



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK PARAZİTOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**SAMSUN, KIZILIRMAK DELTASI'NDA MANDA VE
ARAKONAKLARDA PARAMPHİSTOMİD TÜRLERİN
YAYILIŞI VE MOLEKÜLER TEŞHİSİ**

DOKTORA TEZİ

Celil ATEŞ

**Samsun
Aralık – 2019**



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK PARAZİTOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**SAMSUN, KIZILIRMAK DELTASI'NDA MANDA VE
ARAKONAKLARDA PARAMPHİSTOMİD TÜRLERİN
YAYILIŞI VE MOLEKÜLER TEŞHİSİ**

DOKTORA TEZİ

Celil ATEŞ

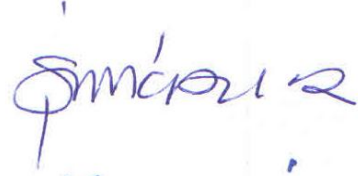
**Danışman
Prof. Dr. Şinasi UMUR**

**Samsun
Aralık – 2019**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Celil ATEŞ tarafından Prof.Dr. Şinasi UMUR danışmanlığında hazırlanan “Samsun, Kızılırmak Deltası’nda Manda ve Arakonaklarda Paramphistomid Türlerin Yayılışı ve Moleküler Teşhisi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 20/12/2019 tarihinde yapılan sınav ile Veterinerlik Parazitolojisi Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof.Dr. Şinasi UMUR
Ondokuz Mayıs Üniversitesi



Üye: Prof.Dr. Bahadır GÖNENÇ
Ankara Üniversitesi



Üye: Prof.Dr. Alparslan YILDIRIM
Erciyes Üniversitesi



Üye: Prof.Dr. Mustafa AÇICI
Ondokuz Mayıs Üniversitesi



Üye: Doç.Dr. G. Zafer PEKMEZCİ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi



ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

.... / /.....

Prof.Dr. Ahmet UZUN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Aldığım her kararda beni destekleyen sevgili eşim ve çocuklarıma, her zaman moral ve destek bulduğum 19 Mayıs İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğündeki kıymetli mesai arkadaşlarıma,

Yetişmemde emeği geçen tüm öğretmenlerime ve bilhassa mesleği bizlere kazandıran O.M.Ü. Veteriner Fakültesinin değerli hocalarına,

Bu çalışma için kapılarını bana açan Florya Entegre Et Sanayi Tic. Ltd. Şti'nin yönetici ve çalışanlarına,

Histolojik çalışmalar için laboratuvarlarını kullanmama izin veren ve imkânlarını benim için seferber eden Patoloji Anabilim Dalının kıymetli hocalarına ve asistanlarına,

Sınıf arkadaşlığımızı aynı Anabilim Dalında lisansüstü eğitim olarak sürdürdüğümüz, benim için bir arkadaştan fazlası, Veteriner Hekim Taner GÜREL'e, yardımlarını asla unutmayacağım Araş. Gör. Elif Burcu GENÇAY TOPÇU'ya,

Parazitoloji Anabilim Dalının değerli hocaları, saha çalışmalarında kendisinden çok şey öğrendiğim Doç. Dr. Ali Tümay GÜRLER'e, özellikle laboratuvar çalışmalarında kıymetli vaktini benim için harcayan Doç. Dr. Cenk Soner BÖLÜKBAŞ'a, azmi ile bana örnek olan ve beni her zaman yüreklendiren Prof. Dr. Mustafa AÇICI'ya, danışmanım ve akıl hocam, kendisinden veteriner hekimlik mesleği ve veteriner parazitolojiden başka, hayata dair daha pek çok şey öğrendiğim Prof. Dr. Şinasi UMUR'a,

Teşekkürü bir borç bilirim, sizler olmasaydınız bu çalışma olmazdı, haklarınız ödenmez.

Bu doktora tez çalışması, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından PYO.VET.1904.16.011 nolu proje olarak desteklenmiştir.

ÖZET

SAMSUN, KIZILIRMAK DELTASI'NDA MANDA VE ARAKONAKLARDA PARAMPHİSTOMİD TÜRLERİN YAYILIŞI VE MOLEKÜLER TEŞHİSİ

Amaç: Bu proje, Kızılırmak Deltası'nda otlatılan mandalarda paramphistomosise neden olan türler ve arakonaklarını saptamak amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot: Ağustos 2016 - Temmuz 2018 tarihleri arasında haftada bir kez Atakum ve Bafra ilçe mezbahalarına gidilerek kesilen 139 manda incelenmiştir. Aynı tarihlerde ilkbahar ve sonbahar mevsiminde ayda bir kez, hayvanların otladığı meralara gidilerek 550 sümüklü örneği toplanmıştır.

Laboratuvarda ergin parazitler, morfolojik, histolojik ve moleküler, larva dönemleri moleküler yöntemlerle teşhis edilmiştir. Histolojik tanı için 10 µm kalınlıkta kesitler alınmış ve hematoksin-eozin ile boyanmıştır. Moleküler teşhis için erginler ve arakonaklardan elde edilen larval formların ITS-2+ ve Cox-1 gen bölgeleri PCR ile çoğaltılmıştır. ITS2+ rDNA gen bölgesinin çoğaltılması ile elde edilen PCR ürünlerine dört endonükleaz enzimi MseI, HaeIII, RsaI, Bsh1236I kullanılarak PCR-RFLP uygulanmıştır.

Bulgular: İncelenen 139 mandanın 45'i (%32,37) paramphistomid türlerle enfekte bulunmuş, 45 hayvandan 4754 parazit toplanmıştır. Hayvan başına parazit sayısı 2-1884 (ort. 105,6) arasında değişmiştir. İncelenen 300 *Galba truncatula* örneğinin 19'unda larval formlar tespit edilmiştir. Çalışmada 45 ergin örneğin tamamında ve arakonaklardan elde edilen 19 gelişme aşamasından 12'sinde (%4) *Calicophoron daubneyi* moleküler olarak tespit edilmiştir. Histolojik kesitlerle enfekte hayvanların tümünde *Calicophoron daubneyi* ve üç hayvanda *Paramphistomum cervi* saptanmıştır. Son konaklardaki ergin parazitler (MH939278) ve arakonaklarda bulunan larval formlara ait DNA dizilimleri (MH939279) GenBank'a kayıt edilmiştir.

Sonuç: Ülkemizde *Calicophoron daubneyi* ilk kez moleküler olarak teşhis edilmiş ve arakonağı *Galba truncatula* olarak belirlenmiştir. Kızılırmak Deltası'ndaki mandalarda baskın tür olarak *Calicophoron daubneyi* belirlenmiş, ancak miks enfeksiyon şeklinde olmak üzere, üç hayvanda *Paramphistomum cervi*'ye rastlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Calicophoron daubneyi*; *Galba truncatula*; Manda; *Paramphistomum cervi*; Samsun; Türkiye

Celil ATEŞ, Doktora Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Aralık - 2019

ABSTRACT

PREVALENCE AND MOLECULAR DIAGNOSIS OF PARAMPHISTOMID SPECIES IN WATER BUFFALOES AND THEIR INTERMEDIATE HOSTS IN THE KIZILIRMAK DELTA, SAMSUN

Aim: This project was carried out to determine amphistomid species parasitized in water buffalo (WB) grazing in the Kızılırmak Delta and their intermediate host.

Material and Method: Between August 2016 and July 2018 abattoirs in Bafra and Atakum districts were visited once a week and 139 slaughtered WBs were examined. During the same period, in the spring and autumn once a month 550 snail samples were collected from pastures grazing WBs. Adult parasites were identified using morphological, histological and molecular methods and larval forms obtained from intermediate hosts were only identified using molecular method in the laboratory. For histological diagnosis, mature parasites were cut as 10 µm thickness and stained with hematoxylin eosin. The ITS-2+ and Cox-1 gene regions of adults and larval forms were amplified using PCR. PCR-RFLP analysis were applied to PCR products of ITS-2+ gene region using four endonuclease enzymes; MseI, HaeIII, RsaI, Bsh1236I.

Results: 45 out of 139 WBs (32.4%) were infected with Paramphistomid species and 4761 parasites were collected from 45 infected animals. The number of parasites per animal ranged from 2-1884 (mean. 105.8). Larval forms were found in 19 of 300 *Galba truncatula* samples. In this study, *Calicophoron daubneyi* was determined molecularly in all 45 adult specimens and in 12 of 19 developmental stages (4%) obtained from intermediate hosts. Using histological section method *Calicophoron daubneyi* was determined in all infected animals and *Paramphistomum cervi* in only 3 animals. DNA sequences of adult parasites in the definitive hosts (MH939278) and larval forms found in intermediate hosts (MH939279) were recorded in GenBank.

Conclusion: For the first time *Calicophoron daubneyi* was identified molecularly and its intermediate host was determined as *Galba truncatula* in our country. *Calicophoron daubneyi* was identified as the dominant species in buffaloes in the Kızılırmak Delta, in addition *Paramphistomum cervi* was found in 3 animals as mixed infection.

Keywords: *Calicophoron daubneyi*; *Galba truncatula*; *Paramphistomum cervi*; Samsun; Turkey; Water buffalo

Celil ATEŞ, SOYADI, Ph. D. Thesis

Ondokuz Mayıs University - Samsun, December - 2019

SİMGELER VE KISALTMALAR

as	: anterior sphincter (ön büzücü)
bp	: base pair (baz çifti)
bs	: basal circular units (tabandaki dairesel kas birimleri)
COX	: siklooksijenaz
dec	: dorsal exterior circular (üst dış dairesel kas birimleri)
dic	: dorsal interior circular (üst iç dairesel kas birimleri)
ec	: exterior circular units (dış dairesel birimler)
EDTA	: etilendiamin tetraasetik asit
el	: exterior longitudinal (dış uzunlamasına kas birimleri)
el	: exterior longitudinal fibres (dış uzunlamasına iplikçikler)
ELISA	: enzim-linked immuno sorbent assay
ES	: ekskresyon-sekresyon
ga	: genital atrium (genital açıklık)
gDNA	: genomik DNA
gf	: genital fold (genital kıvrım)
gp	: genital pore (genital delik)
gpl	: genital papilla (genital papil)
gs	: genital sphincter (genital büzücü)
ITS	: internal transcribed spacer
ic	: interior circular units (iç dairesel kas birimleri)
il	: interior longitudinal fibres (iç uzunlamasına iplikçikler)
kDa	: kilo dalton
kg	: kilogram
ls	: lip sphincter (dudak büzücüsü)
µm	: mikrometre
mc	: middle circular units (orta dairesel kas birimleri)
mec	: median circular (orta dairesel kas birimleri)
mg	: miligram
mm	: milimetre
of	: oblique muscle fibres (eğik kas birimleri)
PCR-RFLP	: polimeraz chain reaction-restriksiyon fragment length polymorphism

ps	: posteiror sphincter (arka büzücü)
rf	: radial fibres (ışımsal iplikçikler)
rf	: radial muscle fibres (ışımsal kas birimleri)
SDS-PAGE	: sodyum dodesil sülfat–poliakrilamid jel elektroforez
spl	: sphincter papilla (büzücü papilla)
va	: ventral atrium (ventral açıklık)
vec	: ventral exterior circular (alt dış dairesel kas birimleri)
vf	: ventral fold (ventral kıvrım)
vic	: ventral interior circular (alt iç dairesel kas birimleri)
vs	: ventral sphincter (ventral büzücü)



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Gastropoda terminolojisi	14
Şekil 2. <i>Galba truncatula</i>	14
Şekil 3. Amphistomların genel yaşam çemberi	15
Şekil 4. <i>Ceylanocotyle streptocoelium</i> 'un içyapısını gösteren olgun mirasidyum.....	19
Şekil 5. <i>Helisoma trivolvis</i> 'in sindirim bezinden alınmış <i>Paramphistomum</i> sp. redisi..	23
Şekil 6. Serker.....	26
Şekil 7. Metaserker	30
Şekil 8. Erişkin <i>Cotylophoron panamensis</i>	34
Şekil 9. Asetabulum genel tiplerinin median sagittal kesitte tanı için gerekli detaylarını gösteren şematik çizimi	48
Şekil 10. Farinks genel tiplerinin median sagittal kesitte tanı için gerekli detaylarını gösteren şematik çizimi	51
Şekil 11. Terminal genital organların median sagittal kesitte tanı için gerekli özelliklerini gösteren şematik çizimi	54
Şekil 12. Sığırlarda lenfoplazmatik retikülit ile bağlantılı <i>Paramphistomum</i> spp. örnekleri.....	71
Şekil 13. Duodenum mukozasında gençlere bağlı ciddi kızarıklık ve baloncuk benzeri gençlerin görünümü	74
Şekil 14. Genç <i>Paramphistomum</i> 'ların çıplak gözle görünümü.....	74
Şekil 15. <i>Calicophoron daubneyi</i> ile doğal enfekte hayvanlardaki patolojik değişiklikler	79
Şekil 16. a) <i>Paramphistomum</i> sp. b) <i>Fasciola</i> sp. yumurtalarının mikroskopik görünümü	81
Şekil 17. Bafra Belediye Mezbahasında manda kesimi	93
Şekil 18. Sümüklü örneklerinin toplandığı Yörükler ve Engiz Meralarının coğrafi konumu	94
Şekil 19. Engiz merasında sulak alanda otlayan mandalar.....	95
Şekil 20. Yörükler merasında otlayan mandalar	95
Şekil 21. <i>Galba truncatula</i> örnekleri.....	96
Şekil 22. a) Negatif ve pozitif örneklerin sayısal ve yüzdesel dağılımı, b) Örneklerin cinsiyete göre sayısal ve yüzdesel dağılımı	101

Şekil 23. Cinsiyete göre pozitif ve negatif örneklerin sayısal ve yüzdesel dağılımları.	101
Şekil 24: Erkek mandaların yaş gruplarına göre toplam ve enfekte manda sayıları	102
Şekil 25. Dişi mandaların yaş gruplarına göre toplam ve enfekte manda sayıları	102
Şekil 26. Ergin parazitlerin makroskobik görünümü.....	103
Şekil 27. Tespit edilmiş ergin parazitler	103
Şekil 28. Doğal haliyle boyanmış üç farklı örneğin mikroskobik görünümü	104
Şekil 29. Histolojik kesitte, a) <i>C. daubneyi</i> ve b) <i>P. cervi</i> ' nin genel mikroskobik görünümü	105
Şekil 30. a) <i>Paramphistomum cervi</i> 'nin <i>Liorchis</i> tip yutağı b) <i>Liorchis</i> tip yutakta papillerin görünümü.....	107
Şekil 31. <i>Paramphistomum cervi</i> ' nin <i>Gracile</i> tip genital deliği.....	107
Şekil 32. <i>Paramphistomum cervi</i> 'nin <i>Paramphistomum</i> tip asetabulumu.	108
Şekil 33. <i>Paramphistomum cervi</i> 'nin testislerinin görünümü	108
Şekil 34. <i>Calicophoron daubneyi</i> 'nin <i>Calicophoron</i> tip farinks ve özofagusu.....	109
Şekil 35. <i>Calicophoron daubneyi</i> 'nin <i>Calicophoron</i> tip farinksi	109
Şekil 36. <i>Calicophoron daubneyi</i> 'nin <i>Microbothrium</i> tip genital atriumunun genital papillanın farklı kontraksiyon derecelerindeki görünüşü	110
Şekil 37: <i>Calicophoron daubneyi</i> 'nin derin loblu, tandem pozisyonundaki testisleri	110
Şekil 38. <i>Calicophoron daubneyi</i> 'nin <i>Paramphistomum</i> tip asetabulumu.....	111
Şekil 39. <i>Galba truncatula</i> ' larda saptanan <i>C. daubneyi</i> 'ye ait gelişim şekilleri	111
Şekil 40. Ergin parazitlerin ITS-2+ gen bölgesinin PCR ile çoğaltılması sonucu elde edilen bantlar.....	112
Şekil 41. <i>Calicophoron daubneyi</i> izolatından çoğaltılan ITS-2+ gen bölgesinin dört endonükleaz enzimi ile kesiminden sonrasına ait PCR-RFLP şablonları.....	113
Şekil 42. Ergin parazitlerin Cox1 gen bölgesinin PCR ile çoğaltılması sonucu elde edilen bantlar.....	113
Şekil 43. Arakonaklardan elde edilen larva formlarının Cox1 gen bölgesinin çoğaltılması sonucu elde edilen bantlar	114
Şekil 44: <i>Calicophoron daubneyi</i> izolatlarından elde edilen dizilerin blastn analizi sonucu	116

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Paramphistom(at)oidea üstalesinin taksonomisi	6
Tablo 2: Paramphistomidae ailesinin taksonomisi	6
Tablo 3: Sığır ve koyunlarda paramphistomosis tedavisinde kullanılan ilaçlar	88
Tablo 4: <i>Calicophoron daubneyi</i> ve <i>P. cervi</i> 'nin morfolojik olarak karşılaştırılması. 106	
Tablo 5: <i>Calicophoron daubneyi</i> ergin izolatu parsiyal Cox1, tRNA-Thr (threonine)'nin tamamı ve parsiyal LrRNA (large ribosomal RNA subunit) gen bölgesinin sekans sonucu	115
Tablo 6: <i>Calicophoron daubneyi</i> larva izolatu parsiyal Cox1, tRNA-Thr (threonine)'nin tamamı ve parsiyal LrRNA (large ribosomal RNA subunit) gen bölgesinin sekans sonucu	115

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
TABLolar LİSTESİ	x
İÇİNDEKİLER	xi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Tarihçe	4
2.2. Taksonomi	6
2.3. Yaşam Çemberi.....	12
2.3.1. Preparazitik Evre.....	15
2.3.2. Sümüklüdeki Larval Aşamalar	20
2.3.3. Metaserker	28
2.3.4. Kesin Konakta Gelişim.....	31
2.4. Morfoloji.....	32
2.4.1. Genel Morfoloji	32
2.4.2. <i>Paramphistomum cervi</i> 'nin Morfolojik Özellikleri.....	40
2.4.3. <i>Paramphistomum ichikawai</i> 'nin Morfolojik Özellikleri	41
2.4.4. <i>Calicophoron daubneyi</i> 'nin Morfolojik Özellikleri	42
2.5. Sınıflandırmada Önemli Morfolojik ve Histolojik Karakterler	43
2.5.1. Morfolojik Karakterler.....	43
2.5.2. Histolojik Karakterler	47
2.6. Epizootiyoloji ve Dağılım.....	57
2.7. Patojenez.....	69
2.8. Klinik, Laboratuvar ve Nekropsi Bulguları	72
2.9. Teşhis	80
2.10. Tedavi	85
2.11. İmmünite	89
2.12. Kontrol.....	90

3. MATERYAL VE METOT	93
3.1. Materyal	93
3.1.1. Mandalardaki Ergin Parazitler ile İlgili Çalışmalar	93
3.1.2. Arakonak (Sümüklü) Çalışmaları	94
3.2. Metot	96
3.2.1. Parazitlerin Bütün Olarak Boyanması ve Teşhisi	96
3.2.2. Histolojik Kesitlerin Boyanması ve Teşhisi	96
3.2.3. Moleküler analizler	98
4. BULGULAR	101
5. TARTIŞMA	117
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	128
KAYNAKLAR	130
ÖZ GEÇMİŞ	142

1.GİRİŞ

Kızılırmak Deltası Samsun ili Bafra, 19 Mayıs ve Alaçam ilçeleri sınırları içerisinde yer alan, sulak ve bataklık alanlar barındıran, ülkemizdeki en büyük deltalardan birisi olup yaklaşık 56.000 hektardır. Delta ve çevresi köylerde hayvancılık yaygın olup, yaklaşık 6000'i manda ve 8000'i sığır olmak üzere 23000 civarında hayvan otlamaktadır (Anon., 2015). Delta, mandalar açısından uygun otlama ve barınma alanı olmasından dolayı Türkiye'de en önemli manda yetiştirme alanıdır. Mandalar, sığırlara göre verimleri daha düşük olmakla birlikte yetiştirilmesinin kolay ve ucuz olması, sütündeki kuru madde oranının inek sütüne göre yaklaşık 2 kat daha yüksek olmasından dolayı özellikle kaymak ve peynir yapımında çok özel bir yere sahiptir. Son yıllarda bilinçli, organik ve doğal beslenme tercihinin artması manda ürünlerine yönelik talebi artırmaktadır (Atasever ve Erdem, 2008). Mandalar suyu seven, cesur hayvanlar olup yörede genellikle çobansız ve özgürce otlamaktadır.

Birçok hayvan türünde olduğu gibi manda varlığımız da 2000'li yıllardan itibaren hızla azalmış ve sayıları 84.705'e kadar düşmüştü. Bununla birlikte Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından yetiştirici elinde ıslah projesi başlatıldıktan sonra, son on yılda manda sayısı kısmen de olsa artış göstermeye başlamıştır. Bunun yanında Samsun başta olmak üzere birçok ilde Manda Yetiştiricileri Birliği kurulmuş ve bir kısmında Bakanlık destekli çeşitli projeler yürütülmeye başlanmış ve devam etmektedir. Dolayısıyla 2007 yılında 84.705 olan manda sayısı yaklaşık % 90 artış göstermiş ve neredeyse iki katına çıkmıştır. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2017 verilerine göre (TÜİK, 2018) manda sayısı Türkiye genelinde 161.439'a ulaşmış ve bunların yaklaşık %12,3'ünü barındıran Samsun 19.894 manda sayısı ile Türkiye'de ilk sırada yer almıştır. Samsun'da ilçeler arasında ise Bafra 7500 manda sayısı ile birinci sırada yer almaktadır.

Dayanıklı hayvanlar olarak bilinen mandalar, bataklık ve sulak alanlarda yaşadıklarından bu tip meralarda yaşayan arakonak sümüklü ile bulaşan ve verim düşüklüğü ve ölümlere neden olabilen birçok hastalığa yakalanabilmektedirler. Paramphistomosis de bu tip paraziter hastalıklardan biridir. Parazitlerin vücut içinde yaşaması, ateşe yol açmaması ve hafif ishal gibi spesifik olmayan bulgular nedeniyle hastalığın teşhisi güçleşmekte, bu durum klinik tablonun daha da ağırlaşmasına ve ölümlere neden olmaktadır (Balachandran ve ark., 2010; Tınar, 2011).

Hastalığın tedavisi güç olup, *Fasciola* türleri dâhil trematodlara karşı etkili olan triclabendazol, closantel, albendazol, fenbendazol gibi birçok ilaç Paramphistomid türlere etkisiz olmaktadır. (Sanabria ve ark., 2014).

Hastalığın tropik ve subtropik iklime sahip bölgeler başta olmak üzere dünyanın her yerinde görüldüğü (Choudhary ve ark., 2015), yağış ve nemin (Rangel-Ruiz ve ark., 2003) ve yaşlı hayvanların hastalığın yayılması ve bulaşmasında önemli rol oynadığı ve tedavi edilmemiş enfekte hayvanların meraları dokuz yıla kadar bulaştırabildiği (González-Warleta ve ark., 2013) bildirilmiştir.

Ülkemizde paramphistomosis ile ilgili az sayıda çalışma yapılmış olup hastalığın yayılışı yöreye ve yıllara göre değişmektedir (Burgu, 1980; Coşkun, 1987; 1988a; Celep ve ark., 1995; Çetindağ ve Doğanay, 1996; Gıcık ve ark., 2003; Özdal ve ark., 2010; Değer ve Ayhan, 2011; Acıöz ve ark., 2016). Türkiye’de yapılarak tanı için yurtdışı merkezlere gönderilen ilk çalışmalarda örnekler *Paramphistomum clavula*, *P. cervi*, *P. epiclitum*, *P. leydeni*, *P. microbothrium* ve *Calicophoron daubneyi* olarak teşhis edilmiş fakat daha sonra ülkemizde yapılan çalışmalarda sadece *Paramphistomum cervi*, *P. ichikawai* ve *Calicophoron daubneyi* türlerinin bulunduğu ve diğer teşhislerin hatalı olabileceği (Coşkun, 1988b) ve mandalarda yaygın türün *C. daubneyi* olduğu (Çetindağ ve Doğanay, 1996) bildirilmiştir.

Samsun yöresinde paramphistomosis ile ilgili spesifik bir araştırma olmayıp fauna tespiti amacıyla koyunlarda bir (Celep ve ark., 1995), sığırlarda üç (Celep ve ark., 1984; 1990; 1994) ve mandalarda bir (Çetindağ ve Doğanay, 1996) tane olmak üzere toplam beş araştırma yürütülmüş olup üçü dışkı bakısı, ikisi nekropsi esasına dayanmaktadır.

Türkiye’de mandalarda paramphistomosisin yayılışıyla ilgili az sayıda araştırma mevcuttur. Samsun yöresinde yapılan tek çalışmada (Çetindağ ve Doğanay, 1996) 100 manda sindirim sistemi helmintleri yönünden kontrol edilmiş ve *Calicophoron daubneyi* %31 oranında bulunmuştur. Benzer bir çalışma Güney Marmara Bölgesinde Tınar ve ark. (1992) tarafından yapılmış ve mandalarda hastalığın yayılışı %93,75 olarak kaydedilmiş ve etken tür *C. daubneyi* olarak belirlenmiştir. Ülkemizde mandalarla ilgili en son çalışmada (Güzel, 2012), Afyonkarahisar’da dışkı bakısında %0,19; mezbahada kesilen hayvanlarda ise %5 oranında *Paramphistomum spp.*’ye rastlamıştır.

Paramphistomid türlerin kalın ve etli yapıda olmaları, organlarının saydamlaştırılınca bile iyi görülmemesi nedeniyle tür teşhisleri oldukça zordur. Bu sorunu çözebilmek için bazı teknikler geliştirilmiştir. Birincisi, parazitleri iki lam arasına koyarak yassılaştırıp boyama esasına dayanan metot olup tür düzeyinde doğru teşhis için tek başına fazla güvenilir yöntem olarak kabul edilmemektedir. İkincisi ise parazitlere uzunlamasına histolojik kesitler yapıp boyanarak farinks, genital delik ve asetabulum yapılarının mikroskopik olarak incelenmesi yöntemi olup çok uzun süreli laboratuvar çalışması ve ciddi bir deneyim gerektirdiği için pratik değildir. Bu nedenlerle moleküler temelli teknikler geliştirilmiş ve birçok digenik trematodun teşhisinde kullanılabilen rDNA ITS2 gen bölgesini çoğaltan primerler kullanılarak Paramphistomid türler moleküler olarak teşhis edilmeye başlanmıştır (Mavenyengwa ve ark., 2005; Rinaldi ve ark., 2005; Sanabria ve ark., 2011). Son yapılan çalışmalarda, türlerin teşhisi için direkt boyama, kesit boyama, taramalı elektron mikroskopik inceleme ve moleküler tekniklerin ayrı ayrı veya birkaçının birlikte kullanıldığı görülmektedir (Dube ve ark., 2013; Panyarachun ve ark., 2013; Ferreras ve ark., 2014; Zintl ve ark., 2014; Yang ve ark., 2015).

Ülkemizde Paramphistomid türlerin arakonakları hakkında yapılmış yalnız bir çalışma mevcuttur. Burgu (1980), Çifteler Harası'nda koyunlardaki *Paramphistomum cervi*'nin doğal arakonağının *Planorbis planorbis* olduğunu tespit etmiştir.

Türkiye'de *C. daubneyi*'nin arakonaklarıyla ilgili bir çalışma olmamakla birlikte, Avrupa ülkelerinde *Galba truncatula*'nın *C. daubneyi*'nin doğal arakonağı olduğu kanıtlanmıştır (Martinez-Ibeas ve ark., 2013; Jones ve ark., 2017). Anabilim dalımız tarafından yapılan "Karadeniz bölgesinde *Fasciola hepatica*'nin arakonakları ve mevsimsel dağılımları" isimli BAP projesinde incelenen bazı *G. truncatula* örneklerinde amphistomid tip serkerlerin bulunduğu gözlenmiştir (Açııcı ve ark., 2008).

Bu çalışma, Kızılırmak Deltası'nda otlayan mandalarda paramphistomosise neden olan etkenleri ve parazitin merada arakonaklığını yapan sümüklü türlerini morfolojik ve moleküler olarak saptamak ve yayılış oranlarını ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Rumen trematodları (kepenek) hakkında ilk bilgi, tür tanımı yapılamadan muhtemelen parazitin yerleşim yeri (rumen) ve coğrafya (Avrupa) temel alınarak Daubenton (1754) ve Falk (1782) tarafından verilmiştir. Schrank (1790) ve Zeder (1790) tarafından aynı yıl *Fasciola cervi* ve *Festucaria cervi* isimleri altında kırmızı geyiğin rumeninde bir kepenegin bulunduğu bildirilmiştir.

Tür ve cins isminde, *Fasciola elaphi* (Gmelin, 1791); *Monostoma elaphi* (Zeder, 1800); *Monostoma conicum* (Zeder, 1803) gibi birkaç değişiklikten sonra 1890 yılında Rudolphi, bu türü *Amphistoma* cinsine taşımış ve ismini *Amphistoma conicum* olarak değiştirmiştir. Nitsch 1891 yılında, Rudolphi'nin oluşturduğu *Amphistoma* cinsi içinde yer alan ve diğerlerinden önde bir ağız ve vücudun arkasında çekmen varlığıyla farklılaşan bir grup tür için *Amphistomum* cinsini oluşturmuştur (Sey, 1982).

Müzelerde ve özel koleksiyonlardan toplanmış rumen trematodları Fiscoeder tarafından 1901-1904 yılları arasında morfolojik karakterler yönünden detaylı karşılaştırmalara dayalı olarak muayene edilmiştir. O zamana kadar başlıca *A. conicum* içerdiği düşünülen ve homojen olarak kabul edilen test materyalinden birkaç yeni tür teşhis edince *Amphistomum* cinsi yerine *Paramphistomum* cinsini kurmuş ve bu tipteki tüm kepenekler yine onun tarafından kurulan Paramphistomidae ailesine taşınmıştır. Bununla beraber *Amphistoma* ismi günümüze kadar daha az olarak kullanılmaya devam etmiş ve bu tipteki kepeneklerin tüm sınıflarını ve belirli grupları belirtmek için aynı anlamda kullanılmaya uygun görülmüştür (Sey, 1982).

Fiscoeder (1901), Paramphistomidae ailesini, Paramphistominae ve Clodorchiinae olarak iki yeni altaileye ayırmış ve Paramphistominae altailesine *Paramphistomum*, *Gastrothylax* ve *Stephanopharynx* cinslerini dâhil etmiştir (Khan, 1985).

Stiles ve Goldberger (1910), Fiscoeder tarafında verilen şemayı kabul etmemiş ve o zamana kadar bilinen tüm amphistomlar için revize edilmiş yeni bir taksonomi önermiş ve Paramphistomoidea adı altında bir üstaile oluşturarak altında 3 aile tanımlamışlardır. Bunlar Paramphistomidae, Gastrothylacidae ve Gastrodiscidae olup son ikisi yeni aileler olarak tanımlanmış ve Paramphistomidae ailesine

Paramphistominae, Stephanopharynginae, Cladorchiinae ve Diplodiscinae altailelerini dahil etmişlerdir (Eduardo, 1982; Khan, 1985).

Stunkard (1925), Stiles ve Goldberger'in taksonomisini kabul etmeyerek Fiscoeder'i takip etmiş ve tüm amphistomları içeren Paramphistomidae adında tek bir aileyi benimsemiş ve bu aile altında Paramphistominae (Fiscoeder, 1901), Balanorchinae (Stunkard, 1917), Brumptinae (Stunkard, 1925), Cladorchinae (Fiscoeder, 1901), Diplodiscinae (Cohn, 1904), Gastrodiscinae (Monticelli, 1892), Gastrothylacinae (Stiles ve Goldberger, 1910), Schizamphistominae (Looss, 1912) ve Zygocotylineae (Stunkard, 1916) olmak üzere 9 altaile tanımlamıştır (Khan, 1985).

