 4.2. DNA izolasyonu amacıyla kullanılan iki tekniğin, toprak örneklerine deneysel <i>T. canis</i> yumurtası ekimi sonucu PCR’da değerlendirilmesi	24
Tablo 4.3. Askarit kontaminasyonu saptanan parklarda PCR sonucu türlerin dağılımı.....	25
Tablo 4.4. Kontamine parklarda askarit türlerinin aylara göre dağılımı	28
Tablo 4.5. Kontamine parklarda askarit türlerinin ilçelere göre dağılımı	29
Tablo 4.6. Kontamine parklarda askarit türlerinin park çeşidine göre dağılımı	30
Şekil 4.1. Helmint yumurtaları yönünden pozitif toprak örneklerinde türlerin dağılımı ..	20
Şekil 4.2. <i>Toxocara</i> sp. yumurtası (Orijinal)	20
Şekil 4.3. Larva gelişmiş <i>Toxocara</i> sp. yumurtası (Orijinal)	21
Şekil 4.4. <i>Toxascaris leonina</i> yumurtası (Orijinal).....	21
Şekil 4.5. <i>Spirocerca lupi</i> yumurtası (Orijinal)	22
Şekil 4.6. <i>Taenia</i> sp. yumurtası (Orijinal)	22
Şekil 4.7. <i>Ancylostoma caninum</i> yumurtası (Orijinal)	23
Şekil 4.8. PCR sonuçlarına göre incelemesi yapılan parklarda askarit türlerinin dağılımı	26
Şekil 4.9. Kontamine toprak örneklerinde PCR ile <i>T. canis</i> pozitifliği.....	26
Şekil 4.10. Kontamine toprak örneklerinde PCR ile <i>T. cati</i> pozitifliği.....	27
Şekil 4.11. Kontamine toprak örneklerinde PCR ile <i>T. leonina</i> pozitifliği.....	27
Şekil 4.12. Askarit türleri ile pozitif örneklerin aylara göre dağılımı	28
Şekil 4.13. Askarit türleri ile pozitif örneklerin ilçelere göre dağılımı	29
Şekil 4.14. Askarit türleri ile pozitif örneklerin park türüne göre dağılımı	30

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Hayvanlardan insanlara çok sayıda enfeksiyon etkeni geçmekte ve oluşan bu enfeksiyonlar, “zoonoz” olarak nitelenmektedir (1,2). Zoonotik enfeksiyonların yayılış göstermesinde evcil hayvanların önemli rolü bulunmaktadır. Kedi ve köpekler de insan yaşamına iyi uyum sağlamış hayvanlar olup toplumun çeşitli kesimleri tarafından yetiştirilmekte veya barındırılmaktadır. Bunun yanında Türkiye ve diğer gelişmekte olan ülkeler ile az gelişmiş ülkelerde sahipsiz kedi ve köpek sayısının artış gösterdiği ve sokaklarda başıboş dolaştığı görülmektedir. Zoonotik paraziter enfeksiyonların ortaya çıkabilmesi için hayvanlar tarafından çıkarılan paraziter formların insanlara ulaşması gerekmektedir. Bu açıdan parklardaki oyun alanları önem arz etmektedir. Çocuklar, parklardaki kum ya da toprakla severek oynamaktadırlar. Çoğunlukla etrafı açık olan bu parklara sahipsiz kedi ve köpekler serbestçe girerek buralara dışkılamakta veya evlerinde köpek besleyenler köpeklerini gezdirirken hayvanlar dışkılama ihtiyaçlarını parklarda gidermektedir. Yine son yıllarda çocuk oyun alanı bulunan birçok parkta, özellikle ülkemizde yaygın olan mangal alışkanlığı için alanlar yapıldığı görülmekte olup bu durum da sokak hayvanları için cazip edici bir faktör olarak ortaya çıkmaktadır. Çeşitli gelişmiş ülkelerde olanın aksine, ülkemizde, köpek dışkıları sahipleri tarafından toplanmamakta, parklarda bunların biriktirileceği dışkı kutuları, dışkı poşetleri veya

özel tuvaletleri bulunmamaktadır. Köpek ve kedilerin buralara bıraktığı dışkılarından çeşitli parazitlerin yumurtaları kum veya toprağa karışarak, parklarda oynayan çocuklara bulaşabilmektedir. Köpek ve kedilerde yaşamakla beraber insan sağlığı açısından da iç organ ve oküler (göz) larva göçüne sebebiyet veren askarit etkenleri (*Toxocara canis*, *T. cati*) paraziter zoonozlar arasında önemli yer tutmaktadır (2).

Bu çalışma, Kayseri park ve bahçeleri ile bazı mesire alanlarındaki çocuk oyun alanlarından alınan kum veya toprak örneklerinde, kedi ve köpeklerde bulunan askarit türlerine ait yumurtaların saptanması, kontaminasyon oranlarının belirlenmesi, saptanan askarit türlerinin moleküler teşhislerinin yapılması ve çocuk parklarının bulaşma yönünden taşıdığı risk derecesinin belirlenmesi amacıyla planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Köpek ve kedilerde yaşamakla beraber insan sağlığı açısından da önem taşıyan parazitler arasında *Toxocara canis* ve *T. cati* gibi askaritlerin yanında *Echinococcus granulosus*, *E. multilocularis*, *Ancylostoma caninum*, *A. braziliense*, *A. Tubaeforme* ve *Uncinaria stenocephala* gibi helmintler önemli yer tutmaktadır (1,2).

Bu parazitlerden *Toxocara* türlerinin larvaları insanlarda visceral larva migrans (VLM) ve ocular larva migrans (OLM)'a yol açarken, *Echinococcus* türlerinin larvaları kistik ve alveolar echinococcose'a, *Ancylostoma* türlerinin larvaları ise cutaneous larva migrans (CLM)'a neden olmaktadır (3-5). *Ancylostoma caninum* larvaları insanlarda daha derin dokulara geçmekte, VLM'a da yol açabilmektedir (1,2).

2.1. ASKARİT ENFEKSİYONLARI

Kedi ve köpeklerde yaşayan askarit türleri; *Toxascaris leonina*, *Toxocara canis*, *Toxocara cati* türleridir.

2.1.1. *Toxascaris leonina* (Linstow, 1902)

Köpek, kedi, tilki ve diğer karnivorların incebağırsaklarında yaşar. Servikal kanatlar uzun ve dardır. Erkekleri 6-7 cm uzunluğunda olup, arka nihayetleri konik olarak sonlanmakta, parmak biçiminde bir uzantı taşımaktadır. Dişileri 6-10 cm uzunluğundadır (1).

Yumurtaları hafif oval olup, 75-85x6076 µm çapındadır. Yumurtalar kalın kabuklu ve kabuk dış yüzeyi düzdür. Yumurta kabuğu ile blastomer arasında lamelli bir tabaka mevcuttur (1).

Gelişmeleri direktir. Dışkı ile dışarı atılan yumurtalarda uygun çevre şartlarında 3-6 gün içinde ikinci gelişme dönemi larvalar oluşur. Enfektif olan bu yumurtalar ağız yoluyla alındığında son konağın ince bağırsaklarında açılır ve olgun parazitler şekillenir. Fareler paratenik konak görevi yapabilmektedir (1).

Enfekte hayvanlarda karın şişliği, ishal, tüylerde matlık ve gelişme geriliği gibi semptomlar görülür. Bu parazit zoonotik karakterli değildir ve insanlar için tehlike oluşturmamaktadır (5).

2.1.2. *Toxocara canis* (Werner, 1782)

Köpek, kedi, kurt ve tilkilerin ince bağırsaklarında yaşar. Evcil karnivorların sindirim sisteminin en büyük nematodu olup, 10-18 cm uzunluğundadır. Servikal kanat mevcut olup, vücudun ön ucu ventrale doğru bükülmüştür ve erkeklerin arka ucu parmak biçiminde bir uzantı taşır (1,2).

T. 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 lipit 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 (1,6). Enfektif yumurtalar uygun

şartlarda en az bir yıl süreyle canlılığını sürdürebilir ve ergin dişi parazitler günde 200.000 kadar yumurta üretebilirler (6).

Toxocara canis'in biyolojisi konağın yaşına ve cinsiyetine göre değişiklik göstermektedir. Enfeksiyon, L₂ taşıyan yumurta ve enfekte paratenik konakların (fare, rat, değişik kanatlılar) alınması ile meydana gelebildiği gibi vertikal ve galaktojen yolla da olmaktadır. Son konağın dışkısıyla atılan yumurtalarda 2 ile 5 hafta içerisinde L₂ ler gelişir. Enfeksiyon yeteneğinde olan bu yumurtaları alan son konakların ince bağırsağında yumurtayı terk eden larva kan ve lenf yoluyla karaciğer ve akciğer göçü geçirerek, 3 aylıktan küçük hayvanlarda bağırsaklara giderek olgunlaşırken, 3 ile 6 aylık arası hayvanlarda bir kısmı bağırsaklara giderek olgunlaşır, bir kısmı da dokulara göç ederek inhibisyona girer. Larvalar 6 aylıktan büyük hayvanlarda kan yoluyla akciğer ve kalbe gelir, büyük dolaşıma girerek bütün dokulara dağılıp inhibisyona girerler. Bu larvalar erkek köpeklerde bir süre sonra ölür. Dişilerde ise yaşamın ileri dönemlerinde gebelik hormonlarının etkisi ile gebeliğin 42. gününden itibaren inhibisyondan çıkar, bir kısmı annenin bağırsaklarında olgunlaşırken, bir kısmı uterus yoluyla yavruya geçer, bir kısmı da yeniden akciğere giderek kan yoluyla meme bezlerine geçer ve doğumdan başlayarak 35 gün süreyle sütle atılır (1,2).

Toxocara canis normal konaklarında bağırsaklarda genellikle az reaksiyona neden olur. Karın şişkinliği, gelişme bozukluğu, ishal gibi belirtiler ortaya çıkar. Bazen bağırsaklarda tıkanma ve delinmelere yol açarak ölüme neden olabilirler. Bu parazitlerin esas patojen etkisi larvalarının göçü sırasında görülür. Pnömoni, öksürük, burun akıntısı, solunum hızlanması vardır. Beyine giden larvalar sara benzeri sinirsel belirtilere yol açar ve yoğun enfeksiyonlarda 3 aylığa kadar köpek yavrularında öldürücü seyreder (2).

2.1.3. *Toxocara cati* (Zeder, 1800)

Kedi ve yabani felidelerin ince bağırsaklarında bulunur. Erkekleri 6–7 cm, dişileri 4–10 cm uzunlukta olup, servikal kanatlar ok ucu biçimindedir. *Toxocara cati* yumurtaları, *T. canis* yumurtalarından daha az koyu ve daha az tırtıklı yapı göstermekte olup ışık mikroskobunda ayrımı zordur (1,2).

T. cati'nin biyolojisi, *T. canis*'inkine benzer yalnızca intrauterin bulaşmanın olmamasıyla ondan ayrılır. Sonkonaklarda genel seyir itibarıyla klinik ve patogeneze *T. canis* enfeksiyonlarına benzemektedir (2).

2.2. *TOXOCARA CANIS* VE *T. CATI*'NİN ZOONOTİK ÖNEMİ

Bazı nematod larvalarının normal konaklar dışında özellikle de insanların iç organ ve dokularındaki göç olayına iç organ larva göçü (Visceral Larva Migrans) adı verilmektedir (2).

İnsanlarda iç organ larva göçüne neden olan pek çok etken saptanmışsa da bu sendromdan birinci derecede sorumlu parazitin *T. canis* olduğu bilinmektedir (1,7). VLM'a *Toxocara cati* de yol açabilmektedir, ancak kedilerin dışkılarını içgüdüsel olarak kuma gömme alışkanlıklarından dolayı bulaşma riski *T. canis*'e oranla daha düşüktür (8).

T. canis ve *T. cati* 'nin L₂ taşıyan yumurtaları insanlar tarafından ağız yoluyla alınırsa, larvalar ince bağırsakta serbest kalır, mukozaya penetre olur, karaciğer ve akciğer boyunca göç ederek sonunda kan yoluyla çeşitli dokulara yayılır. Bu parazitlerin kesin konağı olmayan insanların iç organlarındaki göçüne visceral larva migrans (VLM), gözdeki göçlerine ise oküler larva migrans (OLM) denir (5).

