



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**KESİMİ YAPILAN RUMİNANTLARDAN ELDE EDİLEN
FASCIOLA TÜRLERİNİN MORFOMETRİK VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ**

Sedat KAVAK
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI
(TIP PROGRAMI)
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hasan YILMAZ

VAN-2025

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KESİMİ YAPILAN RUMİNANTLARDAN ELDE EDİLEN
FASCIOLA TÜRLERİNİN MORFOMETRİK VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ**

Sedat KAVAK
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI
(TIP PROGRAMI)
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hasan YILMAZ

VAN-2025

KABUL VE ONAY



ETİK BEYAN

T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “**Kesimi Yapılan Ruminantlardan Elde Edilen *Fasciola* Türlerinin Morfometrik ve Moleküler Yöntemlerle İncelenmesi**” başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Sedat KAVAK

Tarih:

İmza:

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca beni yönlendiren, desteği, bilgisi ve tecrübelerini paylaşarak her konuda bana destek olan Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı başkanı ve tez danışmanım Prof. Dr. Hasan YILMAZ'a, tezimin her aşamasında bilgi ve desteğini esirgemeyen Öğr. Gör. Hamza ADIGÜZEL'e, bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine, tezimin özellikle laboratuvar aşaması olmak üzere birçok aşamasında bilgi ve becerileriyle bana yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Selahattin AYDEMİR, Dr. Milad AFŞAR ve Dr. Öğr. Üyesi Fethi BARLIK'a, manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim eşime, anneme, babama, kardeşlerime ve arkadaşlarıma en içten duygularımla teşekkür ederim.

ÖZET

Kavak S. Kesimi yapılan ruminantlardan elde edilen *Fasciola* türlerinin morfolometrik ve moleküler yöntemlerle incelenmesi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji (Tıp) Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Van, 2025. Bu çalışmada, mezbahada kesimi yapılan sığır, koyun ve keçilerin karaciğer safra kanallarından elde edilen erişkin *Fasciola* türlerinin morfolometrik ve moleküler yöntemlerle incelenmesi amaçlandı. Bu amaçla, kesimi yapılan 281 sığır, 529 koyun ve 218 keçi olmak üzere toplam 1028 hayvanın karaciğeri incelendi. Elde edilen 51 *Fasciola* türlerine ait izolattan 50 erişkin *Fasciola* örneği kullanıldı. Parazitlerin morfolometrik ölçümleri stero mikroskop altında X8 büyütmede yapıldı. Örneklerin tür tayini için gDNA izolasyonu sonrası ITS1 bölgesi PCR ile çoğaltıldı. Çoğaltılan ITS1 bölgesinin kesimi PCR-RFLP yöntemiyle *RsaI* restriksiyon enzimi kullanılarak yapıldı. İncelenen sığırların 24'ünde (%8.54), koyunların 19'unda (%3.59) ve keçilerin sekizinde (%3.67) olmak üzere 51 hayvanda *Fasciola* türlerine rastlandı. PCR-RFLP yöntemi ile izolatların 45'inin *F. hepatica*, beşinin ise ara form *Fasciola* olduğunu göstermiştir. Vücut uzunluğu/vücut genişliği oranından faydalanılarak elde edilen ölçüm sonuçlarının ROC analizi ile değerlendirilmesi sonucunda, *Fasciola hepatica* ile ara form *Fasciola* örneklerinin birbirinden ayıramadığı saptandı. *Fasciola*'nın ara formu PCR-RFLP yöntemi ile Türkiye'de ilk defa bu çalışma ile belirlendi. *Fasciola* türlerin kesin teşhisleri için morfolometrik analizin yeterli olmadığı ve PCR-RFLP yöntemi gibi moleküler bir yöntemin kullanılması gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: *Fasciola* türleri, morfolometrik ölçümler, PCR-RFLP, ITS1, *RsaI*.

ABSTRACT

Kavak S. Morphometric and molecular analysis of *Fasciola* species obtained from slaughtered ruminants, Van Yüzüncü Yıl University, Institute of Health Sciences, Department of Medical Parasitology, PhD Thesis, Van, 2025. In this study, it was aimed to examine adult *Fasciola* species obtained from the liver bile ducts of slaughtered cattle, sheep, and goats at the abattoir using morphometric and molecular methods. For this purpose, the livers of a total of 1,028 animals, including 281 cattle, 529 sheep, and 218 goats, were examined. Fifty adult *Fasciola* samples were used from the 51 *Fasciola* species isolates obtained. Morphometric measurements of parasites were performed under a stereo microscope at 8X magnification. For species identification of the samples, the ITS1 region was amplified by PCR following gDNA isolation. The amplified ITS1 region was digested using the *RsaI* restriction enzyme by the PCR-RFLP method. *Fasciola* species were detected in 51 animals, including 24 cattle (8.54%), 19 sheep (3.59%), and eight goats (3.67%). PCR-RFLP method showed that 45 of the isolates were *Fasciola hepatica* and five were intermediate forms of *Fasciola*. The evaluation of measurement results obtained using the body length-to-body width ratio through ROC analysis revealed that *F. hepatica* and intermediate *Fasciola* forms could not be distinguished from each other. The intermediate form of *Fasciola* was identified for the first time in Turkey through this study by the PCR-RFLP method. It was concluded that morphometric analysis alone is insufficient for the definitive identification of *Fasciola* species, and that a molecular method such as PCR-RFLP should be used.

Key words: *Fasciola* species, morphometric measurements, PCR-RFLP, ITS1, *RsaI*

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	I
ETİK BEYAN	II
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	IX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
TABLolar LİSTESİ	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Fasciolosis	4
2.1.1. Hastalığın önemi	4
2.1.2. Epidemiyolojisi	4
2.1.3. <i>Fasciola</i> türlerinde taksonomik sınıflandırma	6
2.1.4. <i>Fasciola</i> türlerinin morfolojik özellikleri ve yaşam döngüsü	6
2.1.4.1. <i>Fasciola hepatica</i> ve morfolojik özellikleri	6
2.1.4.2. <i>Fasciola gigantica</i> ve morfolojik özellikleri	8
2.1.4.3. <i>Fasciola</i> türlerinin yaşam döngüsü	11
2.2. Patojenite ve Klinik	13
2.2.1. Hayvanlarda patojenite ve klinik	13
2.2.2. İnsanlarda patojenite ve klinik	14
2.3. İmmünite	15
2.3.1. Konağın doğal ve adaptif bağışıklık tepkisi	15
2.3.2. İmmünomodülasyon stratejileri	17
2.4. Tanı	19
2.4.1. Klinik tanı	19
2.4.2. Laboratuvar tanısı	19
2.4.2.1. Koprolojik teknikler	19

İÇİNDEKİLER (Devam)

2.4.2.2. Serolojik teknikler	20
2.4.2.3. Moleküler teknikler	22
2.5. Tedavi	23
2.6. Korunma ve Kontrol	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Gereç	27
3.2. Yöntem	28
3.2.1. Çalışma planı	28
3.2.2. Erişkin parazitlerin morfometrik analizi	28
3.2.3. Genomik DNA izolasyonu	29
3.2.4. ITS1 bölgesinin PCR ile çoğaltılması	30
3.2.5. PCR ile çoğaltılmış ITS1 ürünlerinin RFLP analizi	31
3.2.6. PCR ile çoğaltılmış ITS1 ürünleri hem de RFLP ürünleri için agaroz jel elektroforezi	32
3.2.7. ROC analizi	33
4. BULGULAR	34
4.1. Morfometrik Analiz	36
4.2. PCR Sonuçları	36
4.3. RFLP sonuçları	37
4.4. ROC analizi sonuçları	40
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	41
KAYNAKLAR	47
ÖZGEÇMİŞ	51
EKLER	52
Ek-1. Etik Kurul Raporu	52
Ek-2. Tez Orjinallik Raporu	53

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

°C	: Santigrat Derece
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
AB	: Avrupa Birliği
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
DNA	: Deoksiriboz nükleik asit
DNaz	: Deoksiriboznükleaz
IgA	: İmmünoglobulin A
mg	: Miligram
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
Mm	: Milimetre
ml	: Mililitre
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PCR	: Polymerase Chain Reaction
IgG	: İmmünoglobulin G
RNaz	: Ribonükleaz
ITS1	: Internal Transcribed Spacer 1
TAE	: Tris Asetat EDTA
UV	: Ultraviyole
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
NEJ	: Yeni Eksistiye Olmuş Juveniller
TCBZ	: Triklabendazol

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. <i>Fasciola hepatica</i> 'nın ön bölgesinin anatomik yapısı	8
Şekil 2. <i>Fasciola gigantica</i> 'ya ait bazı anatomik yapıların elektron mikroskobu ve ışık mikroskobu görüntüsü	10
Şekil 3. <i>Fasciola</i> türlerinin erişkin formları ve yumurtaları	11
Şekil 4. <i>Fasciola</i> türlerinin yaşam döngüsü	12
Şekil 5. Yetişkin <i>Fasciola</i> spp. örneklerinin morfometrik analizinde kullanılan parametreler	29
Şekil 6. Enfekte sığır ve koyun karaciğerlerinde kalınlaşmış safra kanalları ve elde edilen <i>Fasciola</i> türleri	34
Şekil 7. ITS 1 bölgesinin PCR amplifikasyonu sonrası UV altındaki jel elektroforez bant görüntüleri	36
Şekil 8. <i>Fasciola</i> türlerine ait ITS1-PCR ürünlerinin <i>RsaI</i> restriksiyon enzimi ile kesimi sonrası PCR-RFLP yöntemi ile elde edilen jel elektroforez bant görüntüleri	37
Şekil 9. <i>Fasciola hepatica</i> ve ara form <i>Fasciola</i> örneklerinin lw-ratio değişkenine göre elde edilen ROC eğrisi.....	40

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Çalışmada kullanılan primerler	30
Tablo 2. RFLP için hazırlanan PCR bileşenleri ve miktarları	31
Tablo 3. PCR protokolü	31
Tablo 4. RFLP reaksiyon karışımı	32
Tablo 5. ITS1-PCR ürünlerinin <i>RsaI</i> restriksiyon enzimi ile kesimi sonrası <i>Fasciola</i> türüne göre oluşması beklenen bant desenleri	32
Tablo 6. Saptanan <i>Fasciola</i> türlerinin yörelere ve kesimi yapılan hayvan türüne göre dağılımı	34
Tablo 7. <i>Fasciola</i> türlerinin morfometrik ölçüm sonuçları	35
Tablo 8. <i>Fasciola</i> türlerinin morfometrik ölçüm sonuçlarına göre karşılaştırılması	37
Tablo 9. <i>Fasciola hepatica</i> örneklerinin elde edildiği hayvan türüne göre ölçüm sonuçları	38
Tablo 10. Ara form <i>Fasciola</i> örneklerinin elde edilen hayvan türüne göre ölçüm sonuçları	38
Tablo 11. İncelenen <i>Fasciola</i> örneklerinin izole edildiği hayvan türü, toplandığı bölge ve RFLP sonuçlarına göre tür dağılımı	39
Tablo 12. ROC analizine ait istatistiksel değerlendirme sonuçları	40

1. GİRİŞ

Fasciolosis, *Fasciola* türlerinin neden olduğu zoonotik bir trematod enfeksiyonudur. Enfeksiyona, *Fasciola hepatica* ve *Fasciola gigantica* neden olur (WHO, 2020). *Fasciola* türleri çoğunlukla geviş getiren hayvanları enfekte etmesine rağmen insanlar da dahil olmak üzere diğer memelileri de enfekte edebilir (Hammami ve ark., 2023). Hayvanlara ve insanlara, metacercaria ile bulaşık yeşil su bitkilerinin yenmesi sonucu bulaşır. İklim şartları ve ilaç direncinin bu enfeksiyonun artışında etkili olduğu bildirilmiştir (Bozorgomid ve ark., 2020).

Fasciolosis değişken bir epidemiyolojiye sahiptir. Hipoendemik bir yapıya sahip olan bu enfeksiyon, belirli popülasyonlarda düşük ve sabit bir yaygınlıkta görülür. Parazit, ara konak ya da hem parazit hem de ara konağın yaşam döngüsünü hızlandıran iklim koşullarındaki ani değişimler bu tür popülasyonlarda sporadik enfeksiyonlara yol açabilir. Araştırmacılar, fasciolosis'in yayılımının, enfeksiyonun ortaya çıktığı bölgenin coğrafi ve çevresel koşullarıyla sıkı bir ilişkisi olduğunu ve bu nedenle farklı bölgelerde farklı oranlarda yayılışa neden olabileceğini belirlemişlerdir. Bu bulgular, enfeksiyonun çeşitli çevresel koşullara adapte olabileceğini düşündürmektedir (WHO, 2020).

Fasciola hepatica daha çok ılıman bölgelerde (tropikal kuşağın daha serin bölgeleri de dahil) yayılım gösterir, *F. gigantica* ise özellikle Afrika ve Asya'nın tropikal ve subtropikal bölgelerinde yaygındır. Bazı bölgelerde (Akdeniz ve Batı Asya gibi), her iki türün de dağılım alanlarının örtüştüğü ve melez popülasyonların olduğu bilinmektedir (Aghayan, 2019). *F. hepatica* ve *F. gigantica*'nın dağılımını ara konak salyangozların mevcudiyeti belirler. *Fasciola* spp'nin ara konakları Lymnaeidae familyasındaki salyangoz türleri olup, bu ara konaklar fasciolosis'in yayılımı ve coğrafi dağılımında önemli bir rol oynar. *F. hepatica* ve *F. gigantica* türleri, ekolojik gereksinimleri ve tercih ettikleri ara konak açısından birbirlerinden belirgin şekilde farklılık gösterir. Sonuç olarak, *Fasciola* parazitlerinin dağılımı, ara konakların ekolojik gereksinimlerine paralel olarak şekillenmektedir (Malatji ve ark., 2020).

Yakın tarihe kadar insan vakaları tek tük görülmekteydi ancak artık Avrupa, Amerika, Okyanusya (*F. hepatica*'nın yaygın olduğu yerler), Afrika ve Asya'dan (iki türün çakıştığı yerler) giderek daha fazla insan fasciolosis vakası bildirilmektedir. DSÖ,

dünya çapında 75'ten fazla ülkede en az 2,4 milyon kişinin *Fasciola* türleri ile enfekte olduğunu ve birkaç milyon kişinin de risk altında olduğunu bildirmiştir. Tüm kıtalarda fasciolosis'in hayvanlarda bulunduğu yerlerde insanlarda da bulunması muhtemeldir (WHO, 2020).

Fasciolosis, daha önce insanlarda nadir görülen bir enfeksiyon olarak kabul ediliyordu. Ancak, yeni tanı yöntemlerinin geliştirilmesi, hastalığın patojenitesi hakkında artan bilgi birikimi, dünyada ve Türkiye'deki yüksek insidans hastalığın önemli bir halk sağlığı sorunu olduğunu göstermektedir. (Beyhan ve Yılmaz, 2020). Fasciolosis halk sağlığı üzerindeki etkisinin yanı sıra ruminatlarda da morbidite ve mortaliteye neden olan enfeksiyonlardan biridir. Fasciolosis'in, hayvansal üretimde dünya genelinde yıllık 3,2 milyar ABD dolarından fazla ekonomik kayba neden olduğu tahmin edilmektedir. Parazitlerin genetik yapısını ve genetik varyasyon durumunu anlamak, fasciolosis'in epidemiyolojisi ve etkili kontrolü için önemlidir (Rokni ve ark., 2010). Fasciolosis'in halk sağlığı ve hayvansal üretim üzerindeki olumsuz etkileri, endemik bölgelerde hastalığın kontrol stratejilerine olan ihtiyacı açıkça göstermektedir. Ancak hastalık durumu hakkındaki yetersiz bilgi ve farklı bölgelerdeki değişen bulaşma dinamikleri kontrol stratejilerinin gelişimi için engel teşkil etmektedir. Ekolojik gereksinimler dikkate alındığında, enfeksiyon risklerini değerlendirmek ve etkili korunma ve mücadele stratejileri tasarlamak için türlerin ve tür içi değişkenliklerinin kesin olarak belirlenmesi ve çeşitli endemik bölgelerden epidemiyolojik bilgilerin toplanmasına ihtiyaç duyulmaktadır (Aghayan, 2019).

Türkiye'de *Fasciola* spp.'nin genetik karakterizasyonu üzerine çalışmalar sınırlı sayıdadır. *Fasciola* türlerini tanımlamak için morfometrik analizle moleküler tekniklerin birlikte kullanılması önemli avantajlar sağlayabilir. Çeşitli moleküler tekniklerin kullanılması, *Fasciola* spp.'nin biyolojisi, epidemiyolojisi ve genetiğinin birçok yönünü aydınlatmayı önemli düzeyde kolaylaştıracaktır. *Fasciola* spp.'nin genetik karakterizasyonu ve genotiplenmesi için kullanılan moleküler tekniklerin artan uygulamaları, *Fasciola* spp. epidemiyolojisi ve evriminin çok daha iyi anlaşılmasının yanı sıra, daha etkili parazit kontrolü araçları sağlayacak ve literatüre katkı yapacaktır.

Bu çalışmanın amacı Kars, Iğdır ve Bitlis illerindeki fasciolosis prevalansını araştırarak halk sağlığı yönünden önemini ortaya koymak, hastalık yükü hakkında temel veri oluşturmak ve farklı ruminantlardan toplanan *Fasciola* türlerinin morfometrik ve moleküler karakterizasyonunu yapmaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fasciolosis

2.1.1. Hastalığın önemi

Fasciolosis'in literatürdeki en eski tanımı, 1200 yıllarında yayınlanan "Black Book of Chirk" adlı bir kitapta yer almakta ve koyunlarda karaciğer kurduna atıfta bulunmaktadır (Andrews, 1999).

Önemli bir paraziter enfeksiyon olan fasciolosis'den Avrupa, Amerika ve Okyanusya'da sadece *F. hepatica* sorumluyken, Afrika ve Asya'nın (iki türün örtüştüğü bölgeler) birçok bölgesinde her iki türe de rastlanmaktadır. Bu parazitler yaşam döngülerini tamamlayabilmek için iki konağa ihtiyaç duyarlar. Ara konakları *Lymnaeidae* (Gastropoda: Basommatophora) familyası içerisinde yer alan tatlı su salyangozlarıdır. İnsanlar da dahil olmak üzere, birçok otçul memeli hayvanlar bu parazitler için son konak olabilir. Ancak insan, *Fasciola* türleri için rastlantısal son konak konumundadır (Mas-Coma, 2005; Saygı, 2017). *Fasciola* spp., insanlara iyi adapte olamamakta, bazı durumlarda olgun, yetişkin solucanlara dönüşmemekte ve yumurta üretememektedir (WHO, 2020).