Bununla birlikte Fukui (1929), Stunkard'ın (1925), sınıflandırmasında yer alan Gastrothylacinae altailesini kabul etmemiş, fakat Pfenderinae (Fukui, 1929) ve Dadayinae (Fukui, 1929) adında 2 yeni altaileyi Paramphistomidae ailesine eklemiştir (Khan, 1985).

Travassos (1934), Stiles ve Goldberger'in (1910) tüm amphistomları içeren tek bir üstaile oluşturma kavramını kabul ederek, bu üstaileye 6 aile'yi dahil etmiştir. Bu aileler; Paramphistomidae (Fiscoeder, 1901), Cephaloporidae (Travassos, 1934), Gastrodiscidae (Stiles ve Goldberger, 1910), Gyliauchenidae (Travassos, 1934), Microsaphidiidae (Travassos, 1934) ve Opistholebetidae (Travassos, 1934)' dir (Khan, 1985).

Paramphistomidae ailesine Travassos (1934) tarafından 9 altaile dahil edilmiştir. Bu düzenleme Schizamphistominae altailesinin çıkarılıp yerine Kalitrematinae altailesinin eklenmesi dışında Stunkard'ın (1925) sınıflandırmasına benzemektedir (Khan, 1985).

Näsmark (1937), Paramphistomidae ailesini revize etmiş ve klasifikasyonunu genital organlar, asetabulum ve farinks gibi organların anatomik yapısına dayandırmıştır. Araştırmacı, Stunkard'ın (1925) sınıflandırmasını değiştirmiş, fakat Paramphistomidae ailesinin durumunu bozmamıştır. Stunkard'ın listesine 6 yeni altaile daha ekleyerek, bu aile altındaki altailelerin sayısını toplamda 15'e yükseltmiştir. Bu altaileler, Balanorchinae (Stunkard, 1917), Brumptinae (Stunkard, 1925), Cladorchinae (Fiscoeder, 1901), Diplodiscinae (Cohn, 1904), Gastrodiscinae (Monticelli, 1892), Gastrothylacinae (Stiles ve Goldberger, 1910), Pfenderinae (Fukui, 1929), Paramphistominae (Fiscoeder, 1901), Pseudocladorchinae (Näsmark,

1937), Pseudodiscinae (Nasmark, 1937), Schizamphistominae (Looss, 1912), Stephanopharynginae (Stiles ve Goldberger, 1910), Stichorchinae (Näsmark, 1937), Watsoniinae (Nasmark, 1937) ve Zygotocotylineae (Stunkard, 1916)'dir (Khan, 1985).

2.2. Taksonomi

Paramphistomoidea (Fischoeder, 1901) üstailesinin içerdiği aileleri de gösteren modern taksonomisi Tablo 1'de gösterilmiştir:

Tablo 1: Paramphistom(at)oidea üstailesinin taksonomisi (The Taxonomicon, 2019'dan uyarlanmıştır)

Evren Animalia Linnaeus, 1758
Altevren Bilateria Hatschek, 1888
Minialtevren Protostomia Grobben, 1908
Üstşube Spiralia Schleip, 1929
Şube Platyhelminthes Gegenbaur, 1859
Altsınıf Digenea Carus, 1863
Takım Echinostomida LaRue, 1957
Altakım Paramphistomata Sczidat, 1936
Üstaile Paramphistom(at)oidea Fischoeder, 1901
Aile Paramphistom(at)idae Fischoeder, 1901
Aile Brumptiidae [monotipik] Stunkard, 1925
Aile Gastrothylacidae Stiles ve Goldberger, 1910
Aile Gastrodiscidae Monticelli, 1892
Aile Cladorchiidae Fischoeder, 1901
Aile Heronimidae [monotipik] Ward, 1917

Paramphistomoidea üstailesinde gerek ruminantlarda parazitlenen türler gerekse kapsadığı altaile ve cinsler açısından önemli bir yer tutan Paramphistomidae ailesinin modern taksonomisi, aileyi oluşturan tüm altaile, cins ve türler sinonimleriyle birlikte Tablo 2'de gösterilmiştir:

Tablo 2: Paramphistomidae ailesinin taksonomisi (Texas A&M University, 2018'den uyarlanmıştır)

Aile: Paramphistomidae (Fischoeder, 1901)

Altaile: Orthocoelinae (Price ve McIntosh, 1953)

Cins: Bilatorchis (Eduardo, 1980)

Tür: Bilatorchis papillogenitalis (Eduardo, 1980)

Cins: *Buxifrons* (Fukui, 1929)

Örnek Tür: *Buxifrons buxifrons* (Leiper, 1910)

[= *Paramphistoma buxifrons* Leiper, 1910]

Cins: *Gemellicotyle* (Prudhoe, 1975)

Tür: *Gemellicotyle wallabicola* (Prudhoe, 1975)

Cins: *Gigantatrium* (Yamaguti, 1958); [= *Gigantatrium* Yamaguti, 1958]

Örnek Tür: *Gigantatrium gigantatrium* (Nasmark, 1937)

[= *Nilocotyle gigantatrium* Nasmark, 1937]

Cins: *Glyptamphistoma* (Yamaguti, 1958)

Örnek Tür: *Glyptamphistoma paradoxum* (Nasmark, 1937)

[= *Nilocotyle paradoxum* Nasmark, 1937]

Cins: *Leiperocotyle* (Eduardo, 1980)

Tür: *Leiperocotyle meghalayensis* (Roy ve Tandon, 1990)

Cins: *Nilocotyle* (Nasmark, 1937)

Örnek Tür: *Nilocotyle pygmaea* (Nasmark, 1937)

Diğer Türler:

Nilocotyle circularis (Nasmark, 1937)

N. duplicisphinctris (Sey ve Graber, 1980)

N. hepaticae (Swart, 1961)

N. hippopotami (Nasmark, 1937)

N. leiperi (Nasmark, 1937)

N. microatrium (Nasmark, 1937)

N. minuta (Leiper, 1910)

N. praesphinctris (Nasmark, 1937)

N. wagandi (Leiper, 1910)

Cins: *Orthocoelium* (Stiles ve Goldberger, 1910)

[= *Ceylonocotyle* Nasmark, 1937], [= *Cochinocotyle* Gupta ve Gupta, 1971]

[= *Palamphistomum* Srivastava ve Tripathi, 1987:940]

[= *Paramphistomacotyle* Mehra, 1980]

[= *Paramphistomoides* Yamaguti, 1958]

[= *Pseudoparamphistoma* Yamaguti, 1958]

Örnek Tür: *Orthocoelium orthocoelium* (Fischoeder, 1901)

[= *Paramphistomum orthocoelium* Fischoeder, 1901]

[= *P. chinensis* Hsii, 1935]

[= *P. parvipapillatum* (Stiles ve Goldberger, 1910)

[= *P. shipleyi* Stiles ve Goldberger, 1910]

Diğer Türler:

Orthocoelium bovini (Gupta ve Gupta, 1971)

[= *Cochinocotyle bovini* Gupta ve Gupta, 1971]
O. cuonum (Bhalerao, 1937)
[= *Paramphistomum cuonum* Bhalerao, 1937]
O. dawesi (Gupta, 1958)
[= *Ceylonocotyle dawesi* Gupta, 1958]
O. dicranocoelium (Fischoeder, 1901)
[= *Paramphistomum dicranocoelium* Fischoeder, 1901]
O. dutti (Srivastava ve Tripathi, 1987)
[= *Palamphistomum dutti* Srivastava ve 1987]
O. indonesiense (Eduardo, 1980)
O. lobatum (Srivastava ve Tripathi, 1987)
[= *Palamphistomum lobatum* Srivastava ve Tripathi, 1987]
O. maplestonei (Bhalerao, 1937)
[= *Paramphistomum maplestonei* Bhalerao, 1937]
O. naesmarki (Mukherjee, 1963)
[= *Ceylonocotyle naesmarki* Mukherjee, 1963]
O. narayanai (Gupta ve Gupta, 1972)
[= *Ceylonocotyle narayanai* Gupta ve Gupta, 1972]
O. okapi (Leiper, 1935)
[= *Cotylophoron okapi* Leiper, 1935]
O. petrovi (Davydova, 1961)
[= *Ceylonocotyle petrovi* Davydova, 1961]
O. qingjiangense (Yang, Pan, Zhang ve Jin, 1989)
[= *Ceylonocotyle qingjiangense* Yang, Pan, Zhang ve Jin, 1989]
O. saccocoelium (Sey, 1980)
O. scoliocoelium (Fischoeder, 1904)
[= *Orthocoelium benoiti* Gretillat, 1966]
O. serpentinaecum (Eduardo & Peralta, 1987)
O. streptocoelium (Fischoeder, 1901)
O. taizhouense (Yang, Pan, Zhang ve Jin, 1989)
[= *Ceylonocotyle taizhouense* Yang, Pan, Zhang ve Jin, 1989]
O. thapari (Ghafoor ve Rao, 1990)
[= *Ceylonocotyle thapari* Ghafoor ve Rao, 1990]

Cins: *Platyamphistoma* (Yamaguti, 1958)

Tür: *Platyamphistoma polycladiformae* (Nasmark, 1937)

[= *Nilocotyle polycladiformae* Nasmark, 1937]

Cins: *Sellsitrema* (Yamaguti, 1958)

Örnek Tür: *Sellsitrema sellsi* (Leiper, 1910)

Altaile: Paramphistominae (Fischoeder, 1901)

Cins: *Calicophoron* (Näsmark, 1937)

Örnek tür: *Calicophoron calicophorum* (Fischoeder, 1901)

[= *Cauliorchis calicophorum* Fischoeder, 1901]

Diğer türler:

Calicophoron cauliorchis (Stiles & Goldberger, 1910)

C. crassum (Stiles ve Goldberger, 1910)

[= *Cauliorchis crassum* Stiles ve Goldberger, 1910]

C. daubneyi (Dinnik, 1962)

[= *Paramphistomum daubneyi* Dinnik, 1962]

C. erschowi (Davydova, 1959)

C. microbothrioides (Price ve McIntosh, 1944)

[= *Paramphistomum microbothrioides* Price ve McIntosh, 1944]

[= *Cotylophoron cotylophorum* Krull, 1932]

C. microbothrium (Fischoeder, 1901)

[= *Paramphistomum microbothrium* Fischoeder, 1901]

C. microon (Railliet, 1924)

C. orientale (Mukherjee, 1967)

C. papillosum (Stiles ve Goldberger, 1910)

C. raja (Nasmark, 1937)

C. shillongensis (Roy ve Tandon, 1995)

C. wuchengense (Wang, 1979)

C. zhejiangense (Wang, 1979)

Cins: *Cotylophoron* Stiles ve Goldberger, 1910:[= *Cotylophorum* Fukui, 1929]

Örnek Tür: *Cotylophoron cotylophorum* (Fischoeder, 1901)

[= *Paramphistomum cotylophorum* Fischoeder, 1901]

Diğer türler:

Cotylophoron bareilliense (Mukherjee ve Chauhan, 1967)

C. chauhani (Gupta ve Gupta, 1972)

C. elongatum (Harshey, 1934)

C. fuelleborni (Nasmark, 1934)

C. guangdongense (Wang, 1979)

C. indicum (Stiles ve Goldberger, 1910)
C. jacksoni (Nasmark, 1937)
C. macrosphinctris (Sey ve Graber, 1979)
C. madrasense (Gupta, 1958)
C. noveboracense (Price ve McIntosh, 1953)
C. orientale (Harshey, 1934)
C. ovatum (Harshey, 1934)
C. panamense (Price ve McIntosh, 1953)
C. skrjabini (Mitskevich, 1959)
C. travassosi (Costa ve Guimaraes, 1992)
C. vigisi (Davydova, 1963)
C. xiangjiangense (Wang, 1979)
C. skrjabini (Gorbunow, 1931)

Cins: *Explanatum* (Fukui, 1929)

Örnek tür: *Explanatum explanatum* (Creplin, 1847)

Diğer türler:

Explanatum anisocotylea (Faust, 1920),
[= *Paramphistomum anisocotylea* Faust, 1920]

E. bathycotyle (Fischoeder, 1901)
[= *Paramphistomum bathycotyle* Fischoeder, 1901]

E. birmense (Railliet, 1925)
[= *Paramphistomum birmense* Railliet, 1925]

E. formosanum (Fukui, 1929)
[= *Paramphistomum formosanum* Fukui, 1929]

E. fraternum (Stiles ve Goldberger, 1910)
[= *Paramphistomum fraternum* Stiles ve Goldberger, 1910]

E. immense (Stiles ve Goldberger, 1910)
[= *Paramphistomum immense* Stiles ve Goldberger, 1910]

E. puntocotyle (Brandes in Otto, 1896)

Cins: *Gigantocotyle* (Nasmark, 1937)

Türler:

Gigantocotyle duplicitestorum (Nasmark, 1937)

G. lerouxi (Yeh, 1958)

G. nanhuense (Zhang, Pam, Chen, Yang ve Jin, 1988)

G. symmeri (Nasmark, 1937)

G. wenzhouense (Zhang, Pam, Chen, Yang ve Jin, 1988)

Cins: *Paramphistomum* (Fischoeder, 1901)

[= *Liorchis* Vehchko, 1966]; [= *Srivastavaia* Singh ve Tandan, 1970]

Örnek tür: *Paramphistomum cervi* (Zeder, 1790)

[= *Festucaria cervi* Zeder, 1790]

[= *Amphistoma conicum* Rudolphi, 1809]

[= *Monostoma conicum* Zeder, 1803]

[= *Monostoma elaphi* Zeder, 1800]

Diğer türler:

Paramphistomum bothriophoron (Braun, 1892)

P. epiclutum (Fischoeder, 1904)

P. gigantopharynx (Schad, Kuntz, Anteson ve Webster, 1964)

P. gotoi (Fukui, 1922)

P. gracile (Fischoeder, 1901)

P. hiberniae (Willmott, 1950)

P. ichikawai (Fukui, 1922)

P. indicum (Stiles ve Goldberger, 1910)

P. leydeni (Näsmark, 1937)

[= *Paramphistomum scotiae* (Willmott, 1950)]

P. liorchis (Fischoeder, 1901)

P. malayi (Lee, 1967)

P. papilligerum (Stiles ve Goldberger, 1910)

P. phillerouxi (Dinnik, 1961)

P. scotiae (Willmott, 1950)

P. skrjabini (Popowa, 1937)

P. spinicephalus (Tandon, 1957)

P. sukari (Dinnik, 1954)

P. sukumum (Dinnik, 1964)

P. thapari (Price ve McIntosh, 1953)

[= *Cotylophoron indicum* Stiles ve Goldberger, 1910]

P. tuberculatum (Cobbold, 1875)

Cins: *Ugandocotyle* (Näsmark, 1937)

Örnek tür: *Ugandocotyle pisum* (Leiper, 1910)

Belirsiz Taksonlar:

Cins: *Macropharynx* (Näsmark, 1937)

Örnek Tür: *Macropharynx sudanensis* (Näsmark, 1939)

2.3. Yaşam Çemberi

Rumen trematodları, gelişimini tamamlanmak için bir arakonağa ihtiyaç duyan kompleks bir yaşam çemberine sahiptir. Tatlısu sümüklüleri arasında Paramphistomidaelerin arakonakları Gastropoda sınıfından Lymneidea ve Planorbidae ailelerine aittirler (Sanabria ve Romero, 2008). Arakonak sümüklüler dere, ırmak, sulama kanalları, baraj gölleri, bataklıklar ve çöküntüler gibi habitatlarda vejetasyona yapışmış olarak geçici veya sürekli olarak bulunurlar (Lloyd ve ark., 2007).

Bölgelere ve türlere göre arakonak türleri değişmektedir. Nitekim Uruguay, Brezilya ve Arjantin gibi ülkelerde arakonak Planorbid sümüklüler iken, Meksika’da ise Lymneidea türleri bu rolü üstlenirler (Sanabria ve Romero, 2008). Avustralya’da ruminantları etkileyen *Paramphistomum* türleri olarak *C. calicophorum* ve *P. ichikawai* ve bunların arakonakları da, sırasıyla *Gyraulus scottianus* ve *Helicorbis australiensis* olarak bildirilmiştir (Lloyd ve ark., 2007). Jonathan (1952) Yeni Zelanda’da *C. ijimai*’nin yaşam çemberiyle ilgili yürüttüğü çalışmasında arakonak olarak *Planorbis kahuika*’yı tespit etmiştir.

Güney Afrika’da arakonak sümüklülerin Planorbidae ve Bulinidae ailesi üyeleri olduğu *Bulinus* cinsi ve özellikle *B. tropicus*’un en önemli arakonak olduğu bildirilmiştir (Vorster ve Mapham, 2012).

Ülkemizde Burgu (1980), Eskişehir Çifteler Harası yöresinde *P. cervi*’nin biyolojisi üzerinde yürüttüğü çalışmasında yöre otlaklarından 4068 *Planorbis planorbis*, 17 *P. carinatus*, 2041 *Valvata macrostoma*, 1471 *Aplexa hypnorum*, 167 *Lymnea truncatula*, 6 *L. auricularia*, 1 *Succinea pfeifferi* örneği toplamış ve bunları *P. cervi* doğal enfeksiyonu yönünden kontrol etmiştir. Bu sümüklülerden yalnızca *P. planorbis*’lerde doğal enfeksiyona rastlanmış ve 4068 *P. planorbis*’ten 64’ü (%1,57) doğal enfekte bulunmuştur. Nisan-Kasım ayları arasında her ay enfekte *P. planorbis*’e

rastlanmış ve enfeksiyon en az nisan (%0,75) ve en fazla ekim (%2,20) ayında bulunmuştur. Enfekte *P. planorbis*'lere nisan ayından itibaren rastlanmış olması koyunların otlığa ilk çıktıkları aydan itibaren enfeksiyonu alabildiklerini ve sümüklüböceklerin de enfeksiyonu önceden alıp kış dönemini enfekte geçirebildiklerini göstermiştir.

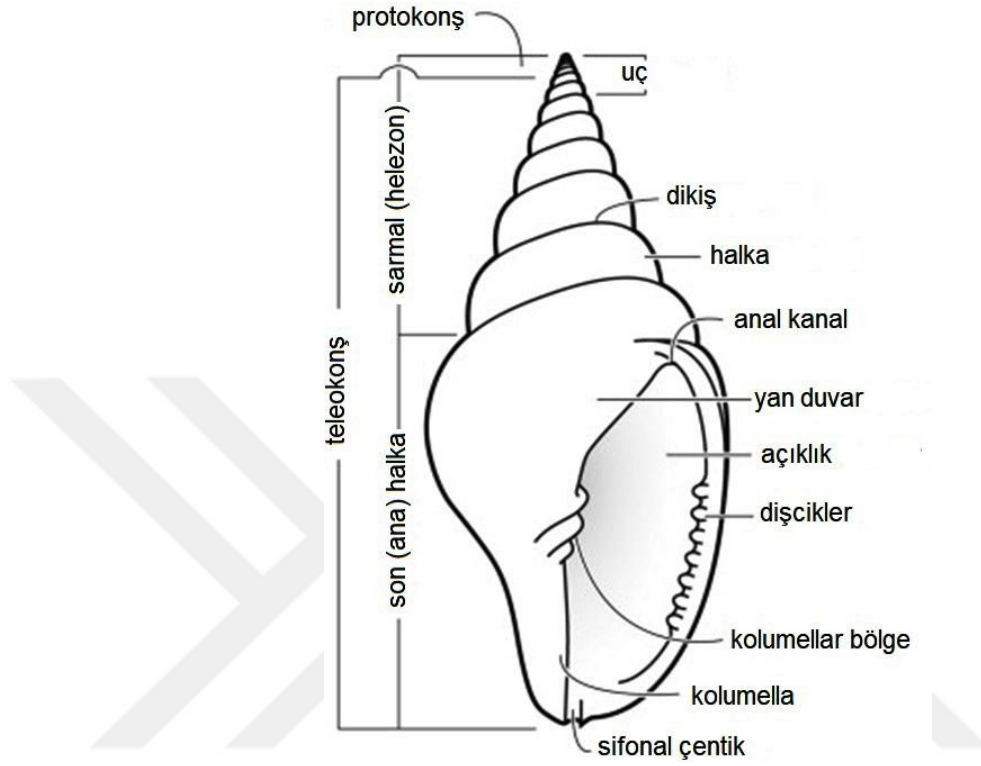
Kamel ve Burgu (1986) tarafından Eskişehir Çifteler Harasında *Paramphistomum* serkerleri ile enfekte *Gyraulus laevis*'lere rastlandığı ilk kez bildirilmiştir. Mayıs 1986'da yöreden toplanan *G. laevis*'ler saydam olan kabuk yapısından ötürü laboratuvarda binoküler disseksiyon mikroskopunda sporokist, redi, serker gibi trematod gelişme dönemleri yönünden kontrol edilmiştir. Daha sonra deklorinize çeşme suyu içeren petri kutularına yerleştirilerek kuvvetli ışık kaynağı altında serker çıkarmaları sağlanmıştır. Serker çıkarmayanlar ise erken gelişim dönemlerini saptayabilmek için diseke edilmiştir. Kontrol edilen 1226 *G.laevis*'ten (kabuk çapı 0,30-0,60 mm) 53' ünün (%4,32) *Paramphistomum* gelişme dönemleri ile enfekte olduğu saptanmıştır.

Sey (1982), sümüklülerin bireysel olarak tutulduğu mikroplakların boşluklarında bulunan suya 2-5 mirasidyum ekleyerek 2-3 haftalık genç *P. planorbis*'lerle 20-22 °C oda ısısında birkaç enfeksiyon denemesi yapmış ve enfeksiyon %75-90 oranında başarılı olmuştur. 2-3 haftalık yaştaki 300 genç *Bulinus truncatus* örneği de *P. cervi* mirasidyumlarıyla aynı metotla enfekte edilmeye çalışılmış, fakat bu sümüklülere duyarlı olmayan *P.cervi* mirasidyumlarıyla enfekte edilememiştir.

Türkiye'de *C.daubneyi*'nin gelişiminde rol oynayan arakonaklarla ilgili bir çalışma olmamakla birlikte, Avrupa ülkelerinde *Galba truncatula*'nın *Calicophoron daubneyi*'nin de doğal arakonağı olduğu kanıtlanmıştır (Martinez-Ibeas ve ark., 2013).

Galba truncatula, sağa dönük (dekstral), küçük ve oval-konik şekilli, ince duvarlı ve boynuz renginde bir kabuğa sahip bir gastropoddur. 7-8 adet düzenli yükselen sarmalları, kuvvetli dışbükey ve merdiven şeklinde olup derin dikişlerle ayrılmıştır. Kabuk açıklığı kabuk yüksekliğinin 1/3'ü kadar olup oldukça dar, oval şekilli ve geniş bir açıyla dorsal pozisyonda yer alır. Yanak kenarları keskin, fakat kavisli değildir. Kabuk yüksekliği 5-8 mm ve genişliği 2-4 mm'dir (Şekil 1 ve 2). Ülkemizde tüm coğrafi bölgelerde ve dünyanın birçok bölgesinde varlığı tespit edilmiştir (Yıldırım ve ark., 2006). Hatta Güney Amerika'da, Peru'nun And Dağları

bölgesinde 2080-3130 m (Bargues ve ark, 2012), Batı Bolivya’da 3800-4100 m gibi çok yüksek irtifanın aşırı çevresel koşullarına uyum sağlayarak bu bölgede yüksek enfeksiyon oranlarına sebep olduğu bildirilmiştir (Mas-Coma ve ark. 2001).



Şekil 1. Gastropoda terminolojisi (Harris ve ark, 2015’den uyarlanmıştır)

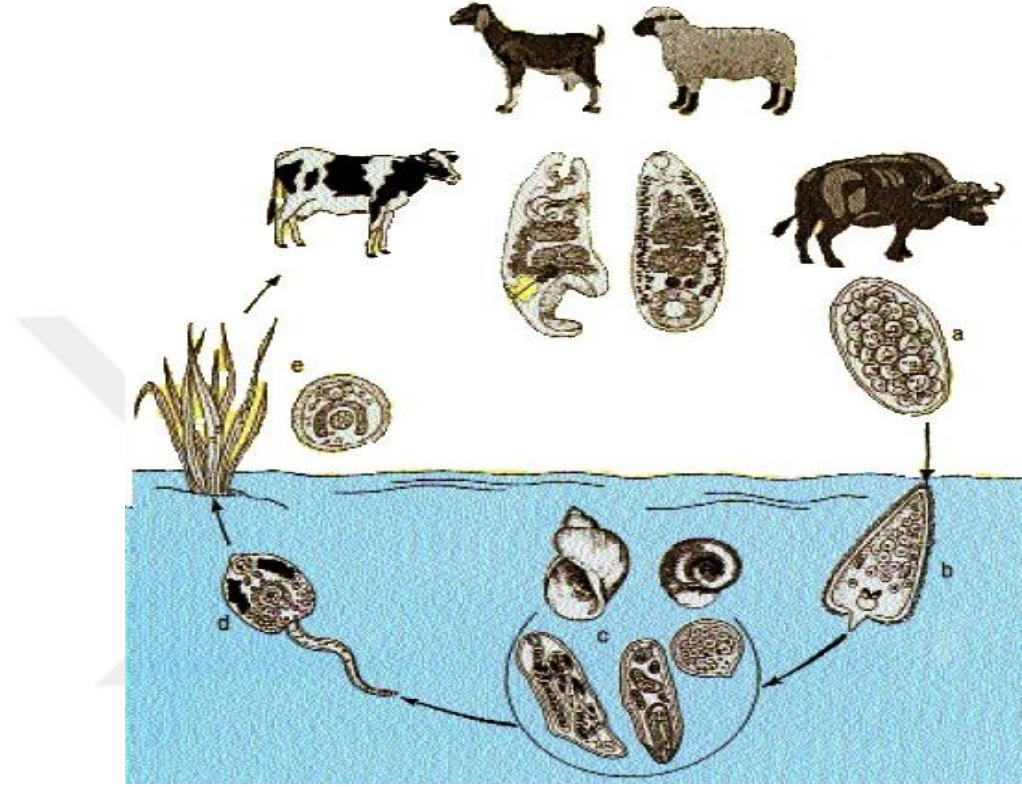


Şekil 2. *Galba truncatula* (habitas.org.uk, 2019)

2.3.1. Preparazitik Evre

Yumurta ve Embriyonik Gelişim

Paramphistomum türlerinin yaşam çemberi (Şekil 3) içinde dış gelişim evreleri *Fasciola hepatica* ile benzerdir (Sanabria ve Romero, 2008).



Şekil 3. Amphistomların genel yaşam çemberi. (Lloyd ve ark., 2007'den uyarlanmıştır)

a) yumurta, b) mirasidyum, c) sporokist ve redi, d) serker, e) metaserker

Sey' in (1982), *Paramphistomum cervi*'nin morfolojisi ve yaşam çemberiyle ilgili yürüttüğü çalışmasında yumurta ve embriyo gelişimi konusunda verdiği bilgilere göre; *P. cervi* yumurtaları grimsi-sarı renkli ve renksiz bir kapakla örtülüdür, şekilleri armutsu, oval veya eliptik olabilir. Kapak (operkulum) karşısındaki kutup çok küçük bir çıkıntı taşır. Yumurta ölçüleri 116-189 x 52-116 μm 'dir. Yumurta boyutlarındaki varyasyonlar sadece bir grup tarafından yumurtlanmış yumurtalarda değil, aynı zamanda diğerlerinden ayrılmış tek bir örneğin yumurtladığı yumurtalar arasında da görülür. Parazitin boyutları ile yumurta boyutları arasında doğrudan bir ilişki görülmemiştir.

Yeni yumurtlanmış yumurta operküler uca yakın yerleşmiş bir zigot içerir ve zigot devam eden bölünmeler esnasında yumurtanın merkezine ilerler ve vitellin hücrelerle çevrilmeye başlar. 27 °C’de inkubasyonda ilk 4-5 günde embriyonun büyümesi dışında önemli bir değişiklik gözlenmez. 5-6. günlerde trebratorium adı verilen apikal organ ve yanı sıra 4 delici bez görünür. Yedinci günde 2. ve 3. epidermal hücre sıralarının birleşme yerinde bulunan alev hücreleri görev yapmaya başlar. Germinal dokunun şekillenmesi de bu dönemde olur.

Embriyonun büyümesiyle vitellin hücreler aşamalı olarak azalır ve yerleri 2 büyük vakuol tarafından işgal edilir. Mukoid tıkaç gözlenmez. 8-10. günlerde embriyo 110-145 µm boyutuna ulaşır ve embriyo (mirasidyum) yumurtadan çıkmak için hazırdır.

Kontrollü ısıda (27 °C) mirasidyumun yumurtadan çıkışı genellikle 8. günde başlar ve takip eden 2-4 boyunca devam eder. Yumurtadan çıkış için optimal sürenin ardından (10. gün) embriyonun ömrü *C. daubneyi*’den çok daha kısadır. Düşük ısılarda (4-6°C) yumurtalar canlılıklarını, ılıman kuşaktaki kış uykusu ihtimaline karşı 5-6 ay sürdürürler.

Jonathan (1952), Yeni Zelanda’ da *Calicophoron ijimai*’nin biyolojisiyle ilgili yürüttüğü çalışmada yumurta ebadını 55-143 x 44-78 µm olarak tespit etmiştir. Yumurta kuvvetli, şeffaf dış kabuğuyla subovoid yapıdadır, operkulum tırtıklı çizgisiyle görülebilir durumdadır. Yumurta genellikle küçük sapçığıyla cam kaba tutunmuş halde bulunur.

Erken dönem yumurtanın içindeki embriyo 2-8 adet hücre içerir. Embriyo kabuktan şeffaf bir tabakayla ayrılan besleyici hücrelerin dış yüzeyi üzerinde merkezi bir pozisyonundadır. Bölünme hızlıdır ve her yönde uzar. 27 °C’de 4 gün sonra embriyo kabuğun arka 2/3’ünü doldurur. Sekizinci günde mirasidyum tanımlanabilir hale gelir. Onuncu günde alev hücreleri aktiftir ve kasılmalar mirasidyumun vücudu boyunca devam eder. Silyumlar kabuk içindeki boşaltım granüllerini şiddetli bir şekilde uyaran akımlar oluşturur. Trebratorium kasılıp genişleyerek operkulum altındaki jelatinöz başlığı iter ve 2 dakika içinde mirasidyum serbest kalır.

Prince (1953), yumurtaların sudan alındığında kuruma nedeniyle hızlıca tahrip olduğunu bildirmiştir. 1-4 saat boyunca dondurma, yaşama gücünde belirgin bir azalmaya yol açmakta, 5 saat veya üzerinde dondurulduklarında tamamen ölmektedirler. Gelişmemiş yumurtaların 5 °C’ye soğutulmaları gelişmeyi önlemekte, 12

aylık bir soğutma sürecinde tek bir öbekteki yumurtaların yaşama gücü % 69'dan %30'a düşmektedir. 11 aylık bir soğutmadan sonra 30 °C'de yumurtadan çıkmak için minimum inkubasyon süresi 9 günden 11 güne uzamaktadır. Yumurtadan çıkma aşamasına gelebilmek için mirasidyumlara gereken süre ısıya bağlı olarak değişmektedir. En kısa süre 26 °C'de 11 gün, 30 °C'de 9 gün ve 35 °C'de 8 gündür. 38 ve 40 °C sıcaklıkta yumurtadan çıkma gerçekleşmemektedir. 26 ve 30 °C'de sabit ve yavaş bir yumurtadan çıkma oranı vardır ve sabit sıcaklıkta düzensiz yumurtadan çıkışlar hiçbir zaman gözlenmemiştir. Azalmış oksijen basıncı, yumurtaların gelişimini geciktirmekte veya durdurmaktadır. Kaynatılmış veya kaynatılmamış sularda 60 güne kadar sıkıca mühürlenerek saklanıldıklarında gelişmemiş yumurtaların yaşam güçlerinde çok az bir azalma meydana gelmiştir. Kaynatılmış suda mühürlenerek 74 güne kadar süren bir periyotta saklanıldığında kısmen gelişmiş embriyonun gelişmesi duraklamıştır. Gelişim ve yumurtadan çıkış 5,2-8,2 pH aralığından etkilenmez, fakat hafif asitli sularda mirasidyumların ömrü oldukça azalmaktadır. Işık yumurtadan çıkışı uyaran bir etken değildir, fakat 21-35°C arasında değişen derecelerde inkube edilen yumurtaların sıcaklığındaki 5 veya daha fazla derecelik düşüş, fazla sayıdaki mirasidyumun yumurtadan ani çıkışını uyarır.