Visceral larva migrans, insanlarda bazen hiçbir belirti göstermemekle birlikte ateş, hırıltılı solunum veya astım benzeri öksürük nöbetleri, iştah azalması, zayıflama, karın, kas ve eklem ağrıları, huzursuzluk, sinirlilik, dikkatsizlik, hareket bozukluğu, karaciğer ve dalak büyümesi gibi belirtilere yol açar (5,7).

Oküler larva migrans olgularında, göz basıncının artması, bulanık görme, bir gözün az veya hiç görmemesi gibi klinik semptomlar ortaya çıkabilir (5).

Şekillenen patolojik değişiklikler, larvaların hem mekanik hem de antijenik özelliğe sahip ürünleriyle ilgilidir. Bu hastalığa özgü tipik lezyon, çapları 0.1-1.5 cm arasında değişen ve özellikle karaciğerde görülen eozinofilik granulomlardır. Ancak granulomlara, beyin ve akciğerlerle birlikte diğer organlarda da rastlanabilir. Beyinde bulunan granulomların meningitis ve ensefalitise neden olduğu bildirilmektedir (5,7).

Oküler larva migrans genellikle tek taraflı olur ve yangısal reaksiyonlar sonucu endophtalmitis, retinoblastoma, retinitis ve gözün arka kısmında granuloma şekillenebilir (5).

Hematolojik olarak şiddetli eozinofili, lökositosis, hipergamaglobunemi görülür. (9,5).

Kum havuzları, halk pazarları gibi yerlerde oynayan pika sendromlu çocuklar ve köpek yavrularıyla devamlı bir arada olan çocuklarda VLM'na daha çok rastlanılmaktadır (5,2).

2.3. TOXOCARA TÜRLERİNİN TÜRKİYE'DE SONKONAKLARDAKİ YAYILIŞI

T.canis'in Türkiye'de köpeklerde yayılışı %2.6-59.4 olup, Ankara'da Mimioğlu ve ark. (10), %20, Pamukçu ve Ertürk (11), %13.24, Ertürk ve Tanzer (12), %4.10, Doğanay (13), %24, Çerçi (14), %13.22, Zeybek ve ark. (15), %15.15, Ayçiçek ve ark. (16), %59.4, Elazığ'da Güralp ve ark. (17), %44.76, Dinçer ve ark. (18), %2.7, Taşan (19), %26, İstanbul'da Merdivenci (20), %22.7, Sivas'da Saygı ve ark. (21), %28, Ataş (22), %46, Konya'da Güçlü ve Aydenizöz (23), %14.75, Aydenizöz (24), %16.16, Bursa'da Tınar ve ark. (25), %39, Kayseri 'de Şahin ve ark. (26), %40, Kars'da Umur ve Arslan (27), %50 olduğunu bildirmişlerdir.

T. cati'nin Türkiye'de kedilerde yayılışı %0.32-47.2 olup, İstanbul'da Merdivenci (20), %27.6, Ankara'da Pamukçu ve Ertürk (11), %0.32, Burgu ve ark. (28), %47, Elazığ'da Dinçer ve ark. (18), %47.2 olarak kaydetmişlerdir.

2.4. PARKLARDAKİ OYUN ALANLARINDA ASCARİT KONTAMİNASYONU ÜZERİNE ÇALIŞMALAR

Başiboş kedi ve köpekler veya dolaştırıldıkları sırada ev köpekleri dışkılama ihtiyaçlarını parklarda gidermektedir. Hayvanlar tarafından bırakılan dışkılarıdaki yumurtalar doğa koşullarında etrafa dağılarak toprak ve kuma karışmakta ve başta bu alanlarda oynayan çocuklar olmak üzere, yetişkin insanlara da bulaşabilmektedir. Son zamanlarda çocuk parkları, oyun alanları başta olmak üzere halka açık alanların askarit yumurtaları ile kontaminasyonunu belirlemek için gerek yurtdışında gerek yurt içinde farklı yerlerde çok sayıda çalışmalar yapılmış ve yapılmaktadır. Toprak ve kum örneklerinin söz konusu helmint yumurtaları ile kontaminasyonunun belirlenmesinde bölgenin bulunduğu coğrafya ve iklim koşullarının (sıcaklık, yağış, nem, rüzgâr) yumurtalar üzerinde olumlu ve olumsuz etkisi olduğuna dikkat çekilmektedir. Araştırmanın yapıldığı bölgenin bu gibi çevresel şartlarının yanında, bölgedeki kedi ve köpek helmint enfeksiyonu durumu ve bölgenin sosyo-ekonomik yapısı gibi etmenler de önemli olmaktadır (5). Dünya'da parklardaki çocuk oyun alanlarında askarit türleri ile ilgili kontaminasyon çalışmaları Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Dünyada parklarda çocuk oyun alanlarının askarit türleri ile kontaminasyon durumu

Kıta	Araştırmacı	Yıl	Yer	Materyal	Örnek Sayısı	Kontaminasyon / % si	
						<i>Toxocara</i> sp.	<i>Toxascaris leonina</i>
Avrupa	Valkounova	1982	Çek Cumhuriyeti	50 Kum Havuzu	200	24	
	Duwell	1984	Almanya	31 Kum Havuzu	562	87,1	
	Deumer	1984	Almanya	160 Kum Havuzu	160	38,12	
	Gillispie ve ark.	1991	İngiltere	15 Park	521	6,3	
	Giacometti ve ark.	2000	İtalya	22 Park		63,63	
	Ruiz de Ybanez ve ark.	2001	İspanya	9 Park	644	1.24	0,15
Amerika	Dada ve Lindquist	1979	ABD	Halka Açık Alanlardan	232	21.55	
	Childs	1985	ABD	3 Eğlence Merkezi	146	11	
	Gualazzi ve ark.	1986	Kanada	21 Park	567	2,3	
	Paul ve ark.	1988	ABD	23 Park	135	16.3	
	Karen ve ark.	1989	ABD	3 Park	114	19	
	Vasquez ve ark.	1996	Meksika	297 Farklı Yerden (156 park, 83 yeşil alan, 58 ev bahçesi)	281	12.5	
	Castillo ve ark.	2000	Şili	12 Park		66.72	
	Alonso ve ark.	2001	Arjantin	141 Farklı Yerden (kum havuzu, yeşil alan)	475	2,8	
	Chorazy ve Richardson	2005	ABD	294 Farklı Yerden (kum havuzu, yeşil alan, yürüme yolları, okul bahçesi)	319	14.4	
	Guimaraes ve ark.	2005	Brezilya	Halka Açık Alan	23	17.4	

Tablo 2.1. Dünyada parklarda çocuk oyun alanlarının askarit türleri ile kontaminasyon durumu (Devam)

Kıta	Araştırmacı	Yıl	Yer	Materyal	Örnek Sayısı	Kontaminasyon / % si
						<i>Toxocara</i> sp.
Asya	Abo-Shehada	1989	Ürdün	21 park	226	15,48
	Gunaseelan ve ark.	1992	Hindistan	Madras Veteriner Fakültesi Kampüsü	410	6,59
	Mahdı ve Ali	1993	Irak	Park ve Okul Bahçelerinden	180	12,2
	Shimizu	1993	Japonya	46 Park	46	63,3
	Abe ve Yasukawa	1997	Japonya	40 Park	120	75
	Shaikenov ve ark.	2004	Kazakistan	30 Park	120	-
	Wiwaniitkit ve Waenlor	2004	Tayland	Halka Açık Alan	175	5,1
	Matsuo ve Nakashio	2005	Japonya	Sapparo Şehrinden	107	8,41
Afrika	Umeche	1989	Nijerya	Çeşitli Park ve Bahçeden	150	8
Avustralya	Franzco ve ark.	2003	Avustralya	9 Farklı Bölgeden	180	0,55

Türkiye’de çeşitli illerdeki parklarda askarit türleri ile kontaminasyon üzerine yapılan çalışmalarda Güçlü ve Aydenizöz (29), Konya’da bir yıl süreyle bakısı yapılan 4 parktan 48 kum (50 gr) örneğini incelemişler ve bu örneklerin %4.16’sında *Toxocara* sp. yumurtalarına rastlandığını bildirmişlerdir.

Ankara’da Öge ve Öge (30) 46 parktan toplanan 170 kum örneğinde bulunan helmint yumurtalarının oranını *Toxocara* sp. %30.6, *Toxascaris leonina* %4,1, *Ancylostoma* sp. %17.62, *Taenia* sp. %1.82, *Trichuris* sp. % 2,4, *Enterobius vermicularis* %1,2 olarak kaydetmişlerdir. Aynı ilde Avcıoğlu ve Burgu (31) 45 parktan toplam 955 toprak örneğini helmint yumurtaları ile kontaminasyon açısından incelemişler ve 108’inin (%11,30) kedi köpek helmint / olası helmint yumurtaları ile kontamine olduğu saptamışlardır. Kontamine örneklerin 89’unda (%82,40) *Toxocara* sp., 5’inde *Taenia* sp. (%4,62), 2’sinde *Toxascaris leonina* (%1,85) yumurtalarına tek olarak rastlandığı, 1 örnekte *Toxocara* sp. + *Taenia* sp. (%0,92), 1 örnekte *Toxocara* sp. + *Toxascaris leonina*’ya (%0,92) birlikte gözlemlendiği kaydedilmiştir.

İstanbul’da Toparlak ve ark. (32), 63 parktan toplanan 132 kum örneğini Duwell (33)’in yöntemine göre incelemişler ve parkların %15,9’unda, örneklerin ise %8.33’ünde *Toxocara* sp. yumurtalarına rastlamışlardır.

Elazığ’da Kaplan ve ark. (34), çocuk parkı, okul bahçesi ve halka açık alanlar gibi 62 farklı yerden alınan 744 toprak örneğinin 2’sinde (%3,22) *Toxocara* sp. yumurtaları saptamışlardır.

Erzurum’da Avcıoğlu ve Balkaya (35), 36 parktan örnekledikleri 214 toprak numunesinde *Toxocara* sp. yumurtalarını %64,28, *Taenia* sp. yumurtalarını ise %3,12 oranında yaygın bulmuşlardır.

Van’da Ayaz ve ark. (36), Yüzüncü Yıl Üniversitesi Kampüsünden ve şehir merkezindeki çocuk parkları ve okul bahçelerinden alınan 107 toprak örneğinin %25.97’sinde *Toxocara* sp., %11,25’inde *T. leonina* yumurtalarına rastlamışlardır.

Aydın’da Gürel ve ark. (37), 111 parktan alınan 111 toprak örneğinin 21 ‘inde (%18,91) *Toxocara* sp. yumurtası belirlemişlerdir.

Kırıkkale’de Aydenizöz ve Özkayhan, (38), 1 yıl süreyle mevsimsel bakısı yapılan 8 parktan 480 örnek toplamış, örneklerin %15.6’sında *Toxocara* sp., %1.5’inde *Toxascaris leonina*, %1.0’inde *Taenia* sp. yumurtalarına, %0.2 *Isospora* sp. ookistlerine rastlamıştır.

Kütahya’da Akdemir (39), 9 parktan topladığı 30 toprak örneğinden 3’ünde (%10) *Toxocara* sp. yumurtaları belirlemiştir.

2.5. KÖPEK VE KEDİLERDEKİ ASCARİT TÜRLERİ ÜZERİNE YAPILAN MOLEKÜLER ÇALIŞMALAR

Köpek ve kedilerde bulunan askarit türleri üzerine yapılan moleküler çalışmaların sınırlı olduğu görülmektedir. Li ve ark., (40), *Toxocara canis*, *Toxocara cati*, *Toxocara malaysiensis* ve *Toxascaris leonina* türlerinin nuclear ribosomal DNA bölgesi (rDNA internal transcribed spacers (ITS-1 and ITS-2) üzerine çalışmışlar ve dizayn ettikleri spesifik primerler ile moleküler olarak bu parazitlerin spesifik identifikasyonunun daha duyarlı ve epidemiyolojik çalışmalarda daha gerçekçi sonuçlar ortaya koyabileceğini kaydetmişlerdir.

Fogt-Wyrwas ve ark., (41), askarit türleri ile kontamine toprak örneklerinde yumurta izolasyonu sonucu spesifik primerlerle uygulanan PCR neticesinde, bu yöntemin tür identifikasyonunda oldukça spesifik olduğunu kaydetmişlerdir. Benzer şekilde Borecka ve Gawor (42), toprak örneklerinden genomik DNA izolasyonu sonucu uyguladıkları moleküler analizde bu yöntemin spesifik teşhiste oldukça duyarlı olduğunu kaydetmişlerdir. Buna ilave olarak yanında moleküler teşhis yöntemleri, askarit türlerinin karakterizasyonlarının belirlenmesinde (43,44) ve insanlarda VLM olgularında spesifik teşhis yöntemi olarak da kullanılmaya başlanmıştır (45,46).