Fasciola türlerinin son konağındaki yaşam süresi yerleştiği konak türüne göre değişmektedir. Parazit, insanlarda 9-13 yıl, koyunlarda 11 yıl ve sığırlarda 9-12 ay kadar yaşayabilmektedir. *Fasciola* türlerinin yumurta ve metaserkaryaları düşük sıcaklıklarda uzun süre canlı kalabilir, ancak sıcaklık ve kuraklığa karşı duyarlıdır. Metaserkaryaların ortamdaki ömrü akan suda 122 gün, durgun suda 95 gün kadardır. Optimum koşullar altında, metaserkaryalar merada bir yıl kadar canlı kalabilir ve hatta kuru saman üzerinde birkaç ay yaşayabilir (Rokni, 2014).

2.1.2. Epidemiyolojisi

Geçmişte, belirli ve tipik coğrafi alanlarla sınırlı olan enfeksiyon, zamanla tüm dünyaya yayılmış (Avrupa, Amerika ve Okyanusya'da sadece *F. hepatica*; Afrika ve Asya'da her iki tür bulunur) ve insan vakaları giderek artmıştır. Sonuç olarak, insan fasciolosis'i küresel ve bölgesel açıdan önemli bir zoonoz hastalık olarak değerlendirilmelidir. Paleoparazitolojik çalışmalar, *F. hepatica* ve ara konağının Avrupa'dan Amerika'ya girişinin nispeten yakın zamanda gerçekleştiğini göstermiştir.

Günümüzde, *F. hepatica*'ya bağlı fasciolosis, enlem ve boylam bakımından en geniş dağılım gösteren bir hastalıktır. Bu durum hem parazitin hem de ara konak salyangozların belirgin adaptasyon kapasitelerini yansıtır ve hastalığın geniş coğrafi dağılımını açıklar (WHO, 2007).

İnsan fasciolosis'inin küresel prevalansı daha önce yeterince bilinmiyordu. 2012 yılında çoğunlukla uzman görüşü kullanılarak yapılan çalışmalarda, dünya genelinde %14 gibi çok yüksek bir tahmini fasciolosis prevalansı bulunmuştur. 1990'ların başında, yaklaşık 42 ülkede 2594 vaka bildirilmiştir. DSÖ'nün uzmanlarla yaptığı anket sonuçlarına göre dünya genelinde yaklaşık 2,4 milyon insanın fasciolosis ile enfekte olduğu tahmin edilmiştir. Günümüzde ise dünya genelinde yaklaşık 2,6 ila 17 milyon kişinin fasciolosis ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir. Ancak bu tahminlerde güncel olmayan raporlardan faydalanılmıştır (Rosas-Hostos Infantes ve ark., 2023).

Çiftlik hayvanlarında fasciolosis'in küresel prevalans değerlerinin büyükbaş hayvanlar için %17, küçükbaş hayvanlar için %13 olduğu bildirilmiştir (Lan ve ark., 2024).

İnsan fasciolosis'i dünya genelinde toplam 81 ülkeden rapor edilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda, insan fasciolosis'inin tahmini küresel prevalansının %4,5 olduğu rapor edilmiştir. Yapılmış olan altı çalışmanın verileri kullanılarak Türkiye'deki insan fasciolosis'inin prevalansının ise %2,4 olduğu bulunmuştur (Rosas-Hostos Infantes ve ark., 2023).

İnsan fasciolosis'inin en çok yaygın olduğu bölgeler Güney Amerika ve Afrika olduğu, ancak hiçbir ülkenin *Fasciola* spp. enfeksiyonundan arı olmadığı bildirilmiştir. Bununla birlikte, hastalığın özellikle en çok yaygın olduğu bölgelerde az sayıda prevalans çalışması yapılmış olup, çalışma sayısının artmasıyla birlikte enfekte kişi sayısının daha fazla saptanabileceği belirtilmiştir. Ayrıca, fasciolosis'in bildirimi zorunlu bir hastalık olmaması nedeniyle, birçok ülkedeki prevalansına ulaşılamamaktadır (Rosas-Hostos Infantes ve ark., 2023).

Fasyoliyozun bulaşması, daha çok üzerinde parazitin metaserkayası bulunan su teresi ve nane gibi su bitkilerinin yenilmesi ile olur. Ancak parazit, bu metaserkleri

barındıran diğer birçok salata sebzesinin tüketilmesiyle de bulaşabilir. Suda yüzen serbest metaserkaryaların (muhtemelen taşıyıcı bitkilerden ayrılmış) yutulması da olası bir bulaşma şeklidir (WHO, 2020).

Hastalığın yüksek oranda endemik olduğu bölgelerde, okul çağındaki çocuklarda enfeksiyon oranı yüksektir. Ancak enfeksiyonun sporadik vakalar şeklinde görüldüğü bölgelerde fasciolosis her yaştan bireyde ortaya çıkabilir ve özel bir risk grubu bulunmaz. Kırsal bölgelerde yaşayan insanların enfekte olma olasılığı daha yüksektir. Ancak vakaların her yerde ortaya çıkabileceği ve prevalansın birçok ülkede metaserk taşıyan bitkilerin tüketimine bağlı olarak değişebileceği bildirilmiştir (WHO, 2020).

2.1.3. *Fasciola* türlerinde taksonomik sınıflandırma

Alem: Animalia (Hayvan)

Şube: Platyhelminthes (Yassı Solucanlar)

Sınıf: Trematoda (Yassı Solucanlar)

Alt Sınıf: Digenea

Takım: Echinostomida

Alt Takım: Distomata

Aile: Fasciolidae

Cins: *Fasciola*

Tür: *Fasciola hepatica* ve *Fasciola gigantica* (Abdisa ve Jilo, 2017)

2.1.4. *Fasciola* türlerinin morfolojik özellikleri ve yaşam döngüsü

2.1.4.1. *Fasciola hepatica* ve morfolojik özellikleri

Cins adı, Latince fasya veya bant anlamına gelen *Fasciola* kelimesinden türetilmiştir (Alatoom, 2008). *Fasciola hepatica*, 1379 yılında Jehan de Brie tarafından ilk tanımlanan trematod olma özelliğine sahiptir. Swamerdan, 1737 yılında paraziti ilk defa ara konak salyangozlarda göstermiştir. Luta 1892-93'te parazitin enfekte otlarla beslenen bazı hayvanlara bulaştığını tespit etmiştir. Sinistin ise 1914'te parazitin karaciğere ulaşmak için izlediği yolu açıklamıştır (Saygı, 2017).

Birincil konağı olmasa da *F. hepatica* insanda bulunan en yaygın trematod türüdür (Paniker, 2017). Parazit daha sık insan, koyun, sığır, keçi, manda, deve ve geyikgiller dahil olmak üzere birçok geviş getiren hayvanda bulunmuştur. Daha az yaygın olarak ruminant olmayan atlar, tavşan ve diğer kemirgenleri de enfekte eder (Lalor ve ark., 2021).

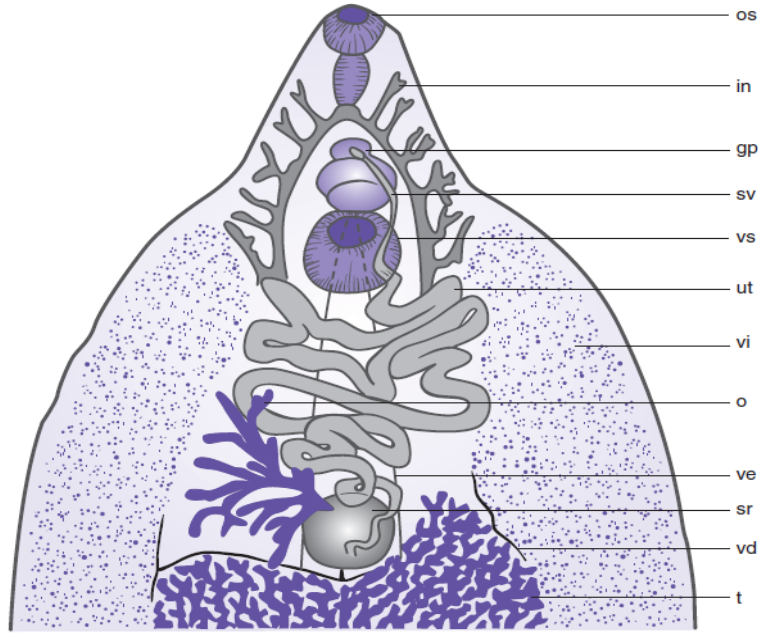
Erişkin *F. hepatica* yaklaşık 2-3 cm uzunluğunda ve 1,3 cm genişliğindedir (WHO, 2020). Gri veya kahverenginde ve ön uçta bir ağız çekmeni içeren konik bir çıkıntıya sahiptir. Vücut konik kısımdan sonra genişler daha sonra daralarak devam ederek omuzlu gibi görünüm kazanır ve arka uç oval bir şekilde sonlanır. Karın çekmeni omuz benzeri çıkıntılar arasında konumlanmıştır (Sastry ve Bhat, 2018; Saygı, 2017).

Parazitin vücudunun en dış tabakasında yer alan tegument kalın, sinsitiyal stoplazmik bir tabakadır. Tegument üzerinde arakaya yönelmiş dikenler bulunur. Tegumentin altında bazal membran mevcuttur. Bazal membranın altında kas tabakaları bulunmakta olup, kaslar dairesel ve uzunlamasına yapıda ve kasların altında gevşek parankimatöz doku mevcuttur (BioScience, 2017; Saygı, 2017).

Sindirim sistemi ağızla başlar, iki kör bağırsak şeklinde sonlanır ve anüs bulunmamaktadır. Dolaşım sistemi bulunmayıp, sindirilmiş gıda vücudun tüm bölgelerine sindirim sistemi aracılığıyla dağıtılır. Vücudun ön ucunda ağız çekmeniyle çevrili ağız açıklığı mevcuttur. Ağız, farinksle devam eden bukkal boşluğa açılır. Burası bezlerle dolu kalın bir odacıktır. Yemek borusundan sonra gelen bağırsak dallara ayrılmış ve her dal birkaç düzensiz yan dala ayrılır. İki dal parazitin arka ucuna yakın bir yerde kör bir şekilde sonlanır. Bağırsak yüzeyi endoderm tarafından kaplanmıştır. Parazit konaktan doku sıvısı, lenf ve safra emer. Sindirilen gıda, bağırsak dalları aracılığıyla ile tüm vücuda dağıtılır. Glikoz, parazitin vücut yüzeyinden (tegument aracılığıyla) doğrudan emilir (BioScience, 2017).

Erişkin parazitler, son konağın safra yollarında yıllarca yaşar. Bu parazit hermafrodit (Paniker, 2017) olup, O₂ yoğunluğunun çok düşük olduğu safra kanalında anaerobik solunum yapar. Ortaya çıkan CO₂ vücut yüzeyinden difüzyon yoluyla atılır (BioScience, 2017).

Yumurtaları büyük, oval, kapaklı, safra renginde ve yaklaşık 140X80 µm boyutlarındadır (Paniker, 2017). Yetişkin bir parazit günde yaklaşık 3.000 yumurta yumurtlar ve bu yumurtalar safra yoluyla konağın bağırsak lumenine taşınır ve içerisinde embriyon gelişmemiş olarak dışkıyla dış ortama atılır. Yumurtaların dış ortamda olgunlaşması için uygun nem, oksijen ve sıcaklık koşullarına sahip olması gerekir (PAHO, 2003).



Şekil 1. *Fasciola hepatica*'nın ön bölgesinin anatomik yapısı

(gp) genital açıklık; (in) bağırsak; (o) yumurtalık; (os) oral çekmen; (sr) sperm kesesi; (sv) seminal vezikül; (t) testis; (ut) uterus; (vd) vitellin kanalı; (ve) vas efferens; (vi) viteller; (vs) ventral çekmen (John ve Petri, 2006).

2.1.4.2. *Fasciola gigantica* ve morfolojik özellikleri

Dev karaciğer kelebeği olarak bilinen *Fasciola gigantica*, *F. hepatica*'dan daha dar yapılı bir şekle sahiptir. *F. gigantica*, *F. hepatica* gibi hem hayvanların hem de insanların karaciğerine yerleşmektedir. *F. gigantica* öncelikle evcil ve yabani geviş getiren hayvanlarda bulunur. *F. gigantica*'nın boyu yaklaşık 25-75 mm, eni ise 15 mm boyutlarındadır. *F. gigantica*'nın yumurtaları oldukça büyük olup, boyu 150-190 µm, eni ise 70-90 µm boyutlarındadır (John ve Petri, 2006; WOA, 2022).

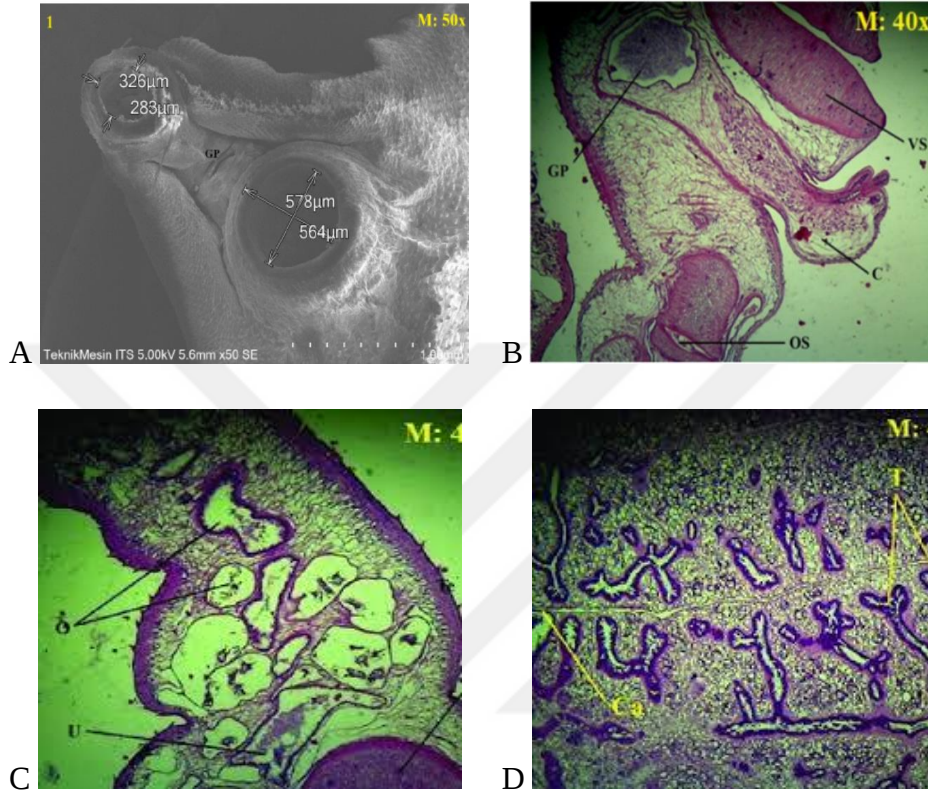
Elektron mikroskopuyla incelendiğinde, *F. gigantica*'nın yüzeyi çok sayıda mikroskopik dikenler ve yüzey katlanması nedeniyle oldukça pürüzlü görünür. Dikenler, parazitin orta bölgelerinde daha büyük, emici disklere yakın alanlarda ise daha küçüktür. Dikenlerin boyutları 30-58 µm arasında değişir ve kenarlarında 16-20 adet sivri uç oluşturan tırtıklı yapı bulunur. *F. gigantica* oral ve ventral emici disklerini beslenme ve tutunmakta kullanır (Carmona, 2013).

Erişkin parazite ventralden bakıldığında, ağız çekmeninin dairesel bir açıklık şeklinde ve etrafının güçlü kaslar ile çevrili olduğu görülür. Karın çekmeni, ağız çekmeninden daha büyük olmasına rağmen diğer özellikleri benzerdir (Srimuzipo ve ark., 2000). Parazitin sindirim sistemi *F. hepatica*'ya benzer. Ağız, ağız çekmeni ile çevrili ön uçta yer alır ve oval bir yutağa açılır. Yutak, küçük bir lümen, radyal kaslar ve faringeal bezlere sahip, duvarı kalın ve yutak yemek borusuyla devam eder. Yemek borusundan sonra dallanan bağırsak hem sağ hem de sol tarafta çok sayıda dala ayrılır. Her dal, yine çekum adı verilen çok sayıda düzensiz yan dala ayrılır (Ayele ve Hiko, 2016). Genital por, oral ve ventral emiciler arasında ve ventral emiciye yakın bir yerde bulunur. Genital por, parazitin hermafrodit olması nedeniyle erkek ve dişi üreme sisteminin ortak bir açıklığıdır. Genital por bazen küçük yapıları dağınık dikenlerle birlikte dışa dönük sirrus gösterir (Swarnakar ve Damor, 2016). Sirrus, spermleri dişi üreme sistemine aktarma işlevi gören erkek üreme organlarından biridir. Sirrus ayrıca genital gözeneğe invajine olabilir ve spermleri dişi üreme sistemine aktarmak için evajine olabilir. Uterus arka karın çekmeninde bulunurken, ön testis ve yumurtalık solucanın orta gövde bölgesinde bulunur (Rofi'Prasetya ve ark., 2019).

Parazitin hem yaşam döngüsü hem de yaptığı enfeksiyonun klinik tablosu *F. hepatica*'ya benzemektedir (John ve Petri, 2006; WOA, 2022). *Fasciola gigantica*, konağın bağışıklık sistemine uyum sağlaması sayesinde uzun süre hayatta kalabilme yeteneğine sahiptir. *F. gigantica*'nın metaserkaryalarının doğrudan güneş ışığına ve kuru ortamlara maruz kalması enfektivitesini yok etmektedir. *F. gigantica* daha yüksek nemli ortamları sever (WOA, 2022).