Mirasidyum

Mirasidyumun yumurtadan çıkışı çevre koşulları ve sıcaklığa bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bu süre ortalama 12-16 gün (Vorster ve Mapham, 2012) iken ve sıcak sularda 7-10 gün (Khan, 1991) olarak da bildirilmiştir. Örneğin 28 °C suda mirasidyum 17 günde çıkarken bu sürenin düşük sıcaklık gibi değişken çevresel koşullarda gecikebileceği bildirilmiştir (Sanabria ve Romero, 2008).

Snider (1985), 27 °C'de 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde bir ışık rejimine tabi tuttukları yumurtalarda mirasidyumların 10 gün sonra yumurtadan çıkmaya başladığını ve 19. günde %80'inin yumurtadan çıktığını kaydetmiştir. 19 °C'de tutulan yumurtalarda çıkış 26. günde başlamış ve 49. günde %80'inin yumurtadan çıktığı gözlenmiştir. 11 °C'de tutulan yumurtalarda 57. günün sonunda ne yumurtadan çıkış ne de yumurta içinde herhangi bir gelişim tespit edilmiştir.

Burgu (1980), laboratuvarında *P. cervi* yumurtalarının gelişmesinde ısı, ışık ve değişik su ortamları gibi faktörlerin etkisini araştırmış ve bunlardan ısının en etkili

faktör olduğunu belirtmiştir. 26-27 °C’de mirasidyumların 13. günde çıkmaya başladığı, mirasidyum çıkışının gittikçe azalan bir sayıda 1 hafta kadar devam ettiğini bildirmiştir.

Alabay (1981), *P.cervi* yumurtalarını petri kutuları içerisinde 25-26 °C’deki etüve koyarak gelişmeye bırakmış ve mirasidyum gelişimi stereomikroskopta izlenmiştir. Mirasidyumların gelişimi genellikle 13-15 gün arasında tamamlanmıştır. Laboratuvarda mirasidyumlarla enfekte edilen sümüklülerde serkerler yaklaşık 1-1,5 ay sonra oluşmuştur.

Prince (1953), olgun mirasidyumun soğutma ile yumurtadan çıkış için uyarıldığında operkulum açılmadan önce yaklaşık 3 dakika siliar aktivite gösterdiğini kaydetmiştir. Yumurta kabuğundan çıkış mirasidyum için pasif bir eylem olarak görünmekte ve yaklaşık 1 dakika sürmektedir.

Paramphistomum cervi mirasidyumların *P. planorbis*’lere sadece manto boşluğundan girdikleri baş, ayak ve tentaküllerden ise girmediği gözlenmiştir (Burgu,1980).

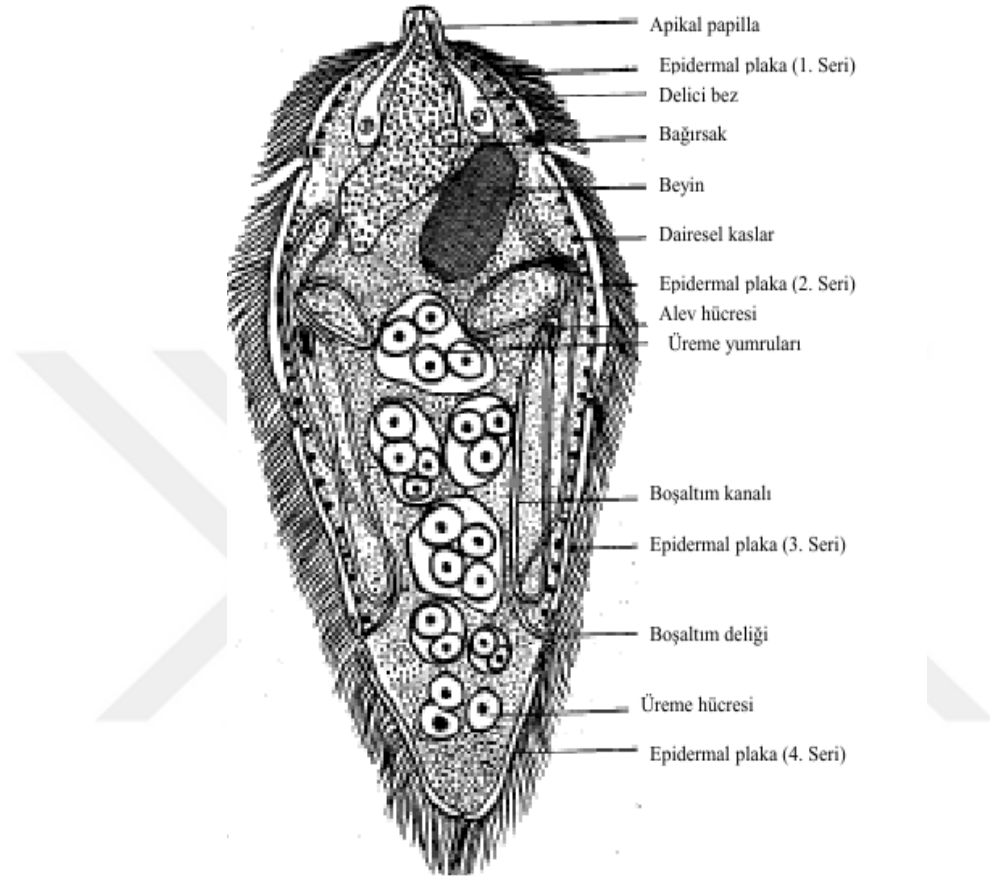
Yumurtadan çıkıştan sonra serbest yüzen silyumlu mirasidyum 8-10 saat içinde uygun bir sümüklü arakonağı delerek yerleşmek zorundadır (Khan,1991).

Prince (1953), mirasidyumun yaşam süresinin sıcaklık ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. Ortalama 24 °C sıcaklıkta azami yaşam süresi yaklaşık 14 saat, ortalama 33 °C sıcaklıkta bu süre yaklaşık 7 saattir. %1’lik sakaroz ve %0,5’lik pepton solüsyonları yaşam süresini uzatmaz, fakat glikoz, früktoz, mannoz ve galaktozun %1’lik solüsyonları bu süreyi birkaç saat uzatır. Mirasidyum doğrudan ve dağınık ışığa maruz bırakıldığında, her iki durumda da negatif ışığa yönelim (fototropizm) gösterir ve yerleştikleri kabın tabanını tercih ederler.

Burgu (1980), *P. cervi* mirasidyumlarının torpil biçiminde ve silyumlarla örtülü olduğu, göz lekesi taşımadığını ve 215-253 x 49-65 µm büyüklükte olduklarını bildirmiştir.

Sey (1982), yumurtadan çıkan ve serbest yüzen mirasidyumun iğ şeklinde, siliayla örtülü ve göz lekesi olmadığını bildirmiştir. Canlı bir mirasidyumun ölçüleri 175-200 x 40-50 µm iken, aynı örnek tespit edilince boyutları 120-125 x 55-58 µm olarak ölçülmüştür. Vücudu 6:8:4:1 formülüne göre 4 sıra, enlemesine yassı epidermal hücrelerle örtülüdür. Mirasidyumun ön ucunda silyumsuz, gümüş seven yapıda trebratoryum bulunur. Mirasidyumun içyapısı apikal bez, delici bezler, sinir sistemi,

boşaltım kanalları ve üreme dokusundan oluşur (Şekil 4). Mirasidyumun yaşam süresi çeşme suyunda ve oda ısısında 10-12 saat olmasına rağmen virulensleri ilk 4 saat ile sınırlıdır.



Şekil 4. *Ceylanocotyle streptocoelium*'un içyapısını gösteren olgun mirasidyum (Durie, 1953'den uyarlanmıştır)

Jonathan (1952), yumurtadan yeni çıkmış *C. ijimai* mirasidyumunun ölçülerini 215-235 x 40-42 μm olarak bildirmiştir. Mirasidyum şeffaf bir kütikül ile kaplı ve üzeri 13 μm uzunluğunda silyumlarla örtülüdür. Ön uçta bulunan, geri çekilebilir, delici organ (trebratorium) mirasidyum hareket ederken ileriye doğru uzar. Delici organ ön ucundan itibaren ilkel bağırsak, 13-88 μm uzunluğundadır ve arkaya doğru uzanır. İlkel bağırsağın her bir tarafında 2 tane olmak üzere 4 koyu renkli hücresi görülebilir durumdadır. Hücre kitlesi vücut boşluğunun en azından 1/3'ünü kaplar. Bir tanesi rediyi oluşturan, diğeri sporokist içinde farklı embriyoları oluşturmak için tamamlayıcı hücelere ayrılan genellikle 2 hücre yumağından oluşur. Boşaltım sistemi ortada bir

yatay kanalla birbirine bağlanan iki uzunlamasına kanaldan oluşur. İki alev hücresi kısa tubüllerleriyle arka uçları yatay kanala açılan uzunlamasına kanala bağlıdır.

Su içerisinde hareket eden mirasidyumun hızı sıcaklığa göre değişir. 30 °C en aktif olduğu sıcaklık iken, aktivitesi 40 °C'nin üstünde ve 8 °C'nin altında düşer. Aktivite değişik sümüklü türlerinin varlığına göre de değişir. Mirasidyumlar, yumuşakça temasıyla kirlenmemiş, temiz, filtre edilmiş yağmur suyuna yerleştirildiği zaman *Potamopyrgus antipodum*, *P. corolla* ve *Myxas ampulla* varlığında düzenli dönme hareketinde bir değişiklik olmazken, ortama *Planorbis kahuika* konulduğunda sümüklünün bıraktığı iz ile karşılaşınca mirasidyum hızını, bükülme, kıvrılma ve dönme hareketlerini arttırmıştır. Mirasidyum sonra izi takip ederek sümüklüye yetişir. Delip gireceği göz saplarının gerisindeki vücudun etli kısmına tutunur. İçeri girer girmez bağırsağın en ön kısmına yakın sindirim tüplerine hareket eder. Laboratuvar koşulları altında mirasidyumun ömrü 4-24 saat arasında değişir (Jonathan, 1952).

Prince (1953), mirasidyumlara kitlesel şekilde maruz kalan sümüklülerde enfeksiyon oranının %87 olarak gerçekleştiğini bildirmiştir. Tek bir salyangoz 1-4 saatlik yaştaki tek bir mirasidyuma maruz kaldığında enfeksiyon oranı 1:1,5 olarak gerçekleşmiştir. 5-7 saatlik yaştaki mirasidyumlar, 1 saatlik yaştaki mirasidyumla hemen hemen aynı veya biraz daha az oranda sümüklüye girip yerleşebilmektedir. 1-5 saatlik yaştaki mirasidyumların %19'u delmede başarısız olup 1 saat daha serbest yüzücü olarak kalmaktadır. Mirasidyumlarla tek bir enfeksiyon arakonak sümüklüde ölüm oranlarında yükselmeye neden olmamıştır.

Swart ve Reinecke (1962), 4,7-10,7 mm uzunluğundaki erişkin *Bulinus tropicis*'leri yeni çıkmış *Paramphistomum microbothrium* mirasidyumlarıyla deneysel olarak enfekte etmeye çalıştıklarında, sümüklülerin sadece %12,4'ünün enfekte olduğunu tespit etmişlerdir. Diğer taraftan 7, 14 ve 21 günlük genç sümüklüleri yeni çıkan mirasidyumlarla muamele ettikleri deneyde tüm sümüklüleri enfekte etmeyi başarmışlardır. Yumurtadan çıkışta enfekte edilen ve 11 gün sonra muayene edilen bir sümüklünün 14 sporokist barındırdığı tespit edilmiştir.

2.3.2. Sümüklüdeki Larval Aşamalar

Sporokist

Mirasidyumlar sümüklünün ayak, manto veya solunum kesesine ait dokularda silyumlu örtüsünü terk ederek germinal hücreler içeren küçük, kısa ömürlü sporokiste

dönüşürler (Khan, 1991). Sporokistler sümüklü içinde 1 gün içinde tespit edilir ve onlara 11. güne kadar rastlanabilir (Vorster ve Mapham, 2012).

Burgu (1980), *P. cervi* mirasidyumların hemen sporokistlere dönüşmediğini, enfeksiyondan 1 saat sonra sümüklü dokusundaki mirasidyumların anterior kısımlarında silyumların varlığını koruduğunu bildirmiştir. Çalışmada kese biçimindeki sporokistlere en erken enfeksiyondan 2 gün sonra rastlanmıştır. Gelişen sporokistler bağırsak çevresinde ve manto dokusunda görülmüşlerdir.

Sey (1982), mirasidyumun sümüklüye girişten sonra gelişmesine sümüklü dokusunda devam ettiğini ve epidermal plaklarının dökülmesi, apikal papilla, apikal ve delici bezler gibi bazı içyapıların kaybı ve ayrılmış germinal hücreler içindeki embriyo yumaklarının parçalanması gibi dikkate değer değişiklikler geçirdiğini bildirmiştir. Sporokistin boyutu fark edilir derecede artarak 4 günlük olan bir örnek 160-170 x 140-150 µm boyutlarında ölçülmüştür. Sporokist 10-15 günde olgunluğa ulaşarak sümüklünün sindirim sistemi boyunca vücut boşluğuna yerleşir ve ince, şeffaf bir kılıfla örtülüdür. İçinde tam gelişmiş rediler ve çok sayıda embriyo yumağı mevcuttur. Sporokistte ne redilerin serbest kalması sürecinde, ne de sporokistin yüzeyi açıldığında gözlenilebilen bir çift alev hücresi bulunur.

Jonathan (1952), ölçtüğü 4 *C. ijimai* sporokistinin boyutlarını 430-855 x 115-170 µm olarak bildirmiştir. Yutağı andıran yüzük şeklindeki bir hücre grubu, dar ilkel bağırsağın ön ucunu çevreler. Sporokistin kendisi büyük, az hareketli ve bir hücre kalınlığındaki vücut duvarıyla çevrilidir. Sporokistin boşaltım sistemi 2 alev hücresi, mirasidyumdakine benzer pozisyonda yerleşmiş uzunlamasına ve enlemesine kanallardan oluşur. Sporokistin içinde 12-15 tane embriyo, vücut boşluğu içinde serbestçe hareket eden, serker embriyolarıyla çıkmaya hazır 1-3 tane redi bulunur. Doğum deliği görünür değildir. Larval formların içinde en hassası sporokisttir. Sümüklünün sindirim kanalından ayrılır ayrılmaz nadiren 1 saatten fazla yaşar.

Redi

Sporokistlerde 1-2 hafta içerisinde, bir farinkse, sekumlara ve mükemmel bir fagositik kapasiteye sahip rediler oluşurlar (Horak, 1971). Bunlar, ya bir sonraki serker evresini oluşturacak olan kız rediler üretir, ya da doğrudan serkerler geliştirir (Şekil 5). Bu gelişme dönemleri sümüklünün sindirim bezlerine ait dokularda olur (Khan, 1991).

Burgu (1980), *P. planorbis*'lerde olgun *P. cervi* sporokistlerine enfeksiyondan sonra en erken 12. günde rastlamış, bir sporokist içinde farinks ve bağırsağı belirlenebilen 11 adet redi sayılmıştır.

Vorster ve Mapham (2012), redilerin sümüklüde 14. günden itibaren, kız redilerin ise 20-28. günler arasında geliştiğini bildirmişlerdir.

Burgu (1980), sporokistlerden serbest kalan redilere en erken enfeksiyondan 12-13 gün sonra rastlandığını bildirmiştir. Genç redilerde farinks ve bağırsak belirgin olup içlerinde serker ve kız redileri meydana getirecek embriyo yumakları bulunmaktadır. Redilerde doğum deliklerinin belirgin hale gelmesi için 1 hafta süre gerektiği bildirilmiştir. Gerek genç, gerekse serker gelişmeye başlayan olgun redilere *P. planorbis*'lerin bağırsağı çevresinde, hepatopankreas ve manto dokusunda rastlanmıştır. Çalışmada değişik aylarda yapılan *P. planorbis* enfeksiyonlarında kız redilere normal serker oluşumuna oranla daha seyrek rastlanmıştır. Kız rediler enfeksiyonun 40. gününden itibaren gözlenmiş ve oluşumlarında mevsimsel faktörlerden çok sümüklüdeki lokalizasyonun rol oynadığı görülmüştür. Kız rediler daha çok manto dokusunun lateral kısmında gelişen redilerde meydana gelmiş ve bunlar sümüklülerin ilk dış halkasında diseksiyondan evvel kolaylıkla tanımlanabilmiştir.

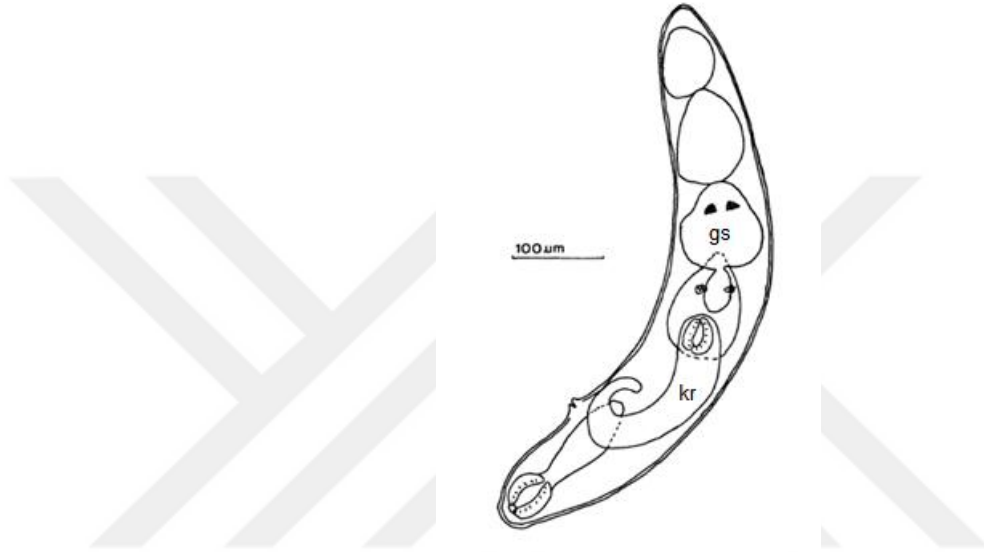
Sey (1982), ilk redilerin enfeksiyondan sonra 13-15. günlerde ortaya çıktığını bildirmiştir. Genç bir redinin uzunluğu 150-230 µm ve genişliği 70-180 µm olarak ölçülmüştür. Daha ileri gelişme aşamalarında önemli derecede büyüyerek serker salınımı başladığında maksimum boyutuna ulaştığı görülmüştür. İlk olgun redi, salınımlarından sonra 15. günde fark edilir ve ölçüleri 70-110 x 200-250 µm'dir.

Redilerin içyapılarında sindirim, sinir, boşaltım sistemi ve germinal doku fark edilebilir. Sindirim sistemi ağız, yutak, özofagus ve ikiye ayrılmamış bir bağırsaktan oluşur. Ağız küçük bir açıklık şeklinde olup arkasında 30-50 x 38-50 µm ölçülerinde kaslı bir yutak bulunur. Tükrük bezi ile çevrili özofagus kısa ve 15-20 µm uzunluğunda olup bağırsağı açılır. Bağırsak 75-125 µm uzunluğunda ve 50-80 µm genişliğindedir.

Merkezi sinir sistemi özofagus hizasında yerleşmiş ve mirasidyumunkine çok benzerdir. Boşaltım sistemi 3 çift alev hücresinden oluşur ve hemen hemen vücut ortasında birleşen kanalları küçük ortak bir boşaltım kesesiyle dışarıya açılır.

Germinal epitel, germinal hücreler ve embriyo yumaklarından oluşan üreme sistemi genç redinin arka yarımında yerleşmiştir. Embriyo yumakları aşama aşama gelişerek serkerleri oluşturur.

Doğum deliği, genç serkerler vücudun ön yarımında toplanmaya başladıktan sonra öne doğru çıkmaya başlar. Vücudun ön ucundan uzaklığı 300-320 μm 'dir. Yaklaşık 50 gün içinde yaşlanma belirtileri (kirli gri ve koyu benekler bulunması, vücut boşluğunun boşalması) fark edilir ve redi yavaş yavaş ölür (Sey, 1982).



Şekil 5. *Helisoma trivolvis*'in sindirim bezinden alınmış *Paramphistomum* sp. redisi (Snider, 1985'den uyarlanmıştır) **kr**: kız redi, **gs**: genç serker.

Jonathan (1952), *C. ijimai*'nin yaşam çemberiyle ilgili yürüttüğü çalışmasında redi ölçülerinin 58-281 x 172-1013 μm arasında değiştiğini yazmıştır. Rediler silindirik olup sporokistten serbest kaldıktan sonra, sporokiste çok yakın olarak sindirim tubüllerinde gelişmektedir. Ağız, sıklıkla turuncu renkli besinlerle dolu üçgen şeklinde göze çarpan bir bağırsağa ulaşan dairesel bir yutağa açılır. Bağırsak duvarını yaklaşık 48 büyük hücre oluşturur. Bağırsak yandan parankim hücreleriyle desteklenir. Bağırsak farklı gelişim aşamalarındaki emriyolarla dolu vücut boşluğunda bulunur. Tek bir redi içerisinde 15 ayrı embriyo sayılmıştır, ek olarak daha az gelişmiş 3-5 embriyo vücut boşluğunun arka ucuna yakın toplanmıştır. Çok daha fazla gelişmiş serkerler ön uçta, bağırsağın hemen arkasında transversal olarak yerleşmiştir. Dikkat çeken uzunlamasına bir kanal boşaltım sisteminin ana parçasını oluşturur. Kanala alev hücrelerinde sonlanan kollar bağlanmıştır. 5 çift alev hücresi simetrik olarak gözüktür. Boşaltım

sistemi arka 1/3'teki birleşime açılır. Boşaltım vezikülü düzenli olarak kasılır. Serkerler ön uçtan, uzunluğun 1/3 mesafesinde yerleşen doğum deliğinden serbest kalır. Rediler konak dokusu boyunca dalga şeklindeki kuvvetli kasılmalarla hareket edebilirler.

Durie (1953), bir grup sümüklü içindeki redilerde serkerlerle birlikte kız redilerin geliştiğini gözlemlemiş ve kız redi oluşumu hakkında şu bilgileri vermiştir: Kız redilerin bazıları enfeksiyondan sonraki 22 günde oldukça gelişmiştir. Ana redide herhangi bir zamanda 1 ile 3 kız redi gözlenmiş ve varlıkları sadece serker içeren redilerin gözlendiği enfeksiyondan sonraki 24 günden daha uzun devam etmemiştir. Yazar bu sümüklü grubunda kız redi üretiminin iki muhtemel nedene bağlı olabileceğini bildirmiştir. İlk olarak sümüklülerin barındığı akvaryum sıcaklığı bilinmeyen bir süre, muhtemelen 2 gün, 27 °C'den 20 °C'ye düşmüştür. Kız redi üretimi bundan sonra bir ısı veya şok etkisiyle meydana gelmiş olabilir. Diğer taraftan bol gıda bulabilen ve tek bir mirasidyum ile enfekte olmuş bir sümüklünün teorik olarak beklenenden 7 kat fazla serker üretebildiği yazar tarafından kanıtlanmıştır. Böyle yüksek sayıda serker çıktısı sadece kız redi formasyonu ile açıklanabilir. Böylece iyi beslenen bir konakta kız rediler bu trematodun hayat siklusunda normal olarak da yer bulabilmektedir. Aynı ana redi içinde en gelişmiş serkerler 82 x 216 µm boyutlarında iken kız rediler 80 x 220 µm ölçüsündedirler. Onlar gelişmekte olan beyazımsı-gri renkli serkerden sarımsı rengiyle ayırt edilebilir. Onlar ana redi içinde aktif uzama ve kasılma hareketleriyle çok fazla aktivite sergilerken serkerler bu aşamada görece pasiftirler. Ek olarak kız rediler daha gelişmiş bir bağırsağa sahiptir ve onların 3 çift alev hücresi belirgindir.

Dreyfuss ve ark. (2008), 24 °C' de 50. günde sporokistlerin sayısını enfekte sümüklüde gelişen 1. ve 2. nesil redileri sayarak tespit etmek için *G. truncatula*'ları *C. daubneyi* ile deneysel olarak enfekte etmiştir. Salyangozlar bireysel olarak 1, 2, 3, 4 ve 5 adet mirasidyuma maruz bırakılmış ve 1. nesil redilerin sayısı 1 mirasidyumla enfekte salyangozdan 5 mirasidyumla enfekte olana doğru artış (ort. 6,7'den 26,1'e) gösterirken 2. nesil redilerin sayısı azalma (sırasıyla 6,2'den 0,9'a) göstermiştir.

Serker

Paramphistomum serkerleri vücudun arka ucuna yerleşmiş büyük bir arka çekmene sahip amphistom tip serkerdir. Ağız çekmeni küçük, vücut büyük ve kuyruk sadedir, ana boşaltım kanalında yuvarlak, ışığı kıran boşaltım maddeleri (konkrement) vardır (Kamel ve Burgu, 1986).

Serkerler redilerden doğar ve sümüklü içerisinde 10 günlük bir olgunlaşma periyodu geçirirler. Bu serkerler 2 göz lekesine, pigmentasyona ve ruminant Paramphistomlarının tipik özelliği olan ana boşaltım kanallarına sahiptirler (Sey, 1982).

Vorster ve Mapham (2012) tarafından serkerlerin rediler içinde 30. günden itibaren gelişmeye başladığı ve 43-48. günler arasında olgunlaştığı, 2, 3 ve 4. redi jenerasyonlarındaki gelişiminin ilk jenerasyondakine benzerlik gösterdiği bildirilmiştir.

Burgu (1980), redilerden serbest kalan tam gelişmemiş genç serkerlere sümüklü dokusunda en erken 24 gün sonra rastlandığını bildirmiştir. Bir hafta içinde serkerlerin büyüklüklerinin arttığı, kuyruğun uzadığı ve pigmentasyonun sıralar veya dalgalar halinde tüm vücudu kapladığı görülmüştür. Çalışmada enfekte *P. planorbis*'ler serker çıkarmaya enfeksiyondan 35 gün sonra başlamışlardır. Olgun serkerler koyu pigmentli olmalarından ötürü stereo mikroskop altında diseksiyondan evvel kolayca tanımlanabilmişlerdir. Olgun serkerlerde karakteristik bir çift göz lekesi ve kuyruk etrafında saydam bir kılıf bulunmaktadır. Olgun serkerlerde vücut 300-480 µm uzunlukta ve 180-325 µm genişlikte, kuyruk ise 425-510 µm uzunlukta ve 75-80 µm genişlikte ölçülmüştür.

Sey (1982), serkerlerin doğduklarında zayıf olduklarını, ilk serbest serkerin enfeksiyondan 30-37 gün sonra gözlendiğini belirtmiştir. Uzunluğu 250-375 µm, kuyruk uzunluğu 100-125 µm ve genişliği 75-80 µm olarak ölçülmüştür. Göz lekeleri daha redi içindeyken bile görülebilir durumdadır. İlk olgun serkerin ise enfeksiyondan sonra 45-55. günler arasında geliştiği bildirilmiştir. Bunlar koyu kahverengi ve hızlı yüzen organizmalar olup vücut ölçüleri 300-340 x 200-325 µm, kuyruk ölçüleri 400-500 x 65-75 µm'dir.

Vücutları, kist duvarını salgılayan geniş yapılı ve çekirdekli kistojen hücrelerle dolu ve çomak şekilli uzantılara sahip tegümentle örtülüdür. Bu çomaklar vücudu opak yapar, dağınık pigment granülleri vücuda kahverengi rengini verir. Konik şekilli bir çift göz lekesi, olgun serkerin dorsal yüzeyine yerleşmiştir. Yaşayan örneklerde 95-110 x 90-110 µm ölçülerindeki asetabulum arka uçta, ventral vücut yüzeyine yerleşmiştir.

Serkerin içyapısı, sindirim sistemi (farinks, özofagus, bağırsaklar), boşaltım sistemi (alev hücreleri, çıkan ve inen boşaltım kanalları, arka boşaltım kanalı ve kesesi) sinir sistemi ve üreme sisteminin taslaklarından oluşur (Şekil 6a,b). Vücudun opaklığı sebebiyle alev hücrelerinin sayısı kesin olarak tespit edilememiştir. 25 çifti boşaltım

deliğinden yukarıdaki bölgede, 2 çifti bunun gerisinde olmak üzere kuyruk boyunca duyu papillaları gözlenebilir (Sey, 1982).



Şekil 6. Serker a) *C. daubneyi* serkeri (Iglesias-Piñero ve ark., 2016'dan uyarlanmıştır), b) Ana boşaltım kanalının görüldüğü *Paramphistomum* sp. serkeri (Sanabria ve Romero, 2008'dan uyarlanmıştır)

Kamel ve Burgu (1986), Eskişehir Çifteler Harasında *Paramphistomum* serkerleri ile enfekte *G. laevis*'lerle ilgili yürüttükleri çalışmalarında, serkerlerin redilerden salındığında olgunlaşmamış durumda olduğunu ve serbest kalmadan önce salyangoz dokusunda gelişimlerine bir süre devam ettiğini bildirmiştir. Çalışmada muayene edilen olgun serkerler koyu kahveden siyaha değişen renkte ve 2 belirgin göz lekese sahiptir. Göz lekeleri serkerler redi içerisindeyken görülebilir. Olgun serkerler güçlü bir şekilde yüzmekte ve vücutları kasılıp gevşeme hareketi yapmaktadır. Arka ucu ön ucundan daha geniş armut şeklinde bir vücuda sahiptir.

Olgunlaşmış serkerler iri, vücut uzunluğu 350-480 µm ve genişliği 200-350 µm olarak ölçülmüştür. Kuyruk 400-500 µm uzunluğunda ve 70-80 µm genişliğindedir. Kuvvetli ışık ile uyarıldığında daima 30 dakika içinde parazitlendiği sümüklüden ortaya çıktığı bildirilmiştir. Serbest kalan serkerin, çoğunlukla petri kutusunun yanında ve nadiren tabanda uygun bir yüzey seçip kistlenmeden önce 10-30 dakika aktif kaldığı ve arka çekmeniyle tutunduğu gözlenmiştir. Daha sonra kistojen maddelerin vücut etrafında ortaya çıktığı ve kist duvarının şekillendiği tespit edilmiştir. Kuyruk daha az

sıkı tutunmuş hale gelerek 20-30 dakika içinde metaserkerin yarımküre şekline dönüştüğü ve kalın bir kist duvarı tabakasıyla çevrelendiği gözlenmiştir. Metaserkerler 200-250 µm çapında olup rengi zamanla koyulaşarak siyaha dönüşür (Kamel ve Burgu, 1986).