Türkiye’de günümüze kadar kedi ve köpeklerde askarit türlerinin moleküler teşhisi üzerine yapılmış çalışma yoktur. Bu çalışma ile Kayseri park ve bahçelerindeki çocuk oyun alanlarından alınan kum veya toprak örneklerinde, kedi ve köpeklerde bulunan askarit türleri hem klasik yöntemlerle araştırılmış hem de kontamine parklarda izole edilen askarit türlerinin moleküler teşhisleri yapılarak kontaminasyon derecesi tür bazında ortaya konmuştur.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. SAHA ÇALIŞMALARI

3.1.1. Araştırma Sahası

Çalışma Ağustos-Ekim 2009 tarihleri arasında Kayseri merkezde bulunan toplam 20 parkta yürütülmüştür. Örnek toplanan parkların bağlı olduğu merkez, toplandığı ay ile toplanan toprak ve dışkı örneği sayıları Tablo 3.1’de verilmiştir.

3.1.2. Toprak ve Dışkı Örneklerinin Toplanması

Her bir parktan varsa kum havuzu yoksa çocuk oyun alanlarından her 5 metre kare için, 10 cm derinliğinden en az 250–300 gr toprak örneği küçük bahçe kürekleri yardımı ile alınmıştır. Her örnekleme alanı için kürekler temizlenip dezenfekte edilerek kullanılmıştır. Toplanan örnekler naylon poşetlere konularak protokol numarası verilmiş ve laboratuara getirilmiştir. Örnek içeriğinde homojeniteyi sağlama açısından 2 cm çaptan büyük taşların olmamasına dikkat edilmiştir. Her bir parktaki oyun alanı kedi-köpek dışkısı yönünden dikkatlice incelenmiş ve bulunan dışkı örnekleri dışkı kaplarına alınarak protokol numarası verilmiş ve laboratuara getirilmiştir.

Tablo 3.1. İncelemesi yapılan parklardan toplanan toprak ve dışkı örneklerinin dağılımı

NO	Park İsmi	Bağlı olduğu ilçe	Örnek alınan ay	Toplanan örnek sayısı	
				Toprak	Dışkı
P1	İnönü Parkı-1	Kocasinan	Ağustos	12	-
P2	Mimarsinan Parkı	Kocasinan	Ağustos	14	-
P3	Gürsu Parkı	Talas	Ağustos	15	-
P4	İnönü Parkı-2	Kocasinan	Ağustos	11	-
P5	Kadir Has Kültür Parkı	Kocasinan	Ağustos	10	3
P6	Beştepeler Mehmet Çalık Parkı	Kocasinan	Ağustos	12	
P7	Yanıkoğlu Parkı	Melikgazi	Ağustos	13	1
P8	Kumarlı Parkı	Kocasinan	Eylül	16	-
P9	Gültepe Parkı	Melikgazi	Eylül	14	-
P10	Alparslan Parkı	Melikgazi	Eylül	13	2
P11	Belsin Mahalle Parkı	Kocasinan	Eylül	11	-
P12	Eskişehir Bağları Mahalle Parkı	Melikgazi	Eylül	10	-
P13	Gesi Mesire Alan Parkı	Gesi	Eylül	15	-
P14	İldem Mahalle Parkı	Gesi	Ekim	13	-
P15	Ali Dağ Mesire Alan Parkı	Talas	Ekim	12	-
P16	H. Ahmet Yesevi Mahalle Parkı	Kocasinan	Ekim	10	-
P17	Erciyesevler Mahallesi Tuna Parkı	Kocasinan	Ekim	12	-
P18	Kıranardı Kent Ormanı	Melikgazi	Ekim	14	-
P19	Zümrüt Mahallesi Zümrüt Parkı	Kocasinan	Ekim	11	-
P20	Organize Sanayi Demirciler Parkı	Kocasinan	Ekim	10	-

3.2. LABORATUVAR ÇALIŞMALARI

3.2.1. Parazitolojik İnceleme

Toprak ve Kum Örneklerinin İncelenmesi

Parklardan alınan toprak ve kum örnekleri, Kazacos (8)' un önerdiği yöntemin modifiye edilmesi ile incelenmiştir.

Laboratuarda her örnek iyice karıştırılarak homojen hale getirildikten sonra 50 gr. alınmış, 60 ml distile su ve 0,5 ml Tween 40 ilave edilerek 250 ml behere aktarılmıştır. Bu karışım cam bagetler yardımı ile iyice çalkalanmış, sonra 300 µm gözenekli elekten geçirilmiştir. Bu süzüntü 50 ml kapaklı falcon tüplerine aktarılmış, üzerine tüpün yüzeyine kadar distile su ilave edilmiştir. Daha sonra karışım 1500 – 2000 devirde 3 dakika santrifüj edilmiştir. Üstteki sıvı dökülerek, tüpün yüzeyine kadar tekrar distile su ilave edilmiş ve santrifüj işlemi bu şekilde iki kez tekrarlanmıştır. Son santrifüj işleminden sonra üstteki sıvı dökülmüş ve sedimentin üzerine 50 ml tüpün yüzeyine kadar doymuş çinko sülfat ($ZnSO_4$, Özgül ağırlık: 1,364) ilave edilerek tüp vortekste iyice karıştırılmıştır. Karışım 4 adet 15ml santrifüj tüpüne aktarılmış 2000 devirde 10 dakika santrifüje edilmiştir. Daha sonra çıkarılan tüplerin üzerine yüzeyde bombe oluşturacak şekilde tekrar doymuş çinko sülfat solüsyonu ilave edilmiş ve üzerleri lamel ile kapatılmıştır. 15 dk bekleme süresinden sonra lameller lam üzerine alınmış ve X100 büyütmede ışık mikroskobu altında helmint yumurtaları yönünden incelenmiştir. Lameller alındıktan sonra her bir tüp tekrar lamel ile kapatılmış ve bu şekilde 3 kez inceleme yapılmıştır. Helmint yumurtaları yönünden pozitif olan örnekler protokole geçilmiş ve saptanan yumurtalar olympus DP70 mikroskop kamerası ile görüntülenmiştir.

Dışkı Muayenesi

Dışkılar kedi ve köpek helmint yumurtaları yönünden çinko sülfat flotasyon yöntemi ile incelenmiştir (2).

Yaklaşık 3gr dışkı örneği doymuş çinko sülfat ($ZnSO_4$, Özgül ağırlık: 1,364) solüsyonu eklenerek dışkı muayene kabında cam bagetle karıştırılmış, bir süzgeç yardımıyla başka bir kaba süzülmüştür. Daha sonra kabın yüzeyine kadar tekrar doymuş çinko sülfat eklenmiş ve üzerine iki adet lamel atılmıştır. Otuz dakika sonra bir pens yardımıyla, altındaki damla düşürülmeden lamel bir lam üzerine alınmış ve mikroskopta helmint

yumurtaları yönünden incelenmiştir. Helminth yumurtaları yönünden pozitif olan örnekler protokole geçilmiştir.

3.2.2. Moleküler İnceleme

DNA İzolasyonu ve Standardizasyon

Toplanan toprak örneklerinden DNA ekstraksiyonu amacıyla iki farklı teknik, etkinlikleri açısından deneysel olarak kontrol edilmiştir.

Toprak örneklerinden direkt DNA izolasyonu yapılan ilk teknikte (Borecka ve Gawor, 2008), örneklenen 250-300gr toprak numunesi iyice karıştırılarak homojen hale getirildikten sonra 50 gr tartılarak ayrılmıştır. Ayrılan bu örnekten 2,5 gr tartılarak AxyPrep Multisource Genomic DNA Miniprep Kiti (AP-MN-MS-GDNA-250, Axygen Biosciences, USA) DNA ekstraksiyonu yapılmıştır.

İkinci teknikte ise Modifiye Kazacos (8) yöntemi ile askarit yumurtaları yönünden pozitif bulunan örneklerden lam üzerinden yumurtalar izole edilmiş ve DNA ekstraksiyonu AxyPrep Multisource Genomic DNA Miniprep Kiti (AP-MN-MS-GDNA-250, Axygen Biosciences, USA) ile yapılmıştır (47). Ancak lam üzerinde bulunan yumurtaların distile su yardımı ile nitroselüloz membrana aktarıldığı ve DNA ekstraksiyonunun membranda yapıldığı Graczyk ve ark. (47) tarafından bildirilen bu teknik modifiye edilerek, lam üzerinde saptanan askarit yumurtaları toplam 500µl deiyonize su ile mikrosantrifüj tüplere aktarılmış 14000 rpm'de 10dk santrifüj edilerek yumurtaların denatüre olması ve içeriğin çökmesi sağlanmıştır. Santrifüj işlemi sonunda süpernatant atılmış ve dipte kalan çöküntü DNA ekstraksiyonunda kullanılmıştır. Her iki teknik için de lysis buffer ilavesi sonrasında örnekler 24 saat 65 °C'de bekletilmiş ve sonra ekstraksiyon prosedürüne devam edilmiştir. Final elüsyon 50µl olarak ayarlanmıştır. Elde edilen ekstraktlar PCR'da işlenene kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Söz konusu iki tekniğin genomik DNA izolasyonunda etkinliklerini belirlemek amacı ile önceden mikro dalga fırında steril hale getirilen toprak örneklerinden 250 gramlık porsiyonlar ayrılmış ve sırası ile 50, 100, 250 ve 500 adet olmak üzere anabilim dalında %70 alkol içerisinde muhafaza edilen *T. canis* dişilerinden izole edilmiş yumurtalar ilave edilmiştir. Toprak örnekleri 37 °C etüvde bekletilerek kurumaları sağlanmış ve homojen hale getirmek için steril baget ile karıştırılmıştır. Her hacim için 4 tekrar yapılmıştır. Daha sonra yukarıdaki teknikler ile DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve sonuçlar PCR işleminden sonra değerlendirilmiştir.

DNA Amplifikasyonu ve Elektroforez

DNA amplifikasyonu, Thermohyaid (Product no: 35195, Thermo Scientific Inc) Thermalcycler'da gerçekleştirilmiştir. Toprak örneklerinden elde edilen genomik DNA ekstraktları *T. canis* için parsiyel ITS 2 gen bölgesinden 330-bp gen bölgesini amplifiye eden YY1 (5'-CGGTGAGCTATGCTGGTGTG-3') forward ve NC2 (5'-TTAGTTTCTTTTCCTCCGCT-3') reverse; *T. leonina* için yine parsiyel ITS 2 gen bölgesinden 350-bp gen bölgesini amplifiye eden YY2 (5'-ATATCGGAAAAGGACGCACA-3') forward ve NC2 (5'-TTAGTTTCTTTTCCTCCGCT-3') reverse, *T. cati* için de partial ITS-1 bölgesinden 660- bp gen bölgesini amplifiye eden JW4 (5'-ACTGTCGAGGATGAGCGTGA-3') ve NC2 (5'-TTAGTTTCTTTTCCTCCGCT-3') reverse spesifik primerlerle PCR reaksiyonuna tabii tutulmuştur (40). Reaksiyon karışımı her iki primer seti için de 25µl final konsantrasyonda hazırlanmıştır.

Her üç primer çifti için reaksiyon karışımı; 2,5 µl 10XPCR buffer, 3 mM MgCl₂, 1µl 50 pmol her bir primer, 2 µl 250 mM her bir dNTP, 2U *Taq* DNA polymerase ve 2,5 µl template DNA olacak şekilde hazırlanmıştır. Daha sonra karışım thermalcyclere yerleştirilmiş ve initial denaturation: 94°C'de 5 dk; 35 siklus, denaturation: 94°C'de 30s, annealing: 56°C (*T. canis* ve *T. leonina*), 58°C (*T. cati*) 30s, extension: 72°C'de 1dk; final extension: 72°C'de 5 dk olacak şekilde programlanmıştır (40).

Pozitif kontrol olarak Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda bulunan *T. canis* ve *T. leonina* olgun parazitlerden elde edilen genomik DNA'lar, *T. cati* için ise Polonya University of Physical Education, Biology and Environmental Protection Department'de temin edilen genomik DNA'lar kullanılmıştır. Amplifikasyon sonunda elde edilen PCR ürünleri (10 µl) % 1,5 'luk agaroz jelde elektroforeze tabi tutularak, CLP Jel Dökümantasyon Sistemi ve Gene Snap from Syngene analiz programı (UVP INC Uplant, CA) kullanılarak görüntülenip analiz edilmiştir.