Fasciola gigantica Afrika mandası (*Syncerus caffer*), sığır (*Bos taurus*), keçi (*Capra aegagrus hircus*), domuz (*Sus scrofa domesticus*), koyun (*Ovis aries*), Uganda

kob (*Adenota kob*), antilop (*Connochaetes* spp.), yaban domuzu (*Sus scrofa*) ve insanların karaciğer ve safra kanallarına yerleşerek parazitlik yapar (WOAH, 2022).



Şekil 2. *Fasciola gigantica*'ya ait bazı anatomik yapıların elektron mikroskobu ve ışık mikroskobu görüntüsü

A: *F.gigantica*'nın elektron mikroskobunda ön bölgesinin görünümü (X50). OS: Ağız çekmeni, VS: Karın çekmeni, GP: Genital gözenek, **B:** *F.gigantica*'nın ışık mikroskobunda ön bölgesinin görünümü (X40). C: sirrus, GP: Genital gözenek, **C:** *F.gigantica*'nın orta bölge kesitinin ışık mikroskobunda görünümü. U: Uterus, O: Ovaryum, Te: Tegument, **D:** *F. gigantica*'nın arka bölge kesitinin ışık mikroskobunda görünümü. T: Testis, Ca: Çekum (Rofi'Prasetya ve ark., 2019).

Boşaltım sistemi, metabolik atık ürünleri tübüller sistemi boyunca iten ve sonuçta birleşerek dışarıya açılan çok sayıda kirpikli alev hücresinden oluşur. Sinir sistemi basittir ve iki gangliyon ile içten bağlanan bir çift uzunlamasına gövdeden oluşur (Ayele ve Hiko, 2016).



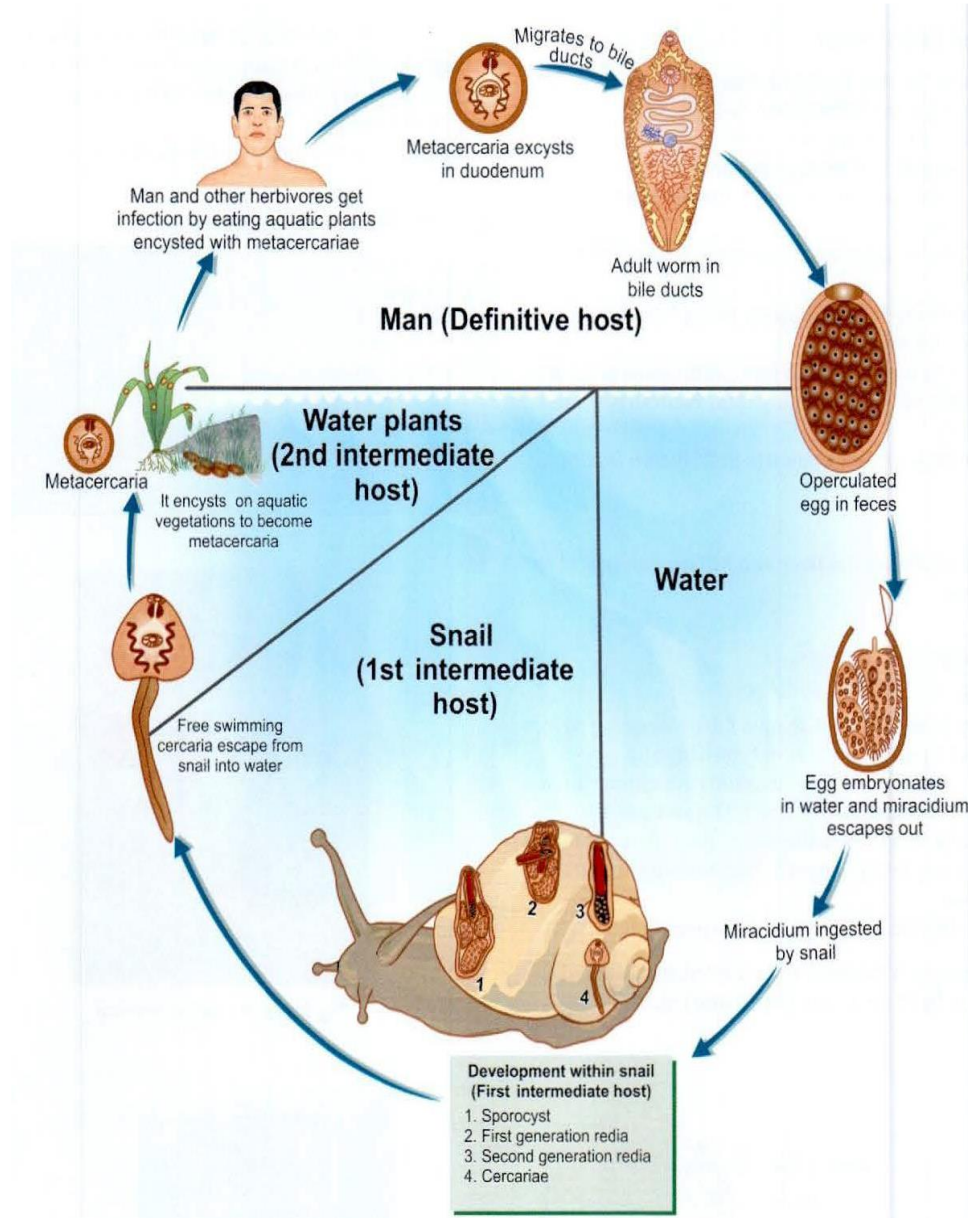
Şekil 3. *Fasciola* türlerinin erişkin formları ve yumurtaları

A: *F. hepatica*'nın erişkin formu. **B:** *F. gigantica*'nın erişkin formu. **C:** *F. hepatica* yumurtası. **D:** *F. gigantica* yumurtası (Mas-Comave ark, 2022).

2.1.4.3. *Fasciola* türlerinin yaşam döngüsü

Fasciola, *Opisthorchis* ve *Clonorchis* cinslerine bağlı türler gibi memeli konaklarının karaciğer parانشimi, safra kanalı ve safra kesesine yerleşir. Olgunlaştıktan sonra (yaklaşık 12 hafta), erişkin parazit yumurtlamaya başlar ve bunlar konağın koledok kanalından sindirim sistemine geçerek dışkı ile birlikte dış ortama çıkar (Kudlacek, 2018). Dış ortama atılan yumurtada embriyon gelişmemiştir. Embriyonun uygun sıcaklık, nem ve O₂ varlığında geliştikten sonra gelişimini devam ettirebilmesi için tatlı suya ulaşması gerekir. Yumurta içerisindeki miracidium'un gelişmesi 10°C'nin altındaki sıcaklıklarda durmakta olup, gelişimini 25°C'de iki hafta tamamlar (Saygı, 2017). Miracidium'un yumurtadan çıkışı yumurta kapağının bulunduğu açıklıktan olmakta ve yumurtadan çıktıktan sonraki 24 saat içinde ara konakları olan *Lymnaea viridis*, *L. columella*, *L. cousin*, *L. ollula*, *L. natalensis* ve *L. auricularia rubiginosa* gibi çeşitli lymnaeid salyangozlara penetre olur. Penetrasyondan sonra, yumuşakçaların sindirim bezinde her miracidium bir sporokiste dönüşerek, bunun içerisinde ana redia'lar, bazı durumlarda bunların içerisinde ise yavru redia'lar oluşur. Bu redia'lardan ise cercaria'lar oluşur. Cercaria'lar su bitkileri üzerinde metacercari'lara dönüşerek kistlenir. Metacercaria'lar su teresi, pirinç bitkisi, Japon maydanozu ve nilüfer gibi yeşil su bitkileri üzerinde bulunabilir. Bu bitkiler, son konak konumundaki insan ve

hayvanlar için önemli besin kaynaklarıdır. Son konaklar, metacercari'ları içeren bu bitkileri yiyerek enfekte olurlar. Son konağın ince bağırsaklarında enzimlerin etkisiyle, metacercari'lar eksiste olarak genç parazitler açığa çıkar. Bu genç formlar, bağırsak duvarını delerek karın boşluğu yoluyla karaciğere ulaşır. Karaciğer kapsülünü deler ve safra kanalına ulaşana dek karaciğer dokularında ilerlerler (Kudlacek, 2018; Phalee ve ark., 2015).



Şekil 4. *Fasciola* türlerinin yaşam döngüsü (Kudlacek, 2018)

2.2. Patojenite ve Klinik

Parazitlerin safra kanallarına migrasyonu, penetrasyonu ve lokalizasyonu karaciğer dokularında ve safra kanallarında çeşitli lezyonlara neden olan travmatik bir etki oluşturur. *Fasciola* türlerinin yeni eksiste olmuş juvenil formları bağırsak mukozasına nüfuz eder ve metacercaria alımından 72 saat sonra karın boşluğunda bulunabilir. Genç parazitlerin çoğunun varış noktası, duodenuma anatomik yakınlığı nedeniyle genellikle sol hepatik lobdur. Bazen, yoğun enfeksiyonlar nedeniyle, bu genç formların bazıları diyafram ve akciğer gibi diğer organlara anormal bir şekilde göç ederek pnömoni ve plevrada fibrin oluşmasına neden olabilir (Flores-Velázquez ve ark., 2023).

2.2.1. Hayvanlarda patojenite ve klinik

Fasciolosis, insan ve hayvanların ihmal edilen en önemli paraziter enfeksiyonlarından biridir. Parazitlerin, ara konak olan su sümüklülerinde enfeksiyon oluşturma ve aseksüel çoğalma yetenekleri ile çok çeşitli memeli türlerinden oluşan kesin konaklara yüksek düzeyde adaptasyon göstermeleri, enfeksiyonun yaygın bulaşıcılığına ve geniş ekolojik dağılımına önemli ölçüde katkı sağlamaktadır. Kesin konakta, genç trematodların karaciğer parankiminde oluşturduğu migrasyon odaklı travmatik lezyonlar, fasciolosis'in patogenezinin temelini oluşturmaktadır. Benzer şekilde, beslenme aktivitesi ve safra kanallarındaki erişkin parazitlerin fiziksel varlığı anemi, iltihaplanma, tıkanma ve kolanjite yol açabilir. *Fasciola* türlerinin genlerinde bulunan polimorfizmlerin çok fazla olması, geniş bir konak yelpazesine adaptasyon sağlamasına neden olmuştur (Lalor ve ark., 2021).

Enfeksiyon, kesin konak olan çiftlik hayvanlarında akut, subklinik ve kronik olmak üzere üç klinik seyir gösterebilir. Koyunlarda, genellikle karaciğerdeki fiziksel hasarın yol açtığı yüksek kan kaybı nedeniyle sürünün %10 kadarının ani ölümü akut hastalığın ilk olarak fark edilmesini sağlayan belirtidir. Koyunlarda akut enfeksiyonun diğer bazı belirtileri arasında karın ağrısı nedeniyle koşmaya karşı isteksizlik, uyuşukluk ve iştahta azalma yer almaktadır. Hastalığın subklinik formu, akut forma göre biraz daha hafif seyirli olup, anemi şeklinde kendini gösterir. Koyunlarda kronik fasciolosis, düşük vücut ağırlığı, kalitesiz yapağı üretimine bağlı gelişim geriliği ve submandibular ödem şeklinde kendini gösteren ve halk arasında “şişe çenesi” olarak bilinen belirgin bir

şişlik ile karakterizedir. Sığırlar *F. hepatica* enfeksiyonuna karşı genellikle bir dereceye kadar bağışıklık geliştirirken, bu durum koyunlarda gözlenmez. Bu nedenle akut hastalık sığırlarda nadiren görülür. Enfekte sığırlarda gelişen karaciğer fibrozisi, parazitin yaşamını sınırlar ve yok eder (Lalor ve ark., 2021).

2.2.2. İnsanlarda patojenite ve klinik

Karaciğer trematodlarının 5000 yılı aşkın bir süredir insanlarda enfeksiyon yaptığı bilinmesine rağmen, bu enfeksiyon etkenlerine karşı ilk vaka 1760 yılında Almanya’da bir kadının otopsisinde rapor edilmiştir (Lalor ve ark., 2021). İnsan fasciolosis’inin klinik tablosu kuluçka aşaması, akut faz, latent faz ve kronik faz olmak üzere dört dönemde incelenebilir (Mas-Coma ve ark, 2022).

Kuluçka aşaması: Metacercaria’ların yutulmasından semptomların başlamasına kadar geçen süredir (Mas-Coma ve ark, 2022).

Akut faz (göç fazı): Parazitin safra kanallarına göç edene kadar olan fazdır. Semptomlar esas olarak karaciğer dokusunun ve peritonun göç eden larvalar tarafından mekanik olarak tahrip edilmesinden kaynaklanır ve bu dönemde 2-4 ay süren hem lokalize hem de genel toksik ve alerjik reaksiyonlara neden olur. Bu faz ateş, genellikle sağ hipokondriyumda veya ksifoidin altında hissedilen karın ağrısı, iştahsızlık, karın şişkinliği, bulantı ve ishal gibi gastrointestinal rahatsızlıklar, öksürük, dispne, hemoptizi, ürtiker ve göğüs ağrısı gibi solunum semptomlarını içerir (Mas-Coma ve ark, 2022).

Latent faz: Safra kanalına varıştan yumurtlamanın başlamasına kadar geçen dönemdir. Hastalığın süresi günlerden yıllara kadar değişebilir ve eozinofili, gastrointestinal şikayetler ya da bir veya birden fazla akut semptomun tekrar etmesiyle seyredebilir (Mas-Coma ve ark., 2022).

Kronik faz (biliyer veya obstrüktif faz): Bu faz aylar ya da yıllar boyunca devam edebilir. Safra yollarında bulunan erişkin parazitler, iltihaplanmaya, epitel dokuda hiperplaziye, safra kanalları ve safra kesesi duvarlarında genişleme ve kalınlaşmaya neden olur. Parazitin büyük yapısı, gelişen kolanjit ve kolesistit ile birlikte safra akışını engelleyebilir. Bu dönemde biliyer kolik, epigastrik ağrı, yağlı gıda

intoleransı, bulantı, sarılık, kaşıntı, sağ üst kadrın karın hassasiyeti ve Murphy belirtisi gibi belirtiler görülebilir. Safra kanalında veya safra kesesinde litiyazis sık görülürken, sirozda böyle bir durum görülmez. Safra kanalı ve safra kesesinde safra ile karışık kan, kan pıhtıları ve fibrinöz yapıda tıkaçlar bulunabilir (Mas-Coma ve ark., 2022). Çocuklarda safra kanallarının daha dar yapılı olmasına bağlı olarak erişkin parazitler tarafından safra akışının daha çok engellenmesi nedeniyle klinik tablo genellikle daha ağırdır (PAHO/WHO, 2020).

Genç parazitler, göç sürecinde normal rotasından saparak farklı organlara giderek ektopik fasciolosis'e yol açabilir. Ektopik yerleşimler en çok gastrointestinal sistemde görülür. Bunun dışında karın duvarı, pankreas, dalak, deri altı doku, kalp, kan damarları, akciğer, plevral boşluk, beyin, iskelet kası, apandiks ve epididim gibi birçok farklı doku ve organlara gidebilir. Bu ektopik lokalizasyonlardaki parazitler gittikleri yerlerde gelişemez ve ölürler. Ektopik lezyonların olası patolojik etkileri, parazitin göçü sırasında oluşan inflamasyon, fibrozis ve buna bağlı doku hasarıdır (Özcel ve ark., 2007; Mas-Coma ve ark., 2022).

2.3. İmmünite

2.3.1. Konağın doğal ve adaptif bağışıklık tepkisi

Parazitin Juvenil formları, kapsamlı bir immün yanıt eşliğinde ilk olarak bağırsak epitelyal mukozasında bağışıklık sistemi tarafından karşılanır. Konak immün yanıtı, juvenil formlara ait glikozillenmiş protein ve karbonhidrat yapılarının, tegumental antijenler gibi davranarak dendritik hücreleri aktive etmesi ve bu yolla T lenfosit proliferasyonunu indüklemesiyle ortaya çıkabilir (Flores-Velázquez ve ark., 2023).

Helmint enfeksiyonları, genellikle kronik enfeksiyonlar şeklinde ortaya çıkar. Bu durum, parazitin hayatta kalmasını ve konak dokunun bütünlüğünü destekleyebilen konaktaki Th2/düzenleyici yanıtın bir sonucudur (Ryan ve ark., 2020).

Fasciola türlerine bağlı enfeksiyonun erken evresinde, parazit konağın bağışıklık tepkisinden korunmak için çeşitli stratejiler kullanarak hayatta kalmasını sağlar (Dupouy-Camet, 2014). fasciolosis'in erken evrelerinde genellikle IFN γ , IL-4, IL-10 ve TGF- β gibi sitokinlerin yükseldiği karma bir Th1/Th2 bağışıklık yanıtının olduğu

kabul edilir. Enfeksiyon ilerledikçe, Th1 enflamasyonunun baskılanmasıyla birlikte Th2 yanıtı güçlenir ve böylece IL-4'e bağlı olarak enfeksiyon uzun süre devam eder (Ryan ve ark., 2020; Flores-Velázquez ve ark., 2023).

Fasciolidae ailesine ait trematodların enfekte ettikleri konakların bağışıklık geliştirmemesi, parazit tarafından konağın bağışıklık tepkisinin hızlı ve güçlü bir şekilde baskılanmasıyla açıklanmaktadır. Genç parazitler bağırsak duvarını geçerek periton boşluğuna ulaştıklarında, enfeksiyon süresince hakim olacak bağışıklık tepkileri çoktan aktive edilmiş olur. Parazitler, enfeksiyonun erken evresinde bağırsak duvarı ile periton boşluğunda bulunan dendritik hücreler, makrofajlar, nötrofiller ve mast hücreleri gibi doğal bağışıklık hücrelerinin fonksiyonlarını etkileyerek immünomodülatör moleküller salgılanmasına neden olurlar. Vücutta enfeksiyona özgü Th2 bağışıklık yanıtı, genellikle enfeksiyondan yaklaşık yedi gün sonra başlar. Bu yanıt sırasında, dalakta bulunan bağışıklık hücreleri IL-4, IL-5 ve IL-13 sitokinlerini salgılar. Enfeksiyonun yaklaşık üçüncü haftasında, makrofajlar ve dendritik hücreler periton bölgesinde birikir. Burada biriken makrofajlar TGF- β ve IL-10 ve dendritik hücreler, IL-10 salgılayarak dendritik hücrelerin olgunlaşmasını engeller. Mast hücreleri de burada birikir, ancak normalde üstlendikleri Th1 yanıtını güçlendirme görevini yerine getirmezler. Periton bölgesindeki CD4⁺ T hücrelerinin çoğunluğunda IL-4 veya IFN- γ üretimi gözlenmezken, aynı hücrelerden IL-10 salgılanır. Bu durum bağışıklık sisteminin tepkisini azaltır, daha sakin bir tepki vermesini sağlar. IL-10 üreten düzenleyici T hücreleri (Treg) oluşur ve bunlar hem Th1, hem de Th2 tipi hücreleri baskılar. Böylece bu hücreler, parazite özgü antijenlere karşı artık yanıt veremez hâle gelir. Enfeksiyon odağına yakın lenf düğümlerindeki bağışıklık hücreleri, parazit antijenleriyle uyarıldıklarında IL-10 ve IL-5 üretirler; ama IFN- γ ve IL-17 üretmez. Bu da yine bağışıklık sisteminin daha düşük şiddette bir tepkide bulunduğunu gösterir. (Dupouy-Camet, 2014; Flores-Velázquez ve ark., 2023).