Jonathan (1952), çalışmasında *C. ijimai* serkeriyle ilgili şu bilgileri vermiştir: Esnediğinde serkerin vucudu genişliğinden 1,5 kat daha uzundur, serker kasıldığında bile aralarındaki bu orantı korunmaktadır. Şeffaf tegümentten görünen çizgilenmeler boyunca koyu kahverengi granüller düzensiz olarak yerleşmiştir. Açık kahverengi kistojen hücreler olgunlaşmış serkerlerde tamamen, olgunlaşmamış serkerlerde kısmen belirsizdir. Serkerler redilerden serbest kaldığında dağınık pigmentler uzun kenarda, merkezde toplanmış göz lekeleriyle ışınal yay oluşturacak şekilde uzar ve kuyruk kısa bir kök halindedir. Serker olgunlaştığında pigmentler, anterodorsal olarak yerleşmiş böbrek şekilli iki göz lekeli halinde yoğunlaşmaya başlar ve kuyruk uzun ve hareketli hale gelir. Kuyruk açık ve şeffaftır, 275 µm uzunluğundaki vücuda kıyasla 344 µm uzunluğundadır. Büyük ve kaslı asetabulum, normal dinlenme durumundaki bir serkerin vücut uzunluğunun yaklaşık dörtte birini kaplar. Ağız bir önyutak oluşturan belirgin hücrelerle çevrelenmiştir. Olgunlaşmamış serkerlerde bu önyutak objelere çok sıkı tutunmayı sağlayan bir ön çekmen olarak kullanılır. Önyutak kısa bir özofagusa açılan iyi gelişmiş bir yutağa dönüşür. Beslenme kanalı ön uçtan vücut uzunluğunun üçte biri kadar mesafede, asetabulumun ön kısmında kör uçla sonlanan iki dala ayrılır. Boşaltım sistemi boşaltım granülleriyle dolu iki belirgin kanala açılan birkaç alev hücresinden oluşur. Anterior ucun en uzak noktasından başlayan kanallar, boşaltım vezikülüne dik açıyla dönmeden önce, asetabulumun ortası hizasındaki bir noktaya kadar posterior olarak devam eder. Boşaltım maddeleri vezikülden asetabulumun alt ortasından kanalın ikiye ayrıldığı ve aynı anda sadece bir tanesinin işlev gördüğü iki açıklık yoluyla akıttığı kuyruğun posterior ucuna yakın bir noktaya kadar uzayan ana boşaltım kanalına dökülür. Bir transversal kanal, iki uzunlamasına kanalı bağırsakların ikiye ayrıldığı noktada posterior olarak birleştirir. Olgunlaşmamış serkerlerde 3 veya 4 koyu lekeli bir grup hücre, enine boşaltım kanalı ve asetabulum arasında bazen görülebilir durumdadır. Serkerin hareketi kuyruğun kamçı hareketinin eşlik ettiği tipik, keskin, bükülmeli kasılmalardır. Ek olarak, serker posterior asetabulum ve anterior prefarinksi dönüşümlü olarak kullanarak bir döngü hareketi sağlar. Serkerler gelişirken ağız açıklığını geniş

tutarak, gıdaları sümüklünün (*Planorbis kahuika*) karaciğer hücrelerinden emerek dinamik bir şekilde beslenir. Olgunlaşmış serkerler manto boşluğunun yakınında sindirim bezlerinin açıkta kalan kısmından çıkarken gözlenmiş ve bunlar kistlenmemelerine rağmen 2,5 saat aktif olarak kalmışlardır.

Swart ve Reinecke (1962), 40 wattlık sarı ışık altında günlük ortalama serker çıkışı 41 adet iken uyarıcı olarak 300 wattlık ultraviyole lamba kullanıldığında bu sayının 124'e çıkabildiğini bildirmiştir.

Rondelaud ve ark. (2013), patent periyot boyunca su sıcaklığındaki değişikliklerin serker çıkışı üzerindeki etkisini araştırmak için *G.truncatula* popülasyonlarını *Fasciola hepatica* ve *Calicophoron daubneyi* ile deneysel olarak enfekte etmiştir. Deneysel grupta ortam sıcaklığı haftada 3 saat, ortalama 12 °C'ye düşürülmüş, haftanın kalan zamanlarda 20 °C'de tutulmuştur. Sonuçlar aynı koşullarda fakat daima 20 °C'de tutulan kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Kontrol grubuyla kıyaslandığında, ortam sıcaklığı değiştirilen sümüklülerde digenik enfeksiyonun tipine bakılmaksızın, serker çıkaran sümüklülerin sayısında önemli bir artış, patent dönemde kayda değer bir uzama ve önemli ölçüde daha fazla serker üretimi dikkat çekmiştir. Buna karşın tamamen şekillenmemiş metaserkerlerin sayısının kontrol grubundan önemli derece fazla olduğu gözlenmiştir.

Bazı enfekte sümüklüler 1 yıllık bir periyot boyunca serker çıkarmaya devam edebilirler (Vorster ve Mapham, 2012). Buna karşın Burgu (1980) *P. planorbis*'lerin laboratuvarında serker çıkarmaya 13 aydan daha uzun süre devam ettiklerini, bazı sümüklülerin ise 11. aydan sonra enfeksiyondan arındığını bildirmiştir. Swart ve Reinecke (1962) serker çıkışı için uyarıcı olarak 40 wattlık sarı ışık kullanıldığında salyangozların 10 aylık bir periyod içinde öldüğünü kaydetmiştir.

Bunlara ek olarak *P. cervi*'nin arakonaktaki (*P. planorbis*) larval aşamaları, kışı uykuda geçirebilmektedir. Nitekim Sey (1982), endemik bölge olan Macaristan-Gemenc'te önceki yıl doğan ve 1975 yılı Nisan Ayı sonunda incelenen *P. planorbis*'lerin %11,9'unun tam gelişmiş serker taşıdığını gözlemlemiştir.

2.3.3. Metaserker

Serkerler sümüklüyü terkeder ve suya ulaşır. Sonra yapışacağı ve yenildiğinde ruminantlar için enfektif dönem olan metaserker evresini oluşturacak kist gelişimini başlatacağı su altı vejetasyonuna ulaşana kadar yüzer. Kist gelişiminin oluşum süreci

yaklaşık 20 dakika sürer (Horak, 1971). Serkerler onları, otlar üzerinde hızlıca kistlenecekleri yüzeye yönelten ışığa doğru (fotoreseptif) ve ters yere yönelimli (geonegative) bir yüzme eğilimi gösterirler (Khan, 1991).

Burgu (1982), yan ve dip kısımları sırasıyla turuncu, koyu kahverengi, açık mavi, sarı, siyah, koyu mavi, açık yeşil, açık kahverengi, kırmızı, koyu yeşil ve beyaz renklere boyanmış petri kutularında *P. cervi* serkerlerinin özellikle sarı, turuncu, açık yeşil ve koyu yeşil renklere giderek kistlendikleri bildirmiştir. Metaserkerlerin bu renk gruplarındaki dağılım oranları sırasıyla %43,95±3,47; 23,19± 2,1; 16,87 ±1,76 ve 12,36 ±1,85 bulunmuştur. Tüm denemelerdeki toplam 620 metaserkerin 541'inin (%87,25) boyalı petri kutularının yan yüzeylerinde, 79'unun (%12,74) dip kısımda bulunduğu gözlenmiştir.

Durie de (1953) *P. ichikawai* serkerlerinin *C. streptocoelium* serkerlerine benzer şekilde yeşil, kırmızı ve maviye değil sarı renge ilgi duyduklarını bildirmiştir.

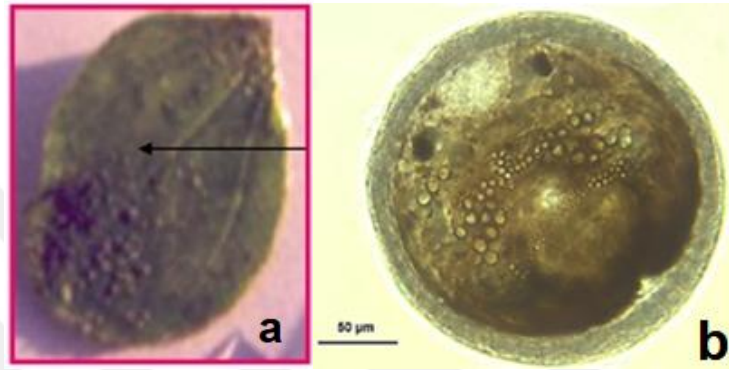
Oluşan metaserkerler nemli çevresel koşullar altında en azından 29 gün hayatta kalma yeteneğine sahiptir (Lengy, 1960). Vorster ve Mapham (2012), nemli ve serin ortamda metaserkerlerin 2 ay canlı kalabildiğini, fakat kurur veya tamamen suya gömülürlerse öldüklerini bildirmiştir. Arakonaktaki prepatent süre 28 °C'de 37 gün sürer (Lengy, 1960), fakat nem, sıcaklık, sümüklünün cinsi, sümüklünün savunma yanıtı ve parazitin bu yanıtın kaçınma mekanizmaları gibi sümüklü ve parazit arasındaki etkileşime bağlı olarak varyasyonlar görülebilir. Kontrollü laboratuvar koşulları altında *Lymnaea viatrix*'de prepatent süre 22 °C' de 62 gündür (Sanabria, 2008).

Burgu (1980), sümüklüyü terk eden serkerlerin yan ve dip kısımları naylonla kaplanan petri kutusunda 25-30 dakika içinde naylon üzerinde kistlendiğini ve metaserker haline geçtiğini belirtmiştir. Metaserkerlerin yarımküre biçiminde ve kalın bir kist tabakasıyla çevrildiği görülmüştür. Metaserkerler 210-255 µm çapında ölçülmüştür. Buzdolabında ıslak filtre kâğıtları arasında saklanan metaserkerlerin 1/5'inin 6 ay kadar canlılığını koruduğu, ölümlerin 2. aydan sonra başladığı gözlenmiştir.

Sey (1982), metaserkerlerin küresel şekilli ve 180-250 µm çapında olduğunu bildirmiştir. Çevresel faktörler arasında ışık kuvvetinin en önemli etken olduğunu ve düşük ısılarda (4-8 °C) metaserkerin ömrünün 2-3 ay sürdüğünü belirtmiştir.

Jonathan (1952), *C. ijimai* metaserkerlerinin yuvarlak ve yaklaşık 233-239 µm çapında olduğunu beyan etmiştir. Metaserkerin alt kenarı yassı ve yuvarlaktır. Yüzeysel

taçlı ve ayrıldığında uçları aşağıya bükülmüş şekilde dar kenarlıdır. Kist duvarı şeffaftır. Serkerin anatomisini gizleyen yarı saydam pigmentli bir tabaka metaserkeri çevreler. Ön çekmen ve asetabulum görünür vaziyettedir ve boşaltım tüpleri bellidir (Şekil 7a,b). Metaserkerler enfekte *P. kahuika*'ların tutulduğu cam kabın kenarına tutunmuş olarak bulunmuş ve 2 enfekte sümüklüden 50 saatlik bir periyotta sırasıyla 37 ve 21 seker çıkışı tespit edilmiştir. Ancak bunlar bir koyuna yedirildiğinde enfeksiyonla sonuçlanmamıştır.



Şekil 7. Metaserker **a)** Yaprak üzerindeki *P.epiclatum* metaserkeri (Kaur ve ark, 2013'dan uyarlanmıştır)
b) Serbest *C.daubneyi* metaserkeri (Iglesias-Piñero ve ark., 2016'dan uyarlanmıştır)

Sümüklü büyüklüğü arttıkça enfeksiyonlara direnç geliştirmekte, ancak maruz kalınan mirasidyum sayısına bağlı olarak kısmen değişmekle birlikte, enfeksiyon olursa serker gelişme oranı artmaktadır. Nitekim Vignoles ve ark. (2008), düzenli aralıklarla diseke edilen sümüklülerde larval gelişme dinamiklerini incelemek ve metaserker üretiminin artıp artmayacağını saptamak amacıyla 24 °C'de *G.truncatula*'ları *C. daubneyi* ile deneysel olarak enfekte etmişlerdir. Bu amaçla 4, 5, 6 ve 7 mm kabuk yüksekliğine sahip sümüklüler kullanılmıştır. 6-7 mm kabuk yüksekliğine sahip sümüklülerde diğer iki gruba göre toplam metaserker sayısının önemli ölçüde yüksek olduğu ve maruziyetten sonra 4-5 mm'lik grupta 40 gün olan ilk kistlenme süresi, 6-7 mm'lik grupta daha kısa olup 35 gün olarak saptanmıştır. Mirasidyuma maruz bırakıldıktan 30 gün sonra sümüklülerin hayatta kalma oranı 4 mm'lik grupta %66,6; 6'mm'lik grupta %77,6 olarak saptanmıştır. *C. daubneyi* ile enfeksiyon oranı 4 mm'lik grupta %76,9; 5 mm'lik grupta %65,7; 6' mm'lik grupta %52 ve 7'mm'lik grupta ise %41,6'dır. Mirasidyuma maruz bırakıldıktan 30 gün sonra,

6 mm'lik kabuk yüksekliğine sahip *G. truncatula*'lardan 2 mirasidyumla enfekte edilenlerin hayatta kalma oranı %71; 3 mirasidyumla enfekte edilenlerin grupta %61,5; 5 mirasidyumla enfekte edilen grupta %52,5'tir. İki mirasidyumla enfekte edilen grupta enfeksiyon oranı %54,9; üç mirasidyumla enfekte edilen grupta %66,6 ve beş mirasidyumla enfekte edilen grupta ise %81,9 olarak belirlenmiştir.

2.3.4. Kesin Konakta Gelişim

Metaserkerler sindirim kanalına ulaştınca rumen sıvısı, HCl, tripsin, alkali bir ortam ve safra tuzları ile temas ederek kistten çıkarlar. Genç parazit, genellikle duodenumun ilk 1/3'lük kısmında metaserkeri terk eder ve arka çekmeni ile bağırsak müköz membranına tutunur (Vorster ve Mapham, 2012), hücresel döküntü ile beslenerek ergin aşamaya ulaşacağı ve ruminal sıvı içerisinde canlı kalarak yaşayacağı rumene göç eder (Sanabria, 2008). Rumene göç 15-57 günler arasında olur (Vorster ve Mapham, 2012). Prepatent süre Horak (1967) tarafından *P. microbothrium* için sığırlarda 56, keçilerde 69 ve koyunlarda 71 gün olarak bildirilmiştir. Buna göre küçük ruminantlarda göç ve olgunlaşma süresi sığırlardan daha yavaştır. Koyun ve keçilere göre, sığırlarda daha iyi bir konak parazit ilişkisi olduğu söylenebilir (Sanabria ve Romero, 2008).

Vorster ve Mapham (2012), erişkin parazitlerin, metaserkerlerle enfekte edildikten sonra buzağılarda 56, koyunlarda 70 gün sonra yumurta çıkarmaya başladıklarını, yumurtadan yumurtlamaya tam bir hayat döngüsünün koyunlarda en az 110 ve sığırlarda 132 gün sürdüğünü bildirmişlerdir.

Hafif bir enfeksiyonda genç parazitler 4-6 hafta içinde rumene göç ederler ve normalde klinik belirti gözlenmez. Yumurta üretimi, parazit rumene girdikten kısa bir süre sonra başlar. Ağır enfeksiyonlarda genç parazitlerin gelişimi yavaşlar ve ince bağırsaklarda 4 ay daha kalabilirler ve ince bağırsak örtüsünde tahribatla bağlantılı ciddi bir hastalığa neden olurlar. Ciddi bir hastalıkta ince bağırsakta 72.000' den fazla genç trematod bulunabilir (Lloyd ve ark., 2007).

Burgu (1980), 15 kuzuyu 1000 adet *P. cervi* metaserkeri ile enfekte etmiş, fakat bu dozda hiçbir klinik semptomu rastlanmamıştır. Enfekte koyunlarda prepatent süre 102-142 gün olarak saptanmıştır. Yukarıda bildirilen sayıda metaserker verilen koyunların prepatent süre sonunda 1 hafta içinde nekropsisi yapılmış ve parazitlere

başlıca rumen ve daha az olarak retikulum ve omasumda rastlanmış, abomasum ve ince bağırsaklarda ise bu trematodlar görülmemiştir.

Sey (1982), *P. cervi*'nin prepatent süresini saptamak için 7 aylık bir karacayı 2000 adet 2 haftalık yaştaki metaserker ile enfekte etmiştir. Dışkı örnekleri düzenli olarak kontrol edilmiş ve ilk yumurtalar enfeksiyondan sonra 85. günde bulunmuştur.

2.4. Morfoloji

2.4.1. Genel Morfoloji

Amphistomların vücudu uzun, konik, silindirik ve dorsoventral yassılaştırılmış olabilir. Bazı türlerde vücut silindirik bir ön ve iyi gelişmiş bir ventral çekmenle (asetabulum) oldukça genişlemiş bir arka kısım olmak üzere 2 parça halinde olabilir. Evcil ruminantlarda görülen türlerin boyutları çok farklı olup, uzunluğu 3-20 mm ve genişliği 1,5-7 mm arasında değişebilir. Canlı bir amphistom pembeden kırmızıya değişen renkte gözükürken, bazı türlerde renk biraz daha koyu olabilir (Tandon ve ark. 2014).

Kuvvetli bir kassal organ olan ventral çekmen veya asetabulum vücudun arka ucuna veya yakınına yerleşmiştir. Pozisyonu ventralden daha çok terminal veya subterminaldir. Amphistomların sindirim sistemi ağız, yutak, özofagus ve ikiye ayrılmış sekumlardan oluşur. Ağız ön uçta dairesel bir açıklıktır. Yutak ön kısımda yerleşen küresel bir kassal organdır. İğ şeklindeki yutak boşluğuyla terminal veya subterminal yerleşimli olabilir. Yutak yalın olabildiği gibi dudak büzücüsü, yutağın arka ucundan yutak bulbusuyla ilişkisi olmaksızın çıkan birincil keseler, yutak bulbusu ve bundan köken alan ve birincil yutak keselerinin karşısında yerleşen, her iki tarafta birer tane bir çift ikincil kese gibi yapılar bulunabilir. Sadece Gastrodiscidae ve Brumptidae ailelerinde gözlenen yutak bulbusu yutağın arka bölgesinde yerleşen ve ondan bir daraltıyla ayrılan kassal yapıda ve enine uzamış organdır (Jones, 2005a). Distalinde iki bağırsak sekumuna ayrılan özofagus, yutağın bazal bölgesinden çıkan ince bir tüptür. Düz veya bazı türlerde alt ucunda bir özofagus bulbusuna zemin hazırlayan "J" harfi şeklinde olabilir. Yanlardan arka uca doğru uzanan ve ön veya orta asetabulum bölgesinde kör olarak sonlanan sekumlar düz, dalgalı, kıvrımlı veya düğümlü olabilir (Tandon ve ark. 2014).

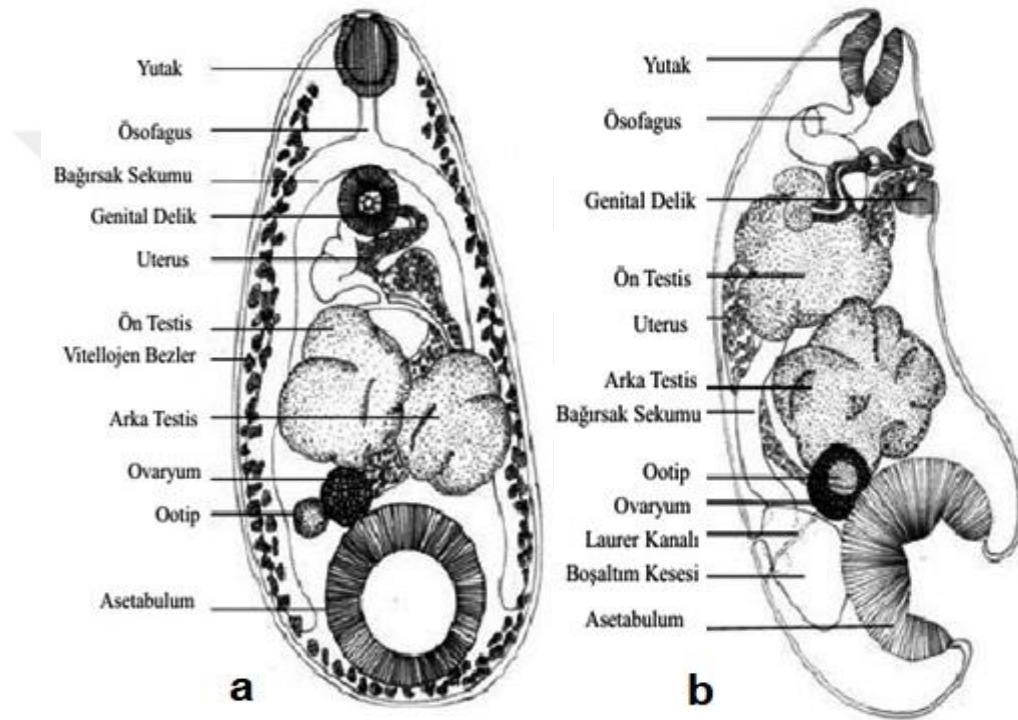
Boşaltım sistemi yanlarda, yutağın dışından başlayarak her biri kendi tarafındaki sekumları takip ederek uzanan iki ana boşaltım kanalından oluşur. Arka uçta

asetabulum dorsali veya anterodorsalinde iki ana kanal, boşaltım kesesini oluşturmak için içeriye doğru bükülür. Boşaltım kanallarının oluşturduğu kese orta hat üzerinde vücudun arka ucuna yakın dorsal yüzeye açılır. Açılma, kese önü, kese hizası ve keseden sonra olabilir (Tandon ve ark. 2014).

Üreme sistemi bu hermafrodit parazitlerde dişi ve erkek genital sistemlerinden oluşur. Erkek genital sistem testisler, vas efferensler, bir vas deferens ve bir ejakülatör kanaldan oluşur. Testisler nadiren bir, genellikle iki tanedir ve genellikle sekumların arasındadır fakat sekumlar üzerinde veya sekumların dışında da olabilir. Pozisyonları arka arkaya, çapraz veya yan yana olabilir, loblanma düz, sığ veya derin olabilir. Her bir testisten bir tane vas efferens doğar ve ön testisin karşısında iki vas efferens birleşerek vas deferensini oluşturur. Memelilerde parazitlenen amphistomların çoğu bir sirrus kesesine sahip değilken, aşağı sınıf omurgalıdakilerin çoğunda bu yapı mevcuttur (Tandon ve ark. 2014). Sirrus kesesi yoksa fonksiyonel olarak onun yerini lenf damarları içeren ve erektil dokudan oluşan bir genital papilla almıştır. Papilla tamamen dışarı çıktığında erkek ve dişi üreme kanallarının genellikle ayrı, fakat birbirine yakın açıldığı görülür. Papilla orta seviyede dışarı çıktığında bunlar birleşmiş görünürler. Sirrus kesesi mevcutsa iç ve dış seminal vezikül mevcut olup sirrus kesesi iç seminal vezikül, prostatik hücreler (pars prostatica) ve ejakülatör kanalı çevreler. Sirrus kesesi bulunmadığında vas deferens proksimalde ince duvarlı bir seminal vezikül, bunu takip eden kassal bölge (pars musculosa) ve distalde prostatik bölge (pars prostatica) olacak şekilde organize olmuştur. Brumptiidae ailesinde gözlenen hermafroditik kese pars seminalisin distali, pars musculosa ve pars prostatica ve uterusun son kısmını çevreler (Jones, 2005a) ve genital papilla ile dışarı açılır (Tandon ve ark., 2014).

Dişi genital sistemi ovaryum, yumurta kanalı, Mehlis bezleri, Laurer kanalı, vitellojen bezler ve kanalları, uterus ve metratermden oluşur. Ovaryum az veya çok küresel, genellikle testislerin arkasında ve asetabulumun önünde yer alır. Yumurta kanalı (ovidukt) ovaryumdan başlar, kısa bir serbest rotadan sonra Mehlis bez kompleksine açılır. Laurer kanalı, yumurta kanalının Mehlis bez kompleksine açıldığı yerden çıkar, daha sonra boşaltım deliğinin önünden veya arkasından vücudun dorsal yüzeyine açılır. Vitellojen bezler genellikle folikülerdir ve vücudun yan bölgelerinde yer alır. Ön ve arka uçlardaki yayılımları değişkendir. Mehlis bez kompleksi oviduktun

genişlemiş kısmını yani ootipi çevreleyen kompakt bir yapıdır. Ootip, her bir taraftan birer tane olmak üzere iki enine vitellin kanalın açıldığı yumurta sarısı haznesinden bir kanal alır. Uterus vücudun ön kısmına doğru uzanır ve metraterm adı verilen kassal ucu vasıtasıyla hermafroditik kanala açılır. Hermafroditik kanal, ejakülatör kanal ve metratermin birleşmesiyle oluşur ve genital papillanın ucundan dışarı açılır. Genital delik, sekumların bifurkasyon noktasının hemen altından orta hat üzerinde vücudun ventral yüzeyine açılır.



Şekil 8. Erişkin *Cotylophoron panamensis*, a) dorsalden, b) Lateralden görünüm (Martínez ve Trujillo, 2012'den uyarlanmıştır)

Paramphistomoidea üsttailesinde ruminantlarda parazitlenen türlerin bulunduğu önemli cinslerin morfolojik özellikleri ise şöyledir:

Cins: *Paramphistomum* (Fischoeder, 1901)

Vücut konik şekilli ve enine kesitlerde neredeyse yuvarlak olup ventral kese yoktur. Asetabulum subterminal yerleşimli olup boyutça orta büyüklüktedir. Farinks kese veya divertiküle, özofagus da bulbus veya arka büzücüye sahip değildir. Sekumlar vücudun yan taraflarında uzanır, kıvrımlı veya neredeyse düzdür. Testisler yuvarlak

veya loblanmış, arka arkaya veya hafif oblik pozisyonda yerleşmiştir. Seminal vezikül ince duvarlı ve kıvrımlı, pars muscosa kısa ve zayıf, pars prostatica orta derecede gelişmiştir ve sirrus kesesi yoktur. Ovaryum ve Mehlis bezleri testislerin gerisinde yerleşmiş, uterus önce testislerin dorsalinden daha sonra erkek üreme kanallarının altından ileriye doğru uzanmıştır. Laurer kanalı, boşaltım kanalını veya kesesini çaprazlar, yanlardaki vitellojen bezler dorsomedial olarak birleşir veya birleşmez. Genital çekmen yoktur. Örnek (tip) tür *Paramphistomum cervi*'dir (Eduardo, 1982).

Cins: *Calicophoron* (Naesmark, 1937)

Vücut konik şekilli, arka kısım ön taraftan daha geniş ve enine kesitlerde neredeyse yuvarlaktır, ventral kese yoktur. Asetabulum subterminal yerleşimli ve orta büyüklüktedir. Farinks kese veya divertiküle, özofagus da bulbus veya arka büzücüye sahip değildir. Vücudun yanlarında uzanan sekumlar genellikle kıvrımlıdır. Testisler loblu yapıda, arka arkaya veya hafif oblik arka arkaya veya yan yana yerleşmiştir. Seminal vezikül ince duvarlı ve kıvrımlı, pars muscosa kalın duvarlı, iyi gelişmiş ve kıvrımlı, pars prostatica orta veya iyi gelişmiştir, sirrus kesesi yoktur. Ovaryum ve Mehlis bezleri testislerin gerisinde bulunur, uterus önce testislerin dorsali ve sonra erkek üreme kanallarının altından ileriye doğru uzanır. Laurer kanalı boşaltım kesesi veya kanalını çaprazlar, yan taraflardaki vitellojen bezler dorsomedial birleşir veya birleşmez. Genital çekmen yoktur. Örnek tür *Calicophoron calicophorum*'dur (Eduardo, 1983).

Cins: *Cotylophoron* (Stiles ve Goldberger, 1910)

Vücut konik, neredeyse düz veya ventrale eğimli olabilir. Asetabulum subterminal, boyutça küçük veya orta büyüklüktedir. Ventral kese yoktur. Genital büzücüye sahip olabilen veya olmayan bir genital çekmen vardır. Farinks kesesi veya divertikülü yoktur. Özofagus bulbus veya posterior büzücüye sahip olabilir veya olmayabilir. Vücudun yan taraflarındaki sekalar dorsoventral kıvrımlara sahiptir. Kör uçlar dorsale dönüktür. Testisler lobludur, doğrusal veya oblik arka arkaya veya bitişik veya oblik yan yana yerleşmiştir. Seminal vezikül ince duvarlı ve derin sarmalanmış, pars muscosa iyi gelişmiş ve kıvrımlı, pars prostatica küçük ve zayıf gelişmiştir. Ovaryum ve Mehlis bezleri testislerin gerisine yerleşmiştir, uterus testislerin dorsalinden ve sonra erkek üreme kanallarının altından öne doğru uzanır. Laurer kanalı boşaltım kanalı veya kesesini çaprazlar. Yan taraftaki vitellojen bezler dorsomedial

olarak ön ve arka uçlarında birleşir veya birleşmez. Örnek tür *Cotylophoron cotylophorum*'dur (Eduardo, 1985a).

Cins: *Gigantocotyle* (Naesmark, 1937)

Vücut büyük ve konik, ventrale eğimli, enine kesitlerde neredeyse yuvarlaktır, ventral kese yoktur. Asetabulum subterminal ve çok büyüktür. Farinks kese veya divertiküle sahip değilken, özofagus bulbus veya arka büzücüye sahip olabilir veya olmayabilir. Sekumlar neredeyse düz veya kıvrımlı olabilir, asetabulum bölgesine kadar ulaşabilir. Testisler loblu veya dış girintili olabilir, doğrusal veya oblik arka arkaya veya bitişik ya da oblik yan yana pozisyonda olabilir. Seminal vezikül uzun, derin sarmalanmış ve ince duvarlı, pars musculosa iyi gelişmiş, kalın duvarlı ve kıvrımlı, pars prostatica iyi gelişmiş yapıdadır. Ovaryum ve Mehlis bezleri testis gerisine yerleşmiştir, Laurer kanalı boşaltım kesesini veya kanalını çaprazlar. Yan taraflardaki vitellojen bezler ön ve arka uçlarında dorsomedial olarak birleşebilir veya birleşmez. Genital çekmen yoktur. Çift turnaklıların mide ve ince bağırsaklarında parazitlenirler. Örnek tür *Gigantocotyle gigantocotyle*'dir (Eduardo, 1984).

Cins: *Explanatum* (Fukui, 1929)

Vücut küçükten büyüğe değişen konik yapıda, ventrale eğimli, enine kesitleri yuvarlaktan ovale değişir ve ventral kese yoktur. Asetabulum çok büyük ve subterminaldir. Farinks kese veya divertiküle, özofagus bulbus veya arka büzücüye sahip değildir. Vücudun yan taraflarında bulunan sekumlar düz veya kıvrımlı olabilir ve asetabulum hizasına ulaşır. Testisler loblu, doğrusal veya oblik arka arkaya pozisyondadır. Seminal vezikül uzun, ince duvarlı ve derin sarmalanmış, pars musculosa çok kısa ve zayıf gelişmiş, pars prostatica zayıf veya orta gelişmiştir. Ovaryum ve Mehlis bezleri testislerin gerisine yerleşmiştir. Laurer kanalı, boşaltım kanalı veya kesesini çaprazlar. Yanlardaki vitellojen bezler ön ve arka uçlarda dorsomedial olarak birleşmez. Genital çekmen yoktur. Ruminantların karaciğer ve safra kanallarında parazitlenirler. Örnek tür *Explanatum explanatum*'dur (Eduardo, 1984).

Cins: *Orthocoelium* (Stiles ve Goldberger, 1910)

Vücut konik şekilli, enine kesitlerde neredeyse yuvarlak, boyutça küçük veya orta büyüklükte ve ventral kese yoktur. Asetabulum küçük, subterminal veya terminaldir. Farinks kese veya divertiküle sahip değildir, özofagusta bulbus veya arka

büzücü olabilir veya olmayabilir. Sekumlar yan taraflarda düz veya dalgalı seyreder. Testisler loblu veya loblanmamış olabilir, düz veya hafif oblik şekilde arka arkaya yerleşmiştir. Seminal vezikül ince duvarlı ve sarmalanmış, pars musculosa iyi gelişmiş ve kıvrımlıdır. Pars prostatica kısa veya uzun olabilir, sirrus kesesi yoktur. Ovaryum ve Mehlis bezleri testis gerisinde yerleşmiştir. Uterus testislerin dorsalinden daha sonra erkek üreme kanallarının altından öne doğru uzanır. Vitellojen bezler yan taraflardadır, Laurer kanalı boşaltım kesesi veya kanalını çaprazlamaz. Genital çekmen yoktur. Örnek tür *Orthocoelium orthocoelium*'dur (Eduardo,1985b).