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin istatistiksel analizleri SPSS 13.0 paket programı ile gerçekleştirilmiştir. Mesire alanları ile diğer parkların kontaminasyon durumu arasındaki farklılık Fisher's Exact Test, parklarda askarit enfeksiyonlarının ve ilçelere göre kontaminasyonun dağılımları arasındaki farklılık ise Pearson Chi Square testi ile araştırılmıştır.

4. BULGULAR

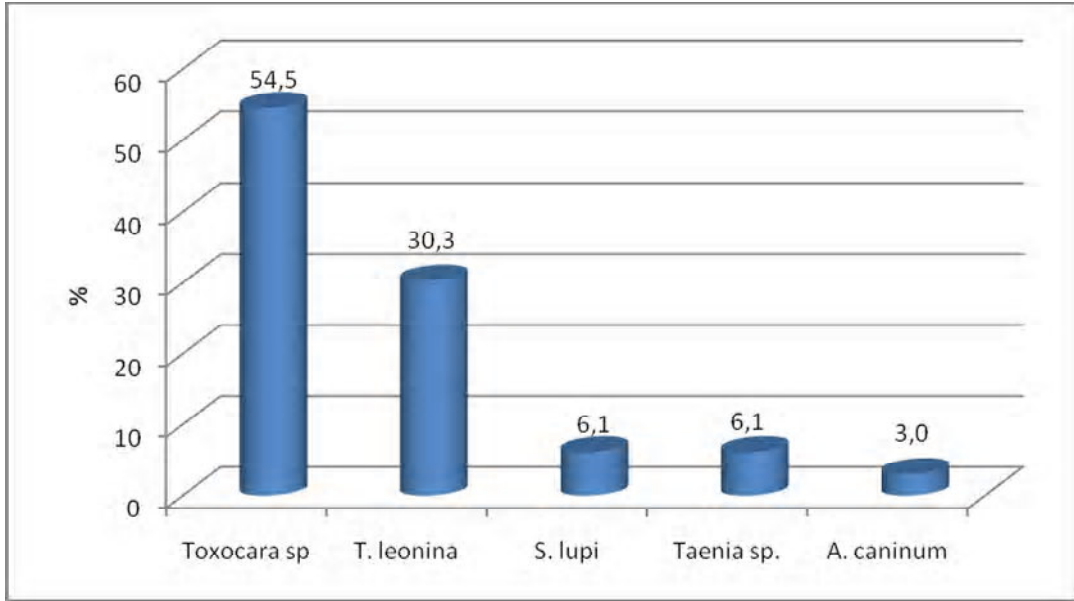
4.1. PARAZİTOLOJİK İNCELEME SONUÇLARI

Çalışmada incelemesi yapılan toplam 20 parktan 10'u (%50), bu parklardan örneklenen toplam 248 adet toprak örneğinin 33'ü (%13,3) askarit ve diğer bazı helmint yumurtaları ile kontamine bulunmuştur. Toprak örneklerinde saptanan helmint yumurtalarının dağılımı Tablo 4.1'de verilmiştir. Tablo 4.1'de görüldüğü üzere en yaygın tür %7,3 ile *Toxocara* sp. bulunmuş, bunu %4,0 ile *T. leonina*, %0,8 ile *S. lupi* ve *Taenia* sp. ve %0,4 ile *A. caninum* izlemiştir. Pozitif örneklerde saptanan helmint türlerinin dağılım oranları Şekil 4.1'de verilmiştir. Toprak örneklerinde saptanan *Toxocara* sp., *T. leonina*, *S. lupi*, *Taenia* sp. ve *A. caninum* yumurtaları sırasıyla Şekil 4.2-4.6'de verilmiştir.

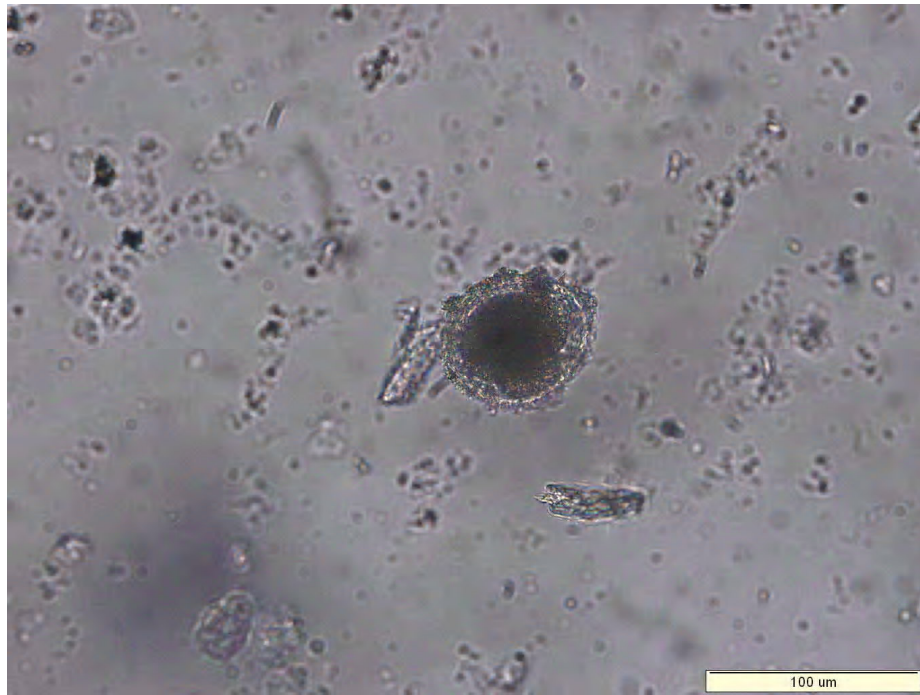
Tablo 4.1. Toprak örnekleme yapılan parkların helmint yumurtaları ile kontaminasyon durumu

Park No	İ.Ö.S.	P.Ö.		Toxocara sp.		Toxascaris leonina		Spirocerca lupi		Taenia sp.		Ancylostoma caninum	
		S.	%	S.	%	S.	%	S.	%	S.	%	S.	%
P1	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P2	14	3	21,4	-	-	3	21,4	-	-	-	-	-	-
P3	15	2	13,3	-	-	2	13,3	-	-	-	-	-	-
P4	11	2	18,2	-	-	-	-	2	18,2	-	-	-	-
P5	10	2	20,0	1	10,0	-	-	-	-	1	10,0	-	-
P6	12	2	16,7	2	16,7	-	-	-	-	-	-	-	-
P7	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P8	16	8	50	5	31,4	1	6,2	-	-	1	6,2	1	6,2
P9	14	1	7,1	1	7,1	-	-	-	-	-	-	-	-
P10	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P11	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P12	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P13	15	5	33,3	3	20	2	13,3	-	-	-	-	-	-
P14	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P15	12	3	25,0	3	25,0	-	-	-	-	-	-	-	-
P16	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P17	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P18	14	5	35,7	3	21,4	2	14,3	-	-	-	-	-	-
P19	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P20	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOPLAM	248	33	13,3	18	7,3	10	4,0	2	0,8	2	0,8	1	0,4

İ.Ö.S.: İncelenen örnek sayısı; P.Ö.: Pozitif örnek; S: Sayısı



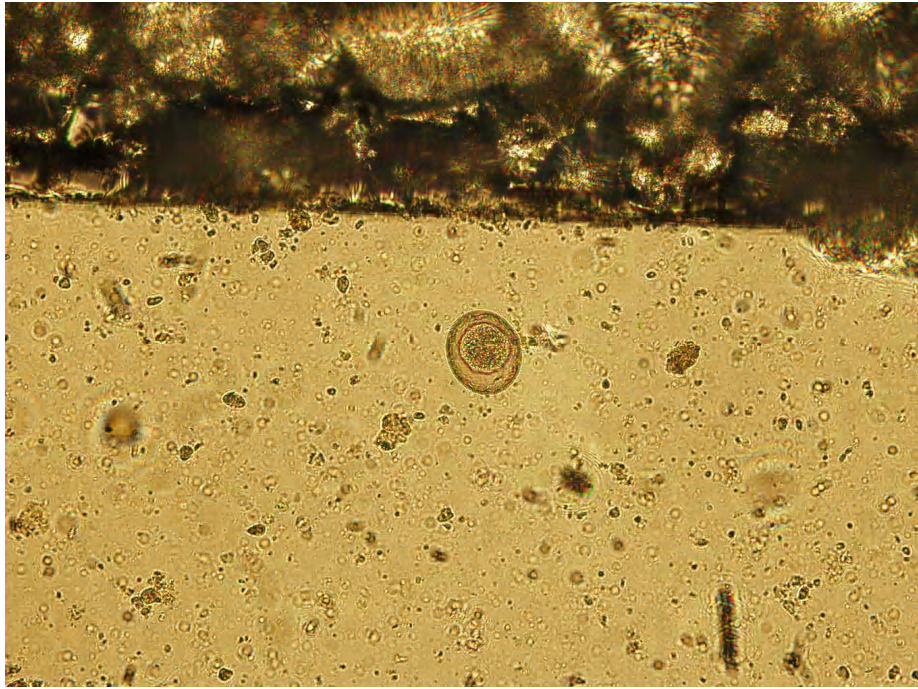
Şekil 4.1. Helmint yumurtaları yönünden pozitif toprak örneklerinde türlerin dağılımı



Şekil 4.2. *Toxocara* sp. yumurtası (Orijinal)



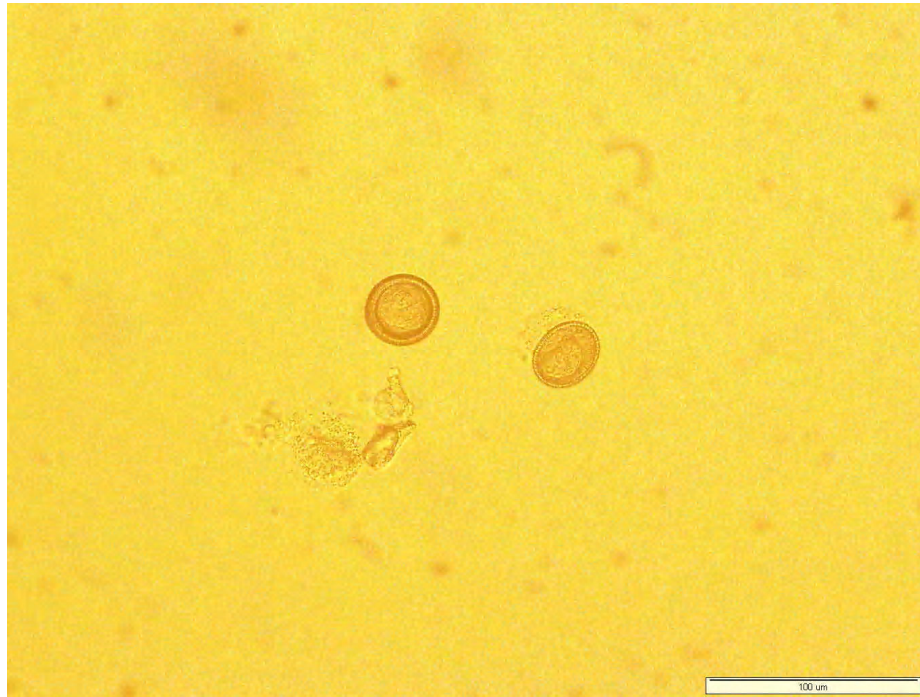
Şekil 4.3. Larva gelişmiş *Toxocara* sp. yumurtası (Orijinal)



Şekil 4.4. *Toxascaris leonina* yumurtası (Orijinal)



Şekil 4.5. *Spirocerca lupi* yumurtası (Orijinal)



Şekil 4.6. *Taenia* sp. yumurtası (Orijinal)



Şekil 4.7. *Ancylostoma caninum* yumurtası (Orijinal)

Çalışmada incelemesi yapılan parklardan P5, P7 ve P10’da toplam 6 adet dışkı örneğine rastlanmıştır. Yapılan dışkı muayenesinde dışkı örneklerinin helmint yumurtaları yönünden negatif olduğu belirlenmiştir.

4.2. MOLEKÜLER İNCELEME SONUÇLARI

DNA izolasyonunun etkinliği açısından karşılaştırması yapılan iki tekniğin deneysel test sonuçları Tablo 4.2’de verilmiştir. Tablo 4.2’de görüldüğü üzere lam üzerinden yumurta izolasyonu yapılan ekstraksiyon tekniğinin (Y2), toprak örneğinden direkt izolasyon yapılan ekstraksiyon tekniğine (Y1) oranla daha duyarlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0.001$).