Kronik enfeksiyon süreci, ağırlıklı olarak Th2 tipi bağışıklık yanıtlarıyla ilerler ve bu yanıtlar, Th1 tipi bağışıklık tepkilerini baskılar. Bağışıklık yanıtındaki bu yönelme (kutuplaşma), en belirgin şekilde kanda dolaşan antikorların tiplerine bakılarak anlaşılır. Parazit ile enfekte olan hayvanlar, yüksek miktarda IgG1 antikorı üretirken, neredeyse hiç IgG2 üretmezler. Ayrıca bu hayvanlardaki kan makrofajları, endotoksin

ile uyarıldıklarında normalde olması gereken tepkiyi vermezler. Bunun yerine, Th2 yanıtını destekleyen, doku onarımı ve fibrozis (nedbeleşme) sürecine katkıda bulunan bir tepki gösterirler ve bu durum yüksek düzeyde arginaz enzimi üretimiyle kendini belli eder (Dupouy-Camet, 2014).

2.3.2. İmmünomodülasyon stratejileri

Fasciolosis'de gelişen inflamatuvar yanıt, hem parazitin konak bağışıklık yanıtıyla etkileşimi hem de parazitin bu yanıttan nasıl kaçtığını anlamak açısından önemlidir. Metacercaria'ların bağırsak lümenindeki eksistasyonu ile açığa çıkan genç parazitler, konak immün yanıtıyla karşı karşıya kalır. Ancak *Fasciola* türleri, enfeksiyonun hem erken hem de ilerleyen dönemlerinde konak immün yanıtından kaçabilecek çeşitli adaptasyon mekanizmaları geliştirmiştir. Bu yetenekleri, parazitin konak içinde uzun yıllar boyunca hayatta kalmasını sağlayabilmektedir. Bu mekanizmalardan biri, dış glikokaliks için bir destek görevi gören parazitin tüm vücudunu kaplayan tegumentin varlığıdır. Tegument üzerinde bulunan glikokaliks, tegumentin değiştirilmesi için gereken bileşenlerin geçişine izin verir. Tegumenti örten glikokaliks tabakası her 2-3 saatte bir hızla yenilenir. Bu hızlı yenilenme, en az 369 proteinden oluşan parazit tegumentine, bağışıklık sistemi hücrelerinin (enflamatuvar hücrelerin) salgıladığı maddelerin ulaşmasını da engelleyebilir. Ayrıca, yüksek miktarda N-glikozillenmiş proteinler ile glikolipidlerin bulunması, bu moleküllerin fizyolojik rolleri ve bağışıklık sistemi üzerindeki düzenleyici etkilerinin ayrıntılı biçimde anlaşılmasını güçleştirmiştir (Flores-Velázquez ve ark., 2023).

Parazit tarafından konak yanıtından kaçmak için kullanılan stratejilerin çoğu, parazit vücut yüzeyine büyük miktarda parazit molekülünün salınmasıyla gerçekleştirilir. Bu moleküller, serbest halde ya da zarla çevrili hücre dışı veziküller (EV) aracılığıyla ortama salınabilir ve konak hücreler tarafından alındıklarında bu hücrelerin işlevlerini değiştirerek bağışıklık yanıtını etkileyebilirler. Zarla kaplı hücre dışı veziküller, *F. hepatica*'nın tüm gelişim evreleri tarafından üretilir ve EV'lerde bulunan paraziter moleküller, bu molekülleri çevreleyen membran nedeniyle antikorların etkisinden korunur. *F. hepatica*'dan elde edilen EV'lerde 618 kadar protein tanımlanmıştır. Bu kadar çok farklı proteini bulundurması, EV'lerin konak ile etkileşimde ne kadar önemli olduğunu göstermektedir (Flores-Velázquez ve ark., 2023).

Fasciola türleri konak immün yanıtını modüle etmek için sadece proteinleri kullanmaz. EV'ler aynı zamanda gen ekspresyonunu modüle edebilen mikroRNA'ları (miRNA) da içerir. miRNA'lar, sadece *F. hepatica*'ların erişkinlerinde değil, aynı zamanda metacercaria ve genç parazit formlarında da bol miktarda bulunur. Bu moleküller, hem parazitin gelişim ve metabolik işleyişinde hem de konak ile parazit arasındaki etkileşimlerin düzenlenmesinde kilit işlevler üstlenebilir. Hem erişkin hem de genç parazitlerde miRNA üretilmesine rağmen, erişkin ve genç parazitlerde salgılanan EV'lerdeki miRNA içeriği aynı değildir. Bu durum konak hücrelerde farklı biyolojik etkilere sebep olur (Flores-Velázquez ve ark., 2023).

Fasciola türlerinin hayatta kalmak, göç etmek, besin temin etmek ve konağın immün yanıtından kaçmak için kullandığı mekanizmalardan biri de boşaltım-salgı ürünlerini (ESP) salgılamasıdır. Erişkin *F. hepatica*'lardan izole edilen ESP'ler (FhESP), parazitin metabolik ihtiyaçlarını karşılamada önemli rol oynayan yaklaşık 160 farklı protein içerir. Bu proteinler arasında katepsin B ve katepsin L (FhCB ve FhCL), lösin aminopeptidaz, karboksipeptidaz, yağ asidi bağlayıcı protein (FABP) ve *F. hepatica* saposin-benzeri protein (FhSAP) gibi çeşitli proteazlar yer alır. Ayrıca FhESP, paraziti konağın bağışıklık hücreleri olan eozinofiller ve makrofajlar tarafından üretilen reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı koruyan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon-S-transferaz (GST), tiyoredoksin peroksidaz (TPx) ve peroksiredoksin (Px) gibi güçlü antioksidan enzimler de içerir. Bu enzimler, yalnızca oksidatif stresin engellenmesinde değil, aynı zamanda metacercara'nın eksistasyonu, doku göçü, beslenme ve immün sistemden kaçış gibi parazitin yaşam döngüsünde kritik öneme sahip süreçlerde de görev alır (Flores-Velázquez ve ark., 2023).

2.4. Tanı

2.4.1. Klinik tanı

Fasciolosis'in sahip olduğu karmaşık patofizyoloji, hastalığın klinik tanısını zorlaştırır. Endemik bölgelere, ham su tesislerine veya arıtılmamış suya maruz kalma gibi risk faktörlerinin varlığı klinik şüpheyi artırabilir. Fasciolosis'in belirti ve semptomları spesifik değildir. Ancak birçok klinik belirtinin ortaya çıkması enfeksiyonu düşündürülebilir. Subakut başlangıçlı ateş ve sağ üst kadranda ağrısı ile maruziyet öyküsü klinisyenin fasciolosis'den şüphelenmesine neden olmalıdır. Eozinofilinin, özellikle

yukarıda bahsi geçen semptomlarla birlikte görülmesi ya da semptomlar olmaksızın eozinofil hücre sayısının 1000 hücre/ μ L üzerine çıkmış olması, *Fasciola* dahil dokulara invaze olan parazit enfeksiyonlarını düşündürmelidir. Ayrıca, endemik bölgelerden gelen çocuklarda uzun süreli ve aralıklı sağ üst kadranda ağrısı ile birlikte anemi ve/veya büyüme geriliği varlığı, fasciolosis'i akla getirmelidir. (Caravedo ve Cabada, 2020). Özellikle doktorların insanlarda karaciğer trematod enfeksiyonu riskinin farkında olduğu endemik bölgelerde, bazı klinik tablolar faydalı olsa da, doğrulama için doğrudan parazitolojik teknikler veya dolaylı immünolojik testlerden en az birinin kullanılması gerekmektedir (Dupouy-Camet, 2014).

2.4.2. Laboratuvar tanısı

İnsan fasciolosis'inin tanısında koprolojik, serolojik ve daha çok bilimsel araştırmalar için kullanılan moleküler teknikler kullanılmaktadır. Diğer, invaziv olmayan tanı teknikleri denenmiş, ancak bunlar genellikle hastanelerdeki klinik uygulamalar dışında kullanılmamakta olup, bunlar radyoloji, radyoizotop taraması, ultrason, bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans gibi yöntemlerdir (Mas-Coma ve ark., 2014).

2.4.2.1. Koprolojik teknikler

Dışkı örneğinde, duodenal içerikte veya safra sıvısında *Fasciola* türlerinin yumurtalarının tespiti hem enfeksiyonun tanısı hem de paraziter yükün değerlendirilmesi açısından en uygun teşhis yöntemleri olmaya devam etmektedir. Bu yöntem, dışkı örneklerinde yumurta sayısının düşük olması, akut dönemde yumurta oluşmadığından dolayı tanı konulamaması ve dışkıdaki yumurta sayısı ile parazit yükü arasında güvenilir bir korelasyon bulunmaması gibi dezavantajlara rağmen kullanılmaya devam etmektedir (Mas-Coma, 2014).

Parazitlerin olgunluğa erişmediği hastalarda yumurta bulunmaz. İnsanda kuluçka fazı, prepatent dönemden daha kısadır ve klinik bulgular yumurtalar dışkıda bulunmadan çok önce ortaya çıkar. Bu nedenle, koprolojik tekniklerin yalnızca enfeksiyondan 3-4 ay sonra önemi vardır (Mas-Coma ve ark., 2014).

Basit bir direkt yaymadan, farklı konsantrasyon yöntemlerine kadar koprolojik teknikler kullanılabilir (Rojas ve ark., 2014). Dışkı örneklerinde yumurtaları tespit etmek için en sık kullanılan yöntemler, kombine sedimantasyon-flotasyon yöntemi veya daha yüksek yoğunluklu parazit yumurtaları mevcudiyeti durumunda yalnızca sedimantasyondur (Becker ve ark, 2016). Bu tür yöntemler genellikle rutin teşhis laboratuvarlarında yapılmakla birlikte, FLOTAC ve Flukefinder gibi ticari test çeşitleri de mevcuttur (Rojas ve ark., 2014).

Dışkı almadan kısa bir süre önce enfekte hayvan karaciğeri yiyen kişilerde dışkıda yumurtalar görünmesi yalancı fasciolosis'e neden olabilir. Yalancı parazitlik durumunda, hastanın karaciğersiz bir diyetle alınması ve tekrarlanan takip dışkı muayeneleri yapılması gerekir (Mas-Coma ve ark., 2014).

Fasciola türlerinin yumurtaları, enfeksiyonun kronik fazında ışık mikroskobu kullanılarak tespit edilebilir. Yumurtalar sadece dışkıda değil, aynı zamanda duodenal içerik, safra drenajı ve aspirasyon yoluyla alınan materyallerin incelenmesiyle de tespit edilebilir. *F. hepatica* ve *F. gigantica* yumurtaları, morfolojik olarak birbirinden kolayca ayırt edilemez. Ayrıca, bu yumurtalar *Fasciolopsis buski* veya bazı *Echinostoma* türlerinin yumurtalarıyla benzediğinden, bu türlerle de karıştırılabilir (CDC, 2019).

2.4.2.2. Serolojik teknikler

Yumurta üretimi normalde enfeksiyondan 3-4 ay sonra başlar. Oysa *Fasciola* türlerine karşı spesifik antikorlar 2-4 hafta sonra tespit edilebilir hale gelir. Bu yüzden enfeksiyonun akut fazında serolojik testlerin kullanılması gerekmektedir. Serolojik testler, yumurta üretiminin düşük olduğu veya düzensiz gerçekleştiği olgularda, ektopik yerleşimli enfeksiyonların ve kronik fasciolosis vakalarının tanısında da önemli bir tanı yöntemi olarak kullanılır. Bununla birlikte, serolojik testler, yakın zamanda enfekte hayvan karaciğerlerinin tüketilmesine bağlı olarak gelişen yalancı parazitlik durumlarının devre dışı kalmasını da sağlayabilir (CDC, 2019). Günümüzde insan fasciolosis'inin tanısı için kullanılan serolojik yöntemler, temel olarak serumda anti-*Fasciola* antikorlarının tespitine dayanmaktadır. Ancak antikorlardan ziyade antijenlerin saptanması, insan hastalığın tanısında daha uygun bir yaklaşım gibi görünmektedir.

Antikor düzeylerini ölçmeye yönelik testler, tedavi sonrası takibi için uygun değildir, çünkü antikorlar başarılı bir tedaviden sonra en az 4-5 ay hatta birkaç yıl boyunca saptanabilir düzeyde kalabilir. Antijen tespiti, fasciolosis tanısı için kullanılan alternatif bir serolojik testtir. *Fasciola* antijenleri, enfeksiyondan yalnızca iki ay sonra hastaların serum veya dışkı örneklerinde tespit edilebilir. Antijen tespit testi, antikor tespit testlerinin aksine hastalığın tedavi sonrası takibi açısından da faydalıdır. *Fasciola* antijenleri, kan serumu, tükürük veya dışkı örneklerden tespit edilebilir. Kan serumunda dolaşan antijenlerin çoğu, tespit edilmesi zor immün kompleksler halinde bulunduğu için, insan fasciolosis tanısı için dışkıda antijen tespiti daha uygun bir alternatif yöntemdir (Sarkari ve Khabisi, 2017).

Çok sayıda serolojik, intradermal ve dışkı antijen tespit testi geliştirilmiştir. İmmünolojik teknikler, parazitolojik tanıyla ortaya çıkan sorunları çözen çeşitli avantajlar sunmakta olup, bunlar aşağıdaki gibi sıralanabilir:

1. Parazitin enfeksiyondan yumurtlamaya kadar geçen sürenin 3-4 ay olması,
2. Parazitlerin yumurtlamaya zaman zaman ara vermeleri,
3. Sadece bir veya birkaç erişkin parazit durumunda ve kronik enfeksiyonlarda yumurta sayısının çok düşük olması veya hiç olmaması,
4. Ektopik enfeksiyonlar,
5. Hayvan karaciğerinin yenilmesi ile ilişkili yalancı parazitlik durumları,
6. Parazitozun endemik olmadığı bölgelerde yaşayan insanlarda olgunluğa erişmemesi gibi durumlarda serolojik tekniklerin kullanılması tanıda önemli avantaj sağlar.

Ancak, serolojik teknikler *F. hepatica* ile *F. gigantica* arasında ayrım yapamamaktadır. Antikor tespitine dayanan serolojik testlerde, antikor düzeyinin tedaviden sonra uzun süre pozitif kalması, hastalığın seyrini ve tedavinin etkisini takip etmeyi zorlaştırmaktadır. Dahası, bunlar parazit yükünü değerlendirmede işe yaramaz ve dolayısıyla uygun tedavi dozunu belirlemede, özellikle de insan fasyoliyozuna sık rastlandığı hiperendemik bölgelerde yardımcı olmaz. Ek olarak, bazı immünolojik tekniklerin, özellikle duyarlılık ve özgüllükle ilgili başka kısıtlamaları vardır (Mas-Coma ve ark., 2014).

Kompleman fiksasyonu, immünoelektroforez, presipitasyon, immünofloresan, çift immünodifüzyon, hemaglutinasyon, ELISA ve immünoblotlama, insanlarda fasciolosis tanısı için kullanılan serolojik yöntemlerdir (Rojas ve ark., 2014).

2.4.2.3. Moleküler teknikler

Fasciolosis teşhisi için çeşitli moleküler yöntemler uygulanabilir. Örneğin nested PCR, enfeksiyondan iki hafta sonra enfekte koyunların dışkıсында enfeksiyon etkenini tespit edilebilecek kadar yüksek hassasiyet gösterebilir. Ayrıca, tüm genomun dizilenmesi ya da polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parçası uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) testi de tanı için kullanılabilir. PCR kullanan moleküler tanı tekniklerinin her laboratuvarında mevcut olmaması nedeniyle, döngü aracılı izotermal amplifikasyon testinden (LAMP) alternatif bir yöntem olarak faydalanılabilir. LAMP, düşük maliyetli ve basit performans gösteren bir yöntem olup, bu yöntemle az miktarda DNA yüksek duyarlılıkla hızlı bir şekilde çoğaltılabilir ve *Fasciola* türleri de dahil olmak üzere çeşitli zoonotik helmintlerin tanısı için uygulanabilir (Abdullah, 2023).

Bugüne kadar, nükleer ve/veya mitokondriyal DNA'yı kullanan çeşitli PCR tabanlı yöntemler, *Fasciola* türlerinin genetik karakterizasyonu, tanımlanması ve/veya ayrımı için uygulanmıştır. Örneğin, polimorfik DNA'nın rastgele çoğaltılması (rAPS) ve mikrosatelit analizi gibi, organizmaların genetik yapısını ortaya koyan "DNA parmak izi" yöntemleri, *F. hepatica* popülasyonları içinde ve arasında genetik çeşitliliği değerlendirmek için kullanılmıştır. Ayrıca, mitokondriyal gen bölgesi ve dahili transkripsiyonlu aralayıcıların (ITS'ler) analizleri, *F. hepatica*, *F. gigantica* ve ara formların (melez olduğu tahmin edilen) birden fazla genetik varyant karakterize edilmiştir. Floresan tabanlı PCR bağlantılı mutasyon tarama analizi kullanılarak farklı son konaklardan (at, koyun ve sığır) kaynaklanan *F. hepatica*, *F. gigantica* ve *Fasciola*'nın ara formları karakterize edilmiştir (Rojas ve ark., 2014).