Cins: *Bilatorchis* (Eduardo, 1980)

Vücut oval-uzun, enine kesitlerde neredeyse yuvarlaktır. Asetabulum subterminal olup *Nilocotyle* tiptir. Yutak az gelişmiş orta sirküler birimleriyle *Paramphistomum* tiptir. Özofagus kassal genişleme göstermez, arkada dorso-ventral kıvrımlı sekumlar testislerin ön ucu seviyesinde kör uçları ventrala dönük sonlanır. Testisler vücudun son 1/3 'lük kısmında, yanlarda simetrik, sekumların sonunda ve asetabulumun ön-yanlarında (antero-lateral) yerleşiktir. Pars prostatica ve pars musculosa iyi teşekkül etmiş ve uzundur. Ovaryum ve Mehlis bezleri testislerin ve sekumların arasındadır. Vitellin bezler yanlarda özofagusun ikiye ayrıldığı yerden testislerin ön sınırına kadar uzanır. Genital açıklık *Papillogenitalis* tiptir. Laurer kanalı boşaltım kanalı veya kesesini çaprazlamaz. Tip ve tek türü *Bilatorchis papillogenitalis*'tir (Eduardo, 1980b).

Cins: *Leiperocotyle* (Eduardo, 1980)

Vücut oval-uzun, enine kesitte neredeyse yuvarlak, asetabulum subterminaldir. Yutakta divertikül yoktur. Testisler loblu, tandem pozisyonda ovaryumun önünde ve sekumların arasındadır. Pars musculosa iyi gelişmiş, pars prostatica küçük ve iyi gelişmiştir. Ovaryum ve Mehlis bezleri testislerin gerisindedir. Genital çekmen vardır, genital papillanın kas yapısı zayıftır, Laurer kanalı boşaltım kesesi veya kanalını çaprazlamaz. Örnek tür *Leiperocotyle okapi* (Leiper, 1935)' dir. (Eduardo, 1980c).

Cins: *Buxifrons* (Fukui, 1929)

Vücut küçük-orta büyüklükte, genişçe oval, oldukça yassı, dorsalde dışbükey, alt yüzeyi belirgin enine çizgileriyle içbükey, yan kenarlar iyi gelişmiş kas yapısıyla içe dönüktür. Asetabulum ventralde subterminal yerleşmiştir. Özofagusta bulbus yoktur.

Sekumlar asetabulum seviyesine kadar uzanır. Testisler hafifçe basık ve tandem pozisyonda olup loblanma zayıftır. Pars musculosa oldukça zayıf, pars prostatica iyi gelişmiştir. Genital çekmen yoktur. Genital açıklık yaklaşık olarak bifurkasyon hizasındadır. Ovaryum ortadadır, testis ve asetabulumdan ayrılmıştır. Uterus az veya çok vücudun ortasındadır. Vitellin bezler yanlarda sekumlar boyunca boşaltım kesesine kadar uzanır. Boşaltım kesesi küçük, boşaltım deliği neredeyse üst-son (dorso-terminal) kısımda asetabulumun arka kenarı seviyesine açılır. Afrikada su aygırı, Afrika fili ve yabani sığırların (*Bos primigenius*) midelerinde yaşar. Örnek tür *B. buxifrons* (Leiper, 1919)' dir (Jones, 2005a).

Cins: *Stephanopharynx* (Fischoeder, 1901)

Vücut konik şekilli ve yuvarlak olarak sonlanır. Asetabulum subterminal veya neredeyse terminaldir. Farinks çok büyük ve ikiye ayrılmamış bir kese veya divertiküle sahiptir. Seka derin ve düzensiz dorsoventral kıvrımlara sahiptir. Testisler loblu ve arka arkaya yerleşmiştir. Pars musculosa iyi gelişmiştir, sirus kesesi yoktur. Ovaryum ve Mehlis bezleri testislerin gerisinde yerleşmiştir. Laurer kanalı, boşaltım kanalı veya kesesini çaprazlamaz. Vitellojen bezler yan taraftadır. Genital çekmen yoktur. Tip tür *Stephanopharynx compactus* 'tur (Eduardo, 1986).

Cins: *Balanorchis* (Fischoeder, 1901)

Vücut küçük, konik, enine kesitlerde neredeyse yuvarlaktır ve ventral kese yoktur. Asetabulum subterminal veya terminale yakındır. Farinks bir çift divertiküle sahipken, özofagus bulbus veya arka büzücüye sahip değildir. Sekumlar uzun olup asetabulumu kadar ulaşır. Testisler lobsuz (yuvarlak), simetrik ve asetabulumun önünde yer alır. Sirus kesesi vardır ve dışarıya çıkıntı yapabilir. Ovaryum ve Mehlis bezleri testislerin önünde ve dorsalinde veya onların hemen ön ucu hizasında yerleşmiştir. Vitellojen bezler yan taraftadır. Laurer kanalı boşaltım kesesi veya kanalını çaprazlamaz. Genital çekmen ve genital papilla yoktur. Ruminantların midelerinde parazitlenir. Örnek ve tek türü *Balanorchis anastrophus*'dur (Eduardo, 1986).

Cins: *Gastrothylax* (Poirier, 1883)

Vücut kısmen konik ve ventrale eğimlidir. Ventral poş arkada testisler seviyesine kadar uzanır, enine kesitlerde ucu dorsale dönük bir üçgen şeklindedir. Asetabulum küçük ve terminal yerleşimli ve açıklık arkaya dönüktür. Özofagusta

bulbus yoktur. Sekumlar hafif kıvrımlıdır, testisler veya asetabulum seviyesine kadar uzanır veya testislerin önünde sonlanır. Testisler loblu ve simetrik, hemen asetabulumun önüne yerleşmiştir. Erkek üreme kanalları lateralde uterusun karşı tarafında yerleşmiştir. Pars seminalis ve pars muscosa iyi gelişmiştir, pars prostatica uzundur. Genital delik ventral poş içine açılır, poş açıklığına yakındır. Ovaryum yuvarlak veya loblu ve pozisyonu testisler arasındadır. Uterus S harfi şeklinde hemen hemen vücut ortasında, bir taraftan diğer tarafa çapraz vaziyette uzanır. Vitellin foliküller dorsolateral bölgede genital delikten sekumların sonuna veya asetabulumuna kadar uzanır, nadiren orta hattın dorsalinde birleşebilir. Boşaltım deliği asetabulumun dorsalindedir. Afrika, Asya ve Hindistan'da gevişgetirenlerin (Bovidae and Cervidae) rumenlerinde parazitlenir. Örnek tür: *G. crumenifer*'dir (Jones, 2005b).

Cins: *Carmyerius* (Stiles ve Goldberger, 1910)

Vücut kısmen konik ve ventrale eğimlidir. Ventral poş arkada testisler seviyesine kadar uzanır, enine kesitlerde şekli değişkendir, eğer görülebilirse ucu dorsale veya ventrale dönüktür. Asetabulum küçük, terminal ve açıklık arkaya doğrudur. Özofagusta bulbus genelde yoktur, nadiren mevcuttur. Sekumlar düz veya kıvrımlıdır, arka uzanımı değişkendir. Testisler loblu, simetrik ve asetabulumun hemen önündedir. Erkek üreme kanalları orta hat üzerindedir, pars muscosa kuvvetli teşekkül etmemiştir, pars prostatica iyi gelişmiş ve görece kısadır. Genital delik genellikle poş açıklığına yakın noktadan ventral poş içine açılır. Nadiren (*C. exoporus*) dışarıya, poş açıklığının ucuna açılır. Ovaryum yekpare ve testisler arasında yerleşmiştir. Uterus uzunluğu boyunca orta hat üzerindedir. Vitellin foliküller dorsolateral bölgede yutak seviyesinden sekumlar veya asetabulum seviyesine kadar uzanır. Boşaltım deliği asetabulumun dorsalindedir. Erginleri Asya ve Afrika'da gevişgetirenlerin (Bovidae ve Cervidae) rumenlerinde ve su aygırlarının midelerinde parazitlenir. Örnek tür *C. gregarius*'tur (Jones, 2005b).

Cins: *Fischoederius* (Stiles ve Goldberger, 1910)

Vücudun şekli konikten aşırı uzuna değişir, ventral kese arkada testisler seviyesine kadar uzanır, enine kesitlerde ucu ventrale dönük bir üçgen şeklindedir. Asetabulum küçük, terminal yerleşimli ve açıklığı arkaya doğrudur. Özofagusta bulbus yoktur. Sekumlar düz veya hafifçe kıvrımlıdır, arka kısımda uzanımı değişkendir.

Testisler loblu, ortada biri diğzerinin üst-önünde (antero-dorsal) ve asetabulumun hemen önünde yer alır. Erkek üreme kanalları orta hat boyunca uzanır, pars prostatica orta derecede, pars muscosa zayıftan ortaya değışen derecede gelişmiştir. Genital delik daima ventral kese içerisinde ve kese ağzına yakın açılır. Ovaryum genellikle yuvarlaktır, testisler arasında veya ön testisin üst-arkasında (postero-dorsal) yerleşiktir. Uterus uzunluğu boyunca orta hat üzerindedir. Vitellin foliküller alt-yan (ventro-lateral) alanda, bifurkasyon noktasından testisler seviyesine kadar uzanır. Boşaltım deliğı asetabulum seviyesinin üstüne açılır. Erginleri Asya ve Afrika'da gevişgetirenlerin (Bovidae ve Cervidae) rumenlerinde parazitlenir. Örnek tür *F. elongatus*' tur (Jones 2005b).

Paramphistomidae ailesinden daha önceden ülkemizde varlığı bildirilen 3 tür olan *P. cervi*, *P. ichikawai* ve *C. daubneyi* (Coşkun, 1987; Coşkun, 1988a,b; Celep ve ark., 1990; Çetindağ ve Doğanay, 1996)'nin morfolojik özellikleri ise şöyledir.

2.4.2. *Paramphistomum cervi*'nin Morfolojik Özellikleri

Vücut yapısı konikal, hafifçe ventrale eğik, vücut dorsoventral yönde testisler veya asetabulum seviyesinde 5,50-13,23 mm uzunluğunda ve 1,88-3,05 mm genişliğindedir. Vücut yüzeyinde tegümental papillalar yoktur.

Asetabulum subterminal, dorsoventral yönde dış çapı 1,00-2,80 mm ve vücut uzunluğuna oranı 1:4-1:5,6 olup median sagittal kesitte *Paramphistomum* tiptedir. Dairesel kas birimlerinin sayısı dorsal eksterior sirküler 1 (d.e.c. 1): 13-17, dorsal eksterior sirküler 2 (d.e.c. 2): 22-33, dorsal interior sirküler (d.i.c.): 40-48, ventral eksterior sirküler (v.e.c.): 17-21, ventral interior sirküler (v.i.c.): 40-52, medyan sirküler (m.e.c.): 6-9 adettir.

Farinks median sagittal kesitte *Liorchis* tipte, dorsoventral yönde 0,62-1,38 mm uzunluğunda ve 0,44-0,88 mm genişliğinde olup vücut uzunluğuna oranı 1:6,6-1:10,3 ve asetabulum çapına oranı 1:1,1 ve 1:2,4'tür. İç yüzeyin ön yarımında uzun papillalar mevcuttur. Özofagus 0,65-1,2 mm uzunluğunda, neredeyse düz veya hafif dorsale dönük olabilir, kassal duvar görece ince, bulbus veya ön sfinkter yoktur. Özofagus bütün uzunluğu boyunca hyalin tabasıyla kaplıdır Asetabulumun ön ucu seviyesinde lateralden çok dorsale dönük olarak kör sonlanan sekalar neredeyse düzdür.

Testisler loblu yapıda, vücudun ortasında, ovaryumun önünde tandem (arka arkaya) pozisyonda, ön testis 0,66-1,84 mm çapında, dorso-ventral yönde 1,29-1,88 mm

uzunluğundadır. Vesicula seminalis uzun, oldukça kıvrımlı ve ince duvarlı, pars musculosa çok kısa ve zayıf gelişmiş, pars prostatica 0,17-0,44 mm uzunluğunda ve 0,16-0,33 mm genişliğindedir.

Genital açıklık özofagusun ikiye ayrıldığı nokta hizasında veya bunun hemen gerisinde yerleşmiş ve iyi gelişmiş genital papillalı terminal genityum *Gracile* tiptedir.

Ovaryum loblanmamış, testislerin arkasında ve asetabulumun önünde yerleşmiş olup 0,38-0,83 x 0,31-0,67 mm büyüklüğündedir. Mehlis bezi ovaryuma yakın olup 0,21-0,56 x 0,18-0,50 mm büyüklüktedir. Laurer kanalı boşaltım kesesini veya kanalını çaprazlar, dorsal yüzde boşaltım deliğinin 0,15-1,1 mm arkasına açılır. Uterus önce testislerin dorsalinden, sonra erkek üreme kanallarının altından öne doğru uzanır. Vitellojen bezler foliküler yapıda olup farinksten asetabulumu kadar uzanırlar ve herhangi bir birleşme eğilimi göstermezler. Yumurta 123-160 x 65-96 µm boyutundadır.

Boşaltım kesesi asetabulumun anterodorsalinde, boşaltım deliği Laurer kanalının açıldığı noktanın ön kısmında, arka testis hizasındadır (Eduardo, 1982).

2.4.3. *Paramphistomum ichikawai*'nin Morfolojik Özellikleri

Vücut yapısı konikal olup bazen ventrale eğimli olabilir, uzunluğu 4,9-9,49 mm ve genişliği dorsoventral kesitlerde en fazla 1,74-3,35 mm'dir. Yüzeyi sadece ön uçta ağız açıklığı civarında küçük, kubbe şeklinde papillalarla kaplıdır, çok daha küçük olanları asetabulum bölgesinde rastgele dağılmış olarak bulunur.

Asetabulum subterminal yerleşik, dorsoventral kesitte dış çapı 1,16-1,66 mm'dir. Vücut uzunluğuna oranı 1:3-1.5,9 olup *Pisum* tiptedir. Medyan-sagittal kesitte dairesel kas birimlerinin sayısı d.e.c.1: 16-26; d.e.c.2: 8-14; d.i.c.: 35-62; v.e.c.:18-26; v.i.c.:36-60; m.e.c.: 15-20' dir.

Farinks *Calicophoron* tipte, 0,58-1,01 mm uzunluğunda ve dorso-ventral yönden 0,48-0,87 mm genişliğinde olup vücut uzunluğuna oranı 1:6,5 - 1:13,5 ve asetabulum çapına oranı 1:1,3 - 1:2,6'dır. Median sagittal kesitte iç yüzey küçük kubbe şeklinde papillalarla kaplıdır. Özofagus görece kısa (0,33-0,50 mm uzunluğunda) neredeyse düz, bazen dorsale eğimlidir. Duvarının kas yapısı orta kalınlıkta ve bulbus veya ön sfinkter yoktur. Lumen boylu boyunca hyalin tabakasıyla kaplıdır. Vücudun yan taraflarındaki sekalar düzensiz yapıda, hafif dorso-ventrale eğimli, asetabulum seviyesine ulaşır ve kör uçlar arkaya uzanır.

Testisler derin olmayan loblanma gösterir, tandem pozisyonda ve vücudun arka 2/3'ünde yerleşir. Ölçüler dorso-ventral yönde ön testis için 0,43-1,19 mm uzunluk ve 0,72-1,79 mm genişlikte, arka testis için 0,34-1,93 mm uzunluk ve 1,18-2,10 mm genişliğindedir. Vesicula seminalis uzun, güçlüce kıvrılmış ve ince duvarlıdır. Pars musculosa kısa fakat görece geniş, pars prostatica görece küçüktür.

Ovaryum 0,35-0,61 x 0,47-0,61 mm ölçülerinde, asetabulumun dorsalinde ve testislerin arkasındadır. Mehlis bezi ovaryuma yakın ve 0,20-0,53 x 0,44-0,53 mm ölçülerindedir. Laurer kanalı boşaltım kanalını çaprazlar ve dorsal yüzeyde boşaltım deliğinin 0,45-0,68 mm arkasına açılır. Uterus önce testislerin dorsalinden, sonra erkek üreme kanallarının altından öne doğru uzanır. Vitellojen bezler lateral bölgede, farinksten asetabulumu kadar uzanır, bazen sekalar arasındaki bölgeye de taşar ve ön uçta dorsomedial olarak birleşir. Yumurta ölçüsü 123-129 x 64-70 µm'dir

Genital delik yaklaşık 0,41-0,53 mm ve özofagusun bifurkasyon noktasının gerisinde olup median sagittal kesitte *Ichikawai* tiptedir. Boşaltım deliği, ovaryum, Mehlis bezleri ve arka testisin dorsalindedir ve ön testisin arka sınırı seviyesinde dorsal yüzeye açılır (Eduardo, 1982).

2.4.4. *Calicophoron daubneyi*'nin Morfolojik Özellikleri

Vücut konik, dorso-ventral yönde 3,50-10,21 mm uzunluğunda ve 2,34-4,11 mm genişliğindedir. Vücut yüzeyi ağız açıklığı etrafında papillalarla kaplıdır ve asetabulum açıklığı civarında daha küçük ve seyrek bir şekilde yayılmış papillalar mevcuttur.

Asetabulum *Paramphistomum* tipte olup subterminal yerleşmiştir. Dorso-ventral kesitte dış çapı 1,80-2,70 mm olup vücut uzunluğuna oranı 1:1,9 - 1:4,3'tür. Asetabulumdaki sirküler kas birimlerinin sayısı d.e.c.1: 14-20, d.e.c. 2: 20-28, d.i.c.: 39-56, v.e.c.: 13-18, v.i.c.: 39-48, m.e.c.: 8-16 adettir. Bazen d.e.c.1'de yer alan kas birimleri birleşerek bir sfinkter şekli alırlar.

Farinks dorso-ventral kesitte armut şeklinde, 0,75-1,17 mm uzunlukta ve 0,85 – 0,96 mm genişliğindedir. Vücut uzunluğuna oranı 1:5,6 -1:10,5 ve asetabulum çapına oranı 1:2 - 1:2,5 olup median sagittal kesitlerde az, zayıf gelişmiş orta sirküler birimleri olan *Calicophoron* tiptedir. İç yüzeyi çok küçük kubbe şeklinde papillalarla kaplıdır. Özofagus 0,39-0,62 mm uzunluğunda olup kas yapısı orta kalınlıkta, uzunluğu boyunca yeknesaklık gösterir ve lumeni baştan sona hyalin tabakasıyla kaplıdır. Vücudun yan

taraflarında bulunan sekalar dorsoventral kıvrımlar gösterir ve asetabulum seviyesine kadar uzanır. Kör uçları ventrale dönüktür.

Derin loblara ayrılmış testisler doğrusal veya hafif çapraz tarzda tandem, vücudun arka 2/3' ünde yerleşmiştir. Ön testis 1,30-1,53 mm uzunluk ve dorso-ventral yönde 2,30-2,88 mm genişlik, arka testis 0,90-1,05 mm uzunluk ve dorso-ventral yönde 2,42-2,83 mm genişliktedir. Vesicula seminalis ince duvarlı ve kıvrımlı, pars musculosa iyi gelişmiş, kalın duvarlı ve kıvrımlıdır, pars prostatica iyi gelişmiş, 0,22-0,31 uzunluk ve 0,31-0,33 mm genişliktedir.

Ovaryum yuvarlaktan ovale değişen şekillerde, 0,50-0,58 x 0,54-0,82 mm boyutlarında, testislerin arkasında ve asetabulumun anterodorsalinde bulunur. Mehlis bezleri ovaryuma yakın olup 0,39-0,66 x 0,38-0,66 mm büyüklüğündedir. Uterus önce testislerin dorsalinden, sonra erkek üreme kanallarının altından öne doğru uzanır. Laurer kanalı boşaltım kanalını çaprazlar ve boşaltım deliğinin 0,12-0,97 mm gerisinden dorsal yüzeye açılır. Vücudun yan tarafında bulunan vitellojen bezler, farinksten asetabulumu kadar uzanır ve ön ve arka uçlarında dorsomedial yönde bir birleşme eğilimi göstermezler. Yumurtalar 126-139 x 60-74 µm büyüklüğündedir.

Genital delik ventral yüzeyde, özofagusun ikiye ayrıldığı noktanın gerisinde ve mediansagittal kesitte *Microbothrium* tiptedir.

Boşaltım kesesi asetabulum, ovaryum ve mehlis bezlerinin dorsalinde, boşaltım deliği dorsal yüzeyde arka testis hizasında ve Laurer kanalı deliğinin önüne açılır (Eduardo, 1983).

2.5. Sınıflandırmada Önemli Morfolojik ve Histolojik Karakterler

Paramphistomid trematodların sınıflandırılması büyük ölçüde morfolojik ve histolojik özelliklerine dayanmaktadır. Bu sınıflandırma bazı cinslerin durumu ve aile içindeki cins ve türlerin düzenlemesi konusunda fikir ayrılıklarına neden olan, çeşitli yazarlar tarafından epey değiştirilmiş bu karakterlere bağlıdır (Eduardo, 1980a).

2.5.1. Morfolojik Karakterler

Vücudun Şekli ve Büyüklüğü

Aile üyelerinin çoğunluğu konik şekilli, fakat bazıları dorso-ventral yassıdır. Bununla birlikte her iki durumda şekil, fiksasyon esnasında parazitin gevşeme

durumuna bağılı olarak çeşitli derecelerde kısa ve genişten daha uzuna değişiklik gösterebilir. Netice olarak vücut büyüklüğü değişiklik gösterebilir (Eduardo, 1980a).

Bazı yeni türlerin tanımlanması ve çok yakın olan diğerlerinden ayrılması temel olarak vücut büyüklüğüne bağılıdır. *Buxifrons maxima* (Näsmark, 1910) ve *Stephanopharynx secundus* (Stunkard, 1929) sırasıyla *Buxifrons buxifrons* (Leiper, 1910) ve *Stephanopharynx compactus* (Fischoeder, 1901)'dan sadece vücut büyüklükleriyle ayrılabilir (Eduardo, 1980a).

Vücut büyüklüğünün ve buna bağılı olarak vücut genişliği aynı tür içerisinde bile yaş, enfeksiyon yoğunluğu, konaktaki tutunma bölgesi, konak türü ve hatta aynı yaş grubundaki türler arasındaki büyüme oranlarındaki farklılıklar gibi faktörlere bağılı olarak büyük farklar gösterebilir. Horak (1967), *P. microbothium*'un sığırlarda koyun ve keçilere göre daha büyük boyuta ulaştığını ve çok daha hızlı göç ettiğini saptamıştır. Parazit sığırlarda rumenin ön keselerine tutunduğunda, arka keselere tutunanlardan daha büyük boyutlara ulaşırken, koyunlarda bunun tersi olmaktadır. Boyutlar, özellikle toplam vücut uzunluğu enfeksiyonun hafif ve ağır olmasına göre de değişebilir. Nikander ve Saari (2007) de ren geyiklerinde bulunan rumen kepenekleri arasındaki mevsimsel varyasyonları bilmeyen araştırmacıların, bu örnekler arasındaki morfolojik farkları kolaylıkla farklı bir tür olarak yanlış yorumlayabileceğini bildirmişlerdir.

Asetabulum ve Yutağın Büyüklüğü

Asetabulum ve yutağın büyüklüğü Nasmark (1937) tarafından diğer karakterlerle birlikte cins seviyesinde önemli bir özellik olarak dikkate alınmış ve *Gigantocotyle* ve *Macropharynx* cinslerinin kurulmasında temel oluşturmuştur. Horak (1967) *P. microbothrium*'da toplam vücut büyüklüğünün çok fazla çeşitlilik göstermesine rağmen, asetabulum ölçülerinin daha az çeşitlilik gösterdiğini deneysel olarak ispatlamış ve asetabulum ölçüsünün vücut uzunluğundan daha kesin bir beden ölçüsü olarak görüldüğünde karar vermiştir. Eduardo (1980a), *Explanatum* ve *Gigantocotyle* cinslerinde asetabulumun karakteristik olarak daha büyük ve belirgin olduğunu ve bu ikisinin diğer cinslerden bu karakter vasıtasıyla ayrıldığını göstermiştir. Asetabulum ve yutak güçlü kassal organlardır ve sertlikleri onları fizyasyon esnasında vücudun en az deforme olan parçası yapar. Bunların büyüklüklerinin diğer organlarla oransal ilişkileri karakter olarak kullanılabilir. Yutak, kese ve divetiküllerinin varlığı veya yokluğu cins seviyesinde önemli bir taksonomik karakterdir. *Stephanopharynx* ve

Balanorchis cinsleri sırasıyla tek fakat büyük bir yutak kesesi ve daha küçük fakat ikili divertikül varlığıyla karakterize edilirler. Bu iki cins, bu yapıların yokluğuyla karakterize edilen ruminantlardaki cinslerin çoğunluğundan kolayca ayırt edilebilir.

Özofagus ve Sekumlar

Eduardo'ya (1980a) göre özofagus uzunluğu, cins tanımında daima belirtilmesine rağmen, kasılma ve gevşeme yeteneğinden dolayı taksonomik bir değeri yoktur. Duvarının kas gelişimi ve iç yüzeyinin yapısı önemli özelliklerdir ve histolojik özellikler olarak ele alınmalıdır. Paramhistomidlerde sekumlar digenik trematodların çoğunda olduğu gibi vücudun yanları boyunca uzanan 2 kör bağırsaktan oluşur. Sekumların yapısı, kıvrımları ve kör uçlarının yönü Fiscoeder (1903) tarafından birkaç Paramphistomum türünü *P. cervi*'den ayıran özellikler arasında sayılmıştır. Stiles ve Goldberger (1910) de onları, aile içinde cins ve türlerin ayrılmasında kriter olarak almıştır. Diğer taraftan Maplestone (1923) ve daha sonra Fukui (1929) sekum sonlarının hiza ve uçlarının her tür içinde değişken olduğunu ve türlerin ayrılmasında güvenilir karakterler olarak kullanılamayacağını iddia etmişlerdir. Bununla birlikte Näsmark (1937), Maplestone'un *P. cervi* olarak adlandırdığı örneklerin aslında birkaç türden oluştuğunu değişik sekum şekilleri sayesinde göstermiştir (Eduardo, 1980a).

Eduardo (1980a), muayene edilen türlerin çoğu için sekum karakterinin, spesifik teşhiste diğer özellikleri desteklemek için kullanılabilir faydalı bir diagnostik özellik olduğunu bildirmiştir.

Genital Sistem Organları

Genital sistem organlarının vücut içinde yerleşimi ve onların şekilleri ve görece büyüklükleri sadece Paramphistomidae ailesinde değil, diğer digenik trematod ailelerinde geniş olarak kullanılan karakterlerdir. Testislerdeki loblanmanın varlığı veya yokluğu bu gruptaki türler arasında önemli bir özelliktir. Ruminantlarda görülen türlerin çoğunluğu loblu testislere sahipken *Paramphistomum liorchis* ve *Balanorchis anastrophus* gibi bazıları loblanmamış testislere sahiptir. Eduardo (1980a), muayene ettiği örneklerde testis loblarını saymayı denemiş, fakat trematodun büyüklüğü ve kalınlığı nedeniyle lobların kesin olarak sayılmasının çok zor olduğunu bildirmiştir. Bu durumu göz önüne alarak loblanmayı sadece derin, güçlü, sığ veya girintili olarak tanımlamıştır.

Diğer özelliklerle birlikte pars musculosanın gelişimi, cins seviyesinde önemi kabul edilmiş bir karakterdir. Fischoeder (1902; 1903) bunu *Paramphistomum* cinsi içindeki türleri ayırmak için ilk olarak kullanmıştır. Yamaguti (1971) ve Eduardo (1980a), Orthocoeliinae ve Paramphistominae altailesindeki cinsleri ayırmada kullanmıştır.

Sirrus kesesinin varlığı veya yokluğu da önemli bir taksonomik özelliktir. Eduardo (1980a), *Balanorchis* cinsini sirrus kesesinin varlığıyla karakterize etmiştir. Ovaryumun testislerle ilişkili konumu, diğer karakterle kombine edildiğinde bazı cinsler için önemli bir özelliktir. Eduardo (1980a), muayene ettiği cinslerin çoğunluğunda ovaryum ve Mehlis bezinin testislerin arkasında yer alırken *Bilatorchis* ve *Balanorchis* cinslerinde yatay ve mesafeleri uzak olan 2 testisin arasında yer aldığını, Gastrothylacidae ailesinde, *Carmyerius* ve *Gastrothylax* cinslerinin *Fischoederius*'dan testis, ovaryum ve Mehlis bezi yerleşimi ile ayrıldığını bildirmiştir. Yazar (1980a), *Cotylophoron bareilliense* türü dışında muayene ettiği tüm türlerde ovaryum boyutunun testislere kıyasla daima daha küçük olduğunu, vitellojen bezlerin birleşip birleşmemesi özelliğinin tür düzeyinde bir önemi olduğu ve cins içindeki bazı türlerin ayrılmasında kullanılabileceğini göstermiştir. Vitellojen bezler birleşiyorsa, sadece önde (*Paramphistomum ichikawai*, *P. hiberniae*) veya sadece arkada (*Gigantocotyle gigantocotyle*, *G. symmeri*, *Leiperocotyle congolense*) veya her iki uçta (*Cotylophoron panamensis*) olabilir.

Laurer kanalının boşaltım kesesi veya kanalını çaprazlayıp çaprazlamaması, altaile seviyesinde önemli bir karakter olup Paramphistominae ve Orthocoeliinae'nin ayrılmasında kullanılmaktadır. Genital çekmenin varlığı diğer karakterlerle birlikte bazı cinsler için önemli bir özelliktir ve *Cotylophoron* ve *Leiperocotyle* cinslerinin oluşturulmasında temel alınmıştır (Eduardo, 1980a).

Yüzey Papillaları

Eduardo (1980a), muayene ettiği türlerin çoğunda tegümental papilla olarak adlandırılan yüzey yapıları mevcut olduğunu ve tegümental papillaların varlığı, dağılımı ve tipinin; değişik konak, yerleşim yeri ve farklı yaşta örneklerde bile aynı tür içinde sabit olduğu gözlemlenmiştir. Tegümental papillalar var olduğunda vücudun 4 farklı bölgesinde gözlenir: Ağız açıklığı civarı, genital açıklık bölgesi, genital delik duvarında ve asetabulum açıklığı civarında. Bunlar ya tek bir bölgede veya dört bölgenin çeşitli

birleşimlerinde bulunur. Bunlardan ağız açıklığı civarındaki papillaların farklı türler arasında şekil ve yapıları değişirken, aynı türe ait örnekler arasında tutarlılık gözlenir. Bu bölgede 6 tip papilla gözlenir ve belirli bir türde sadece 1 tip bulunur: 1) Kubbeden koniğe değişen şekilli siliasız papilla; 2) Kubbeden koniğe değişen şekilli silialı papilla; 3) Kıl şeklinde yapılar olan kısa ve fiçı gibi papilla; 4) Uzun, dallanmayan ve siliasız papilla; 5) Uzun ve basit siliasız dallı papilla; 6) Çok silialı ampul şeklinde dallara sahip papilla.