Tablo 4.2. DNA izolasyonu amacıyla kullanılan iki tekniğin, toprak örneklerine deneysel *T. canis* yumurtası ekimi sonucu PCR’da değerlendirilmesi

Yöntem	Ekilen Yumurta Sayısı																t	df	p
	50				100				250				500						
Y1	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-5,292	14	<0.001
Y2	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			

t: Paired samples “t” testi

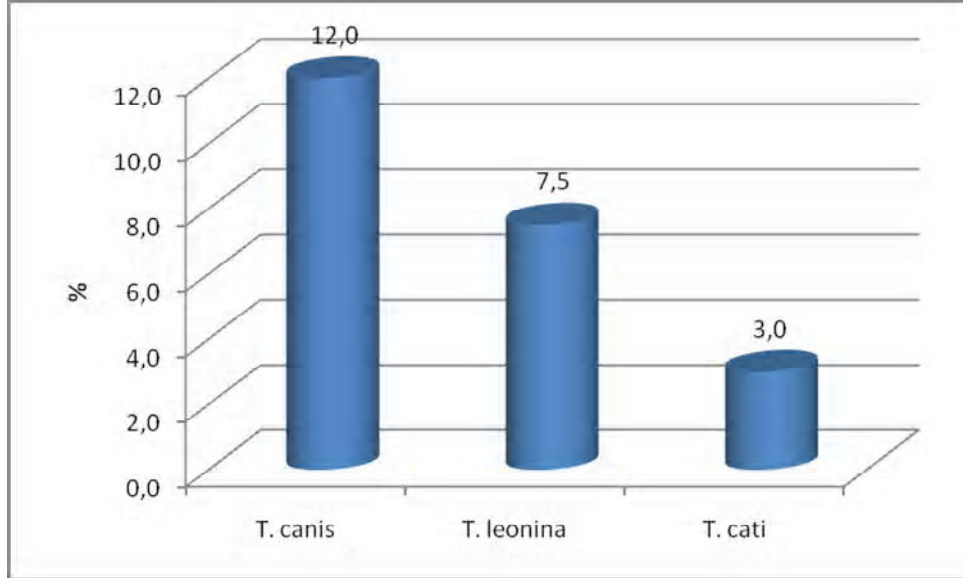
Askarit yumurtaları yönünden pozitif bulunan parklarda tür spesifik primer çiftleri ile yapılan PCR sonuçlarına göre türlerin dağılımı Tablo 4.3’de verilmiştir. Tablo 4.3’de görüldüğü üzere askarit yumurtaları yönünden pozitif toplam 10 parktan altısı (%60) tek türle, dördü ise iki türle (%40) enfekte bulunmuştur. *Toxocara canis* askarit türleri arasında %12,0 ile en yaygın tür belirlenmiş, bunu sırasıyla *T. leonina* ve *T. cati* izlemiştir. Türlerin yayılışı arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,001$). Kontamine parklarda askarit enfeksiyonlarının dağılımı açısından ise istatistiksel bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). İncelemesi yapılan parklarda askarit türleri ile kontaminasyonun dağılımı Şekil 4.7’de gösterilmiştir. Kontamine parklarda *T. canis*, *T. cati* ve *T. leonina* PCR pozitiflikleri sırasıyla Şekil 4.8-4.10’da gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Askarit kontaminasyonu saptanan parklarda PCR sonucu türlerin dağılımı

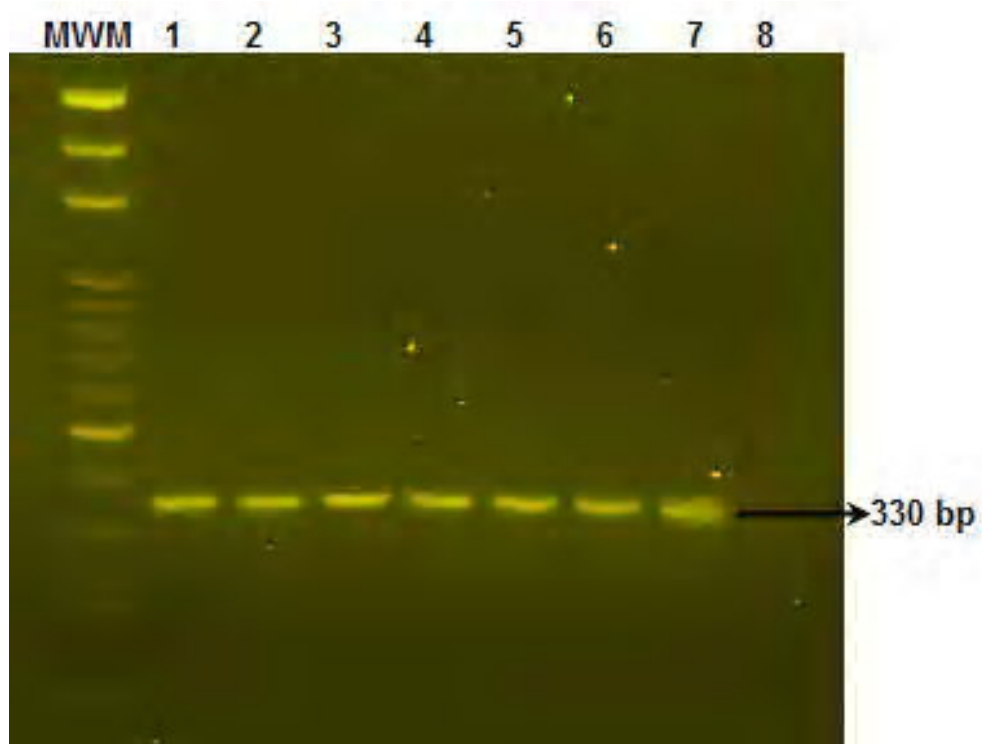
Park No	İ.Ö.S.	P.Ö.		T. canis		T. leonina		T. cati		
		S.	%	S.	%	S.	%	S.	%	
P2	14	3	21,4	-	-	3	21,4	-	-	χ^2 : 8,377 df: 9 p=0,497
P3	15	2	13,3	-	-	2	13,3	-	-	
P4	11	2	18,2	-	-	-	-	2	18,2	
P5	10	1	10,0	1	10,0	-	-	-	-	
P6	12	2	16,7	2	16,7	-	-	-	-	
P8	16	6	37,5	5	31,3	1	6,2	-	-	
P9	14	1	7,1	-	-	-	-	1	7,1	
P13	15	5	33,3	3	20,0	2	13,3	-	-	
P15	12	3	25,0	2	16,7	-	-	1	8,3	
P18	14	5	35,7	3	21,4	2	14,3	-	-	
TOPLAM	133	30	22,5	16	12,0 ^a	10	7,5 ^b	4	3,0 ^c	χ^2 : 23,231 df: 2 p<0,001

İ.Ö.S.: İncelenen örnek sayısı; P.Ö.: Pozitif örnek; S: Sayısı; χ^2 : Pearson's Chi Square

^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel farklılık önemlidir.



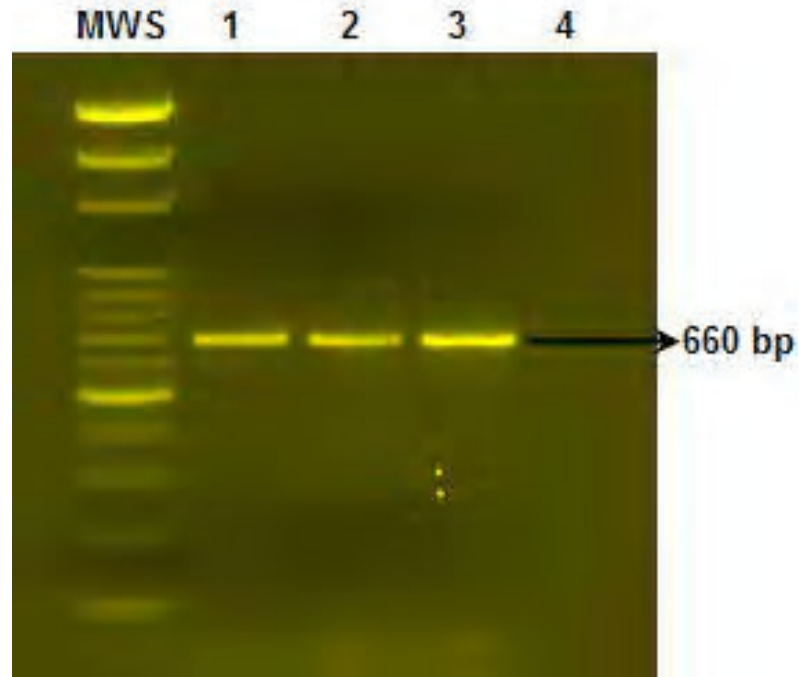
Şekil 4.8. PCR sonuçlarına göre incelemesi yapılan parklarda askarit türlerinin dağılımı



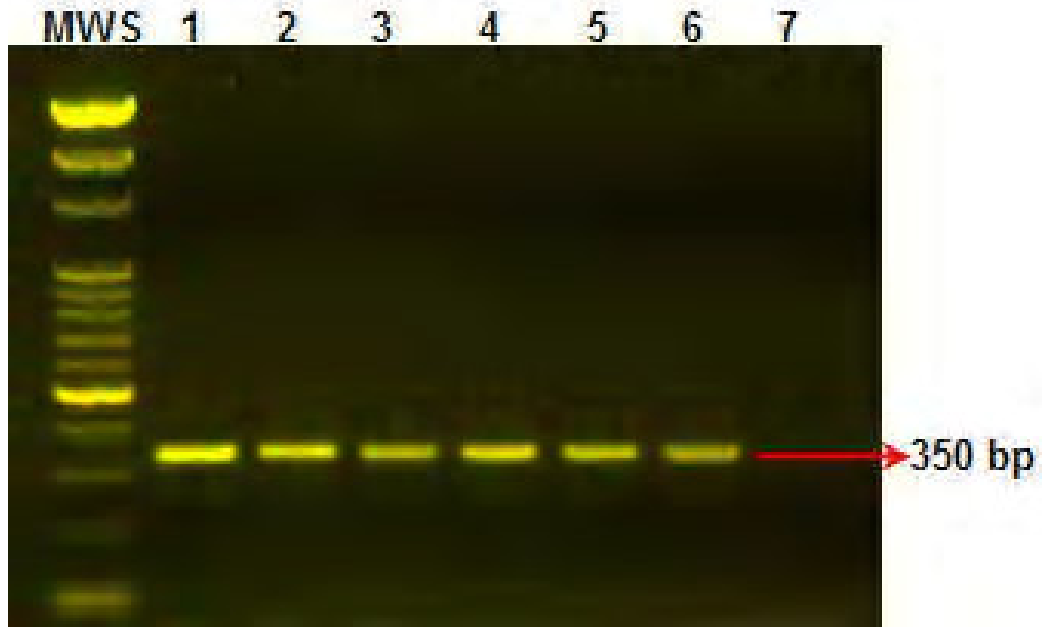
Şekil 4.9. Kontamine toprak örneklerinde PCR ile *T. canis* pozitifliği.