2.5. Tedavi

Fasciolosis'de klinik belirtiler enfeksiyonun akut veya kronik evresinde görülebilir. Tedavi, semptomların süresini kısaltmak ve komplikasyonları önlemek için endikedir. Semptomatik veya hafif semptomatik kişilerde, özellikle çocuklar başta olmak üzere enfeksiyonun potansiyel kronik etkilerini önlemek için tedavi verilmelidir

(Caravedo ve Cabada, 2020). Alternatif ilaçlar da mevcut olmasına rağmen, triclabendazole (TCBZ) hem erişkin hem de genç trematodlara karşı yüksek etkinliği nedeniyle, insanlarda *F. hepatica* ve *F. gigantica* enfeksiyonlarının tedavisinde tercih edilmektedir (Webb ve Cabada, 2018; Kudlacek, 2018). TCBZ'ün veteriner formülasyonu, insan fasciolosis tedavisinde ilk olarak 1986 yılında kullanılmıştır. O zamandan beri bu ilaç Mısır, Madagaskar, Vietnam, Bolivya, Yemen ve Peru gibi birçok ülkede insan fasciolosis'inin tedavisinde kullanılmaktadır (WHOa, 2020; Webb ve Cabada, 2018). TCBZ, Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) fasciolosis tedavisi için önerdiği tek ilaç olup, bu ilacın tedavide başarısı yüksek ve yan etkileri geçici ve hafiftir. Hem tedavi için ve hem de koruyucu olarak önerilen standart doz, vücut ağırlığının kilogramı başına 10 mg tek doz şeklindedir. Bununla birlikte, bazen tedavi etkinliğini artırmak amacıyla dozaj, 12-24 saat ara ile verilen iki ayrı doz halinde toplam 20 mg/kg'a çıkarılabilmektedir. İlacın diğer benzimidazol'ler gibi parazitin tübülün proteinlerini bağlayarak etki ettiği varsayılmaktadır. Tegument, vitellin ve testis üzerinde yapılan araştırmalar bu varsayımı desteklemektedir. TCBZ ile muamele edilen parazitlerde tübülün immünoreaktivitesi azalır (Kudlacek, 2018).

Triclabendazole, benzimidazol sınıfındaki diğer ilaçlar gibi, parazitin β -tubulin polimerizasyonunu bozan bir etki mekanizmasına sahiptir. Ancak bu etki mekanizması hala tam olarak açıklanamamıştır. İlaça maruz kalan *Fasciola* türlerinin tegument'inde belirgin yapısal bozulma meydana gelmekte ve protein sentezinde inhibisyona sebep olmaktadır. Buna bağlı olarak *Fasciola* türlerinde tegumentin belirgin şekilde bozulmasına ve protein sentezinin inhibisyonuna neden olur (Caravedo ve Cabada, 2020).

Fasciola türleri ile enfekte hastaların tedavisini takip eden sonraki günlerde tekrar dışkı incelemesi yapılmalıdır. Akut f fasciolosis'de semptomlar genellikle tedavi sonrası birkaç gün içinde normale dönmeye başlar; ancak eozinofil seviyesinin normale dönmesi birkaç hafta sürebilir. Akut semptomatik düzelme sağlandığında, tedavinin etkinliğini anlamak amacıyla tedaviden 1-2 ay sonra dışkı mikroskopisi yapılarak *Fasciola* yumurtalarının varlığı araştırılmalıdır. Bu hastaların bazılarında semptomların ortadan kalkması, kronik enfeksiyonun gelişmesiyle ilgili olabilir. Benzer şekilde, kronik fasciolosis vakalarında, tedavi sonrası iyileşmeyi doğrulamak amacıyla,

tedaviden 1-2 ay sonra birden fazla dışkı örneğinin hem direkt mikroskopik inceleme ve hem de konsantrasyon yöntemleri uygulanarak incelenmesi gerekir. Akut ve kronik fasciolosis'li kişilerin klinik takibinde serolojinin rolü belirsizdir. Başarılı bir tedaviden sonra ELISA yöntemi ile incelendiğinde Immunoglobülin düzeyi zamanla azalabilse de klinik olarak ilgili zamanı ve seviyesi belirlenmemiştir. Buna ek olarak sonradan negatifleşen konaklarda antikor seviyesi de iyi tanımlanmamıştır (Caravedo ve Cabada, 2020).

Fasciolosis tedavisi ve kontrolünde sadece bir ilaca bağlı kalmak probleme yol açabilir. TCBZ'nin tedavideki başarısına çok güvenilmesi, bu ilaca karşı *F. hepatica* ve daha az sıklıkla da *F. gigantica*'nın dirençli formlarının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Gelişmekte olan ülkelerde tutarsız tarım uygulamaları, veteriner ilaçlarının kalite kontrol eksiklikleri ve TCBZ'nin düşük dozda kullanımı, direnç gelişmesine neden olmuştur (Caravedo ve Cabada, 2020). TCBZ, hayvancılık sektöründe de üretim kayıplarını engellemek amacıyla yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Bu yoğun kullanım, İrlanda, İspanya, Avustralya, Peru ve Arjantin gibi gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde sığır ve koyunlarda bulunan parazitlerin bu ilaca karşı direnç kazanmasına yol açmıştır. Hayvan fasciolosis olgularında kazanılan direnç insan fasciolosis'inde de risk oluşturmaktadır. Yaygın olmamakla birlikte, Hollanda, Türkiye, Şili ve Peru'dan bu ilaca dirençli insan fasciolosis vakaları bildirilmiştir (Webb ve Cabada, 2018).

Çiftlik hayvanlarında fasciolosis'e karşı etkili bir aşı geliştirilmeye çalışılmaktadır. Aday antijenlerden bazıları FhCL1, FhCL2, FhPrx, FhLAP ve FhHDM'dir. Çiftlik hayvanlarının %83-90'ında koruma sağlayan en iyi çalışılmış antijenlerden biri FhLAP'tır. Bununla birlikte, şu anda fasciolosis için ticari olarak mevcut bir aşı bulunmamaktadır (Caravedo ve Cabada, 2020).

2.6. Korunma ve kontrol

Endemik bölgelerde hastalığın kontrolü, *Fasciola* türlerinin yaşam döngüsündeki bazı kritik noktalara yönelik stratejilere bağlıdır. Ara konak olan salyangoz kontrolüne yönelik stratejiler, bulaşmayı önemli ölçüde azaltabilir. Fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle salyangoz popülasyonunun azaltılması hedeflenmektedir. Ancak, yumuşakça öldürücülerin kullanımı salyangoz

popölasyonlarında sadece geçici bir azalmaya neden olur ve diğör birçok canlı türünü de etkiler. Su kaynaklarının kurutulması gibi çevresel değışiklikler de benzer şekilde geçici çözümler olup, endemik bölgelerde uygulanması zordur. Üçüncü bir yol ise, hayvanlarda düzenli olarak ilaç tedavisi ile parazit yükünün ve mera kontaminasyonunun azaltılmasıdır. Bu yöntem, gelişmiş ve gelişmekte olan ölkelerde, çiftlik hayvanlarında yaygın bir şekilde uygulanan önemli bir kontrol stratejisidir (Caravedo ve Cabada, 2020; Mas-Coma ve ark., 2022).

İnsan enfeksiyonları her zaman hayvanlardaki endemilerle ilişkili olduğundan, geleneksel olarak önleme tedbirleri evcil hayvanlar, ara konak salyangozlar ve çevresel kaynaklar (örneğin tarlalar, sulama sistemleri) üzerinde eş zamanlı olarak uygulanmıştır. Bununla birlikte, insanlarda parazitin endemik olduğu bölgelerde yapılan son çalışmalar, hayvan fasciolosis'inin epidemiyolojik özelliklerinin her zaman insanlardaki enfeksiyon özelliklerini açıklamadığını göstermiştir. İnsan enfeksiyonunun önlenmesi, özellikle su teresi gibi insanlar tarafından yenilen ve metaserkarya taşıyan yeşil su bitkilerinin yenilmemesi yönünde sıkı tedbirlerin alınmasıyla sağlanabilir. Kentsel alanlarda da insan enfeksiyonlarının olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Sebzelerin kırsal bölgelerden şehirlere taşınmasıyla, metaserkarya taşıyan bitkiler, kontrolsüz bir şekilde kent pazarlarında halka sunulabilmektedir. Bu nedenle, su teresi gibi yeşil su bitkilerinin ticari üretiminin kontrollü koşullar altında yapılması gerekmektedir. Hastalığın endemik olduğu bölgelerde genel kontrol önlemlerine her zaman eğitim de dahil edilmelidir (Mas-Coma ve ark., 2022).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmaya başlamadan önce Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan çalışma için etik kuruluna başvuruldu ve etik kurul onayı gerektirmediğine dair belge alındı (Karar no: 2022/13-03). Bu çalışma, 01.06.2022-08.04.2025 tarihleri arasında Ardahan Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi, Ardahan Üniversitesi SHMYO Öğrenci Laboratuvarı ve Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarlarında yürütüldü.

Çalışmada kullanılan yetişkin *Fasciola* spp. örnekleri, Bitlis, Kars ve Iğdır illerindeki mezbahalarda kesimden sonra enfekte sığır, koyun ve keçilere ait karaciğer ve safra kanallarından izole edildi. Mezbahalarda hayvan kesimlerini takiben karaciğerler incelendi ve enfekte karaciğerlerde kalınlaşıp belirgin hale gelmiş safra kanallarına enine kesitler yapılarak erişkin parazitler elde edildi. Çalışmada toplam 281 sığır, 529 koyun ve 218 keçi incelendi. *Fasciola* spp. saptanan toplam 51 hayvandan 187 örnek alındı. Örnekler ayrı ayrı içerisinde %70 etanol bulunan kapaklı şişelere konularak laboratuvara ulaştırıldı. Bu örneklerden 50 yetişkin *Fasciola* spp. örneği çalışmaya dahil edildi.

Çalışmada kullanılan cihaz ve malzemeler:

1. Stereo mikroskop (Leica EZ4)
2. PCR cihazı (SimpliAmp)
3. Güç kaynağı (Thermo Scientific)
4. Jel elektroforez cihazı (Major Science)
5. UV Transilluminator (Major Science)
6. Santrifüj (Sigma)
7. Derin dondurucu (Arçelik, 2031D)
8. Mikrodalga fırın (Altus)
9. Vorteks (Velp)
10. Kuru blok ısıtıcı (Biosan)
11. Hassas terazi (Bel)
12. Mikropipet seti (Eppendorf)

13. Lam ve lamel
14. Serum fizyolojik
15. Etil alkol (Merck, %96'lık)
16. Agaroz (Biomax)
17. Genomic DNA purification kiti (PureLink™ Genomic DNA Mini Kit, K182002)
18. Primerler
19. Thermo Scientific *RsaI* restriction enzyme
20. 5X HOT FIREPol® Blend Master Mix (Solis Biodyne)
21. 6X loading dye (Thermo Fisher Scientific)
22. PBS (Phosphate buffer saline) tablet (Thermo Fisher Scientific)
23. Marker 100-1000 bp DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific)
24. Etidyum bromid; 10 mg/ml (Promega)
25. ddH₂O (Thermo Fisher Scientific)
26. 50X TAE (Tris Asetat EDTA) tampon çözeltisi (Thermo Fisher Scientific)

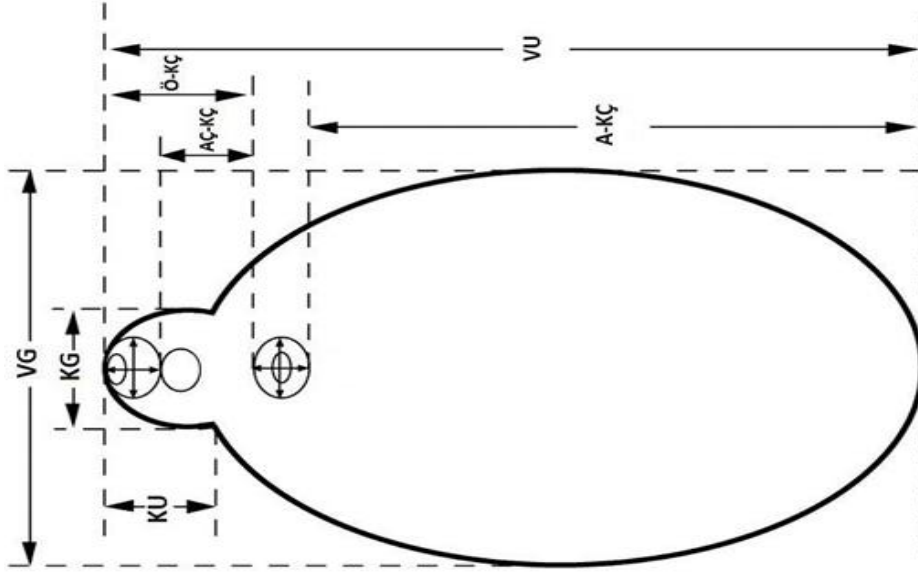
3.2. Yöntem

3.2.1. Çalışma planı

1. Numunelerin toplanması
2. Morfometrik analiz
3. Genomik DNA izolasyonu
4. ITS1 bölgesinin PCR ile çoğaltılması
5. PCR ile çoğaltılmış ITS1 ürünlerinin RFLP analizi
6. Hem PCR ile çoğaltılmış ITS1 ürünlerini hem de RFLP ürünlerini agaroz jel elektroforezi

3.2.2. Erişkin parazitlerin morfometrik analizi

Parazitler %70 etanolden çıkarılarak ve 1X PBS içerisine alındı. Sonra 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. Daha sonra, yetişkin parazitler bir petri içerisine alınarak X8 büyütmede Leica EZ4 stereo mikroskop altında cetveli kullanılarak literatüre (Gelen ve ark., 2016; Valero ve ark., 2001) uygun şekilde ölçümleri yapıldı.



Şekil 5. Yetişkin *Fasciola* spp. örneklerinin morfometrik analizinde kullanılan parametreler

KG: Koni genişliği, KU: Koni uzunluğu, VG: Vücut genişliği, VU: Vücut uzunluğu, Ö-KÇ: Ön uç ile karın çekmeni arasındaki mesafe, A-KÇ: Arka uç ile karın çekmeni arasındaki mesafe, AÇ-KÇ: Ağız çekmeni ve karın çekmeni arasındaki mesafe (Gelen ve ark., 2016)

3.2.3. Genomik DNA izolasyonu

PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Thermo Scientific İnvitrogen K182001) ile kit üreticisinin önerileri doğrultusunda DNA'lar izole edildi. Bu amaçla:

1. Morfometrik analizi yapılmış parazitler 1XPBS ile beş kez yıkandıktan sonra homojenizatör yardımıyla tamamen parçalanıp ezildi.
2. Homojenize edilmiş numuneler 1.5ml'lik kapaklı ependorf tüplerine yerleştirildikten sonra 240µl digestion solution eklenip vortekslendi. Daha sonra her numune için 40µl Proteinase K (Thermo) eklenip karışım homojen bir hal alana kadar vortekslendi.
3. Vorteksleme işlemiyle daha homojen bir hale gelen numune 56°C'de kuru blok ısıtıcıda 24 saat bekletildi.
4. İnkübasyon işlemi tamamlandıktan sonra oda sıcaklığında 5dk bekletilip üzerine 30µl RNase A (Thermo) eklenip oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi.
5. 240µl lysis solution eklenip 15 saniye vortekslendi.
6. 400µl %96'lık etil alkol eklenip 15 saniye vortekslendi.

7. Oluşan karışım 14000rpm’de 3 dk santrifüj edildikten sonra süpernatantın tamamı kit üzerinde gelen filtreli kolon tüplere aktarıldı.

8. Kolon tüplerdeki karışım 6000rpm’de 1 dk santrifüj edilmiştir. Oluşan sıvı alttaki tüp kısmıyla atılıp filtreli kısım tekrar steril 2 ml’lik tüpe aktarıldı.

9. Kolon tüpe, 500µl wash buffer I (alkol eklenmiş) eklenip 8000rpm’de 1 dakika santrifüj edildi. Oluşan sıvı dökülüp filtreli kısım tekrar ependorf tüpe aktarıldı.

10. Yıkamanın ikinci aşaması için 500µl Wash Buffer II (Alkol eklenmiş) eklenip 14000rpm’de 3dk santrifüj edilmiştir. Tüplerdeki sıvı döküldükten sonra herhangi bir solüsyon eklenmeden 14000 rpm’de 1.5dk tekrar santrifüj edildi.

11. Son olarak, filtreli kısım 1.5ml’lik ependorf tüpüne yerleştirilerek üzerine 60µl elution buffer eklendi ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilip, 8000 rpm’de 2dk santrifüj edilmiştir. Bu işlem ikinci kez tekrarlandıktan sonra filtreli kısım atılmış ve böylece 120µl DNA elde edilmiştir. Elde edilen DNA örnekleri PCR işlemine kadar -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.4. ITS1 bölgesinin PCR ile çoğaltılması

İzole edilmiş genomik DNA’dan ribozomal ITS1 bölgesini PCR ile çoğaltmak için Tablo 1 ve Tablo 2’de dizileri verilmiş ITS1-F, ITS1-R (Ichikawa ve Itagaki, 2010) primerleri kullanılarak Tablo 3’teki protokole göre reaksiyon gerçekleştirildi.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan primerler

Primer	Primer Dizisi	Amplikon (bp)	Kaynak
ITS1-F	5’-TTGCGCTGATTACGTCCCTG-3’	680	(Ichikawa and Itagaki, 2010)
ITS1-R	5’-TTGGCTGCGCTCTTCATCGAC-3’	680	(Ichikawa and Itagaki, 2010)

Tablo 2. RFLP için hazırlanan PCR bileşenleri ve miktarları

Bileşenler	Miktar (µl)
PCR Master Mix (5X)	8
Forward primer (10 nmol)	1.5

Reverse primer (10 nmol)	1.5
DNA	3
Deiyonize saf su	14
Toplam karışım	25

Tablo 3. PCR protokolü

Aşama	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Döngü Sayısı
Ön denatürasyon	95	10	1
Denatürasyon	94	1.5	35
Bağlanma	58	1.5	
Uzama	72	1.5	
Son uzama	72	10	1
İnkübasyon	4	∞	1

3.2.5. PCR ile çoğaltılmış ITS1 ürünlerinin RFLP analizi

Bu amaçla *RsaI* enzimiyle PCR ürünleri kesildi. Bütün işlemler üretici firmanın protokolleri doğrultusunda yapıldı. Tablo 4'te verilen reaksiyon karışımı hazırlandı. Birkaç dakika hafifçe karıştırıldıktan sonra 37°C'de 16 saat inkübasyona bırakıldı. Daha sonra agaroz jelde yürütüldü ve translüminatörde UV altında sonuçlar analiz edildi.