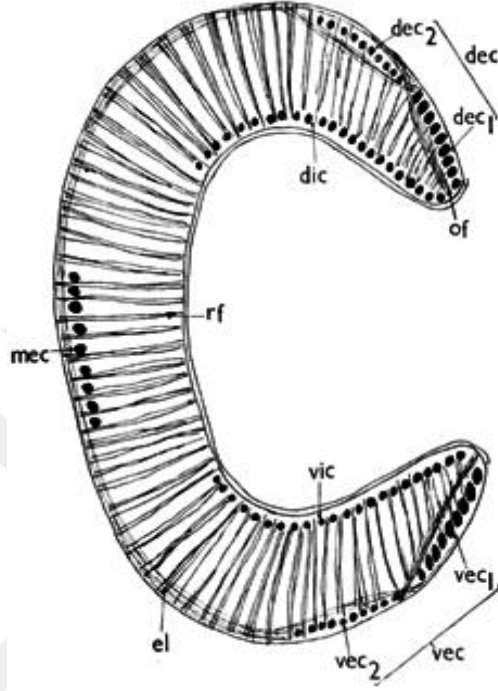
2.5.2. Histolojik Karakterler

Näsmark (1937), ilk kez Fukui (1929) tarafından ileri sürülen önerileri geliştirmiş ve Paramhistomidae ailesi için asetabulum, yutak ve terminal genitelyumun median kesitlerinin histolojik yapısına dayanan yeni bir sınıflandırma teklif etmiştir. Bu temelde yazar, o dönemde mevcut türlerin asetabulum, yutak ve terminal genitelyumlarını farklı yapısal tipler halinde sınıflandırmıştır. Eduardo (1980a) bu grup trematodlar için bu sistemin çok faydalı olduğunu göstermiştir.

Asetabulum

Asetabulumun Näsmark (1937) tarafından oluşturulan değişik tipleri kassal yapının farklı düzenlemelerine, özellikle dairesel kas birimlerinin median sagittal kesitteki görüntülerine dayanır (Şekil 9). Näsmark ikisi dorsal yarımda (dorsal exterior ve dorsal interior), ikisi ventral yarımda olmak üzere (ventral exterior ve ventral interior) 4 dizi dairesel kas ünitesinden bahsetmiştir. Bununla birlikte Eduardo (1980a), Näsmark tarafından dikkate alınmayan başka dairesel kas dizilerinin var olduğunu, Näsmark'ın bu dizilerden bahsetmemekle birlikte çizimlerinde onları da göstermiş olduğunu bildirmiştir. Näsmark (1937), asetabulum tipini cins düzeyinde önemli bir karakter olarak dikkate almış ve bunu *Paramphistomum*, *Calicophoron* ve *Ceylonocotyle* (şimdi *Orthocoelium*) cinslerinin bir karakteri olarak kullanmıştır. Bununla birlikte *Gigantocotyle* cinsine ait türlerin farklı bir tip asetabulumuna sahip olduğunu göstermiştir. Eduardo (1980a), Näsmark'ın tanımlamasının zıddına, *Calicophoron raja*'nın asetabulumunun, dorsal eksterior dizide 2. grubun varlığı nedeniyle cins içine yerleştirdiği türlerin geri kalanından farklı olduğu gözlenmiştir. *Orthocoelium indonesiense* (Eduardo, 1980a) ve *Cotylophoron xiangjiangense* (Wang, 1979) gibi türler de cinslerinin diğer üyelerinden farklı bir asetabulumuna

sahiptirler. Dolayısıyla asetabulumun histolojik özelliklerinin sadece tür düzeyinde öneme sahip olduğu ve cins düzeyinde bir karakter olarak kullanılmayacağı anlaşılmaktadır.



Kısaltmalar:

- dec** (dorsal exterior circular)
- dec1** (dorsal exterior circular)
- dec2** (dorsal exterior circular)
- dic** (dorsal interior circular)
- el** (exterior longitudinal)
- mec** (median circular)
- of** (oblique muscle fibres)
- rf** (radial muscle fibres)
- vec** (ventral exterior circular):
- vec1** (ventral exterior circular)
- vec2** (ventral exterior circular)
- vic** (ventral interior circular)

Şekil 9. Asetabulum genel tiplerinin median sagittal kesitte tanı için gerekli detaylarını gösteren şematik çizimi (Eduardo, 1980a'den uyarlanmıştır)

Asetabulum Tipleri

1. *Gigantocotyle* tip (Eduardo, 1980): Boyut çok büyüktür, d.e.c ve v.e.c dizilerinin her ikisinin sırasıyla d.e.c.1, d.e.c.2, v.e.c.1, v.e.c.2 olmak üzere ikişer grubu vardır. D.e.c.1 ve v.e.c.1 birimlerinin her ikisi görece iyi gelişmiştir. D.e.c.2 ve v.e.c.2 birimlerinin her ikisi boyutça çok daha küçük, fakat ilki sayıca d.e.c.1 birimlerinden çok daha fazlayken, sonraki sayıca v.e.c.1 birimlerinden daha azdır. Dorsal ve ventral iç dairesel (d.i.c. ve v.i.c.) serilerin birimleri orta derecede gelişmiş ve boyutça dizilerin dahiline doğru aşamalı olarak küçülür. Orta dış dairesel (m.e.c.) serileri düzensiz ayrık birimlerden oluşur. Işınsal iplikler iyi gelişmiştir. Eğik iplikler az ve zayıf gelişmiştir. Dış uzunlamasına iplikler belirgindir.

2. *Explanatum* tip (Näsmark, 1937): Boyut büyüktür, d.e.c dizisi 2 grup içerirken v.e.c dizisi yalnızca bir gruptan oluşur. D.e.c.1 ve v.e.c birimleri kuvvetli

teşekkül etmiştir, d.e.c. 2 üniteleri çok daha küçük, fakat sayıca d.e.c.1 birimlerinden daha fazladır. D.i.c ve v.i.c serileri orta derecede gelişmiştir, dizilerin iç kısımlarına doğru boyutları küçülür. M.e.c. serileri düzensiz aralıklı dizilerden oluşur. Dairesel iplikler iyi gelişmiştir, eğik iplikler az ve zayıf gelişmiştir, dış uzunlamasına kaslar belirgindir.

3. *Symmeri* tip (Näsmark, 1937): Boyut büyüktür, d.e.c dizileri 2 birimden oluşur, d.e.c.2 birimleri d.e.c.1 göre boyutça küçük, sayıca az ve düzensiz aralıktır. D.i.c ve v.i.c. birimleri tam olarak gelişmiştir. V.e.c. dizileri sadece 1 gruptan oluşur. M.e.c. dizileri düzensiz aralıklı birimlerden oluşur. Dairesel iplikler iyi gelişmiştir, eğik iplikler az ve zayıf gelişmiştir, dış uzunlamasına iplikler belirgindir.

4. *Duplicitestorum* tip (Näsmark, 1937): Boyut büyüktür, fakat duvar kalınlığı görece incedir. D.e.c dizileri 2 birimden oluşur, fakat d.e.c.2 birimleri boyutça daha büyük ve genellikle sayıca daha fazladır. D.e.c.1 bu tipte çok daha küçük ve bazen az gelişmiştir. D.i.c. ve v.i.c. dizileri küçük birimlerden oluşur. M.e.c. dizisi yoktur. Dairesel iplikler iyi gelişmiştir, eğik iplikler çok az ve bazen önemsizdir, uzunlamasına iplikler belirgindir.

5. *Paramphistomum* tip (Näsmark, 1937): Boyut orta büyüklüktedir. D.e.c. serileri 2 gruptan oluşur, d.e.c.1 birimleri iyi gelişmiş, fakat *Explanatum* tipteki kadar kuvvetli teşekkül etmemiştir. D.e.c.2 birimleri boyutça çok daha küçük, fakat sayıca d.e.c.1 birimlerinden daha fazladır. V.e.c. dizileri yalnızca tek bir gruptan oluşur. D.i.c. ve v.i.c. dizileri iyi gelişmiştir fakat dizinin içlerine doğru boyutları küçülür. M.e.c. dizileri düzensiz aralıklı birimlerden oluşur. Dairesel iplikler tam olarak gelişmiştir, eğik iplikler az ve görece zayıf gelişmiştir, dış uzunlamasına iplikler az fakat belirgindir.

6. *Pisum* tip (Näsmark, 1937): Boyut orta büyüklüktedir. Dairesel birimler ve uzunlamasına iplikler bakımından *Paramphistomum* tipi andırır, fakat d.e.c.2 birimleri d.e.c. 1' e göre sayıca daha az ve genellikle düzensiz aralıktır.

7. *Calicophoron* tip (Näsmark, 1937): Boyut orta büyüklüktedir. Özellikle dairesel kas birimleri yönünden *Paramphistomum* ve *Pisum* tiplerine benzer, fakat d.e.c. dizileri sadece bir ünite grubu içerir. Dairesel iplikler tam olarak gelişmiş, eğik iplikler azdır ve zayıf gelişmiştir, dış uzunlamasına iplikler az fakat belirgindir.

8. *Cotylophoron* tip (Näsmark, 1937): Boyut orta büyüklüktedir. Sirküler kas birimlerine nazaran *Calicophoron* tipi andırır. Bununla birlikte eğik kas ipliklerinin d.e.c. ve v.e.c. dizilerinin iç sınırları boyunca uzanan güçlü ve iyi gelişmiş bantlarının varlığıyla karakterizedir. Dairesel iplikler iyi gelişmiştir, dış uzunlamasına iplikler az fakat belirgindir.

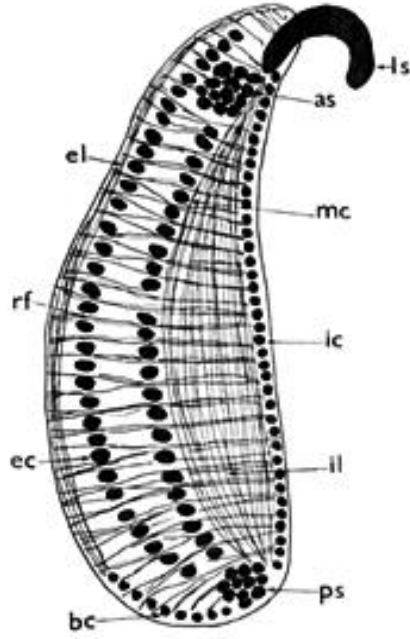
9. *Streptocoelium* tip (Näsmark, 1937): Boyutça küçüktür. D.e.c. ve v.e.c. dizileri sadece bir ünite grubu içerir. Sirküler dizilerdeki her birim görece zayıf gelişmiş ve boyutça hemen hemen eşittir, fakat her serinin başlangıç ve sonunda bir miktar daha küçüktür. D.e.c. ve v.e.c. dizilerindeki birimler boyutça benzerdir. Birimlerin sayısında iç seriler dış serilerden daha büyük ve biraz daha fazla gelişmiştir. M.e.c. dizileri genellikle düzensiz aralıklı serilerden oluşur. Dairesel iplikler iyi gelişmiş ve kalındır, eğik iplikler az ve bazen belirsizdir, dış uzunlamasına iplikler az, fakat iyi gelişmiştir.

10. *Gastrothylax* tip (Näsmark, 1937): Boyutça orta büyüklüktedir. Duvarla dik açı yapan neredeyse düz zemindeki bir boşlukla karakterizedir. Her bir dairesele dizi sadece bir ünite grubu içerir ve tüm dizilerdeki birimler iyi gelişmiştir. Ünite sayılarında dış seriler iç serilerden daima fazladır. M.e.c. serileri de iyi gelişmiş birimler içerir. Eğik iplikler iyi gelişmiştir, dairesele iplikler kuvvetli teşekkül etmiştir, dış uzunlamasına iplikler de iyi gelişmiştir.

11. *Stephanopharynx* tip (Näsmark, 1937): Boyutça orta büyüklüktedir. Tüm dairesele dizilerdeki birimler orta derecede gelişmiş ve her dizi devam eden tek bir ünite grubu içerir. İç dizilerdeki birimler sayıca dış dizilerdekinden fazladır. Nasmark'ın (1937) tarifinin aksine Eduardo'ya (1980a) göre dizinin başındaki birimler boyutça daha küçüktür ve boyutça serinin sonuna doğru tedricen büyürler. M.e.c. dizilerindeki birimler genellikle iyi gelişmiştir. Dairesel iplikler iyi gelişmiş, kalın ve genellikle düzensizdir, eğik iplikler çok az ve belirsiz, dış uzunlamasına iplikler iyi gelişmiştir. Asetabulum kenarı bir noktaya doğru gitgide küçülür.

Yutak

Asetabulum gibi yutağın da değişik tipleri, kassal organların gelişim ve düzenlenmesinin median sagittal kesitteki görünümüne dayanır (Şekil 10). Tiplerin aile üyelerinin özel olarak tanımlanmasında çok faydalı olduğu kanıtlanmıştır (Eduardo, 1980a).



Kısaltmalar:

- as (anterior sphincter)
- bs (basal circular units)
- ec (exterior circular units)
- el (exterior longitudinal fibres)
- ic (interior circular units)
- il (interior longitudinal fibres)
- ls (lip sphincter)
- mc (middle circular units)
- ps (posterior sphincter)
- rf (radial fibres)

Şekil 10. Farinks genel tiplerinin median sagittal kesitte tanı için gerekli detaylarını gösteren şematik çizimi (Eduardo, 1980a'den uyarlanmıştır)

Yutak Tipleri

1- *Dicranocoelium* tip (Näsmark, 1937): Yutağın ön kısmında her iki yan tarafta yerleşmiş dudak büzücüsünün varlığı ve sagittal kesitlerde at nalı şeklinde görünümü ile karakterizedir. İç dairesel birimler iyi gelişmiştir, orta dairesel birimler yoktur, tabandaki dairesel üniteler ise genellikle tek bir sıra içerir. İç uzunlamasına iplikler iyi gelişmiş, dış uzunlamasına iplikler azdır ve dış sınıra çok yakındır, ışımsal iplikler orta seviyede gelişmiştir.

2- *Orthocoelium* tip (Eduardo, 1980): Dudak ve arka büzücü yoktur, ön büzücü vardır ve yuvarlağa yakın oval şekilde, dairesel birimlerin ön uç yakınlarında sıkıca birleşmesiyle oluşmuştur. İç dairesel birimler tam olarak, orta ve dış dairesel üniteler orta derecede gelişmiştir. Her iki dizi ön ve arka uçlarında birleşirler. Tabandaki dairesel birimler orta derecede gelişmiş ve sadece tek bir diziden oluşur. İç uzunlamasına iplikçikler orta derecede gelişmiş ve belirgin; dış uzunlamasına iplikçikler az ve dış sınıra yakındır. Işımsal iplikçikler iyi gelişmiştir.

3- *Explanatum* tip (Näsmark, 1937): Dudak büzücüsü yoktur, ön ve arka büzücüler mevcuttur, öndeki arkadakinden kuvvetli teşekkül etmiştir. İç dairesel

birimler orta seviyede, orta dairesel birimler çok kuvvetli teşekkül etmiştir. Dış dairesel üniteler ortadan çok kuvvetliye değişen derecede gelişmiş, fakat sadece yutağın ön kısmında mevcuttur, tabandaki dairesel birimler bir veya iki sıra halinde iyi teşekkül etmiştir. İç uzunlamasına iplikler iyi gelişmiş ve belirgindir, dış uzunlamasına iplikler az ve dış sınıra yakındır, ışımsal iplikler kuvvetli gelişmiştir.

4- *Cephalophi* tip (Eduardo 1980): Dudak büzücüsü ve arka büzücü yoktur, ön büzücü mevcuttur. İç dairesel birimler zayıf teşekkül etmiştir, orta dairesel birimler yoktur, dış dairesel birimler mevcuttur, fakat sadece yutağın ön bölümüyle sınırlıdır, tabandaki dairesel birimler tam olarak gelişmiştir. İç uzunlamasına iplikler orta seviyede gelişmiş, dış uzunlamasına iplikler az ve dış sınıra çok yakındır, ışımsal iplikler orta seviyede gelişmiştir.

5- *Liorchis* tip (Nasmark, 1937; *Pseudoliorchis tip*, Velichko, 1966): Dudak büzücüsü, ön ve arka büzücü yoktur. İç dairesel birimler zayıf gelişmiş ve bazen fark edilmez, orta dairesel birimler iyi gelişmiştir, her bir birim dar ve enlemesine uzamış görünür. Dış dairesel birimler iyi gelişmiş ve orta dairesel serilere dış duvardan daha yakındır, orta ve dış dairesel seriler yutağın ön ucuna yakın sonlanır, tabandaki dairesel birimler orta derecede gelişmiştir. İç uzunlamasına iplikler iyi gelişmiş ve belirgindir, dış uzunlamasına iplikler az ve dış duvara yakındır, ışımsal iplikler iyi gelişmiştir. Yutağın ön kısmının iç duvarına yapışık uzun papillalar mevcuttur.

6- *Calicophoron* tip (Dinnik, 1964; Näsmark 1937, *Paramphistomum*, *Calicophoron* ve *Ijimai* tipleri): Dudak büzücüsü, ön ve arka büzücü yoktur. İç dairesel birimler orta derecede gelişmiştir, orta dairesel birimler genellikle yoktur, fakat zayıf gelişmiş ve belli belirsiz olarak bulunabilirler. Dış dairesel birimler tam olarak, tabandaki dairesel birimler orta seviyede gelişmiştir. İç uzunlamasına iplikler orta seviyede gelişmiş, dış uzunlamasına iplikler az ve dış duvara yakındır, ışımsal iplikler orta derecede gelişmiştir.

7- *Gigantopharynx* tip (Eduardo, 1980): Dudak büzücüsü, ön ve arka büzücü yoktur. İç dairesel birimler çok zayıf teşekkül etmiş ve yutağın sadece ön 1/3'ünde mevcuttur. Orta dairesel birimler yoktur, dış dairesel birimler tam olarak gelişmiş ve yutağın sadece arka 2/3'ünde mevcuttur ve dış uzunlamasına ipliklere yakındır, tabandaki dairesel birimler orta seviyede gelişmiştir. İç uzunlamasına iplikler yoktur, fakat az ve zayıf teşekkül etmiş iplikler yutağın ön 1/3'ünde iç dairesel birimlere yakın

olarak mevcuttur. Ön ve ön ve arka yönlerden uzanan ince ipliklerin bulunduğu küçük alan yutağın tabanıdır. Dış uzunlamasına iplikler az fakat belirgin ve dış duvara yakındır, ışınsal iplikler tam olarak gelişmiştir. Yutağın ön 1/3'ünün iç duvarına yapışık uzun papillalar mevcuttur.

8- *Stephanopharynx* tip (Näsmark, 1937): Bu tip, tek taraflı divertikülün varlığı ile kolaylıkla ayırt edilir. Dudak büzücüsü, arka ve ön büzücü yoktur. İç dairesel birimler tam olarak gelişmiş, orta, dış ve tabandaki dairesel birimler mevcut değildir. Uzunlamasına ipliklerin birkaç iyi gelişmiş tutamları mevcuttur, fakat iç ve dış tabakalar şeklinde belirgin değil, daha çok rastgele düzenlenmiştir. Işınsal iplikler iyi gelişmiş ve kalındır. Divertikül duvarının kas yapısı gevşek bir iplik ağından ibarettir, iç yüzey sadece divertikülün yan köşelerinde bulunan ve burada yoğunlaşan uzun papillalara sahiptir.

9- *Balanorchis* tip (Eduardo, 1980): Bu tip, kas yapısına bakarak *Stephanopharynx* tipine benzer, fakat ondan daha küçük boyutu ve daha küçük fakat bir çift olan divertikülü ile ayrılır. Divertikül iç yüzeyinde papillalar mevcut değildir.

Terminal Genital Organlar

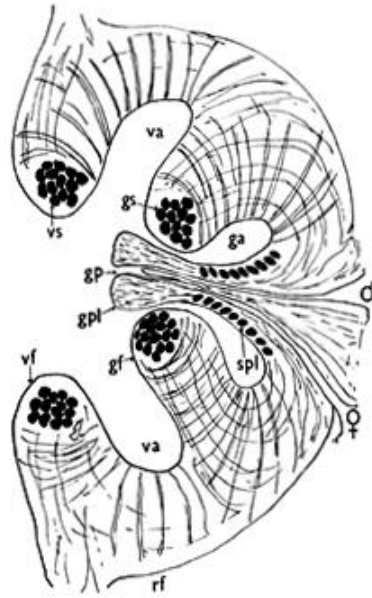
Näsmark (1937), genital atrium terimini, genital sistemin genital delik ile dışarıya açılan tüm son yapısını ifade etmek için kullanmıştır. Eduardo (1980a), genital atrium teriminin, onu ventralinde bulunan ve ventral atrium olarak adlandırılan diğer boşluklardan ve terminal genityum olarak adlandırılabilir tüm genital yapıdan ayırmak için sadece genital papillayı çevreleyen ve genital kıvrım tarafından sarılan boşlukları kastedecek şekilde kullanılmasını önermiştir.

Nasmark (1937), median sagittal kesitte görülen terminal genityumun genel tiplerinin şematik sunumunda 2 yapı hariç tüm parçaları isimlendirmiştir. Eduardo (1980a), *P. botriophoron* ve *P. papilligerum* dışında paramphistomid türlerin çoğunda olmayan bu yapı için, bu kıvrım tarafından çevrelenen boşluk için kullanılan terimi takip ederek ventral kıvrım terimi önerilmiştir (Şekil 11).

Terminal Genityum Tipleri

1. *Bothriophoron* tip (Näsmark, 1937): Gerçek ventral kıvrım ve ventral atrium mevcuttur. Ventral büzücü iyi gelişmiştir. Genital kıvrım, genital papilla ve genital

atrium küçüktür ve geniş ventral atriumun tabanında bulunur. Genital büzücü ve büzücü papilla zayıf gelişmiştir, fakat fark edilir. Işınsal iplikler orta derecede gelişmiştir.



Kısaltmalar:

- ga** (genital atrium)
- gf** (genital fold)
- gp** (genital pore)
- gpl** (genital papilla)
- gs** (genital sphincter)
- rf** (radial fibres)
- spl** (sphincter papilla)
- va** (ventral atrium):
- vf** (ventral fold)
- vs** (ventral sphincter)

Şekil 11. Terminal genital organların median sagittal kesitte tanı için gerekli özelliklerini gösteren şematik çizimi (Eduardo, 1980a'den uyarlanmıştır)

2. *Clavula* tip (Näsmark, 1937): Genital kıvrım iyi gelişmiş ve tüm genital yapının duvarını oluşturur. Genital büzücü sıkı, çok büyük ve güçlüdür. Genital papilla genellikle kalın, biçimsiz ve geri çekilmiştir. Büzücü papilla orta derecede gelişmiştir. Işınsal iplikler iyi gelişmiştir. Gerçek ventral kıvrım ve ventral atrium yoktur. Bununla birlikte genital kıvrım ve papilla geri çekildiğinde suni olarak şekillenebilir, fakat normal relaksiyon durumunda bunlar kaybolur.

3. *Streptocoelium* tip (Näsmark, 1937): Genital kıvrım tam olarak gelişmiştir. Genital büzücü iyi gelişmiş ve güçlüdür. Genital papilla iyi gelişmiştir. Büzücü papilla güçlü ve genital büzücüye bağlanıncaya kadar devam eder. Işınsal iplikler tam gelişmiştir. Gerçek ventral kıvrım ve ventral atrium yoktur.

4. *Orthocoelium* tip (Eduardo 1980): Genital kıvrım iyi gelişmiş ve içe doğru kuvvetlice kıvrılmıştır. Genital büzücü iyi gelişmiş, genital papilla kalın ve geniştir. Büzücü papilla iyi gelişmiştir. Işınsal iplikler kuvvetlice oluşmuştur. Gerçek bir genital kıvrım ve genital atrium yoktur.

5. *Gigantocoyle* tip (Näsmark, 1937): Tüm yapılar karakteristik olarak büyüktür. Genital papilla çok büyük, genital büzücü ve büzücü papilla tüm terminal yapının büyüklüğüne göre az gelişmiştir. Işımsal iplikler iyi gelişmiştir. Ventral kıvrım ve ventral atrium yoktur.

6. *Calicophoron* tip (Näsmark, 1937): Geri çekilebilir bir genital kolon veya sütunun varlığı ile karakterizedir. Genital kıvrım ve genital papilla küçük ve genital sütunun serbest ucunu aşar. Genital büzücü ve büzücü papilla çok az gelişmiş, fakat belirgindir. Işımsal iplikçikler iyi gelişmiştir. Gerçek ventral kıvrım ve ventral atrium yoktur.

7. *Raja* tip (Eduardo 1980): Genital kolon veya sütunun yüzeyinde uzanan minik bir tegümental papillanın varlığı dışında her yönden *Calicophoron* tipe benzer.

8. *Microbothrium* tip (Näsmark, 1937): Genital kıvrım kolay ayırt edilebilir, genital büzücü tam olarak gelişmiş ve belirgindir. Genital papilla tam olarak gelişmiş, ince ve uzundur. Büzücü papilla zayıf olarak gelişmiş, fakat belirgindir. Işımsal iplikçikler iyi gelişmiştir. Gerçek bir ventral kıvrım ve ventral atrium yoktur, fakat genital papilla ve genital kıvrım kuvvetlice geri çekildiğinde yapay olarak şekillenebilir. Fakat bunlar, normal gevşeme durumunda kaybolur.

9. *Scoliocoelium* tip (Näsmark, 1937): Bu tip *Microbothrium* tipi andırır, fakat tüm yapı daha küçüktür ve genital büzücü *Clavula* tipe yaklaşacak şekilde iyi gelişmiştir. Işımsal iplikçikler iyi gelişmiştir. Gerçek bir ventral kıvrım ve ventral atrium yoktur.

10. *Papillogenitalis* tip (Eduardo, 1980): *Microbothrium* tipi andırır, fakat tüm yapı daha küçüktür ve genital kıvrımın dış yüzeyi tegümental papillalarla kaplıdır. Işımsal iplikçikler iyi gelişmiştir.

11. *Dawesi* tip (Eduardo, 1980): Sıkı ve yuvarlaktan ovale değişen şekilde bir genital büzücünün varlığıyla ve büzücü papillanın yokluğuyla karakterizedir. Işımsal iplikçikler orta seviyede gelişmiştir. Ventral kıvrım ve ventral atrium yoktur.

12. *Ichikawai* tip (Näsmark, 1937): Genital kıvrım iyi gelişmiştir, genital sfinkter yoktur. Genital papilla iyi gelişmiş, kalın ve geniştir. Sfinkter papilla ve radial kaslar iyi gelişmiştir. Ventral kıvrım ve ventral atrium yoktur.

13. *Stephanopharynx* tip (Näsmark, 1937): Genital sfinkterin yokluğu, kalın ve iyi gelişmiş bir genital papillanın ve iyi gelişmiş bir sfinkter papillanın varlığı ile

Ichikawai tipi andırır. Fakat ondan genital kıvrım yüzeyinde büyük tegümental papillaların varlığı ile ayrılır. Radial iplikçikler iyi gelişmiştir. Ventral kıvrım ve ventral atrium yoktur.

14. *Liorchis* tip (Näsmark, 1937): Bütün yapının duvarı sadece az bir kas iplikçğine sahiptir. Genital kıvrım orta seviyede gelişmiştir. Genital sfinkter yoktur. Genital papilla kısa, sfinkter papilla zayıf gelişmiş, fakat belirgindir. Ventral kıvrım ve ventral atrium yoktur.

15. *Explanatum* tip (Näsmark, 1937): Bütün yapı, vücut büyüklüğüne göre karakteristik olarak küçüktür. Genital kıvrım genellikle geniştir ve dar bir kanalı çevreler. Genital büzücü yoktur. Genital papilla kısa ve genital açıklığın tabanıdadır. Büzücü papilla zayıf gelişmiş, fakat belirgindir. Işınsal iplikçikler orta seviyede gelişmiştir. Ventral kıvrım ve ventral atrium yoktur.

16. *Parvipapillatum* tip (Eduardo, 1980): Genital sfinkter ve sfinkter papillanın her ikisinin yokluğu ve ince uzun genital papillanın tabanı ve genital kıvrımın yüzeyinde küçük tegümental papillaların varlığı ile karakterizedir. Işınsal iplikçikler orta seviyede gelişmiştir. Gerçek bir ventral kıvrım ve ventral atrium yoktur, fakat genital kıvrım kuvvetlice kasıldığında yapay olarak şekillenebilir.

17. *Epiclitum* tip (Näsmark, 1937): Kendisine bir genital çekmen izlenimi veren, terminal yapı duvarının yarı dairesel dış çizgisiyle karakterizedir. Bununla birlikte gerçek bir çekmen değildir, çünkü bir genital çekmenin tipik kassal yapısına sahip değildir. Genital papilla kalın ve geniştir, genital sfinkter ve sfinkter papilla yoktur. Işınsal iplikçikler orta seviyede gelişmiştir. Ventral kıvrım ve ventral atrium yoktur.

18. *Leydeni* tip (Eduardo, 1980): Genital büzücü ve büzücü papillanın yokluğu ve kalın bir genital papillanın varlığıyla epiclitum tipi andırır, fakat daha büyük olması ve duvarın yarı dairesel yapı olarak oluşmamasıyla ondan ayrılır. Işınsal iplikler kuvvetli olarak gelişmiştir. Ventral kıvrım ve ventral atrium yoktur.

19. *Gracile* tip (Näsmark, 1937): Sadece birkaç ışınsal kas yapısı bulunması ve büzücüler ve diğer dairesel kas fibrillerinin olmamasıyla karakterizedir. Genital papillanın çeşitli şekilleri ortadan zayıfa değişen derecelerde gelişmiştir. Ventral kıvrım ve ventral atrium yoktur.

20. *Cotylophoron* tip (Näsmark, 1937): Çevreleyen parankim tarafından sınırları çizilen ve bir çekmen şeklinde gelişmiş olan tüm terminal yapının duvarıyla karakterizedir. Genital papilla genellikle ince uzundur, genital büzücü ve büzücü papilla mevcut değildir. Işımsal iplikler kuvvetli teşekkül etmiştir. Gerçek bir ventral kıvrım ve ventral atrium yoktur, fakat bazen genital çekmen kuvvetlice kasıldığında yapay olarak şekillenebilir.

21. *Schistocotyle* tip (Sey ve Grabet, 1979): Bir genital çekmenin varlığıyla bir önceki tipi andırır, fakat çekmen kenarında güçlü bir sfinkter oluşturan kuvvetli teşekkül etmiş dairesel kas ünitelerinin varlığıyla ondan ayrılır. Genital papilla kalın ve geniştir, sfinkter papilla yoktur. Işımsal iplikçikler kuvvetli olarak gelişmiştir. Ventral kıvrım ve ventral atrium yoktur.

Özofagus

Özofagus duvarının kas yapısı ve gelişmişlik düzeyi tür teşhisinde önemlidir. Duvar uzunluğu boyunca düzenli olarak ince veya çok kalın olabilir ya da sadece arka uç küçük bir büzücü halinde kalınlaşabilir veya bir büyük musküler bulbus gelişebilir. Eduardo (1980a) bunların kullanılışılığını teyit ederek bununla birlikte örneğin özofagusun iç yüzeyinin örtüsüne dikkat çekmiştir. Yazar, çalışmasında, özofagus yüzey örtüsüne dayanan kendisinden önceki yazarların gözlemlerinin doğruluğunu teyit etmiş ve farklı cins içinde yer alan *Calicophoron sukari* ve *Gigantocotyle symmeri* türlerinin aynı özofagus kaplama tiplerine sahip olduğunu, böylece özofagus yüzey şeklinin cins seviyesinde değil, sadece tür seviyesinde bir karakter olarak kabul edilebileceğini açık olarak göstermiştir.

2.6. Epizootiyoloji ve Dağılım

Paramphistomosis diğer digenealar gibi, uygun sıcaklık, nem ve arakonakların varlığı gibi koşulların birlikte bulunduğu ortamlarda ortaya çıkar. Hastalık düz, alçak ve kolay su basan araziler, pirinç yetiştirilen alanlar, yavaş akan su kenarlarındaki doğal çayırılar ile göl ve bataklık kenarlarındaki arazilerde görülmektedir (Sanabria ve Romero, 2008). Yıl boyu ılıman ve sık yağmur alan bölgelerin sığırlarda karaciğer veya rumen kepenekleri gibi trematod enfeksiyonları için daha uygun oldukları ve Planorbid sümüklülerin sucul ve daha uyumlu olduklarından Lymneid sümüklülerden çok daha değişik habitatları işgal ettikleri bildirilmiştir (Vorster ve Mapham, 2012).