MWM: Moleküler ağırlık standardı; 1-6: Pozitif toprak örnekleri;

7: Pozitif kontrol DNA; 8: No DNA



Şekil 4.10. Kontamine toprak örneklerinde PCR ile *T. cati* pozitifliği. MWM: Moleküler ağırlık standardı; 1-2: Pozitif toprak örnekleri; 3: Pozitif kontrol DNA; 4: No DNA



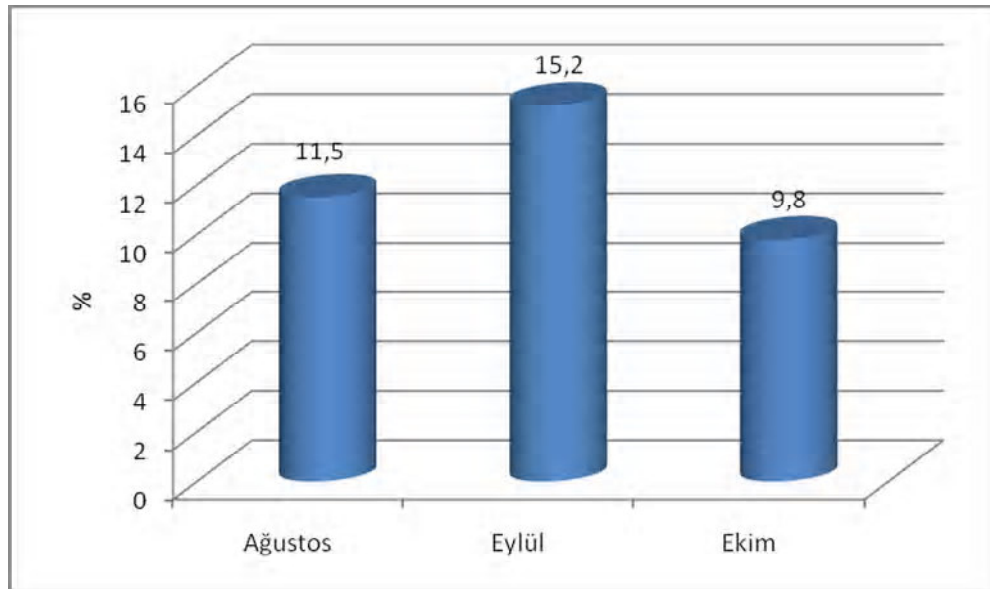
Şekil 4.11. Kontamine toprak örneklerinde PCR ile *T. leonina* pozitifliği. MWM: Moleküler ağırlık standardı; 1-5: Pozitif toprak örnekleri; 6: Pozitif kontrol DNA; 7: No DNA

İncelemesi yapılan kontamine parklarda askarit türlerinin aylara göre dağılımı Tablo 4.4’de verilmiştir. Tablo 4.4’de görüldüğü üzere askarit enfeksiyonları en yüksek Eylül ayında belirlenmiş, bunu Ağustos ve Ekim ayları izlemiştir. Ancak, aylar göre askarit enfeksiyonlarının dağılımı arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Ascarit türleri ile kontamine örneklerin aylara göre dağılımı Şekil 4.11’de verilmiştir.

Tablo 4.4. Kontamine parklarda askarit türlerinin aylara göre dağılımı

Park No	İ.Ö.S.	P.Ö.		T. canis		T. leonina		T. cati		χ^2	df	p
		S.	%	S.	%	S.	%	S.	%			
Ağustos	87	10	11,5	3	3,5	5	5,7	2	2,3	1,163	2	0,559
Eylül	79	12	15,2	8	10,1	3	3,8	1	1,3			
Ekim	82	8	9,8	5	6,1	2	2,5	1	1,2			
TOPLAM	248	30	12,1	16	6,5	10	4,0	4	1,6			

İ.Ö.S.: İncelenen örnek sayısı; P.Ö.: Pozitif örnek; S: Sayısı; χ^2 : Pearson’s Chi Square



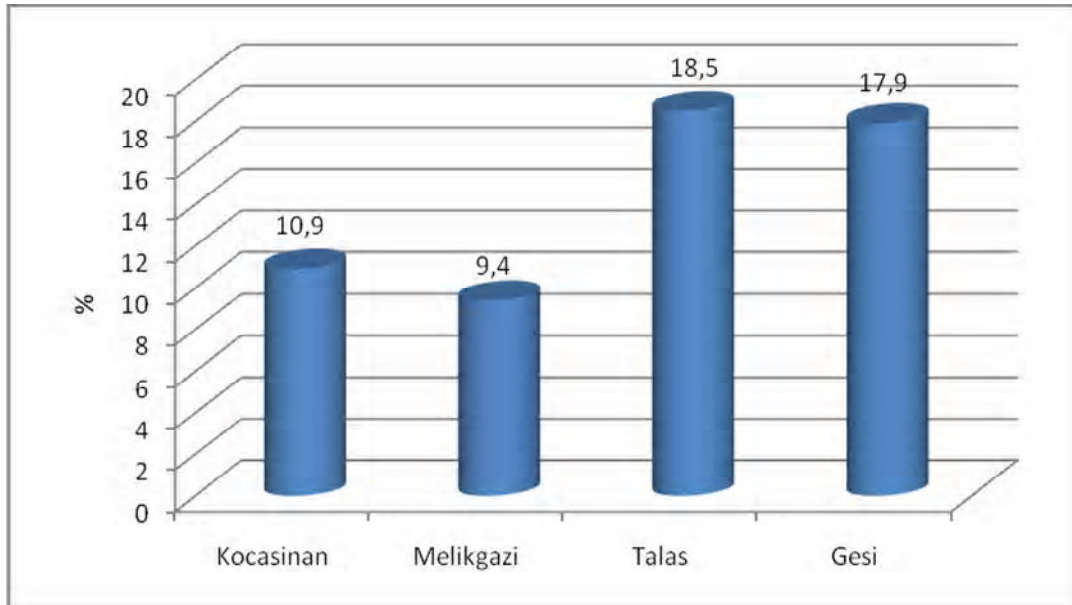
Şekil 4.12. Ascarit türleri ile pozitif örneklerin aylara göre dağılımı

Ascarit türleri ile kontaminasyonun ilçelere göre dağılımı Tablo 4.5’de verilmiştir. En yüksek kontaminasyon oranı % 18,5 ile Talas ilçesinden örneklenen parklarda belirlenmiş, bunu sırasıyla Gesi, Kocasinan ve Melikgazi ilçelerinden örneklenen parklar izlemiştir. Ascarit enfeksiyonlarının ilçelere göre dağılımı açısından istatistiksel farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Ascarit türleri ile kontamine örneklerin ilçelere göre dağılımı Şekil 4.12’de verilmiştir.

Tablo 4.5. Kontamine parklarda ascarit türlerinin ilçelere göre dağılımı

Park No	İ.Ö.S.	P.Ö.		T. canis		T. leonina		T. cati		χ^2	df	p
		S.	%	S.	%	S.	%	S.	%			
Kocasinan	129	14	10,9	8	6,2	4	3,1	2	1,6	2,554	3	0,466
Melikgazi	64	6	9,4	3	4,7	2	3,1	1	1,6			
Talas	27	5	18,5	2	7,4	2	7,4	1	3,7			
Gesi	28	5	17,9	3	10,7	2	7,2	-	0,0			
TOPLAM	248	30	12,1	16	6,5	10	4,0	4	1,6			

İ.Ö.S.: İncelenen örnek sayısı; P.Ö.: Pozitif örnek; S: Sayısı; χ^2 : Pearson’s Chi Square



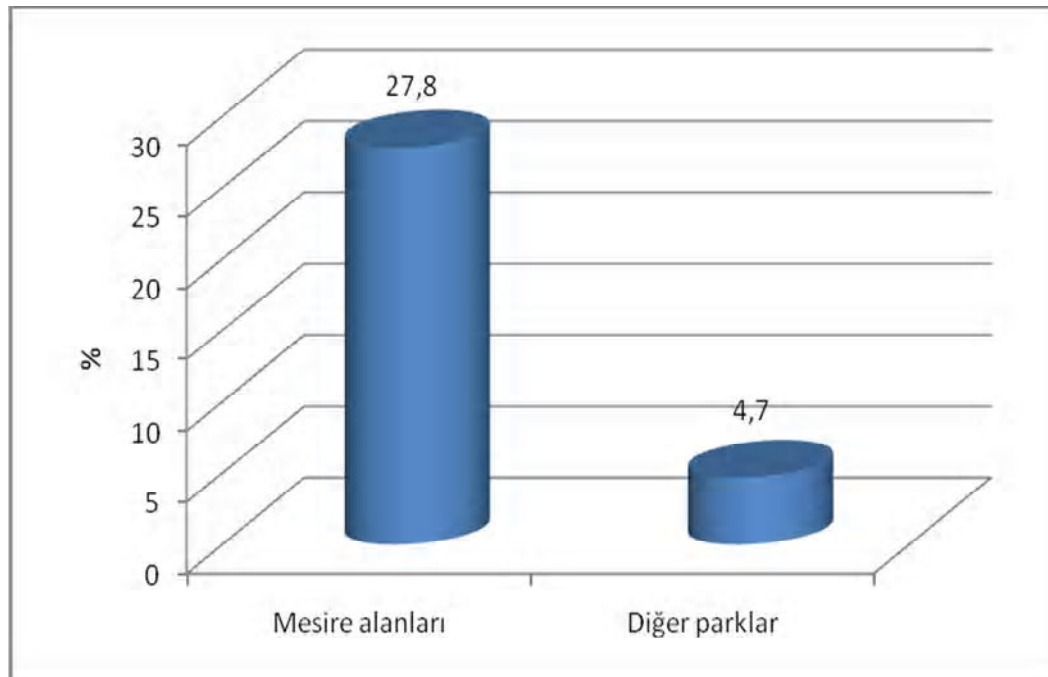
Şekil 4.13. Ascarit türleri ile pozitif örneklerin ilçelere göre dağılımı

Askarit türleri ile kontaminasyonun mesire alanları ve diğer parklara göre dağılımı Tablo 4.6'da verilmiştir. Tablo 4.6'da görüldüğü üzere mesire alanlarındaki parklarda saptanan kontaminasyon oranı diğer parklara oranla yaklaşık altı kat daha yüksek belirlenmiş ve bu farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0,001$). Ascarit türleri ile kontamine örneklerin park türüne göre dağılımı Şekil 4.13'de verilmiştir.

Tablo 4.6. Kontamine parklarda askarit türlerinin park çeşidine göre dağılımı

Park No	İ.Ö.S.	P.Ö.		T. canis		T. leonina		T. cati		χ^2	df	p
		S.	%	S.	%	S.	%	S.	%			
Mesire alanları	79	22	27,8	16	20,2	5	6,3	1	1,3	15,579	1	<0,001
Diğer parklar	169	8	4,7	-	0,0	5	2,9	3	1,8			
TOPLAM	248	30	12,1	16	6,5	10	4,0	4	1,6			

İ.Ö.S.: İncelenen örnek sayısı; P.Ö.: Pozitif örnek; S: Sayısı; χ^2 : Fisher's Exact Test



Şekil 4.14. Askarit türleri ile pozitif örneklerin park türüne göre dağılımı

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Zoonotik enfeksiyonların yayılış göstermesinde evcil hayvanların önemli rolü bulunmaktadır. Köpek ve kedilerde yerleşim gösteren askarit türleri de zoonotik enfeksiyonlar arasında önemli bir yer tutmaktadır. Türkiye’de kedi ve köpek helmint yumurtalarıyla çocuk parkları ve halka açık alanların kontaminasyonuna yönelik çok sayıda araştırma yapılmıştır. Güçlü ve Aydenizöz (29), Konya’da bakısı yapılan 4 parkta *Toxocara* sp. kontaminasyonunu %4.16 olarak bildirmişlerdir. Ankara’da Öge ve Öge (30) 46 parkta helmint yumurtaları ile kontaminasyon oranını *Toxocara* sp. %30.6, *Toxascaris leonina* %4,1, *Ancylostoma* sp. %17.62, *Taenia* sp. %1.82, *Trichuris* sp. % 2,4.ve *Enterobius vermicularis* %1,2 olarak kaydetmişlerdir. Aynı ilde Avcıoğlu ve Burgu (31) toplam 45 parkta kontaminasyon oranını %11,3 olarak saptamışlar, Kontamine örneklerde *Toxocara* sp.’nin %82,4, *Taenia* sp.’nin %4,6, *Toxascaris leonina*’nın %1,9 yaygın olduğunu belirtmişlerdir. Bunun yanında *Toxocara* sp. + *Taenia* sp. ve *Toxocara* sp. + *Toxascaris leonina* ile miks kontaminasyonları %0,9 olarak bildirmişlerdir. İstanbul’da Toparlak ve ark. (32), 63 parktaki *Toxocara* sp. ile kontaminasyon oranını %15,9 belirlemişlerdir. Elazığ’da Kaplan ve ark. (34), çocuk parkı, okul bahçesi ve halka açık alanlar gibi 62 farklı yerden alınan örneklerde %3,2 oranında *Toxocara* sp. yumurtaları ile kontaminasyon saptamışlardır. Erzurum’da

Avcioğlu ve Balkaya (35), 36 parktan örnekledikleri 214 toprak numunesinde *Toxocara* sp. yumurtalarını %64,28, *Taenia* sp. yumurtalarını ise %3,12 oranında yaygın bulmuşlardır. Van'da Ayaz ve ark. (36), Yüzüncü Yıl Üniversitesi Kampüsünden ve şehir merkezindeki çocuk parkları ve okul bahçelerinden alınan 107 toprak örneğinin %25,97'sinde *Toxocara* sp., %11,25'inde *T. leonina* yumurtalarına rastlamışlardır. Aydın'da Gürel ve ark. (37), 111 parktan alınan örneklerde *Toxocara* sp. yumurtaları ile kontaminasyonu %18,9 bulmuşlardır.