Tablo 5.'te gösterildiği gibi *RsaI* enzimi ile sindirilen 680bp uzunluğundaki ITS1 DNA bölgelerinde, *F. hepatica* örneklerinden yaklaşık 360, 100 ve 60bp'lik bantlar, *F. gigantica* örneklerinden yaklaşık 360, 170 ve 60bp'lik bantlar, ara form *Fasciola* örneklerinden ise yaklaşık 360, 170, 100 ve 60bp'lik bantlar elde edilmesi hedeflendi (Ichikawa ve Itagaki, 2010).

Tablo 4. RFLP reaksiyon karışımı

Bileşenler	Miktarı (µl)
Restrüksiyon enzim (<i>RsaI</i>)	2
PCR reaksiyon ürünü	10

10X buffer tango	2
Nükleaz içermeyen distile su	17

Tablo 5. ITS1-PCR ürünlerinin *RsaI* restriksiyon enzimi ile kesimi sonrası *Fasciola* türüne göre oluşması hedeflenen bant desenleri

<i>Fasciola</i> türü	PCR amplikon büyüklüğü (bp)	RFLP sonucu oluşan bant desenleri (bp)
<i>F. hepatica</i>		360, 100, 60
<i>F. gigantica</i>		360, 170, 60
Ara form <i>Fasciola</i>	680	360, 170, 100, 60

3.2.6. PCR ile çoğaltılmış ITS1 ve RFLP ürünleri için agaroz jel elektroforezi

Katı halde olan agarozdan iki gram alınarak, üzerine 100ml 1X TAE eklendi. Daha sonra oluşan karışım mikrodalga fırında tamamen çözünene kadar ısıtıldı. Homojen solüsyon mikrodalga fırından çıkartılarak oda sıcaklığında ılık hale gelinceye kadar bekletildi. Solüsyona 3µl etidyum bromür eklenip karıştırılarak agar içinde dağılması sağlandı. Kuyucuk oluşturmak için tarak yerleştirilen jel kabına agar solüsyonu döküldü. Agar katılaştıktan sonra tarak dikkatli bir şekilde çıkartıldı. Agaroz jel, elektroforez tankının içerisine yerleştirilerek üzerini geçecek şekilde 1X TAE çözeltisi eklendi.

Agaroz jelde görüntülemek için, PCR amplikonlarından 7.5µl alınıp 2.5µl 6X jel yükleme boyası ile karıştırıldı. İlk kuyucuğa 7.5µl 100bp DNA ladder marker (Thermo Scientific GeneRuler, Litvanya), diğer kuyucuklara PCR amplikonu ve 6X jel karışımından 7.5µl ve son kuyucuğa negatif kontrolden (distile su) 7.5µl dikkatli bir şekilde, agarı delmeden pipetle yükleme yapıldı. Agaroz jeldeki PCR ürünleri 90 volt doğrusal akımda 45 dakika elektroforeze tabi tutuldu. Bu işlemten sonra agaroz jel, tanktan çıkartılarak translüminatörde UV ışık altında incelendi. Aynı işlem RFLP ürünleri için de uygulandı.

3.2.7. ROC analizi

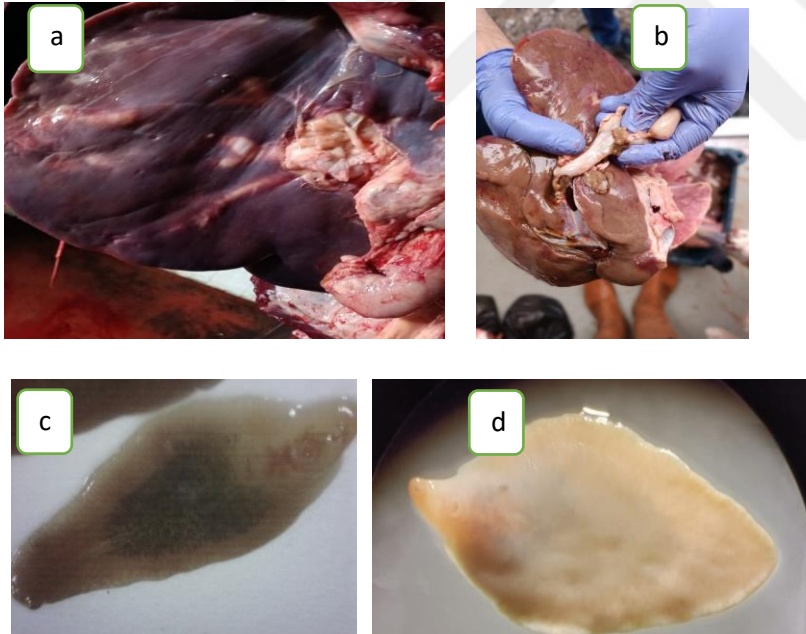
Çalışmamızda *F. hepatica* ve ara form *Fasciola* türlerini birbirinden ayırt etmek için vücut uzunluğunun vücut genişliğine oranının kullanılıp kullanılmayacağını anlamak amacıyla ROC (Receiver Operating Characteristic) analizi kullanıldı. ROC analizi, bir teşhis testinin pozitif ve negatif sınıfları birbirinden ne düzeyde ayırt edebildiğini anlamak için kullanılan bir istatistiksel yöntemdir. Bu analizde, bağımsız değişken olarak vücut uzunluğu/vücut genişliği oranı (L/W; lw_ratio), bağımlı (sınıflandırıcı) değişken olarak ise moleküler yöntemlerle doğrulanmış tür bilgisi (0 = *F. hepatica*, 1 = ara form *Fasciola*) kullanıldı. Analiz için, IBM SPSS Statistics 25.0 yazılımı kullanıldı; pozitif sınıf olarak ara form *Fasciola* tanımlandı. ROC eğrisi altında kalan alan (AUC), *p* değeri ve duyarlılık ve özgüllük değerleri hesaplandı.

4. BULGULAR

Kesimi yapıldıktan sonra karaciğeri incelenen bir yaşından büyük toplam 281 sığırın 24'ünde (%8.54), 529 koyunun 19'unda (%3.59) ve 218 keçinin sekizinde (%3.67) *Fasciola* türlerine rastlandı (Tablo 6).

Tablo 6. Saptanan *Fasciola* türlerinin yörelere ve kesimi yapılan hayvan türüne göre dağılımı

Yörelere	Hayvan türleri	Hayvan sayısı	Parazitli hayvan sayısı	Oranı
Kars	Sığır	241	22	%9
	Sığır	40	2	%5
Iğdır	Koyun	383	15	%3.9
	Koyun	146	4	%2.7
Bitlis	Keçi	218	8	%3.7



Şekil 6. Enfekte sığır ve koyun karaciğerlerinde kalınlaşmış safra kanalları ve elde edilen *Fasciola* türleri

a- *Fasciola* türleri ile enfekte sığır karaciğeri, b- *Fasciola* türleri ile enfekte koyun karaciğeri, c- Sığır karaciğerinden elde edilen *Fasciola* türleri, d- Koyun karaciğerinden elde edilen *Fasciola* türleri.

Tablo 7. *Fasciola* türlerinin morfometrik ölçüm sonuçları

Kod	VU (mm)	AÇ-KÇ (mm)	KÇ-Ö (mm)	KU (mm)	KÇ-A (mm)	VG (mm)	KG (mm)	VU/VG
SK1	19	1.5	2	1.5	16.5	9.5	3.5	2
SK2	21	0.75	1.5	2.5	19.5	7	4	3
SK3	17	1.75	2	2	12	6.5	6	2.61
SK4	17	1.5	2	2.5	14.5	10	4	1.7
SI5	23.5	2	2.5	2.5	20.5	11.5	3.5	2.04
SK6	22	1	2	2.25	15.5	8.5	3	2.59
SK7	20.5	1.25	2.25	2.25	17.75	8	3	2.56
SK8	16.5	0.75	1.5	1.5	14.5	9	3.25	2.17
SK9	19	1.5	2.5	2	15.5	11	3	1.73
SK10	25.5	1.5	2.5	2.5	22.5	10	3	2.55
SI11	36	1.5	2.5	2.5	32.75	7	3.5	5.14
SK12	26	1.25	2	2	23.25	11	3.5	2.36
SK13*	17	1	2	1.5	14.25	9.5	3	1.79
SK14	24	1.5	2.5	2.5	21.5	10	3.5	2.4
SK15	16.5	0.75	1.75	2	13.5	8.5	3	1.94
SK16	24	1.5	2.5	2	20.5	9	3	2.67
SK17	28.5	2	3	3	24.75	11	4	2.59
SK18	19	1.25	2	2	16.25	10	3.25	1.9
SK19	24	1.25	2	2	21.5	9	3.5	2.67
SK20	33	1.5	2.5	3	29.5	8.5	4.5	3.88
SK21	26	1.25	2.75	2	24	11.5	3.5	2.26
SK22	21	1.5	2.5	2.5	18	10.5	3.5	2
SK23	24	1.25	2.25	2.5	21	10.5	3.5	2.29
SK24	21	1.5	2.5	2.5	18	9.5	3	2.21
ÇB1	27.5	1.5	2.5	2	25	10	3	2.75
ÇB2	27.5	1.5	2.5	2.5	23.75	10	3	2.75
ÇB3	25	1.25	2	2	22	10	2.5	2.5
ÇB4	31	1.5	2.5	2	28	10	3	3.1
ÇB5	24	1.5	2.5	2	21	11	2.5	2.18
ÇB6	26	1.5	2.5	2	23.5	10.5	3.5	2.48
ÇB7	34	1.5	2.5	2	31	8	3.5	4.25
ÇB8	36	2	3	2.5	32.5	9	3.5	4
KI1	24	1.5	2.5	2.5	20.5	11.5	3.5	2.09
KI2	23	1.75	2.5	3	19.5	11.5	3	2
KI3	24.5	1.75	2.5	2.5	21.5	8	3	3.06
KI4	20	1.25	2	2	17.5	8	2.5	2.5
KI5	17	1	1.5	1.5	20	10	2.5	1.7
KI6*	19	1.25	2.25	2.25	16	9.5	3	2
KI7	28.5	1.5	2.5	2	25.25	11	3.5	2.59
KI8	17	1	2	1.5	14.5	9	2	1.89
KI9	19	1.25	2.25	2.5	16	10.5	2.75	1.81
KI10	22	1.5	2.5	2.5	19	10	3	2.2
KI11*	32	1.5	2.5	2.5	19	11	3.5	2.91
KI12*	21	1.25	2	2	18.5	11	3	1.91
KI13*	19	1.75	2.5	2.5	15.5	8.5	3	2.23
KI14	23.5	2	3	2.75	19.75	10	3.5	2.35
KB1	35.5	1.5	2.5	2.5	32	10	3.5	3.55
KB2	25.5	1.5	2.5	2.5	22	8.5	3	3
KB3	33	1.25	2	2	30	11	3.5	3
KB4	29.5	1.5	2.5	2	26	12	3.5	2.46

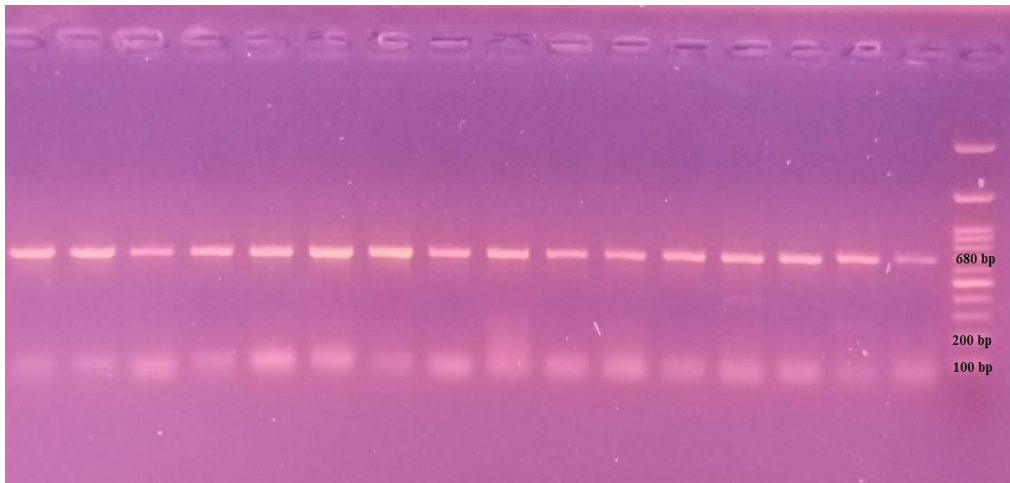
VU: vücut uzunluğu, AÇ-KÇ: Ağız çekmeni ve karın çekmeni arası mesafe, KÇ-Ö: Karın çekmeni ve ön uç arasındaki mesafe, KU: Koni uzunluğu, KÇ-A: Karın çekmeni ve arka uç arası mesafe, VG: Vücut genişliği, KG: Koni genişliği, VU/VG: vücut uzunluğunun vücut genişliğine oranı, (*) Ara formlar.

4.1. Morfometrik Analiz

Parazitlerin vücut uzunluğu (VU), vücut genişliği (VG), ağız çekmeni-karın çekmeni arası mesafe AÇ-KÇ), karın çekmeni-ön uç arasındaki mesafe (KÇ-Ö), koni uzunluğu (KU), karın çekmeni-arka uç arası mesafe (KÇ-A) ve koni genişliği (KG) olmak üzere yedi parametre ölçüm sonuçları Tablo 7’de verildi. Tablo 7 incelendiğinde RFLP sonuçlarına göre *F. hepatica* olarak belirlenen örnekler maksimum ve minimum değerler yönünden değerlendirildiğinde; vücut uzunluğu, vücut genişliği, ağız çekmeni-karın çekmeni arası mesafe, karın çekmeni-ön uç arasındaki mesafe koni uzunluğu, karın çekmeni-arka uç arası mesafe ve koni genişliğinin sırasıyla 36-16.5, 12-6.5, 2-0.75, 3-0.75, 3-1.5, 32.75-12 ve 6-2 mm olduğu saptandı. Ara form *Fasciola* olarak belirlenen örnekler maksimum ve minimum değerler yönünden değerlendirildiğinde; vücut uzunluğu, vücut genişliği, ağız çekmeni-karın çekmeni arasındaki mesafe, karın çekmeni-ön uç arasındaki mesafe, koni uzunluğu, karın çekmeni-arka uç arasındaki mesafe ve koni genişliğinin sırasıyla 32-17, 11-8.5, 1.75-1, 2.5-2, 2.5-1.5, 19-14.25 ve 3.5-3 mm olduğu saptandı.

4.2. PCR Sonuçları

Erişkin *Fasciola* türlerinden DNA izolasyonu ile elde edilen genomik DNA’nın ITS1 bölgesinin PCR ile çoğaltılması neticesinde bütün örneklerde 680bp büyüklüğünde bant gözlemlendi.



Şekil 7. ITS1 bölgesinin PCR amplifikasyonu sonrası UV altındaki jel elektroforez bant görüntüleri

4.3. RFLP Sonuçları

Çalışmada 680bp'lik ITS1 bölgesine ait PCR ürünlerinin *RsaI* enzimiyle kesilmesi neticesinde 360, 100 ve 60bp'lik üç bant gösteren 45 izolat *F. hepatica*, 360, 170, 100 ve 60bp'lik dört bant gösteren diğer beş örnek ara form *Fasciola* olarak değerlendirildi.



Şekil 8. *Fasciola* türlerine ait ITS1-PCR ürünlerinin *RsaI* restriksiyon enzimi ile kesimi sonrası PCR-RFLP yöntemi ile elde edilen jel elektroforez bant görüntüleri (Not: 3, 4, 10 ve 14 numaralı örnekler ara form *Fasciola*, diğer örnekler *F.hepatica*'dır.)

Tablo 8. *Fasciola* türlerinin morфометrik ölçüm sonuçlarına göre karşılaştırılması

Tür	Ölçüm türü	VU (mm)	AÇ-KÇ (mm)	KÇ-Ö (mm)	KU (mm)	KÇ-A (mm)	VG (mm)	KG (mm)
Ara form <i>Fasciola</i>	Ortalama	21.6	1.35	2.25	2.15	16.65	9.9	3.1
	Standart sapma	5.98	0.29	0.25	0.42	2.03	1.08	0.22
	Maks/Min değer	32/17	1.75/1	2.5/2	2.5/1.5	19/14.25	11/8.5	3.5/3
<i>Fasciola hepatica</i>	Ortalama	24.4	1.42	2.32	2.24	21.4	9.7	3.31
	Standart sapma	5.47	0.3	0.36	0.38	5.32	1.32	0.62
	Maks/Min değer	36/16.5	2/0.75	3/0.75	3/1.5	32.75/12	12/6.5	6/2

Tablo 9. *Fasciola hepatica* örneklerinin elde edildiği hayvan türüne göre ölçüm sonuçları

Hayvan türleri	Ölçüm türü	VU (mm)	AÇ-KÇ (mm)	KÇ-Ö (mm)	KU (mm)	KÇ-A (mm)	VG (mm)	KG (mm)
Keçi	Ortalama	27.12	1.47	2.44	2.13	24.16	9.88	3
	Standart sapma	4.1	0.09	0.18	0.23	4.11	0.88	0.38
	Maks/Min değerler	34/21	1.5/1.25	2.5/2	2.5/2	31/18	11/8	3.5/2.5
Koyun	Ortalama	25.32	1.45	2.34	2.25	22.59	10	3.05
	Standart sapma	6.38	0.28	0.36	0.43	5.75	0.33	0.48
	Maks/Min değerler	36/17	2/1	3/1.5	3/1.5	32.5/14.5	12/8	3.5/2
Sığır	Ortalama	22.89	1.39	2.26	2.27	19.78	9.46	3.56
	Standart sapma	4.99	0.36	0.41	0.39	5.03	1.44	0.66
	Maks/Min değerler	36/16.5	2/0.75	3/1.5	3/1.5	32.75/12	11.5/6.5	6/3

Tablo 10. Ara form *Fasciola* örneklerinin elde edilen hayvan türüne göre ölçüm sonuçları

Hayvan türleri	Ölçüm türü	VU	AÇ-KÇ	KÇ-Ö	KU	A-KÇ	VG	KG
Koyun	Ortalama	22.75	1.44	2.31	2.31	17.25	10	3.13
	Standart sapma	6.24	0.24	0.24	0.24	1.76	1.22	0.25
	Maks/Min değer	32/19	1.75/1.25	2.5/2	2.5/2	19/15.5	11/8.5	3.5/3
Sığır	Ölçümler (mm)	17	1	2	1.5	14.25	9.5	3

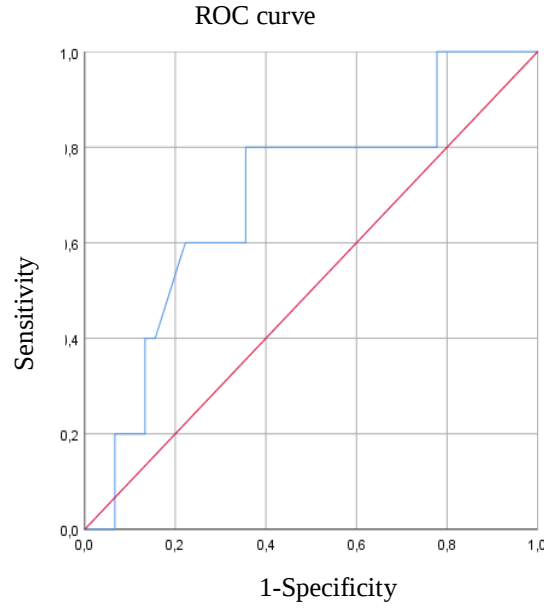
Tablo 11’de de görüleceği gibi, RFLP sonuçları neticesinde ara form *Fasciola* olarak tespit edilen parazit örneklerinden dört tanesi Iğdır’da koyunlardan, diğer bir tanesi ise Kars’ta bir sığırdan elde edildi.