Koyun, keçi ve sığırlarda paramphistomid enfeksiyonlar çok yaygındır. Arakonaklar takip eden sümüklü jenerasyonları için neredeyse sabit bir enfeksiyon kaynağı sağlayarak 1 yıla kadar canlı kalabilirler. Arakonaklar, enfekte alanlarda parazitin sümüklüye kolayca ulaşımını sağlayan, olağanüstü uyumlu ve hızlı çoğalan canlılardır. Sümüklüler sıcak ve yağmurlu aylar boyunca ürer ve sayıları artınca Paramphistomidae mirasidyumlarıyla kolayca enfekte olurlar. Enfekte sümüklüde parazitin eşeysiz çoğalması ve uygun çevrede sümüklünün birkaç ay canlı kalması, çok yüksek sayıda serker çıkışı ile sonuçlanır. Arakonaklardaki çember tamamlandıktan sonra metaserkerler birkaç hafta canlı kalabilecekleri otlara dağılırlar. Eğer kurak mevsimde canlı kalırlarsa, sulak çayır alanlarına yayılma eğiliminde olacaklarından hayvanların bulaş oranında artış mümkün olacaktır (Sanabria ve Romero 2008; Vorster ve Mapham, 2012).

Horak (1967), Güney Afrika'da akut paramphistomosis salgınlarının çoğunun sonbahardan ilkbahara kadar olan kurak mevsim boyunca (Güney Afrika'da marttan eylüle kadar) gözlendiğini, bu durumun arakonak olan *Bulinus truncatus*'un sucul tabiatı göz önünde tutulduğunda bir anormallik teşkil ettiğini bildirmiş ve bu durumu şu faktörlerin ışığında açıklamıştır: Sıcak yaz aylarında sümüklüler çoğalır ve *P. microbothrium* ile enfekte olurlar. Su bol olduğu için enfekte sümüklüler ve metaserkerler su kaynaklarının etrafındaki bitkilere dağılmıştır. Aynı zaman diliminde yeşillikler de boldur ve hayvanlar su kaynaklarına otlamak için değil sadece su içmek için gelirler. Bu nedenle hastalığa yakalananlar genellikle hafif atlatırlar. Marttan eylüle kadar olan son yazda bitkiler tohum verir ve yeşillikler sadece baraj, akarsu ve bataklıkların etrafında bulunmaktadır. Bu aylar boyunca yağmur hiç yağmaz veya çok az yağar ve su seviyesi düşer. Sümüklü popülasyonu su kaynakları etrafında yoğunlaşmaya başlar ve bunları çevreleyen otlar metaserkerle ağır bir şekilde bulaşıkır. Hayvanlar bu yeşil alanlarda toplanır ve kısa sürede ağır bir şekilde enfekte olurlar. Sığırlar koyunlarla birlikte veya onlardan önce otlatıldığında daha elverişli konaklar olduklarından çayırları çok sayıda *P. microbothrium* yumurtasıyla sürekli bulaştırırlar. Büyük parazit yüklerini tolere edebildiklerinden ve hızlıca bağışık hale geldiklerinden parazitlerin patolojik etkilerinden nadiren etkilenirler. Bununla birlikte koyunlar daha hassastırlar ve kısa sürede ağır enfeksiyonlara yakalanır ve yüksek sayıda ölümler gözlenir.

Burgu (1980), nisan-kasım ayları arasında her ay enfekte *P. planorbis*'e rastlamış ve enfeksiyon en az nisan (%0,75) ve en fazla ekim (%2,20) ayında bulunmuştur. Enfekte *P. planorbis*'lere nisan ayından itibaren rastlanmış olması, koyunların otlağa ilk çıktıkları aydan itibaren enfeksiyonu alabildiklerini ve sümüklülerin de enfeksiyonu önceden alıp kış dönemini enfekte geçirebildiklerini göstermiştir.

Rolfe ve ark. (1991), Doğu Avustralya'nın subtropikal bölgeleri için dışkıdaki yumurta sayısının, yaz ve sonbahar süresince enfeksiyondan kaynaklanan yüksek trematod yükünün bir sonucu olarak kış ve erken ilkbaharda yüksek olduğunu bildirmiştir. Çalışmada daha çok *C.calicophorum* ve daha az *P. ichikawai* olmak üzere nekropside en fazla trematod yükü, çalışmanın ilk yılında orta ve geç yaz, ikinci yılda son güz ve erken kış döneminde görülmüştür.

Mage ve ark. (2002), Güney Fransa'da yürüttükleri epidemiyolojik bir araştırma ile sığırlarda *Paramphistomum* spp. ile doğal enfeksiyon prevalansının 1990 yılında %5,2'den, 1999'da %44,7'ye yükseldiğini göstermişlerdir. Bunun kısmen fasciolosis kontrol yöntemlerindeki artışa bağlı olduğu, böylece *F. hepatica*'nın doğal arakonağı olan *G. truncatula*'nın boş kalarak *Paramphistomum*'ların gelişiminde kullanıldığı sanılmaktadır. Bunun yanında teşhis yöntemlerinin gelişmesi ve paramphistomosis'e karşı tam başarılı bir tedavi yokluğunun da etkili olduğu ileri sürülmüştür.

Rangel-Ruiz ve ark. (2003) tarafından Meksika-Tabasco'da sığırlarda *P. cervi*'nin neden olduğu enfeksiyonun mevsimsel eğilimlerini ve iklim faktörleri ile ilişkilerini belirlemek için Mayıs 1989- Nisan 1992 arasında her ay 30 rumen muayene edilmiştir. *P. cervi*'nin yıllık prevalansı %3,33 ile 96,67 arasında ve ortalama %39,10 olarak bulunmuştur. Sığırların *P. cervi* ile yağmurlu (temmuz - ekim) ve rüzgârlı mevsimlerde (kasım - şubat) daha sık enfekte olduğu gözlenmiş ve yağmur mevsimiyle doğrudan ilişkili bir paramphistomosis döneminin var olduğunu belirtmiştir. Bunun birkaç nedeni vardır. Bunlar, sümüklülerin çoğalması ve yayılması, dışkının yağmur vasıtasıyla dağılması, mirasidyumun gelişme ihtimali, sümüklü enfeksiyonu ve su basan arazilerin metaserkerlerle kontaminasyonudur.

Phiri ve ark. (2007) çalışmalarında Zambia'da yıl boyu görülen parazitlerin en yüksek bulunma oranının (%47,8) yağmur sonrası dönem olan mevsim (Mart-Mayıs)

boyunca, en düşük bulunma oranının ise (%24,8) soğuk ve kurak mevsim (Haziran-Ağustos) boyunca olduğunu bildirmiştir. En yüksek ortalama yumurta ve enfekte sığır sayısına, yağmurlu ve yağmur sonrası mevsimde rastlanmıştır. Sığırların yaş ve cinsiyetleri ile hastalık bulunma oranları açısından bir fark bulunmamıştır.

Tariq ve ark. (2008), Hindistan'ın ılıman kuzeybatı Himalaya bölgesinde yaptıkları çalışmalarında *Paramphistomum* prevalansını %7,3 olarak bildirmişlerdir. Koyunlarda mevsim ve yaşın *Paramphistomum* riskinde önemli olduğu öne sürülmüş ve en yüksek enfeksiyon oranı yaz mevsiminde, gençlerde, erkeklerde ve göçer ırklarda bulunmuştur. Kışın, erişkin hayvanlar, dişiler ve yerli ırklarda daha düşük hastalık oranı bildirilmiştir.

Millar ve ark. (2012), İngiltere'nin birçok yerinde 2012 yazındaki yüksek yağışın sümüklü arakonaklarının yayılma oranında artış ihtimalini bildirmiştir.

Ahmad ve ark. (2013), 2008 yılı süresince Keşmir vadisinin değişik yerlerinden seçtikleri 655 koyunu *Gastrothylax crumenifer*'in neden olduğu enfeksiyonun mevsimsel durumunu saptamak için muayene etmişler ve parazit prevalansının yıl boyu %49 olduğunu, prevalansın yağmurlu ve muson sonrası mevsimlerde yükseldiğini, yaz ve kış mevsimlerinde ise hafifçe düştüğünü tespit etmişlerdir.

Eduardo (1987), geniş getirenlerde parazitlenen paramphistomidlerin zoocoğrafik ilişkilerini incelediği çalışmasında *Paramphistomidae* ailesindeki cinslerin dağılımı ve evrimi hakkında şu bilgileri vermiştir: *Paramphistomum* cinsinde bulunan 9 türün tamamı sadece çoğu Asya ve Avrupa'da görülen ruminantlarda parazitlenir. *P. cervi*, *P. hiberniae* ve *P. leydeni* Avrupa'da, *P. epiclitum*, *P. ichikawai* ve *P. gotoi* başlıca Asya'da görülür. Son ikisi Avrupa'ya yayılmıştır, *P. ichikawai* Avustralya'da da gözükmektedir. *P. gotoi*, Sey (1977) tarafından Afrika'da da mandalarda tespit edilmiştir. *Paramphistomum liorchis*' in varlığı şimdiye kadar sadece Kuzey ve Güney Amerika'da, Amerikan geyiklerinde bilinmektedir. *P. cephalophi* şimdiye kadar Afrika kıtasında, sadece Orta Afrika'da ve siyah alınlı antilopta (*Cephalophus nigrifrons*) gözlenmiştir. Sonuç olarak bu cinsin başlıca Avrasyalı olduğu ve muhtemelen bu bölgede gelişip dünyaya yayıldığı değerlendirilmektedir. Son konakların yaygın hareketlerine rağmen, bu cins yayıldıkları yeni çevrede elverişli arakonakları olmadığı için geniş bir alana dağılmamıştır.

Calicophoron cinsi ise ağırlıklı olarak Afrikalıdır ve 12 türden sadece 4'ü (*C. calicophorum*, *C. papillosum*, *C. papilligerum* ve *C. microbothrioides*) Afrika'da görülmez. 12 türün tamamı boynuzlugiller (Bovidae) ailesinde parazitlenir. *C. calicophorum* en yaygın tür olup Asya ve Avustralya'da görülür. Bu cinsin Afrika'da görülen türleri *C. microbothrium*, *C. bothriophoron*, *C. raja*, *C. clavula*, *C. sukari*, *C. phillerouxi*, *C. daubneyi* ve *C. sukumum*'dur. Bunlardan *C. microbothrium* ve *C. daubneyi* kıta dışına yayılmıştır. Kayıtların ışığında *Calicophoron* cinsinin Afrika'da doğup bu bölgeden dünyaya yayıldığı ve yaşam çemberi bilinen türlerin çoğunun ara konaklarına yüksek seviyede özgüllük gösterdiği görülmektedir.

Gigantocotyle cinsinde Afrika'da 3 tür *G. gigantocotyle*, *G. duplicitestorum* ve *G. symmeri* ve Asya'da sadece bir tür *G. formosanum* görülmektedir. İlk ikisi su aygırlarında, son 2'si geviş getirenlerde parazitlenmektedir.

Explanatum cinsindeki 3 tür de Asya'da görülmekte ve *E. explanatum*'un Afrika'daki varlığı ile ilgili bildirimler yanlış teşhisten kaynaklanmaktadır.

Cotylophoron cinsi Afrika, Asya, Kuzey ve Güney Amerika'da gözlenir. 4 tanesi Afrika'da gözlenmekte olup bunlardan 2 tanesi *C. cotylophorum* Asya ve Kuzey Amerika ve *C. fuelloborni* A.B.D.'de kaydedilmiştir. Bu cins son konakların yaygın hareketlerine rağmen Avrupa ve Avustralya'da görülmemektedir. *Cotylophoron* türlerinin Avustralya ve eski Sovyetler Birliği'ni de içeren Avrupa'da görüldüğüne dair kayıtların yanlış teşhis olduğu belirtilmektedir.

Orthocoelium cinsinde yer alan 11 türün tamamı Asya'da bildirilmiş sadece iki tür *O. streptocoelium* Avustralya ve Zaire'de, *O. scoliocoelium* Kenya ve Çad'da kaydedilmiştir. Bu türler muhtemelen komşu Asya ülkelerinden zebu ve mandalar yoluyla gelmiş olmalıdır.

Leiperocotyle cinsindeki 3 türün tamamı Afrika'dadır ve *L. okapi* ve *L. congolense*'nin son konağı okapi (*Okapia johnstoni*) ve *L. gretillati*'ninki Afrika mandası (*Syncerus caffer*) gibi Afrika'ya has hayvanlardır.

Tek türlü (monotipik) bir cins olan *Bilatorchis* şimdiye kadar Afrika'ya has 2 cins olan su antilopları (*Kobus*) ve kududa (*Limnotragus*) kaydedilmiştir.

Ruminantlarda bulunan paramphistomid cinsler arasında bir yutak divetikülü ile karakterize edildiği için ilkel olarak kabul edilebilen 4 tanesi buldukları yerde

endemik olup *Balanorchis* (monotipik) Güney Amerika'da, *Stephanopharynx* (3 tür) ve *Choerocotyloides* (monotipik) Afrika'da ve *Olveria* (2 tür) Hindistan'da kaydedilmiştir.

Ruminantlardaki Paramphistomidler muhtemelen tropikal Asya'dan köken almıştır. Buradan konaklarıyla değişik bölgelere dağılmışlar ve buralarda cinslere ve farklı türlere evrimleşmiş ve özellikle iklimin sıcak olduğu Afrika'da çoğalmışlardır. Geç miosen döneminde Asya ile Afrika arasında bir kara köprüsü olduğuna inanılmaktadır. Fosil kayıtları da bu hayvanların Asya'dan gelerek Afrika'yı işgal ettiği önerisini desteklemektedir (Eduardo, 1987).

Sey (1983), Gastrothylacidae ailesindeki türlerin, yalnızca Asya ve Afrika'nın tropikal ve subtropikal bölgelerinde görüldüğünü bildirmiştir. Ailedeki 3 cinsten biri olan *Carmyerius* cinsindeki türlerin çoğu Afrika'da görülürken, *C. synethes* Afrika ve Oryantal olarak adlandırılan Hint alt kıtası ve güneydoğu Asya'da, *C. spatiosus* Afrika ve Paleartik bölge, *C. gregarius* ise Afrika, Oryantal ve Paleartik bölgelerde görülmektedir. *Carmyerius* cinsindeki türlerin sayısı ve dağılımı, bunların orijinin tropikal Afrika olduğunu göstermektedir. *Gastrothylax* cinsinin ana dağılım bölgesi çok yaygın oldukları Oryantal veya İndomalay olarak adlandırılan Hint alt kıtası ve güneydoğu Asyayı kapsayan bölgedir. Dolayısıyla bunların güney Asya kökenli olduğu ve bu bölgeden dünyaya yayıldıkları sanılmaktadır. En uyumlu tür olan *G. crumenifer*' in Avrupa ve Afrika'ya yayıldığı bildirilmiştir, fakat Afrika ile ilgili ilk bildirim başka kayıt olmadığından teyide muhtaçtır. Bu türün geniş bir alana yayılmasının nedeni, arakonağının Güney Amerika ve Avustralya hariç her kıtada bulunan *Gyraulus* (Hindistan'da *G. convexiusculus*, eski Sovyetler Birliği'nde *G. albus*) cinsinden olmasıdır. *G. compressus*'un varlığı sadece Oryantal ve Paleartik bölgedeki Asya ülkelerinden bildirilmiştir. *Fischoederius* cinsindeki türler de Oryantal ve Paleartik bölgelerde bulunmaktadır, Afrika'dan yapılan bildirimler şüphelidir (Sey, 1983).

Jonathan (1952), Yeni Zelanda'da yürüttüğü çalışmasında, çoğunluğunu insidensin çiftlik hayvanlarından daha düşük çıktığı büyük çiftliklerde besi amaçlı yetiştirilen 2 yaşlı boğaların oluşturduğu 425 hayvanı muayene etmiş ve enfeksiyon oranını % 46,5 bulmuştur.

Bouvry ve Rau (1984), Kanada'nın Quebec eyaletinde 601 ineğin dışkı bakısıyla yapılan muayenesinde hayvanların %34' ünü *P. microbotriodes* ve %1 'ini *P. liorchis* ile enfekte bulmuştur.

Sey ve Prasitirat (1994), Tayland'da Bangkok ve Singkuri bölgelerindeki kesimhanelerden topladıkları parazitlerden histolojik kesitler hazırlamış ve asetabulum, genital açıklık ve farinks gibi kassal organların yapısı temel alınarak Tayland'daki sığır ve mandalarda 10 amphistomid türü tespit etmişlerdir: Bu türler Gastrothylacidae ailesinden *Gastrothylax crumenifer*, *Carmyerius spatiosus*, *Fischoederius elongatus* ve Paramphistomidae ailesinden *Orthocoelium dicranocoelium*, *O. parvipapillatum*, *O. streptocoelium*, *Paramphistomum epiclitum*, *P. ichikawai*, *Explanatum explanatum* ve *Calicophoron calicophorum* olarak kaydedilmiştir.

Prasitirat ve ark. (1997), Tayland'da 1991-1995 yılları arasında sığırlarda amphistom türlerinin varlığına dair mezbahada kesim sonrası ve sahada dışkı örneklerinin muayenesiyle kapsamlı bir epidemiyolojik araştırma yapmışlardır. 1992-1995 yılları boyunca besi ve süt sığırlarından 3087 ve 4122 dışkı örneğini toplanmış ve flotasyon metoduyla muayene edilmiştir. Etçi sığırlarda hastalık prevalansı sütçü sığırlardan bariz şekilde yüksek çıkmıştır. Süt sığırlarında enfeksiyon prevalansı 1992, 1993, 1994 ve 1995 yıllarında sırasıyla %38, %14, %17,4 ve %21,1 iken, besi sığırlarında sırasıyla %74,4; %72,7; %63,3 ve %80 olarak saptanmıştır. 1991-1995 yılları arasında bölge kesimevinde erişkin parazitlerin prevalansı araştırılmış ve prevalans 1991-1995 yılları arasında sırasıyla %46, %41, %39, %30 ve %50 bulunmuştur.

Dube ve ark. (2004) tarafından Zimbabwe'nin Masvingo ve Manicaland bölgelerinde 3225 sığır, kesim sonrasında rumen ve retikulumları açılarak parazit yönünden muayene edilmiştir. Teşhisi yassılaştırılmış örneklerin morfolojisi ve median sagittal kesitlerin diagnostik açıdan önemli özelliklerinin ölçümlerine göre yapmışlar, asetabulum, farinks ve genital delik yapılarını inceleyerek bölgede *Calicophoron calicophorum*, *C. clavula*, *C. microbothrium*, *C. phillerouxi*, *C. raja* ve *C. sukari* türlerini tespit etmişlerdir.

Uddin ve ark. (2006), Bangladeş-Mymensingh bölgesinde farklı kesimevlerinde kesilmiş siyah Bengal keçilerinde amphistomid parazitlerin dağılımını araştırmak için Temmuz 1998-Haziran 1999 yılları arasında 144 hayvanın sindirim sistemini incelemişler ve 105'inin (%72,9) tek veya birden fazla amphistom türüyle enfekte olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada *P. cervi*, *C. cotylophorum* ve *G. crumenifer* olmak üzere 3 tür saptanmıştır. En yüksek enfeksiyon oranının *P.cervi*

(%65,28), en azının *C. cotylophorum* (%36,11) ile olduğu gözlenmiştir. 2 veya daha fazla türle karışık enfeksiyon oranı %60,42 olarak bulunmuştur. Yaşın prevalans üzerinde önemli bir etkisi olduğu, prevalansın yaşlı hayvanlarda (%89,58) genç hayvanlara (%78,57) göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Dişilerin (%75,0) erkeklere göre (%67,5) hastalığa daha hassas olduğu bulunmuştur. Hastalık prevalansının tüm yıl boyunca yüksek olduğu ve enfeksiyon oranının muson, kış ve yaz mevsimlerinde sırasıyla %83,64; %69,23 ve %64,0 olduğu saptanmıştır.

Shabih ve Juyal (2006), Hindistan Pencab eyaletinin farklı bölgelerinden 2000-2004 yılları arasında 3757 ruminant dışkı örneği toplamış ve bunları sedimentasyon yöntemiyle mikroskopik olarak muayene etmişlerdir. Toplam üzerinden 157 örnekte (116 manda, 28 sığır, 2 keçi ve 11 koyun) *Paramphistomum* yumurtası bulunmuş ve insidens %4,18 olarak hesaplanmıştır. En yüksek insidens mandalarda ve sırasıyla sığır, koyun ve keçilerde bulunmuştur.

Abunza ve ark (2008), Nijerya-Sokota'da Mayıs-Ekim 2007 tarihleri arasında gevişen çiftlik hayvanlarında *Paramphistomum* türlerinin prevalans ve parazit yükünü tespit etmek için 100'er adet keçi, koyun ve sığırı parazit yönünden muayene etmişlerdir. Ortalama parazit yükü ve prevalansı tespit etmek için parazitler sayılmış, 300 hayvandan 100'ünün (%33,3) enfekte ve ortalama parazit yükünün 4794 olduğu tespit edilmiştir. Bunlardan 56 tanesi sığır (%56) ve ortalama parazit sayısı 2517 (%52,5), 32 adedi koyun (%32) ve parazit yükü 1907 (%39,8) ve 12 adedi keçi (%12) ve parazit yükü 370 (%6,7)'dir. Enfeksiyon dışı hayvanlarda erkeklerden yüksek çıkmış olup, enfeksiyon oranları dişi sığırlarda %36, erkeklerde %20, dişi koyunlarda %28, erkeklerde %4, dişi keçilerde %8, erkeklerde ise %4 olarak saptanmıştır. Yaşa bağlı da farklılıklar gözlenmiş ve orta yaşlı hayvanlarda enfeksiyon daha yüksek çıkmıştır. Dişi sığırlardaki yüksek prevalans nedeniyle paramphistomiasisin bölgede kalıcı olduğu değerlendirilmiştir.

Titi ve ark. (2014) tarafından Nijerya'da 2010-2012 yılları arasında mezbahada kesilen 1421 buzağı ve 121 yaşlı sığır paramphistomosis yönünden incelemiş ve enfeksiyon oranını gençlerde %14,5-14,6, yaşlılarda %41-45 olarak tespit edilmiştir. Parazit sayısı gençlerde 125-139, yaşlılarda 273-314 olarak kaydedilmiş, enfeksiyon oranı gençlerde kışın azalıp bahar ve yazda artarken, yaşlılarda mevsimsel değişim

önemsiz bulunmuştur. Etken türler moleküler yöntemle *C. daubneyi* ve *C. microbothrium* olarak saptanmıştır.

Paraud ve ark (2009), Doğu Fransa Saône-et-Loire bölgesinde *C. daubneyi*' nin daha net dağılımını tespit etmeyi amaçladıkları çalışmalarında, merayı kullanan 42 çiftliği ziyaret ederek çiftlik başına 15 keçiden bireysel dışkı örneği almışlar ve *C. daubneyi*'nin bütün alanda aynı derece yaygın olduğu tespit edilmiştir. Çiftliklerin %58,1'inde en az 1 hayvanın *C. daubneyi* yumurtası çıkardığı ve sürü için prevalansın ortalama %35 olduğu ve %7-93 arasında değiştiği, hastalık yönünden pozitif keçilerin %72,5'inde gram dışkıdaki yumurta sayısı 100'den az olduğu saptanmıştır. Çiftlik sahiplerinin %70'i trematod enfeksiyonlarına karşı keçilerini oksiklozanid ile 15 ve 22 mg/kg dozunda 2 ana dozda tedavi ettiği belirtilmiştir.

Sanabria ve ark. (2009), Arjantin'de ruminantlarda şimdiye kadar sadece Szidat ve Ostrowskii tarafından (1962) varlığı bildirilen *Balanorchis anastrophus* ve Racioppi ve ark. (1994) tarafından varlığı ilk kez bildirilen *Cotylophoron cotylophorum*'un tanımlandığını fakat son zamanlarda yapılan gözlemlere göre *C.cotylophorum* olarak bildirilen örneklerin yanlış tanımlanmış olabileceğini bildirmiştir. Bunu doğrulamak için Corrientes İlinden toplanan ve Racioppi ve arkadaşları tarafından (1994) *C. cotylophrum* olarak tanımlanan örnekleri yeniden muayene ederek *Paramphistomum leydeni* olarak yeniden tanımlamış ve bu kepenegın Arjantin'deki varlığı ilk kez bildirmiştir.

Eslami ve ark. (2011), Kuzey İran, Mazenderan ilinde yerli ırk ve Holstein melezi sığırlarda amphistomiasisin prevalans ve yoğunluğunu cinsiyet, yaş, ırk ve mevsime bağlı olarak incelemişlerdir. 2008 yılında 4 mevsim boyunca 132 yerli ve 104 melez hayvanın rumen ve retikulumu çıplak gözle amphistomosis yönünden muayene edilmiştir. Irk ile enfeksiyon yoğunluğu arasında önemli bir ilişki bulunmamış, fakat ırk ile enfeksiyon prevalansı arasında önemli bir ilişki bulunduğu (P=0,0103), ayrıca farklı yaş grupları arasında enfeksiyon yoğunluğu açısından farklılıklar olduğu ve 5 ve daha yaşlı hayvanların, genç (2'den küçük) ve 3-4 yaşlı hayvanlardan daha fazla parazit taşıdığı anlaşılmıştır. Yine cinsiyet ile enfeksiyon prevalansı arasında oldukça kuvvetli bir ilişki görünürken, enfeksiyon yoğunluğu ile ilişkisi gözlenmemiştir. Mevsimsel prevalans değişikliklerinde mevsim ile enfeksiyon yoğunluğu arasındaki ilişkiye rağmen, bunlar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Tanımlanan türler ve

prevalans yüzdeleri ise *Calicophoron calicophorum* (%42,85), *Gastrothylax crumenifer* (%34,5), *Paramphistomum gotoi* (%21,8) ve *Carmyerius spatiosus* (%0,75) olarak kaydedilmiştir.

Coşkun ve ark. (2012), 2010 yılında İran Gilan ve Mazenderan illerindeki mezbahalarda kesilen sığırlardan toplanan amphistomid türleri, klasik metodla median sagittal kesitler hazırlayarak kassal organların histomorfolojik özelliklerine göre muayene edip, *Paramphistomum cervi*, *P. gotoi*, *Calicophoron calicophorum*, *Carmyerius spatiosus* ve *Gastrothylax compressus* olmak üzere 5 tür tanımlamışlardır.

Gonzales-Warleta ve ark. (2013), İspanya'nın sığır üretim bölgesi olan Galiçya'da paramphistomosisin epidemiyolojisini araştırmak için bölgenin her tarafındaki farklı çiftliklerden kesimevine getirilmiş ineklerden rastgele 589 tanesini seçerek rumen ve retikulumlarını Paramphistomid türlerin varlığı yönünden muayene etmişlerdir. Bunların besi sığırı olan 111'inde parazitin prevalansı %29,2 iken süt sığırlarında daha düşük (%13,9) olarak bulunmuştur. Hayvan başına ortalama 266 parazit olduğunu ve sayının düşük olduğunu, ancak bazı hayvanlarda sayının çok fazla olduğu (>11.895 parazit) gözlenmiştir. Yüksek parazit yüküne sahip sığırların dışkılarıyla çok fazla sayıda yumurta çıkardıkları ve böylece ağır enfekte yaşlı ineklerin paramphistomiasisin bulaşmasında önemli rol oynadığı; bölgedeki tek vahşi ruminant olan karacalar, hastalık için bir rezervuar olmadığından, bu rolün Galiçya için özellikle önemli olabileceği ileri sürülmüştür. Bunun yanında, Paramphistomidae ailesinden Galiçya'daki tek türün *C. daubneyi* olduğu belirlenmiştir.

Ferreras ve ark. (2014), 3 yıllık bir süre (2010-2012) boyunca, İspanya'nın Castilya ve Leon bölgesinde kesilmiş, 93'ü entansif (%50,5) toplam 184 çiftlikten gelen 10 aylık-19 yaş arası 790 sığırdaki doğal paramphistomosisin yaygınlık ve etiyolojisini araştırmışlardır. Hastalık prevalansı %6,20 ve hayvan başına parazit yükü ortalama 144 (8-8005) bulunmuştur. En fazla parazite rumen girişinde, en az parazite dorsal kesede rastlanmıştır. Prevalans ve parazit yükü yaşla birlikte artarken, bu parametreler entansif koşullarda yetiştirilen sığırlarda daha düşük bulunmuştur. Hayvanlarda morfolojik, histolojik ve moleküler metotlar kullanılarak tanımlanan tek paramphistomid tür *C. daubneyi* olmuştur.

Zintl ve ark. (2014), İrlanda'da paramphistomosisin son yıllarda artış gösterdiğini kaydetmişlerdir. Nitekim dönemsel değişimleri anlamak için 3 sığır

sürüsünü, sırasıyla 2 aylık (boğa yetiştiren bir çiftlik) ve 14 aylık (ekstansif tarım yapan 2 çiftlik) dönemler halinde dışkı muayeneleri yaparak Paramphistomid yumurtalar açısından izlemişlerdir. Aynı hayvanlar kesim için mezbahaya gidince ergin parazitler toplanmıştır. Sonuçta İrlanda'da en yaygın türün *C. daubneyi* olduğu, ancak başka türlerin de bulunduğu ve sığırlarda bu hastalığın 5-6 yıl öncesine göre şimdi çok daha yaygın olduğu anlaşılmıştır. Benzer durumu Dublin Veteriner Fakültesi hayvan hastanesinin 2004-2013 yılları arası kayıtlarıyla da desteklemiştir. Adı geçen hastane kayıtlarına göre ilk beş yılın ortalama prevalansı %3-9 iken, 2009'dan itibaren pozitif olgular artmış bu oran 2010'da %32 ye ulaşmış, oranlarda küçük değişiklik olsa da, son beş yılın ortalama prevalansı %20 düzeyine ulaşmıştır. Koyunlarda da benzer yükseliş eğilimi gözlenmiştir.

Malik ve ark. (2017), mandalarda *G. explanatum*'un olgun ve yumurtalarının morfolojik özellikleriyle birlikte parazite karşı patolojik, hematolojik ve biyokimyasal yanıtları inceledikleri çalışmalarında 2010-2011 yıllarında Pakistan-Pencap'ta mezbahalarda kesilmiş 558 mandanın %18,99 'unda enfeksiyonu tespit etmişlerdir.

Founta ve ark. (2018), Kuzey Yunanistan'da 110 mandadan alınan dışkı örneklerinin Teleman yöntemiyle muayenesiyle hayvanların %10'unun *P. cervi* ile enfekte olduğunu bildirmişleridir.

Ülkemizde paramphistomosis ile ilgili araştırma sayısı sınırlı sayıdadır (Burgu, 1980; Coşkun, 1987; Coşkun, 1988a; Celep ve ark, 1995; Çetindağ ve Doğanay, 1996; Gıcık ve ark., 2003; Özdal ve ark, 2010; Değer ve Ayhan, 2011; Acıöz ve ark, 2016). Hastalığın yayılışı yörelere göre değişmekle birlikte, ekonomik açıdan azımsanmayacak düzeydedir (Özdal ve ark, 2010). Türkiye'de yapılan ilk çalışmalarda rastlanan parazitler teşhis amacıyla yurtdışı merkezlere gönderilmiş, gelen cevaplarda *Paramphistomum clavula*, *P. cervi*, *P. epiclitum*, *P. leydeni*, *P. microbothrium* ve *Calicophoron daubneyi* teşhisi konulmuştur (Eduardo, 1980; Güralp, 1981; Coşkun, 1988b). Bununla birlikte daha sonra yapılan çalışmalarda ülkemizde yalnızca *P. cervi*, *P. ichikawai* ve *C. daubneyi* bulunduğu belirtilmiş, diğer türlerin yanlış teşhis edilmiş olabileceği öne sürülmüş (Coşkun, 1988b) ve mandalarda yaygın olan türün *C. daubneyi* olduğu kaydedilmiştir (Çetindağ ve Doğanay, 1996).