Kırıkkale'de Aydenizöz Özkayhan, (38), 1 yıl süreyle mevsimsel bakısını yaptıkları 8 parkta *Toxocara* sp., *Toxascaris leonina*, *Taenia* sp. ve *Isospora* sp. ile kontaminasyon oranlarını sırasıyla %15,6, %1,5, %1,0 ve %0,2 olarak bildirmişlerdir.

Kütahya'da ise Akdemir (39), 9 parktan topladığı 30 toprak örneğinden 3'ünde (%10) *Toxocara* sp. yumurtaları belirlemiştir. Bu çalışmada ise 20 parktan 10'u (%50), bu parklardan örneklenen toplam 248 adet toprak örneğinin 33'ü (%13,3) askarit ve diğer bazı helmint yumurtaları ile kontamine bulunmuştur. Toprak örneklerinde saptanan helmint yumurtalarının dağılımı incelendiğinde en yaygın tür %7,3 ile *Toxocara* sp. bulunmuş, bunu %4,0 ile *T. leonina*, %0,8 ile *S. lupi* ve *Taenia* sp. ve %0,4 ile *A. caninum* izlemiştir. Parazitolojik inceleme sonuçlarına göre elde edilen prevalans oranlarının Avcioğlu ve Burgu (31)'nin bildirdikleri oranlarla yakın olduğu diğerlerinden ise düşük olduğu dikkati çekmektedir. Ortaya çıkan bu prevalans farklılıklarda araştırmanın yapıldığı bölgenin sıcaklık, yağış, nem miktarı, toprak / kum yapısı, güneş ışığına maruz kalma süresi gibi çevresel faktörlerin önemli olduğu düşünülmektedir. Bunun yanında bölgenin sosyo-ekonomik yapısı, kültürel durumu da çalışmalarda sonuçları etkileyebilmektedir. Bölgedeki sahipsiz kedi, köpek popülasyonu, bunların parazitlenme durumu, parklara girip çıkmalarını engelleyen sınırlamaların olup olmaması, sahipli hayvanların dışkılarının toplanıp toplanmaması da kontaminasyonlarda ve bunları belirlemeye yönelik çalışmalarda sonuçları etkilemektedir. Ayrıca yerel yönetimlerin ilgili mevzuatlar çerçevesinde halk sağlığını koruma kapsamında göstermiş oldukları duyarlılık ve uygulamalar da sonuçlara etki etmektedir. İşaret edilen bu çevresel ve yöresel faktörlerin yanında araştırmalarda kullanılan materyal ve metot da çok önemlidir. Örneklerin alındığı yer, örnek niteliği, miktarı, hangi derinlikten alındığı, örneklerin hazırlanmasında kullanılan solüsyonlar veya yumurtaları toplama yöntemleri inceleme sırasında kullanılan gereçler de çalışma

sonuçlarını değiştirebilmektedir. Diğer yandan parklarda *S. lupi* kontaminasyonu Türkiye’de ilk kez bu çalışma ile ortaya konmuştur.

Dünyada da park ve oyun alanlarının askarit türleri ile kontaminasyonunun moleküler yöntemlerle araştırılması sınırlıdır (40-42). Türkiye’de ise bugüne kadar parklardaki oyun alanlarının askarit türleri ile kontaminasyonu üzerine moleküler yöntemlerle yapılmış araştırma bulunmamaktadır. Bu durum, askarit türleri için yumurta bakısına göre verilen kontaminasyon oranları ile *Toxocara* sp. olarak bildirilen askaritlerin tür bazında teşhislerinin gerekliliğini ortaya koymuştur. Bu çalışma ile bu durumun açıklığa kavuşturulması sağlanmıştır. Bu çalışmada moleküler olarak park kontaminasyonuna yol açan askarit türlerinin belirlenmesi ile hem kontaminasyon derecesinin net olarak ortaya konması ve bunun yanında kontaminasyonun canidae ve/veya felidae orijinli olup olmadığı da saptanmıştır. Li ve ark., (40), *Toxocara canis*, *Toxocara cati*, *Toxocara malaysiensis* ve *Toxascaris leonina* türlerinin nuclear ribosomal DNA bölgesinden (rDNA internal transcribed spacers (ITS-1 and ITS-2) spesifik gen bölgelerini amplifiye eden primerler ile uyguladıkları PCR sonuçlarına göre, askarit türlerinin spesifik identifikasyonlarının daha duyarlı olduğunu ve daha sağlıklı epidemiyolojik verilerin elde edilebileceğini kaydetmişlerdir. Diğer yandan Fogt-Wyrwas ve ark., (41), deneysel yaptıkları çalışmada, askarit türleri yönünden mikroskopik bakıyla saptadıkları pozitif örneklerde yumurta izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Bu izolatları spesifik primerlerle uygulanan PCR neticesinde, parklardaki kontaminasyon ve spesifik tür identifikasyonunda moleküler yöntemlerin daha yararlı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Benzer şekilde Borecka ve Gawor (42), toprak örneklerinden genomik DNA izolasyonu sonucu uyguladıkları moleküler analizde bu yöntemin spesifik teşhiste oldukça duyarlı olduğunu kaydetmişlerdir. Bu çalışmada da yukarıdaki çalışmalara paralel şekilde kontamine park örneklerinde saptanan askarit türlerinin moleküler teşhisleri başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiş ve moleküler yöntemlerin bu alanda oldukça kullanışlı olduğu görülmüştür. Genomik DNA izolasyonunda, Borecka ve Gawor, (42) tarafından önerilen toprak örneğinden direkt DNA izolasyonunun yapıldığı yöntemin özellikle yumurta sayısının düşük olduğu örneklerde (<100 yumurta) PCR ile negatif sonuç verdiği belirlenmiştir. Askarit yumurtaları yönünden pozitif örneklerde lam üzerinden yumurtaların izole edildiği tekniğin (47) ise genomik DNA ekstraksiyonunda daha etkin olduğu saptanmıştır (p<0,001). Bu yüzden mevcut çalışmada saha örneklerinin incelenmesinde Graczyk ve

ark.,'nın (47) bildirdiği teknik modifiye edilerek uygulanmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre askarit yumurtaları yönünden pozitif toplam 10 parktan altısı (%60) tek türle, dördü ise iki türle (%40) enfekte bulunmuştur. Saptanan askarit türleri arasında *Toxocara canis*'in en yaygın tür olduğu saptanmış, bunu sırasıyla *T. leonina* ve *T. cati* izlemiştir. Türlerin yayılımı arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,001$).

Bu çalışmada *T. canis*'in pozitifliğinin yüksek bulunması, park kontaminasyonlarının epidemiyolojisinde canidelerin (muhtemelen köpek) daha önemli olduğunu göstermektedir. Ayrıca bu çalışmayla zoonotik potansiyeli göz önüne alındığında *T. canis*'in özellikle şehir parklarındaki çocuk oyun alanlarında bilhassa çocuklar için yakın tehlike olarak risk potansiyeli oluşturduğu da ortaya konmuştur. Bu durum, Kayseri'de şehir parklarındaki çocuk oyun alanlarının köpek ve kedi dışkılarıyla kontaminasyonuna karşı korumasız olduklarını göstermektedir. Diğer yandan bu çalışmada mesire alanlarındaki parklarda saptanan askarit kontaminasyonu diğer parklara oranla yaklaşık altı kat daha yüksek saptanmıştır. Bu durum, mesire alanlarında zoonotik karakterli askarit enfeksiyonlarının insanlar için yüksek risk potansiyeli oluşturduğunu göstermektedir.

Ascarit türleri ile kontaminasyonun mevsimsel durumu üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Glickman ve Shofer, (5), mevsimlerin, yani sıcaklık, nem, yağış miktarı, rüzgârın kontaminasyon oranına dolaylı olarak etki ettiğini kaydetmiştir. Katakura ve ark., (48), güneş ışınlarının (radyasyon) yumurtalar üzerinde dejeneratif etki yaptığını, Smith ve ark., (49), yağmurların yumurtaları bulunduğu yerden başka yerlere taşıyarak kontaminasyon oranına etki edeceğini bildirmiştir. Schantz ve Glickman, (50), 'a göre nemli toprakta parazit yumurtalarının özellikle de *Toxocara* sp. yumurtalarının aylarca canlılığını koruyabildiğini ve gölgeli alanlardaki yumurtaların güneş radyasyonundan korunduğu için daha uzun süre canlı kalabildiklerini kaydetmiştir. Shimizu (51), Japonya'da 5 parkta kontaminasyonun ilkbahar, erken yaz ve sonbaharda (3/5 - 5/5) yüksek, yaz ve kış ayları ise (2/5 - 3/5) düşük olduğunu, aynı zamanda yumurta sayısının yaz ve kış aylarında daha düşük olduğunu bildirmiştir. İlkbahar ve sonbahar aylarında kontaminasyonun yüksek olmasının nedenini, bu ayların kedi ve köpeklerin yavrulama dönemleri olmasına ve enfeksiyonun bu dönemlerde daha yaygın ortaya çıkmasına bağlamaktadır. Yaz mevsimindeki kontaminasyon düşüklüğü ise bu

mevsimdeki yüksek ısı nedeniyle yumurtalardaki dejenerasyonun artması ile ilişkilendirmektedir. Türkiye’de yapılan bir çalışmada Aydenizöz Özkayhan, (38), Kırıkkale’de bakısı yapılan parklarda bulunan yumurtalara Şubat, Mart, Nisan, Haziran, Ağustos ve Kasım aylarında rastlandığını kaydetmiştir. Avcıoğlu ve Burgu (31), parklardaki kontaminasyonu yazın %4,02, sonbaharda %13,21, kışın %9,77, ilkbaharda ise %12,64 olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada ise askarit enfeksiyonları en yüksek Eylül ayında belirlenmiş, bunu Ağustos ve Ekim ayları izlemiştir. Ancak, aylar göre askarit enfeksiyonlarının dağılımı arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Özellikle sıcak aylarda kontaminasyonun yüksek bulunması, parklardaki insan popülasyonunun fazlalığı ve kalış zamanının uzamasına bağlı olarak enfeksiyon riski potansiyelini artırmaktadır.

Sonuç olarak bu çalışma ile Kayseri parklarındaki çocuk oyun alanlarının askarit türleri ile kontaminasyonu moleküler olarak Türkiye’de ilk kez ortaya konmuştur. Çalışmada özellikle *T. canis* kontaminasyonunun yüksek belirlenmesi insan sağlığı açısından risk arz etmektedir. Bu açıdan yörede sahipli köpeklerin veya çeşitli barınaklarda bulunan kedi ve köpeklerin parazitolojik kontrolleri periyodik olarak veya Veteriner Hekim uygun gördüğünde yetkili laboratuvar / kliniklerde yaptırılmalıdır. Sahipli kedi ve köpek için yapılan uygulamaları ve zamanını gösteren bir “sağlık karnesi” düzenlenmiş olması zorunluluğu getirilmelidir. Hayvan sahiplerine köpeklerini park ve bahçelerde ya da halka açık alanlarda gezdirirlerken “dışkılama” durumunda bunların toplanması gerektiği bilinci kazandırılmalı ya da cezai birtakım uygulamalar getirilmelidir. Toplanan dışkıların elde kalmaması için yalnızca bunların atılacağı “özel dışkı kutuları, dışkı poşetleri” bu gibi yerlere konulmalıdır. Birçok ülkede var olan “köpek tuvaletleri” de bu gibi yerlerde düşünülmelidir. Park ve bahçelerin etrafı sadece sınırları belirleme açısından değil kedi ve köpeklerin girişini engelleyecek tarzda çevrelenmelidir. Sahipsiz kedi ve köpek popülasyonu kontrol altına alınmalıdır. Uzun dönemde kısırlaştırma sonrası, kulak numarası / mikroçip uygulamaları ile hayvanların izlenmesi, gereğinde ulaşılarak çeşitli uygulamaların yapılabilmesi mümkün olabilecektir. Yukarıdaki önerilerin hayata geçirilebilmesi için yerel yönetimlerin ilgili mevzuatlar ve/veya ilave mevzuatlar ile yönetsel uygulama ve önlemlerine gereksinim olduğu açıktır.