Tablo 11. İncelenen *Fasciola* örneklerinin izole edildiği hayvan türü, toplandığı bölge ve RFLP sonuçlarına göre tür dağılımı

Kod	<i>Fasciola</i> türü (RFLP)	Hayvan türü	Alındığı il
SK1	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SK2	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SK3	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SK4	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SI5	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Iğdır
SK6	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SK7	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SK8	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SK9	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SK10	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SI11	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Iğdır
SK12	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SK13*	Ara form <i>Fasciola</i>	Sığır	Kars
SK14	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SK15	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SK16	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SK17	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SK18	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SK19	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SK20	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SK21	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SK22	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SK23	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
SK24	<i>Fasciola hepatica</i>	Sığır	Kars
ÇB1	<i>Fasciola hepatica</i>	Keçi	Bitlis
ÇB2	<i>Fasciola hepatica</i>	Keçi	Bitlis
ÇB3	<i>Fasciola hepatica</i>	Keçi	Bitlis
ÇB4	<i>Fasciola hepatica</i>	Keçi	Bitlis
ÇB5	<i>Fasciola hepatica</i>	Keçi	Bitlis
ÇB6	<i>Fasciola hepatica</i>	Keçi	Bitlis
ÇB7	<i>Fasciola hepatica</i>	Keçi	Bitlis
ÇB8	<i>Fasciola hepatica</i>	Keçi	Bitlis
KI1	<i>Fasciola hepatica</i>	Koyun	Iğdır
KI2	<i>Fasciola hepatica</i>	Koyun	Iğdır
KI3	<i>Fasciola hepatica</i>	Koyun	Iğdır
KI4	<i>Fasciola hepatica</i>	Koyun	Iğdır
KI5	<i>Fasciola hepatica</i>	Koyun	Iğdır
KI6*	Ara form <i>Fasciola</i>	Koyun	Iğdır
KI7	<i>Fasciola hepatica</i>	Koyun	Iğdır
KI8	<i>Fasciola hepatica</i>	Koyun	Iğdır
KI9	<i>Fasciola hepatica</i>	Koyun	Iğdır
KI10	<i>Fasciola hepatica</i>	Koyun	Iğdır
KI11*	Ara form <i>Fasciola</i>	Koyun	Iğdır
KI12*	Ara form <i>Fasciola</i>	Koyun	Iğdır
KI13*	Ara form <i>Fasciola</i>	Koyun	Iğdır
KI14	<i>Fasciola hepatica</i>	Koyun	Iğdır
KB1	<i>Fasciola hepatica</i>	Koyun	Bitlis
KB2	<i>Fasciola hepatica</i>	Koyun	Bitlis
KB3	<i>Fasciola hepatica</i>	Koyun	Bitlis
KB4	<i>Fasciola hepatica</i>	Koyun	Bitlis

4.4. ROC analizi sonuçları

ROC analizi sonucunda elde edilen eğri altı alan (AUC) değeri 0.696 olarak hesaplandı. Analiz sonucunda cut-off (kesim) değeri ise 2,22 bulunmuştur. Bu sonuca göre, vücut uzunluğunun vücut genişliğine oranı, *F. hepatica* ve ara form *Fasciola* izolatlarını ayırmada zayıf ile orta düzey arasında ayırt edici bir değere sahip olduğu belirlendi. Elde edilen AUC değeri için hesaplanan *p* değeri, 0.05'ten büyük olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı.



Şekil 9. *Fasciola hepatica* ve ara form *Fasciola* örneklerinin lw-ratio değişkenine göre elde edilen ROC eğrisi

Tablo 12. ROC analizine ait istatistiksel değerlendirme sonuçları

Eğri altında kalan alan	Standart hata	<i>p</i> değeri	Asimptotik %95 güven aralığı		Cut-off (kesim değeri)
			Alt sınır	Üst sınır	
,696	,123	,155	,455	,937	2,22

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Fasciolosis, *F. hepatica*, *F. gigantica* ve bu iki türün melez formu olduğu düşünülen ara form *Fasciola*'nın neden olduğu gıda kaynaklı bir parazitozudur. Hastalık dünya genelinde hem insanları hem de birçok hayvan türünü etkiler. *Fasciola* insan, hayvanlar ve bitkilerin dahil olduğu karmaşık bir bulaş ağına sahiptir. Yetişkin helmintler hem insanlarda hem de geniş getirenlerde görülürken, larval evreleri tatlı su salyangozlarında gelişir. Enfeksiyöz larval formları olan metaserkerler ise sulak alanlardaki bitkilere tutunur (Ichikawa ve Itagaki, 2010). Çeşitli çalışmalar *Fasciola* enfeksiyonunu araştırmış olsa da Türkiye'de *Fasciola*'nın morfometrik ve moleküler karakterizasyonu hakkında çalışmalar sınırlı sayıdadır.

Lan ve ark.'nın insanlarda ve ruminantlarda fasciolosis ile ilgili olarak inceledikleri 371 makalenin analiz sonuçlarına göre küresel boyutta sığır fasciolosis'inin birleştirilmiş yaygınlığı %17 iken, koyun ve insan fasciolosis'inin birleştirilmiş yayılım oranları sırasıyla %13 ve %5 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca araştırmaya dahil edilen tüm konaklarda *F. hepatica*'nın *F. gigantica*'dan daha yaygın olduğu saptanmıştır (Lan ve ark.,2024).

Türkiye'nin ruminantlarda yapılan *Fasciola* türlerinin yayılımı üzerine çok sayıda çalışma yapılmış olup, çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Kars'ta yapılan bir çalışmada sığırlarda %9.4 (Gıcık ve ark., 2002), Ağrı'da yapılan bir çalışmada sığırlarda %22.6 (Şahin ve ark., 2023), Bingöl'de yapılan bir çalışmada koyunlarda %27 ve keçilerde %21 (Gül ve Kılınç, 2016), Antalya'da yapılan bir çalışmada koyunlarda %8.4 (Adanır ve Çetin, 2016), Siirt'te yapılan bir çalışmada koyunlarda %7.5 ve keçilerde %14.14 (Çelik ve Aslan, 2018), Aydın'da yapılan bir çalışmada koyunlarda %0,02 ve sığırlarda %0,18 (Pekağırbaş ve Eren, 2020), Iğdır'da yapılan bir çalışmada koyunlarda %16.7 (Ertaş ve ark., 2022), 2023 yılında Iğdır'da yapılan başka bir çalışmada ise koyunlarda %26.2 oranlarında saptanmıştır (Ayvazoglu ve ark., 2023).

Tarafımızdan yürütülen bu çalışmada, fasciolosis'e Iğdır'da koyunlarda %3.9 ve sığırlarda %5, Bitlis'te koyunlarda %2,7 ve keçilerde %3,7, Kars ilinde ise sığırlarda

%9 oranlarında rastlanmıştır. Çalışmamızda küçükbaş hayvanlarda saptanan fasciolosis oranları, aynı ya da yakın illerde daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarına göre daha düşüktür. Bu durum, tarafımızdan incelenen hayvanların çoğunluğunun genç yaşta olması ya da bu hayvanlarda paraziter ilaç kullanılmış olabileceği ile açıklanabilir. Sığırlar için saptanan oranın ise daha önce Kars'ta yapılan çalışmanın (Gıcık ve ark., 2002) sonuçlarına çok yakın olduğu görülmüştür.

Fasciola'da stabil bir süreç olan gelişimin belirli kısıtlamalar dahilinde ilerlediği belirtilmiştir. Waddington (1957) tarafından gelişim “kanalizasyon” terimiyle ifade edilmiştir. “Kanalizasyon”, parazitin genetik yapısı ve çevresel faktörlerin etkisiyle sapmaya izin vermeksizin gelişimin belirli bir çizgide ilerlemesini ve tutarlı bir morfolojiye ulaşmasını sağlar. *F. hepatica*'da büyümenin lojistik büyüme modeline uyduğu belirlenmiştir. Bu modele göre gelişimin başlarında büyüme hızı yüksektir. Belli bir noktadan sonra büyüme yavaşlar. Daha sonra genetik faktörler ve çevresel etmenlerin etkisiyle büyüme sınırına ulaşır. Bu durum parazitin vücut uzunluğu, vücut genişliği, koni uzunluğu ya da diğer organların birbirlerine göre mesafesinin genetik faktörler ve parazitin bulunduğu konağın parazite karşı sergilemiş olduğu direnç koşullarıyla sınırlandırıldığını göstermektedir (Valero ve ark., 2001).

Parazitin içinde yaşadığı konaklar morfometrik özelliklerini önemli düzeyde etkiler. Ancak bu konudaki bilgiler çelişkilidir. Bazı araştırmalarda koyunlardaki *Fasciola* örneklerinin sığırlardakinden daha büyük boyutlarda olduğu ifade edilmektedir (Dixon, 1964). Kesin bilgi bulunmamakla birlikte sığırlardaki *Fasciola* örneklerinin koyunlardakilere göre daha büyük boyutlarda olduğunu öne süren kaynaklar da mevcuttur (Gelen ve ark., 2016; Valero ve ark., 2001).

Valero ve arkadaşlarının (2001) Kuzey Bolıvyalı Altiplanosu hiperendemik bölgesinde yürüttükleri çalışmada, koyunlardan toplanan parazitlerin maksimum vücut uzunluğunun (VU) ve arka uç- karın çekmeni (A-KÇ) ölçülerinin, sığır ve domuzlardan toplanan parazit örneklerine göre daha büyük olduğunu gözlemlemişlerdir. Sığırdan elde edilen *Fasciola* örneklerinde ise vücut genişliğinin (VG) diğer konaklardaki *Fasciola* örneklerine göre daha büyük olduğu belirtilmiştir. Domuzlardan elde edilen *Fasciola* örneklerinde ise vücut boyutlarına ait tüm değerlerin genellikle diğer konaklardan izole edilen *Fasciola* örneklerine göre daha küçük olduğu belirlendi.

Yapılan ölçümlerde koyun, sığır ve domuzlarda maksimum VU değerlerinin sırasıyla 31.11, 28.74 ve 24.87 mm, ortalama VU değerlerinin ise sırasıyla 16.10 ± 4.80 , 19.07 ± 3.45 ve 16.91 ± 3.00 mm olduğu saptandı. Koyun, sığır ve domuzlarda maksimum VG değerleri sırasıyla 12.55, 12.95 ve 11.45 mm, ortalama VG değerleri ise sırasıyla 7.11 ± 2.27 , 8.39 ± 1.51 ve 8.50 ± 1.55 mm olarak saptandı (Valero ve ark., 2001).

İran'nın Ardabil ilinde yapılan bir çalışmada koyunlardan izole edilen erişkin *F. gigantica* örneklerinin maksimum VU değerinin 40, ortalama VU değerinin 29.10 ± 5.51 ve maksimum VG değerinin 12.8, ortalama VG değerinin 10.14 ± 1.9 mm saptandığı bildirilmiştir. Sığırlardan izole edilen erişkin *F. hepatica* örneklerinin maksimum VU değerinin 31.5, ortalama VU değerinin 21.46 ± 5.06 ve maksimum VG değerinin 13.2, ortalama VG değerinin ise 9.48 ± 2.74 mm olduğu rapor edilmiştir (Aryaeipour ve ark., 2017).

İran'da yapılan diğer bir çalışmada 10'u sığırdan 44'ü koyundan elde edilen 54 *Fasciola* örneğinin morfometrik ve moleküler karakterizasyonu sonucunda tüm koyun örneklerinin *F. hepatica*, sığır örneklerinden dördünün *F. gigantica*, diğerlerinin ise *F. hepatica* olduğu belirtilmiştir. İncelenen *F. hepatica* örneklerinde maksimum VU değerinin 30.2, ortalama VU değerinin 20.1 ± 4.6 ve maksimum VG değerinin 13.8, ortalama VG değerinin ise 9.8 ± 1.9 mm olarak ölçüldüğü bildirilmiştir. İncelenen *F. gigantica* örneklerinde maksimum VU değerinin 27.9, ortalama VU değerinin 36.2 ± 4.3 ve maksimum VG değerinin 7.1, ortalama VG değerinin ise 6.5 ± 0.73 mm olarak ölçüldüğü belirtilmiştir (Akhlaghi ve ark., 2017).

Kuzeybatı Tunus'da yapılan bir çalışmada 66 farklı koyundan izole edilen 335 *Fasciola* örneğinin morfometrik analizi yapılmış ve örneklerin tamamının *F. hepatica* olduğu saptanmıştır. Koyundan izole edilen *F. hepatica* örneklerinde maksimum VU değerinin 31, ortalama VU değerinin 21.1 ± 2.7 ve maksimum-minimum VU/VG değerinin 5.75-1.07 mm ve ortalama VU/VG oranının 2.32 ± 0.96 olarak ölçüldüğü rapor edilmiştir (Hammami ve ark., 2023).

Nijerya'nın İlorin ilinde *Fasciola*'nın morfometrik ve moleküler karakterizasyonu üzerine yapılan bir çalışmada, sığırlardan izole edilen 100 örneğin 68'inin *F. gigantica*, 32'sinin ise *F. gigantica* olmadığı, ancak *F. hepatica*'nın

karateristik özelliklerini de taşımadığı tespit edilmiştir. Sığırlardan izole edilen *F. gigantea* örneklerinde maksimum VU değerinin 42.32, ortalama VU değeri 34.84±2.28 ve maksimum VG değerinin 10.52, ortalama VG değerinin ise 6.45±1.47 mm olarak ölçüldüğü belirtilmiştir. Sığırlardan izole edilen *Fasciola* spp. örneklerinde ise maksimum VU değerinin 30.46, ortalama VU değerinin 26.76±3.36 ve maksimum VG değerinin 9.29 ve ortalama VG değerinin 6.49±1.23 mm olduğu saptanmıştır (Iyiola ve ark., 2018).

İran'ın Kuzeybatı illerinde yapılan bir çalışmada sığır, koyun, keçi ve buffalo olmak üzere dört farklı ruminanttan izole edilen 500 *Fasciola* örneğinden 361'inin *F. hepatica*, 139'unun *F. gigantea* olduğu bildirilmiştir. Koyunlardan izole edilen *F. hepatica* örneklerinde maksimum VU değerinin 38.34, ortalama VU değerinin 28.41±5.22 ve maksimum VG değerinin 14.3 ve ortalama VG değerinin 11.86±1.35 mm saptandığı belirtilmiştir. Keçiden izole edilen *F. hepatica* örneklerinde maksimum VU değerinin 33.5, ortalama VU değerinin 28.2±3.41 ve maksimum VG değerinin 22.38, ortalama VG değerinin 12.2±2.25 mm olarak saptandığı bildirilmiştir. Sığırlardan izole edilen *F. hepatica* örneklerinde maksimum VU değerinin 37.5, ortalama VU değerinin 23.18±4.7, maksimum VG değerinin 12.87 ve ortalama VG değerinin 8.95±1.27 mm olarak ölçüldüğü rapor edilmiştir. Sığırlardan izole edilen *F. gigantea* örneklerinde maksimum VU değerinin 57.3, ortalama VU değerinin 41.5±5.8, maksimum VG değerinin 8.2 ve ortalama VG değerinin 6.8±0.65 mm olduğu saptanmıştır (Galavani ve ark., 2024).

Gelen ve ark. (2016) tarafından Elazığ'da yapılan bir çalışmada, sığırlardan izole edilen 20 erişkin *Fasciola* örneğinin tamamının *Fasciola hepatica* olduğu bildirilmiştir. Çalışmada, *F. hepatica* örneklerinin maksimum VU değerinin 15.55, ortalama VU değerinin 13.26, maksimum VG değerinin 8.80 ve ortalama VG değerinin ise 6.26 mm olduğu belirtilmiştir.

Tarafımızdan yürütülen bu çalışmada sığır, koyun, keçi olmak üzere üç farklı ruminanttan elde edilen 50 *Fasciola* örneğinin PCR-RFLP sonuçlarına göre 45'inin *F. hepatica*, beşinin ise ara form *Fasciola* olduğu belirlendi.