6. KAYNAKLAR

1. Soulsby E.J.L. Helminths, Artropods and Protozoa of Domesticated Animals. Bailliere Tindall, London 1986; pp 136-156.
2. Kassai T. Veterinary Helminthology. Butterworth-Heinemann, Linarce House, Jordon Hill, Oxford 1999; pp 103-108.
3. Burgu A. Helmintozoneozlar. Türk Vet Hek Dern Derg 1981; 51: 89-101.
4. Güralp N. Helmintoloji 2. baskı, Ankara. Ankara niv Vet Fak Yayın, 368/266 1981; ss 221-239.
5. Gllickman LT, Shofer FS. Zoonotic visceral and ocular larva migrans. Vet Clin North Am (Small Anim Pract) 1987; 17: 39-53.
6. Overgaaauw PAM. Aspects of Toxocara epidemiology: human toxocarosis. Clin Rew Microbiol 1997; 23: 215-231.
7. Urquhart GM, Armour AJ, Duncan JL, Dunn AM, Jennings FW. Veterinary Parasitology. Longman Sci Tech, Essex, England 1987; pp 110-125.
8. Kazacos KR. Improved method for recovering ascarid and other helminth eggs from soil associated with epizootics and during survey studies. Am J Vet Res 1983; 44: 896-900.

9. Gllickman LT, Schantz PM, Cypess RH. Canine and human toxocariasis: Review of transmission, pathogenesis and clinical disease. J Am Vet Med Assoc 1979; 175: 1265-1269.
10. Mimioğlu M, Güralp N, Sayın F. Ankara köpeklerinde görülen parazit türleri, bunların yayılış nispeti. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 1959; 6: 53-68.
11. Pamukçu M, Ertürk E. 1933-1960 yılları arasında Ankara ve yöresinde köpeklerde görülen hastalıklara genel bakış. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 1961; 8: 323-346.
12. Ertürk E, Tanzer F. 1961-1972 Periyodunda Ankara ve yöresinde köpeklerde görülen hastalık olaylarına kısa bir bakış. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 1973; 20: 277-280.
13. Doğanay A. Ankara köpeklerinde görülen helmint türleri, bunların yayılışı ve halk sağlığı yönünden önemi. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 1983; 30: 550-561.
14. Çerçi H. Ankara İli Elmadağ İlçesi Kırsal Yöre Köpeklerinde Görülen Mide-Bağırsak Helmintlerinin Yayılışı ve İnsan Sağlığı Yönünden Önemi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 1990.
15. Zeybek H, Tatar N, Tokay A. Ankara kırsal alan köpeklerinde görülen parazitler ve bunların yayılışı. Etlik Vet Mikrobiyol Derg, 1992; 7: 17-27.
16. Ayçiçek H, Sarımeahmetoğlu HO, Tanyüksel M. Ankara sokak köpeklerinde görülen bağırsak helmintlerinin yayılışı ve bunların halk sağlığı bakımından önemi. T Parazitol Derg, 1998; 22: 156-158.
17. Güralp N, Dinçer Ş, Kemer R, Cantoray R, Taşan E. Elazığ yöresi köpeklerinde görülen gastro-intestinal helmint türleriyle bunların yayılış oranı ve halk sağlığı yönünden önemleri. Ankara Univ Vet Fak Derg, 1977; 24: 241-249.
18. Dinçer Ş, Cantoray R, Taşan E. Elazığ' da sokak kedilerinde görülen iç ve dış parazitler ile bunların yayılışı oranları üzerine araştırmalar. Fırat Üniv Vet Fak Derg, 1980; 5: 7-15.
19. Taşan E. Elazığ Kırsal Yöre Köpeklerinde Görülen Helmintlerinin Yayılışı ve İnsan Sağlığı Yönünden Önemi. Doçentlik Tezi. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ 1982; ss40-45.
20. Merdivenci A. İstanbul' da larva migrans rezervuarları üzerine araştırmalar. Türk Vet Hek Dern Derg, 1962; 32: 382-398.
21. Saygı G, Özçelik S, Temizkan N. Sivas sokak köpeklerinin ince bağırsaklarında bulduğumuz helmintler. T Parazitol Derg, 1990; 1: 81-93.

22. Ataş DA, Özçelik S, Saygı G. Sivas sokak köpeklerinde helmint türleri, bunların yayılışı ve halk sağlığı yönünden önemi. T Parazitol Derg, 1997; 21: 305-309.
23. Güçlü F, Aydenizöz M. Konya' da köpeklerde dışkı bakılarına göre parazitlerin yayılışı. T Parazitol Derg, 1995; 19: 550-556.
24. Aydenizöz M. Konya yöresi köpeklerinde helmintolojik araştırmalar. T Parazitol Derg, 1997; 21: 429-434.
25. Tınar R, Coşkun ŞZ, Doğan H. ve ark. Bursa yöresi köpeklerde görülen helmint türleri ve bunların yayılışı. T Parazitol Derg, 1989; 13: 113-120.
26. Şahin I, Ekinci N, Şen I, Özcan M, Gödekmerdan A. Kayseri yöresi köpeklerinde *Echinococcus granulosus* (Batsch,1876) ve diğer parazitlerin yayılışı. T Parazitol Derg, 1993; 17: 69-76.
27. Umur Ş, Arslan MÖ. Kars yöresi sokak köpeklerinde görülen helmint türlerinin yayılışı. T Parazitol Derg, 1998; 22: 188-193.
28. Burgu A, Tınar R, Doganay A, Toparlak M. Ankara sokak kedilerinin ekto ve endoparazitleri üzerinde bir araştırma. Ankara Univ Vet Fak Derg, 1980; 32: 288-300.
29. Güçlü F, Aydenizöz M. Çocuk parklarındaki kumların köpek ve kedi helminti yumurtaları ile kontaminasyonunun tesbiti. T Parazitol Derg, 1998; 22: 194-198.
30. Öge S, Öge H. Prevalence of *Toxocara* spp. eggs in the soil of public parks in Ankara, Turkey. Dtsch Tierarztl Wschr, 2000; 107: 72-75.
31. Avcıoğlu H, Burgu A. Seasonal prevalence of *Toxocara* ova in soil samples from public parks in Ankara, Turkey. Vector Borne Zoonotic Dis. 2008; 8, 3: 345-50.
32. Toparlak M, Gargılı A, Tüzer E, ve ark. Contamination of children's playground sandpits with *toxocara* eggs in İstanbul, Turkey. Turk J Vet Anim Sci, 2002; 26: 317-320.
33. Duwell D. The prevalence of *Toxocara* eggs in the sand in children's playgrounds in Frankfurt/M. Ann. Trop Med Parasitol, 1984; 78: 633-636.
34. Kaplan K, Kuk S, Kalkan A. Elazığ'daki çocuk parkları ve oyun sahalarında *Toxocara* spp. araştırılması. Fırat Üniv Sağlık Bil Derg, 2002; 16: 277-279.
35. Avcıoğlu 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. 2010 DOI: 1089/ vbz 2009. 0244.
36. Ayaz E, Yaman M, Gül A. Prevalence of *Toxocara* spp. eggs in soil of public parks in Van, Turkey. Indian Vet J, 2003; 80: 574-576.

37. Gürel FS, Ertuğ S, Okyay P. Aydın il merkezindeki parklarda toxocara spp. yumurta görülme sıklığının araştırılması. T Parazitol Derg, 2005; 29: 177-179.
38. Aydenizöz Özkayhan M. Soil contamination with ascarid eggs in playgrounds in Kırıkkale, Turkey. J Helminthol, 2006; 80: 15-18.
39. Akdemir C, Visceral larva migrans among children in Kütahya (Turkey) and an evaluation of playgrounds for T. canis eggs. Turk J Pediatr. 2010; 52 2: 158-62.
40. Li MW, Lin RQ, Chen HH, et al. PCR tools for the verification of the specific identity of ascaridoid nematodes from dogs and cats. Mol Cell Probes 2007; 21, 5-6: 349-54.
41. Fogt-Wyrwas R, Jarozy W, Mızgajska-Włktor 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.
42. 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. J Helminthol. 2008; 82, 2: 119-22.
43. Ishiwata K, Shinohara A, Yagi K. et al. Identification of tissue-embedded ascarid larvae by ribosomal DNA sequencing. Parasitol Res. 2004; 92 1: 50-2.
44. Jex Ar, Waeschenbach A, Littlewood DT, et al. The mitochondrial genome of Toxocara canis. PLoS Negl Trop Dis. 2008; 2,8: e273.
45. Norhaida A, Suharni M, Liza Sharmini AT, Tuda J, Rahmah N. rTES-30USM: cloning via assembly PCR, expression, and evaluation of usefulness in the detection of toxocariasis. Ann Trop Med Parasitol. 2008; 102, 2: 151-60.
46. Mohamad S, Azmi NC, Noordin R. Development and evaluation of a sensitive and specific assay for diagnosis of human toxocariasis by use of three recombinant antigens (TES-26, TES-30USM, and TES-120). J Clin Microbiol. 2009; 47, 6: 1712-7.
47. Graczyk TK, Cranfield MR. & Fayer R. Recovery of waterborne oocysts of Cryptosporidium from water samples by the membrane-filter dissolution method. Parasitology Research 1997; 83: 121-125.
48. Katakura K, Hamada A, Kobayashi A. The fate of Ascaris eggs applied to the soil under various conditions. Jap j Parasitol, 1986; 35: 1-9.
49. Smith TE, Hagstad HV, Beard GB. A risk assesment in botan Rouge, Lousiana. Int J Zoonoses, 1984; 11: 189-194.

50. Schantz P M, Glickman LT. Toxocaral visceral larva migrans. New England J. Med, 1978; 298: 436-439.
51. Shimizu T. Prevalence of Toxocara eggs in sandpits in Tokushima city and its outskirts. J Vet Med Sci, 1993; 55: 807-811.

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
İLAÇ ARAŞTIRMALARI YEREL ETİK KURULU
(Talas Yolu Üzeri 38039 KAYSERİ Tel 0 352 437 49 10 -11 Faks: 0 352 437 52 85)

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	
	PROTOKOL ADI	Kayseri'de parklardaki oyun alanlarının toxocara canis, toxocara cati ve toxascaris leonina ile kontaminasyonunun belirlenmesi ve toprak örneklerinde saptanan askarit enfeksiyonlarının moleküler teşhisi
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Doç.Dr. Alparslan Yıldırım
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
	BAŞVURULAN ETİK KURUL	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi
	DESTEKLEYİCİ FIRMA	
	FAZİ	
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	☒ Tek Merkez ☐ Çok Merkez ☐ Ulusal ☐ Uluslararası

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Değişiklik No.su	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐
	ARAŞTIRICI BROŞURU			Türkçe ☐ İngilizce ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ			Türkçe ☐ İngilizce ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 09/138	Karar : 03.03.2009
	Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Doç.Dr. Alparslan Yıldırım'ın sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen tek merkezli araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına ve kurulumuz kararının sorumlu araştırmacıya ve dekanlık mazamına arzına toplantıya katılan öğretim üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI İYİ KLİNİK UYGULAMALAR KILAVUZU

Ünvanı / Adı Soyadı Ek Üyeliliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
				☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Kader KÖSE	Biyokimya	E.Ü. Tıp Fak.	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Sabahattin MUHTAROĞLU	Biyokimya	E.Ü. Tıp Fak.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Olgun KONTAŞ	Patoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Murat AKSU	Nöroloji	E.Ü. Tıp Fak.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Mustafa ÖZTÜRK	Radyodiagnostik	E.Ü. Tıp Fak.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Mustafa KENDİRCİ	Çocuk Hast.	E.Ü. Tıp Fak.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Oğuz EKMEKÇİOĞLU	Üroloji	E.Ü. Tıp Fak.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Yrd. Doç. Dr. Hasan Basri ULUSOY	Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Zübeyde ÇELEBİ Avukat	Avukat	E.Ü.	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

* Araştırma ile ilişkili
** Toplantıda bulunma

ÖZGEÇMİŞ

Özlem BOZKURT, 23 Nisan 1982 yılında Erzincan’da doğdu. İlköğrenimini Ankara’da orta ve lise öğrenimini Malatya’da tamamladı.2000 yılında Malatya Turgut Özal Anadolu Lisesi’nden mezun oldu. 2001 yılında Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesine kayıt yaptırdı. 2007 yılında veteriner hekim ünvanıyla fakülteden mezun oldu. Aynı yıl Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programına kayıt yaptırdı. Halen ilgili alanda lisansüstü öğrenimine devam etmektedir.

Adres:

Yanıkoğlu Mahallesi

Mullaoğlu Sokak

Yanıkoğlu Apartmanı 12/7

Kayseri

Tel: 0 535 551 04 10