Çalışmamızda koyunlardan izole edilen *F. hepatica* örneklerinde maksimum VU değerinin 36, ortalama VU değerinin 25.32 ± 6.38 , maksimum VG değerinin 12 ve ortalama VG değerinin 10 ± 0.33 mm olduğu; keçilerden izole edilen *F. hepatica* örneklerinde maksimum VU değerinin 34, ortalama VU değerinin 27.2 ± 4.1 , maksimum VG değerinin 11 ve ortalama VG değerinin 9.88 ± 0.88 mm olduğu ve sığırlardan izole edilen *F. hepatica* örneklerinde maksimum VU değerinin 36, ortalama VU değerinin 22.89 ± 4.99 , maksimum VG değeri 11.5 ve ortalama VG değerinin 9.46 ± 1.44 mm olduğu belirlendi. Koyundan izole edilen ara form *Fasciola* örneklerinde maksimum VU değerinin 32, ortalama VU değerinin 22.75 ± 6.24 , maksimum VG değerinin 11 ve ortalama VG değerinin 10 ± 1.22 mm olduğu; sığırlardan izole edilen ara form *Fasciola* örneklerinde VU değerinin 17 ve VG değerinin 9.5 mm olduğu saptandı. Verilen bu ölçüm sonuçlarından, enfekte koyun ve keçilerden izole edilen *Fasciola* örneklerinin enfekte sığırlardan izole edilen *Fasciola* örneklerinden daha büyük ebatlarda olduğunu açıkça görülmektedir. Bu farklılığın, hayvanların parazite karşı göstermiş oldukları bağışıklık yanıtının farklı olmasıyla izah edilebilir. Koyun ve keçiler fasciolosis'e karşı daha duyarlı konaklar olduğundan parazite karşı daha az direnç geliştirirler ve parazitler daha büyük boyutlara ulaşır. Sığırlar fasciolosis'e karşı daha çok dirençli olduğundan, parazitin boyut olarak artması sınırlandırılır. Aynı durum, koyun ve sığırlarda tespit edilen ara form *Fasciola* için de geçerlidir.

VU/VG oranı, *F. hepatica* ve *F. gigantica*'yı birbirinden ayırmak için kullanılan indekslerden biri olarak kabul edilmiştir (Aryaeipour ve ark., 2017). Tarafımızdan yapılan bu çalışmada *F. hepatica* ve ara form *Fasciola*'nın VU/VG oranına göre birbirinden ayırt etmek amacıyla ROC analizi kullanılmış olup, 0.696 olarak bulunan bu oranının AUC değeri *F. hepatica* ve ara form *Fasciola* izolatlarını ayırmada zayıf-orta düzeyde ayırt edici bir performans gösterdiği ve ancak, AUC değerinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p > 0.05$) saptandı. Bu durum, kullanılan morfometrik parametrenin, *Fasciola hepatica* ile ara form *Fasciola* örneklerini güvenilir bir şekilde birbirinden ayırt etmek için yeterli olmadığını gösterdi. Ancak, analiz sonucunun istatistiksel olarak anlamlı bulunmaması, 45 adet *F. hepatica* örneğine karşılık sadece beş adet ara form *Fasciola* örneğinin analizde kullanılmasına bağlı olarak oluşan örneklem dengesizliği neden olarak gösterilebilir.

Aryaeipour ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada, ROC analiziyle VU/VG oranları 1.29-2.80 aralığında olanların *F. hepatica*, 3.40-6.78 aralığında olanların ise *F. gigantica* olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda, ROC analiziyle elde edilen VU/VG oranlar, Aryaeipour ve ark.'nın (2017) çalışmalarında ROC analiziyle elde ettikleri VU/VG standart değerlerine göre değerlendirildiğinde beş örneğin *F. gigantica*, altı örneğin ara değerde, diğer 39 örneğin ise *F. hepatica* olduğu görüldü. Ancak izolatların ITS1 bölgesinin PCR-RFLP sonucuna göre, ROC analiziyle *F. gigantica* olarak değerlendirilen beş örneğin hiç birisinin *F. gigantica* olmadığı, yine ROC analiziyle *F. hepatica* olarak tanımlanan dört örneğin ara form *Fasciola* olduğu saptandı. Bu sonuçlar morfometrik analizin gerek *F. gigantica* ve *F. hepatica* ve gerekse ara form *Fasciola*'yı birbirinden ayırmada yetersiz kaldığını göstermektedir. Moleküler tekniklerin ise *Fasciola* türlerinin birbirinden ayırımında ve genetik yapılarının ayrıntılı bir şekilde belirlenmesinde güvenilir olduğu bu çalışma ile bir kez daha ortaya konmuştur.

Sonuç olarak; kontrol yöntemlerinin etkin bir şekilde uygulanabilmesi için *Fasciola* türlerinin doğru tanımlanması temel öneme sahiptir. Daha önce bu konu ile ilgili olarak son derece sınırlı sayıda çalışma yapılmış olan Kars, Iğdır ve Bitlis'te morfometrik ve moleküler yöntemlerle *Fasciola* türleri üzerine yapılan bu çalışmanın gelecek yıllarda yapılacak diğer çalışmalara iyi bir referans olacağı kanaatindeyiz. Bununla birlikte, farklı konak türlerinden ve farklı coğrafi konumlardan elde edilecek örnekler üzerinde daha kapsamlı moleküler araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Abdissa T, Jilo K. Review on ovine fasciolosis in Ethiopian. J Vet Sci Res. 2017;2(2):1-10.
- Abdullah SH. One Health Triad. Faisalabad, Pakistan: Unique Scientific Publishers; 2023. Chapter 3, Fascioliasis; s. 78-85.
- Adanır R, Çetin H. Antalya Belediye Mezbahasında (An-Et) kesilen koyunlarda karaciğer trematodlarının yaygınlığı. MeditVetJ. 2016;1(1):15-20.
- Aghayan S, Gevorgian H, Ebi D, Atoyan HA, Addy F, Mackenstedt U, ve ark. *Fasciola* spp. in Armenia: genetic diversity in a global context. Vet Parasitol. 2019;268:21-31.
- Akhlaghi E, Mohammadi MA, Ziaali N, Baneshi MR, Nasibi S, Kamyabi H, ve ark. Morphometric and molecular study of *Fasciola* isolates from ruminants in Iran. Türkiye Parazit Derg. 2017;41(4):192-197.
- Alatoom A, Cavuoti D, Southern P, Gander R. *Fasciola hepatica* infection in the United States. Lab Med. 2008;39(7):425-428.
- Andrews SJ. The life cycle of *Fasciola hepatica*. Dalton JP. Fasciolosis. Chapter 3; Oxford: CAB International; 1999.
- Aryaeipour M, Bozorgomid A, Kazemi B, Behnia M, Azizi H, Rokni MB, ve ark. Molecular and Morphometrical Characterization of *Fasciola* Species Isolated from Domestic Ruminants in Ardabil Province, Northwestern Iran. Iran J Public Health. 2017;46(3):318-325.
- Ayele M, Hiko A. Review on the Biology of *Fasciola* parasites and the epidemiology on small ruminants. Adv Life Sci Technol. 2016;48:19-27.
- Ayvazoğlu C, Kızıltepe Ş, Demir PA, Eser G. Prevalence and economic importance of fasciolosis in slaughtered sheep in Iğdır Province of Turkey. Euroasia J. Math. Eng. Nat. Med. Sci.. 2023;10(26):87-95.
- Becker AC, Kraemer A, Epe C, Strube C. Sensitivity and efficiency of selected coproscopical methods—sedimentation, combined zinc sulfate sedimentation-flotation, and McMaster method. Parasitol Res. 2016;115:2581-2587.
- Beyhan YE, Yılmaz H. Seroprevalence of fascioliasis in the eastern region of Turkey: an eight-year investigation. Turk J Gastroenterol. 2020;31(11):746-751.
- Bozorgomid A, Rouhani S, Harandi MF, Ichikawa-Seki M, Raeghi S. Genetic diversity and distribution of *Fasciola hepatica* haplotypes in Iran: molecular and phylogenetic studies. Vet Parasitol Reg Stud Rep. 2020;19:1-6.
- Caravedo MA, Cabada MM. Human fascioliasis: current epidemiological status and strategies for diagnosis, treatment, and control. Res Rep Trop Med. 2020;11:149-158.
- Carmona, M. (2013). - *Fasciola gigantica*. Animal Diversity Web. University of Michigan. [Erişim Tarihi 8 Mart 2025]. Erişim adresi: https://animaldiversity.org/accounts/Fasciola_gigantica/
- CDC 2019. Fascioliasis (internet). [Erişim Tarihi 9 Nisan 2025]. Erişim adresi: <https://www.cdc.gov/dpdx/fascioliasis/index.html>

- Çelik ÖY, Aslan Çelik B. Investigation of the prevalence of *Fasciola hepatica* in small ruminants in the Siirt region, Turkey. Iran J Parasitol. 2018;13(4):627-631.
- Dayyal, Dg. (2017). *Fasciola hepatica* (Sheep Liver Fluke): Morphology and Physiology [Internet]. [Erişim Tarihi 22 Mart 2025]. Erişim adresi: <https://www.bioscience.com.pk/en/topics/zoology/fasciola-hepatica-sheep-liver-fluke-morphology-and-physiology>
- Dixon KE. The relative suitability of sheep and cattle as hosts for the liver fluke, *Fasciola hepatica* L. J Helminthol. 1964;38(3-4):203-212.
- Dupouy-Camet J. Helminth infections and their impact on global public health. In: Bruschi F, editör. Fascioliasis. Vienna: Springer; 2014.
- Ertaş F, Sona Karakuş A, Ayan A. The prevalence of commonly encountered parasites in sheep in Iğdır Province, Turkey. Turk J Agric Food Sci Technol. 2022;10(2):260-262.
- Flores-Velázquez LM, Ruiz-Campillo MT, Herrera-Torres G, Martínez-Moreno Á, Martínez-Moreno FJ, Zafra R, ve ark. Fasciolosis: pathogenesis, host-parasite interactions, and implication in vaccine development. Front Vet Sci. 2023;10:1-13.
- Galavani H, Raeghi S, Karamian M, Torabi N, Haniloo A. Morphometric and molecular characterization of *Fasciola* spp. in livestock from northwestern provinces of Iran. Vet Med Sci. 2024;10(6):1-8.
- Gelen S, Kesik HK, Şimşek S. *Fasciola hepatica*'nın morfometrik ve moleküler analizi. Fırat Univ Health Sci Vet J. 2016;30(3):199-202.
- Gıcık Y, Arslan MÖ, Kara M, Akça A. The prevalence of liver flukes in sheep slaughtered in Kars Province. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2002;(2):101-102.
- Gül A, Kılınç ŞG. Bingöl belediye mezbahasında kesimi yapılan koyun ve keçilerde dışkı bakılarına göre endoparaziterin yaygınlığının araştırılması. Dicle Univ Vet Fak Derg. 2016; (2):61-6.
- Hammami I, Ciuca L, Maurelli MP, Romdhane R, Sassi L, Rjeibi MR, ve ark. First morphometric and molecular characterization of *Fasciola* spp. in Northwest Tunisia. Parasitol Res. 2023;122(11):2467-2476.
- Ichikawa M, Itagaki T. Discrimination of the ITS1 types of *Fasciola* spp. based on a PCR-RFLP method. Parasitol Res. 2010;106:757-61.
- Iyiola OA, Shittu O, Owolodun OA, Animasaun DA, Udeze AO. Morphometric phenotypes and molecular identification of *Fasciola* species isolated from cattle in Ilorin, North-Central Nigeria. Sri Lanka J Biol. 2018;3(2):9-23.
- John DT, Petri WA. The Trematodes. Wilson L. editor. Markell and Voge's Medical Parasitology. 9 th ed. USA: Elsevier Health Sciences; 2006.
- Kudlacek, O. Identification and Characterization of novel *Fasciola hepatica* Sodium Chloride dependent Taurine Transporter [PhD thesis]. Vienna: Medical University of Vienna; 2018
- Lalor R, Cwiklinski K, Calvani NED, Dorey A, Hamon S, Corrales JL, ve ark. Pathogenicity and virulence of the liver flukes *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* that cause the zoonosis Fasciolosis. Virulence. 2021;12:2839-2867.

Lan Z, Zhang XH, Xing JL, Zhang AH, Wang HR, Zhang XC, Gao JF, Wang CR, ve ark. Global prevalence of liver disease in human and domestic animals caused by *Fasciola*: A systematic review and meta-analysis. J Glob Health. 2024;14:1-11.

Malatji MP, Pfukenyi DM, Mukaratirwa S. *Fasciola* species and their vertebrate and snail intermediate hosts in East and Southern Africa: a review. J Helminthol. 2020;94:1-11.

Mas-Coma S, Bargues MD, Valero MA. Fascioliasis and other plant-borne trematode zoonoses. Int J Parasitol. 2005;35(11-12):1255-78.

Mas-Coma S, Bargues MD, Valero MA. Fascioliasis. In: Bruschi F, editor. Helminth Infections and Their Impact on Global Public Health. Vienna: Springer; 2014:766;77–114.

Mas-Coma S, Valero MA, Bargues MD. Fascioliasis in humans and animals. In: Lanternier F, Bruschi F, editors. Encyclopedia of Infection and Immunity. Amsterdam: Elsevier; 2022;1:513-528.

Miman, Ö ve Saygı, G. Temel tıbbi parazitoloji. İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi; 2017.

Özcel MA, Özbel Y, Ak M. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. İzmir : Meta Basım; 2007.

PAHO. Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals. 3th ed. Washington: PAHO HQ Library Cataloguing-in-Publication; 2003.

PAHO/WHO 2020. Fascioliasis. [Internet]. [Erişim Tarihi 17 Mart 2025]. Erişim adresi: <https://www.paho.org/en/topics/fascioliasis>

Pan M, Bai SY, Ji TK, Fan YM, Liu DD, Yang Y, ve ark. Epidemiology of *Fasciola* spp. in the intermediate host in China: A potential risk for fasciolosis transmission. Acta Trop. 2022;230:757-761.

Paniker CJ. Trematodes: Flukes. Ghosh S, editor. Paniker's Textbook of Medical Parasitology. 8 th ed. New Delhi: JP Medical Ltd; 2017.

Pekağırbaş M, Duran M, Eren H. The prevalence of liver trematodes in slaughtered ruminants in Aydın Province. Anim Health Prod Hyg. 2020;9(2):707-10.

Phalee A, Wongsawad C, Rojanapaibul A, Chai JY. Experimental life history and biological characteristics of *Fasciola gigantica* (Digenea: Fasciolidae). Korean J Parasitol. 2015;53(1):59-64.

Rofi'Prasetya M, Koesdarto S, Lastuti NDR, Suwanti LT, Yunus M. Study on the morphology of *Fasciola gigantica* and economic losses due to fasciolosis in Berau, East Kalimantan. Biosaintifika. 2019;11(1):156-61.

Rojas CAA, Jex AR, Gasser RB, Scheerlinck JPY. Techniques for the diagnosis of *Fasciola* infections in animals: room for improvement. Adv Parasitol. 2014;85:65-107.

Rokni MB, Mirhendi H, Behnia M, Harandi MF, Jalalizand N. Molecular characterization of *Fasciola hepatica* isolates by RAPD-PCR and ribosomal ITS1 sequencing. Iran. Red. Crescent. Med. J. 2010;12(1):27-32.

Rokni MB. *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica*. Motarjemi Y, editör. Helminth-Trematode. Tehran: Academic Press; 2014.

- Rosas-Hostos Infantes LR, Paredes Yataco GA, Ortiz-Martínez Y, Mayer T, Terashima A, Franco-Paredes C, ve ark. The global prevalence of human fascioliasis: a systematic review and meta-analysis. *Ther Adv Infect Dis*. 2023;10:1-18.
- Ryan S, Shiels J, Taggart CC, Dalton JP, Weldon S. *Fasciola hepatica*-derived molecules as regulators of the host immune response. *Front Immunol*. 2020;11:1-9.
- Sarkari B, Khabisi SA. Immunodiagnosis of human fascioliasis: An update of concepts and performances of the serological assays. *J Clin Diagn Res*. 2017;11(6):5-10.
- Sastry AS, Bhat S. Trematodes or Flukes. Arora S, Arora N, Bakshi M, editors. *Essentials of Medical Parasitology*. 2th ed. Pondicherry: JP Medical Ltd.; 2018.
- Srimuzipo P, Komalamisra C, Choochote W, Jipakdi A, Vanichthanakorn P, Keha P, ve ark. Comparative morphometry, morphology of egg and adult surface topography under light and scanning electron microscopies, and metaphase karyotype among three size-races of *Fasciola gigantica* in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2000;31(2):366-373.
- Swarnakar G, Damor RN. Ultrastructural surface topography of *Fasciola gigantica* (Trematoda: Digenea) from infected liver of buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Udaipur, India. *J Adv Res*. 2016;7(2):3056-3059.
- Şahin M, Afshar MT, Yıldız R. Ağrı ilinde kesilen sığırlarda fascioliasis yaygınlığı. *Turk J Parasitol*. 2023;47(3):156-159.
- Valero MA, Darce NA, Panova M, Mas-Coma S. Relationships between host species and morphometric patterns in *Fasciola hepatica* adults and eggs from the Northern Bolivian Altiplano hyperendemic region. *Vet Parasitol*. 2001;102(1-2):85-100.
- Webb CM, Cabada MM. Recent developments in the epidemiology, diagnosis, and treatment of *Fasciola* infection. *Curr Opin Infect Dis*. 2018;31(5):409-14.
- WHO (2020 July 28). Control of Neglected Tropical Diseases. [Erişim Tarihi 12 Nisan 2025]. Erişim adresi: <https://www.who.int/teams/control-of-neglected-tropical-diseases/foodborne-trematode-infections/application-for-donated-triclabendazole>
- WHO (2020 July 28). Neglected tropical diseases: Fascioliasis. [Erişim Tarihi 23 Şubat 2025]. Erişim adresi: <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/q-a-on-fascioliasis>.
- WHO 2007. Report of the WHO Informal Meeting on use of triclabendazole in fascioliasis control [Erişim Tarihi 17 Mart 2025]. Erişim adresi: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CDS-NTD-PCT-2007.1>
- WOAH 2022. *Fasciola gigantica* (Infection with) [Internet]. [Erişim Tarihi 23 Şubat 2025]. Erişim adresi: [extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.woah.org/app/uploads/2022/02/fasciola-gigantica-infection-with.pdf](https://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.woah.org/app/uploads/2022/02/fasciola-gigantica-infection-with.pdf)

ÖZGEÇMİŞ



EKLER

Ek-1: Etik Kurul Raporu



Ek-2: Tez Orjinallik Raporu