Burgu (1980), Eskişehir Çifteler Harasında *P. cervi*'nin biyolojisi üzerinde yürüttüğü çalışmasında *P. planorbis*'lerde enfeksiyon oranını %1,57; aynı dönemde

hara mezbahasında kesilen koyunlarda *P. cervi* enfeksiyon oranını %80,76 olarak saptanmıştır. Ankara mezbahasında yapılan geniş kapsamlı bir tez çalışmasında (Coşkun, 1988a) enfeksiyon oranı sığırlarda %26,7; keçilerde %10 ve koyunlarda %2,48 olarak saptanmıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarda; Güney Marmara bölgesinde sığırlarda %15,6; koyunlarda %4,96 ve keçilerde %1 (Tınar ve ark, 1992); Ankara yöresinde keçilerde %3-10 (Güralp ve Oğuz, 1967; Umur, 1991); Güney Marmara Bölgesinde koyunlarda %4 (Öncel, 2000); Kayseri yöresinde sığırlarda %14,5 (Yıldırım ve ark., 2000); Afyon yöresinde sığırlarda %13,6 (Kırcalı-Sevimli ve ark., 2005); Malatya yöresinde sığırlarda %1,75 (Kara ve ark., 2009); Erzurum yöresinde sığırlarda % 8,88 (Avcıoğlu ve Güven, 2011); Sivas yöresinde sığırlarda %8,9 (Acıöz ve ark., 2016); Kars Et Kombinasyonu'nda kesilen, iki yaş ve üzeri Morkaraman ırkı koyunlarda %1,64 (Gıcık ve ark., 2003); Van yöresinde koyunlarda %55,0 (Değer ve Biçek, 2005) olarak saptanmıştır. Van yöresinde 2006-2007 yıllarında yapılan başka bir çalışmada Özdal ve ark. (2010) tarafından enfeksiyon oranı sığırlarda %8,95 ve koyunlarda %4,43 olarak tespit edilmiştir. İskenderun mezbahasında kesilen 2000 sığır üzerinde yapılan çalışmada ortalama %2,44 oranında *P. cervi*'ye rastlandığını, ancak yaşlı hayvanlarda oranın %6,66'ya çıktığı belirtilmiştir (Gönenci ve Yıldırım, 2008). Ülkemizde konuyla ilgili son çalışmalarda, enfeksiyon oranı Bandırma yöresinde (Değer ve Ayhan, 2011) koyunlarda %49,7; sığırlarda %9,5 ve keçilerde %6,2; Bartın yöresinde sığırlarda ise %30,5 (Kozan, 2014) olarak belirlenmiştir. Aypak ve ark. (2013) Aydın, İzmir, Manisa, Denizli, Muğla, Balıkesir ve Çanakkale illerinde yürüttükleri çalışmada, 109 güreş devesinden dışkı örneği toplamış ve sadece İzmir ilinden toplanan 16 örnekte 1'i *Paramphistomum* yönünden pozitif tespit edilmiş ve enfeksiyon yüzdesi %0,9 olarak bulunmuştur.

Samsun yöresinde paramphistomosis ile ilgili spesifik bir araştırma yoktur. Ancak fauna tespiti veya dışkı bakısıyla yapılan bazı epidemiyolojik çalışmalarda Paramphistomid türlerin varlığı veya yayılışı ile ilgili bazı veriler bulunmaktadır. Bu bağlamda koyunlarda bir, sığırlarda üç ve mandalarda bir olmak üzere beş araştırma mevcut olup üçü dışkı bakısı, ikisi nekropsi esasına dayanmaktadır. 1984 yılı dışkı bakısı verilerine göre sığırlarda paramphistomosisin yayılışı Samsun'da %16,6; Ordu'da %33 olarak kaydedilmiştir (Celep, 1984). Koyunlarda dışkı bakısıyla yapılan başka bir çalışmada (Celep ve ark., 1995) paramphistomosisin yayılışı %40,85 olarak

bildirilmiştir. 1991-92 yıllarında Samsun ve ilçelerinde sığırlar üzerinde yapılan başka bir araştırmada (Celep ve ark., 1994) hayvanların %79,34'ü Paramphistomid türlerle enfekte bulunmuştur. Nekropsi yöntemiyle yapılan çalışmada ise (Celep ve ark., 1990) 142 sığır kesim sonrası incelenmiş ve %40,1 oranında Paramphistomid parazit (%39,4 *C. daubneyi*, % 0,7 *P. cervi*) saptanmıştır. Diğer çalışma ise manda çalışmasıdır.

Türkiye’de mandalarda paramphistomosisin yayılışıyla ilgili yalnız üç araştırma ve dört kaynak mevcuttur. Samsun yöresinde tek araştırma 1993-94 yıllarında yapılmıştır. Bahsi geçen çalışmada (Çetindağ ve Doğanay, 1996) 100 manda sindirim sistemi parazitleri yönünden kontrol edilmiş ve *C. daubneyi* %31 oranında bulunmuştur. Diğer çalışmada ise Tınar ve ark. (1992) tarafından Güney Marmara Bölgesinde paramphistomosisin mandalarda yayılışı %93,75 olarak bildirilmiş ve etken tür *C. daubneyi* olarak belirlenmiştir. En son 2012 yılında Afyonkarahisar’da 517 manda dışkı bakısıyla muayene edilmiş ve bir hayvanda (%0,19), eş zamanlı olarak mezbahada kesimi yapılan 20 hayvan da incelenmiş ve yine bir hayvanda (%5) Paramphistomid parazitler bulunmuş, ancak tür teşhisi yapılmamıştır (Güzel, 2012). Yıl verilmemiş olmakla birlikte Bolu kökenli mandalarda paramphistomosisin yayılışının %66,6 olduğu ve teşhis için yurtdışına gönderilen türün *P. microbothrium* olarak bildirildiği kaydedilmiştir (Eduardo, 1980a; Güralp, 1981).

2.7. Patojenez

Hastalığın klinik görünümü, alınan metaserker sayısı, tür duyarlılığı ve yaş yanında bireysel hassasiyete de bağlıdır. Genel olarak uzun dönemde bağışıklığın daha kolay geliştiği erişkinlere göre, genç hayvanlar daha hassastır (Sanabria ve Romero, 2008). Bununla birlikte daha önce parazite maruz kalmamış erişkin sığır ve koyunlarda yüksek doz metaserker alımından sonra klinik veya subklinik hastalık tablosu görülebilir (Horak, 1971).

Klinik salgınların meradan fazla sayıda metaserker alımıyla bağlantılı olduğu açıktır ve bu arakonaklardaki yüksek enfeksiyon oranıyla bağlantılıdır. Yapılan değişik deneylere göre klinik belirti oluşturma kabiliyetindeki metaserker miktarı da değişkendir, fakat bu miktar *F. hepatica* ile kıyaslandığında oldukça yüksektir (Sanabria ve Romero, 2008).

Rolfe ve ark. (1994) tarafından, 20-25 bin parazit varlığı klinik hastalıkla sonuçlanırken daha az rakamların önemli subklinik hastalığa neden olabileceği bildirilmiştir.

Horak (1967), koyunlarda deneysel koşullarda 20.000'in altındaki parazit yükünün bazı patolojik değişimlere neden olmakla birlikte klinik bulgulara neden olmadığını, 40.000'in üzerindeki parazit yükünün ise daima ölümlerle neticelendiğini bildirmiştir. Sığırlarda ise deneysel koşullarda 160.000'in üzerindeki parazit yükünün ölüme neden olduğunu bildirilmiştir.

Rolfe ve ark. (1991), Doğu Avustralya'nın subtropikal bölgelerinde sığırlarda yaptıkları araştırmada *C. calicophorum* ve *P. ichikawai* için 4000-20000 parazit yüküyle ilişkili olarak, ortadan ciddiye değişen klinik bulgulardan bahsetmiştir.

Beşbin *C. cotylophorum* metaserkeriyle enfekte edilen bir kuzuda bulaşmadan 116 gün sonra klinik belirtilerin oluştuğu ve ölümün enfeksiyondan 124 gün sonra olduğu bildirilmiştir (Varma, 1961).

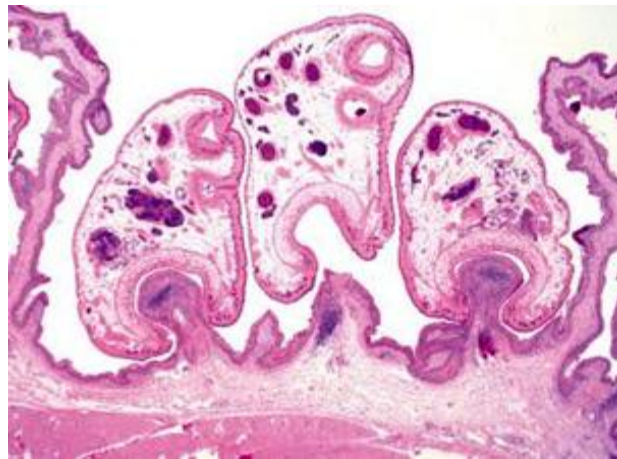
Burgu (1980), 15 kuzuyu 1000 adet *P. cervi* metaserkeri ile enfekte etmiş, fakat bu dozda hiçbir klinik belirtiyeye rastlamamıştır. Enfekte koyunlarda prepatent süre 102-142 gün olarak saptanmıştır. Yukarıda bildirilen sayıda metaserker verilen koyunların prepatent süre sonunda nekropsisi yapılmış ve parazitlere başlıca rumen ve daha az olarak retikulum ve omasumda rastlanmıştır, abomasum ve ince bağırsaklarda ise parazit görülmemiştir.

Horak (1967), dışkıda ilk yumurtanın enfeksiyondan sonra sığırlarda 56, keçilerde 69 ve koyunlarda 93. günde gözlemlendiğini bildirmiştir. Koyun ve keçilerde 5000 metaserkerle enfeksiyon, 2000 ve 10000 metaserkerle enfeksiyona göre daha fazla dışkıda yumurta sayısı ile sonuçlanmıştır. Oysa sığırlarda en yüksek sayı, 10.000 metaserkerle enfeksiyondan sonra gözlenmiştir. Dışkıda yumurta sayısı pik seviyeye sığırlarda enfeksiyondan sonra 13. ayda ulaşmış ve deney süresince bu seviyede kalmıştır. Keçilerde pik seviyeye 4-8 ay içinde ulaşmış, fakat daha sonra düşmüştür. Koyunlarda dışkıdaki yumurta sayısı daima düşük düzeyde kalmıştır.

İnce bağırsakta genç parazitler asetabulumları ile tutunarak bir "emici etki" oluştururlar (Şekil 12). Bu etki ileriye doğru göçü oluşturan asetabulumun arka arkaya tutunmalarıyla ilişkilidir ve parazit sayısı artar (Sanabria ve Romero, 2008). Gençlerin ince bağırsaklardan rumene doğru göçü ağır enfeksiyonlarda daha uzun sürer

ve bu da hastalığın etkilerini kötüleştirir (Rolfe ve ark., 1994). Genç parazitler kendilerini bağırsak mukozasına sıkıca yapıştırır, hatta musküler tabakaya kadar ilerleyebilirler. Bir mukoza parçasını asetabulumları ile boğarlar ve sonuç olarak mukoza parçası nekroze olur. Tahribatın genişliği, doğrudan göç eden parazit sayısına bağlıdır. Lezyonların düzeyi, hafif sınırlı bir enteritten villöz atrofi alanlarına ve mukozanın ciddi yıkımına kadar değişebilir (Vorster ve Mapham, 2012). Sonuç olarak, vasküler tabakaların tahribi, iştahsızlık, kötü kokulu ishal ve vücutta kondisyon kaybına neden olan protein ve elektrolit kaybıyla, asetabulum ebatıyla eşit mesafede yaralı bölgeleri terk ederler. Anemi nadirdir. (Sanabria ve Romero, 2008).

Horak (1967), parazit boyutunun migrasyon üzerinde bir etkisi olarak *Paramphistomum*'ların çoğunluğunun, belirli bir büyüklüğe ulaşıncaya kadar ince bağırsaklara göç etme yeteneğine sahip olmadığını bildirmiştir. Ortalama asetabulum boyutu bir kriter olarak alındığında bu ölçü 0,56 mm'ye ulaşmadan ince bağırsaklardan rumene göç gerçekleşmemektedir. Çalışmada bir koyun ve bir sığırdan enfeksiyondan sonraki 20 ve 21. günlerde asetabulum ölçüsü sırasıyla 0,56 ve 0,66 mm'ye ulaşmış ve ince bağırsaklardan göç başlamış, buna karşın keçide asetabulum ölçüsü 0,52 mm olmasına karşın neredeyse bütün parazitlerin bağırsakta olduğu gözlenmiştir. Enfeksiyondan sonra 34 ve 35. günlerde koyun ve sığırdan asetabulum ölçüsü sırasıyla 0,70 ve 0,77 mm iken göçün hemen hemen tamamlandığı, keçide ise asetabulum ölçüsü 0,63 mm iken ve göçün yeni başladığı görülmüştür.



Şekil 12. Sığırlarda lenfoplazmatik retikülit ile bağlantılı *Paramphistomum* spp. örnekleri (Sciencedirect 2019'dan uyarlanmıştır)

Bağırsak rahatsızlığı, belirgin ödem, intestinal içeriğin azalması, azalmış iştah ve gıda alımı neticede açlık atrofisiyle birlikte anoreksiya ile sonuçlanır. Plazma proteinleri doğrudan aşınmış ince bağırsak mukozasından kaybedilir. Plazma kalsiyum miktarı, muhtemelen albumine bağlı kalsiyumun kaybı nedeniyle düşer. Bağırsakta plazma proteinlerinin bozulması, devam eden yüksek su tüketimi ve gıda alımının düşmesinin bir birleşimi olarak sulu, kötü kokulu bir diyare gelişir. Generalize ödem, düşük plazma protein konsantrasyonunu takiben gelişir. Plazma hacmindeki azalma, toplam kan volümünde azalmaya, sirkülasyonda düşmeye ve hipoksiye yol açar. Hipoksi, sirkülasyondaki eritrosit sayısını artırır. Pulmoner ödem, açlık ve bitkinlik sonunda hayvanın ölümüne neden olur. Hastalığın klinik durumu ve verimlere etkisi, bağırsağın tahrip olmamış aşağı kesimlerinde fonksiyonel eksikliği telafi için meydana gelecek bazı kompenzasyon mekanizmaları kadar lezyonların genişliğine de bağlıdır. Rumende ergin parazitlerin varlığı genellikle önemli bir sorun oluşturmaz, fakat çok yoğun enfeksiyonlarda papillalar kızarmış ve kısadır, yüzeye sımsıkı yapışmış rumen içeriğiyle topaklar halinde kaynaşmaya başlamıştır (Vorster ve Mapham, 2012).

Horak (1967), *P. microbothrium* ile yaptığı deneysel çalışmaya göre sığırların daha elverişli konaklar olduğunu kaydetmiştir. Buna dayanak olarak erginleşen parazitlerin yüzdesinin daha yüksek ve rumene göçün daha hızlı olmasını, parazitlerin daha büyük boyuta ulaşmasını, prepatent sürenin daha kısa, yumurta üretiminin daha yüksek seviyede olmasını ve erişkin parazitlerin sığırlarda koyun ve keçilere göre daha uzun yaşamasını kanıt olarak göstermiştir. Sığırlar normal konak olmasalar bile parazitlerin en azından diğer evcil ruminantlara göre sığırlara daha iyi uyum sağladıklarını bildirmiştir. Bunun yanında çalışmada, dışkıda yumurta sayısı daha az ve parazitler daha küçük olmasına rağmen, koyunlarda erişkinliğe ulaşan parazit sayısının keçilerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

2.8. Klinik, Laboratuvar ve Nekropsi Bulguları

Çiftlik hayvanlarının çoğu, paramphistomosisi hafif atlatırlar, az miktarda genç veya erişkin parazit nedeniyle klinik bulgu göstermezler. Genç parazitlerle ağır enfeksiyonlar iştahta azalma, bitkinlik ve ağırlık kaybına neden olabilir, bu enfeksiyonlar, sulu, kötü kokulu ishal, dehidrasyon ve ölümle sonuçlanabilir. Genç parazitlerle orta şiddetli enfeksiyonlar ağırlık kazanımında ve süt veriminde azalmaya veya büyümede yavaşlamaya neden olabilir (Lloyd ve ark., 2007).

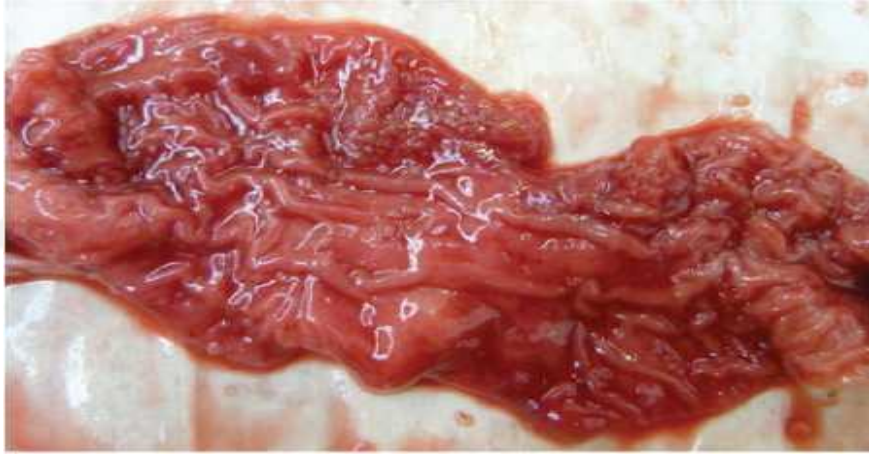
Gıda tüketiminde azalma, enfeksiyondan 8 gün sonra görülür. Bu düşüş 21. günde tam bir anoreksiye dönüşür. Su alımı normalin hemen yarısına düşebilir. Dehidrasyon, depresyon ve zayıflığın eşlik ettiği karakteristik ve kötü kokulu bir ishal görülür. Çene altı ödemi ve mukozalarda belirgin bir solgunluk da görülebilir. Ölüm, genellikle ilk belirtilerin görülmesinden 5-20 gün sonra ortaya çıkar ve ağır enfekte hayvanlarda ölüm oranı yüksek olabilir. Ön midelerdeki erişkin parazitler ağırlık kaybı, anemi, kaba ve kuru bir deri ve verimlerde azalma gibi belirtilere neden olan ağır vakalarda bile önemli ve ölümcül zarara neden olmazlar (Vorster ve Mapham, 2012).

Ağır enfeksiyonlarda yaklaşık 14. günde plazma proteinleri düşmeye başlar. 21. günden itibaren özellikle albumin seviyesinde ciddi bir düşüş görülebilir. Plazma kalsiyum seviyesindeki düşüş, protein seviyesindeki düşüşe eşlik edebilir. Protein seviyesi 30 g/lit seviyesinin altına düştüğünde plazmanın düşük ozmotik basıncı çene altı ödemine neden olabilir. Total plazma hacminin azalmasıyla asites, hidrotoraks, hidroperikaridiyum da görülebilir. Dolaşımdaki eritrosit sayısının artması ve plazma kaybına bağlı olarak hematokritin 0,33 g/lit'den 0,46 g/lit'ye yükselmesiyle hemokonsantrasyon görülebilir. İshal bu aşamada muhtemelen proteinlerin bağırsak lümenine sızması ve sonrasında gelen putrifikasyon sebebiyle kötü kokulu ve genellikle çok ciddidir. Sürekli ıkınmayı takiben rektumdan kan gelebilir (Vorster ve Mapham, 2012).

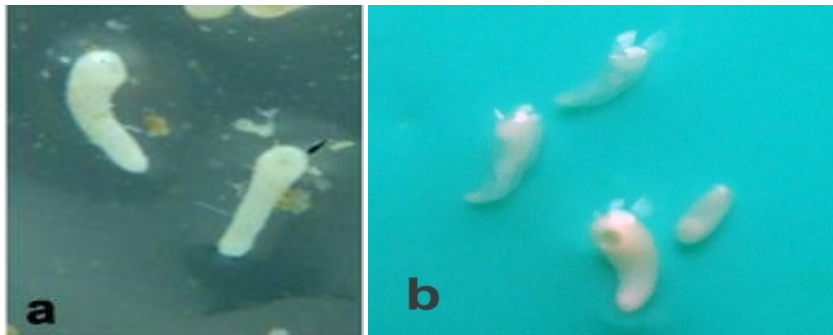
Rolfe ve ark. (1994), kuzularda rumene enjeksiyon yoluyla 40-50 bin *P. ichikawai* metaserkeri vermiş ve enfeksiyondan sonra 21, 42 ve 84. günlerde nekropsi yapılmıştır. Parazit sayısına bağlı olarak bulgular, hafif enfeksiyonlarda duodenumda lokalize enterit ve villöz atrofiden, ağır enfeksiyonlarda yeyunumun çoğuna yayılan mukozanın ciddi yıkımına kadar değişir. Enfeksiyona bağlı değişiklikler mukoza ve submukozada aşırı kalınlaşma ve fibroplazi ile karakterizedir. Ağır enfeksiyonlarda rumen mukozasında ciddi yıkım gözlenebilir. Ağır enfeksiyonlar eozinofillerin artan infiltrasyonu ile bağlantılıdır. Mast hücreleri genellikle yoktur ve globüler lökositler sadece gençler ince bağırsakları terk ettikten sonra gözlenirler.

Millar ve ark. (2012), Büyük Britanya'da genç rumen parazitlerinin neden olduğu klinik hastalığın teşhisiyle ilgili bir çalışma yapmışlardır. Genç amfistomidlerden kaynaklanan hastalık İngiltere'de Hayvan Sağlığı ve Veteriner Laboratuvarları Ajansına (AHVLA) gönderilen 2 sığırdan postmortem olarak teşhis

edilmiştir. Gönderilerden biri 6-8 haftalık yaşta, süttten kesilmemiş 20 buzağılık bir gruptan, diğeri ise 7-14 haftalık yaştaki süttten kesilmiş 31 buzağılık gruptan iki hayvandır. Her iki grup da su basan çayırarda otlatılmış ve her bir gruptan en az 4 ölüyle birlikte 3 hafta boyunca tedaviye yanıt vermeyen sulu ishal, ciddi kondisyon kaybı rapor edilmiştir. İlk grubun anneleri etkilenmemiş olmasına rağmen, her iki gruptan genç sığırların ishalleri ve bazılarının ciddi derecede keyifsizlik, dehidrasyon ve iştahsızlık sergilediği ve her iki grupta da antelmintik ve antikoksidyal tedaviye az yanıt verdikleri kaydedilmiştir. Ölüm sonrası bulguları olarak iki hayvanda, proksimal bağırsak mukozasında belirgin kızarıklık, distalde orta yeyunuma kadar yapılan kazımda bağırsak mukozasında kahverengimsi-pembe "baloncukları" andıran, 1 mm'den küçük, çok sayıda olgunlaşmamış rumen trematodu gözlenmiştir (Şekil 13 ve 14a,b).



Şekil 13. Duodenum mukozasında gençlere bağlı ciddi kızarıklık ve baloncuk benzeri gençlerin görünümü (Millar ve ark., 2012'dan uyarlanmıştır)



Şekil 14. Genç *Paramphistomum* 'ların çıplak gözle görünümü **a)** Taze dışkıda (Sivajothi ve Reddy, 2014), **b)** Petride, (Ş.Umur koleksiyonundan uyarlanmıştır)

Bunlar çıplak gözle görülmüş ve bağırsak kazıntılarının mikroskopik incelenmesiyle de doğrulanmıştır. Belirgin mesenterik lenfadenopati ve sulu kalın bağırsak içeriği mevcuttur.

Balachandran ve ark. (2010), Hindistan, Tamilnadu eyaletinde bir çiftlikte, 40 Madras Red melezi koyundan derialtı ödemi ve asites hikâyesiyle ölen 15'inin (%37,5) ölüm nedenini araştırmışlardır. Ölüm, klinik belirtilerin gözükmesinden sonra 1-2 gün içinde gerçekleşmiştir. Nekropsi bulguları hidroperikardium, asites, dolgun safra kesesi, karaciğer, akciğer ve abomasumda konjesyon olarak rapor edilmiştir. Duodenum kırmızı genç, olgunlaşmamış parazitlerle dolu, mukozası konjeste ve orta derecede kalınlaşma mevcuttur. Canlı, kırmızı, ergin parazitler rumende görülmüştür ve rumen mukozasında konjesyon vardır. Dalakta da az miktarda büyüme gözlenmiştir. Dışkı numunesinde Amphistom (*Fischoederius elongatus* ve *F. cobboldi*) yumurtaları görülmüştür.

Mikroskopik muayenede duodenum yüzeyi veya submukozasına tutunmuş parazitlerin varlığını ortaya koymuştur. Parazitler, kesitlerde sık sık lumende serbest halde veya asetabulumları vasıtasıyla villuslara tutunmuş halde veya muskuler tabakaya gömülmüş halde bulunmuşlardır. Villuslar yok olmuş ve kübik epitelle örtülmüştür. Kalan villuslar kısalıp yassılaşmış ve epitelyum bozulmuştur. Lumen dökülmüş epitel kümeleri içermektedir. Mukozal tabakada goblet hücre aktivitesi artmış, ağırlıklı olarak lenfositler ve birkaç plazma hücresi ve eozinofilden oluşan mononükleer hücre infiltrasyonu görülmüştür. Parazitler ayrıca duodenum submukozasını penetre etmiş, ince bağırsak kriptlerinin çoğu mukoza yüzeyine doğru uzayıp genişlemiştir. Submukoza kalınlaşmış ve çok miktarda fibroblast ve büyük makrofajlar içermektedir. Epitelyum hücrelerinde nekroz gözlenmiştir. Mukoza tabakasında ağırlıklı olarak basillerden oluşan bakteriler kolonize olmuştur. Kapiller tromboz nedeniyle akciğerler konjesyone ve hemorajiktir. Dalakta hemosideroz, mezenterik lenf yumrularında lenfoid hücre azalması gözlenmiştir. Görülen bu bulgulara dayanarak vaka genç parazitlere bağlı amphistomosis olarak teşhis edilmiştir. Enfeksiyon başlangıçta kronik iken koyunların birdenbire, sulak alanlardaki fazla sayıda metaserker içeren çayırlarda otlatılmasına bağlı olarak akut enfeksiyona dönüşmüştür.

Mavenyengwa ve ark. (2005), dörder hayvanlık rastgele 3 gruba böldükleri 1 yaşındaki 12 boğayı farklı dozlardaki *C. microbothrium* metaserkerleriyle enfekte

etmişlerdir. Birinci gruptaki her bir hayvana düşük doz (DD) olarak 5.000, ikinci gruptakilere orta doz (OD) 15.000, üçüncü gruptakilere yüksek doz (YD) 25.000 metaserker verilmiş ve 1 ilave hayvan da negatif kontrol grubu (K) olarak muhafaza edilmiştir. DD ve kontrol gruplarındaki hayvanlar çalışma süresince klinik olarak normal kalmışlardır. OD grubundaki 4 hayvandan 3'ünde enfeksiyondan sonraki 21. günde bol miktarda, kötü kokulu fişkırtma tarzında ishal gözlenmiş ve hayvanların 2'sinde 3 gün devam etmiştir. 3. hayvanda ishal 1 hafta devam etmiş ve hayvan iştahsız, dehidre, zayıf ve gruptan geride kalmış ve 56. günde kesilinceye kadar asla tamamen iyileşmemiştir. Gruptaki 4. hayvanda herhangi bir klinik bulgu gözlenmemiştir. YD grubundaki tüm hayvanlarda fişkırtma tarzında olmayan bir ishal gözlenmiştir. İshal 21. günde gelişmiş ve tüm hayvanlar iyileşmeden önce 3 gün devam etmiştir. Bundan sonra gruptaki son hayvanın kesildiği enfeksiyondan sonraki 84. güne kadar hayvanların hiçbirinde bir klinik bulgu veya vücut kondisyonunda değişme gözlenmemiştir.

Enfeksiyondan sonra her gruptan birer hayvan sırasıyla 28, 42, 56 ve 84. günlerde kesilmiş ve histopatolojik ve sitolojik muayene için örnekler ileum, yeyunum, duodenum, abomasum ve rumenden alınmıştır. Enfeksiyondan sonra 28. günde DD ve OD ile enfekte hayvanların duodenumunda, mukozada kalınlaşma, buruşma, hiperemi, peteşial kanamalar ve ülserleşmeyi içeren benzer makroskopik lezyonlar gözlenmiştir. YD ile enfekte edilen hayvanlarda duodenal lezyonlar benzer, fakat daha ciddidir. OD grubunda abomasal katlar ciddi ödemli ve neredeyse abomasum lümenini tıkamıştır. Abomasum katlarındaki orta şiddette ödem DD ve YD ile enfekte hayvanlarda da mevcuttur. Makroskopik lezyonlar tüm enfekte gruplarda enfeksiyonun ilerleyen zamanlarında gerilemiş ve enfeksiyondan sonraki 56. günde tamamen yok olmuştur. Enfeksiyondan sonraki 28. günde DD ve OD gruplarında duodenum ve jejunumda kısmi villöz atrofi, Brunner bezleri ve Peyer Plaklarında hiperplazi ve lamina propriyada orta şiddette eozinofil, mast hücresi ve az miktarda lökosit, bazofil ve lenfosit infiltrasyonunu içeren histopatolojik lezyonlar benzerdir. YD grubunda total villöz atrofi ve Brunner bezlerinde submukozayı kaplayacak kadar genişlemiş ciddi hiperplazi ve kistik genişleme mevcuttur. 42. günde YD ve OD gruplarında kısmi villöz atrofi ve Brunner bezi hiperplazisi hâlâ vardır. Eozinofillerin ağır infiltrasyonu, orta miktarda mast hücresi ve birkaç bazofil lökosit ve lenfosit hücresi her 3 grupta da halen devam etmektedir. Enfeksiyondan sonraki 56. günde OD ve YD gruplarında birkaç bez

hala kistik yapıdadır. Lamina propriyada her 3 grupta da orta derecede hücre infiltrasyonu mevcuttur ve 84. günde tüm hayvanlarda tam iyileşme gözlenmiştir.

Tariq ve ark. (2011), *P. cervi* ile enfekte koyunlardaki histopatolojik değişiklikleri incelemek için rumen, abomasun, duodenum ve yeyunumdan elde ettikleri dokuları %10 formalinde fikse ederek 6 µm kalınlığındaki kesitleri Massons tricrom, PAS, Alcian blue ve Toluidin blue ile boyamışlardır. Makroskopik olarak sadece dıştan kalınlaşmış görünen bağırsakların etkilenmiş olduğu tespit edilmiştir. Mukozada peteşial kanamalarla yer yer konjeste alanlar mevcuttur, seroza kırmızı renkli, kan damarları genişlemiş ve belirgin hale gelmiştir. Soluk bölgelerde çapı 1 mm'ye kadar olan düzensiz yama tarzı alanlar vardır. Retikulum, papillaların boyutça küçülmesi dışında etkilenmemiştir. Rumenden bol miktarda parazit toplanmasına rağmen gözle görülebilir bir değişiklik yoktur. Bağırsakların distal kısmında histopatolojik olarak döküntü, villus kaybı, parazitlerin mukozaya nüfuzu ve istila alanlarında bez kaybı vardır. Villuslar kısalmış, yassılaştı ve lumen hücresel döküntüyle aşırı miktarda doludur. Proksimal kısımda değişiklikler benzer fakat o kadar şiddetli değildir. Villuslar yassılaştı, kısalmış fakat submukozal bezler şekil ve boyut olarak normaldir. Bununla birlikte bez alanı daha geniştir, bezlerde parazit gözlenmemiştir.

Bağırsakların lümeni, dökülmüş mukoza kümeleri içermektedir. Parazitler lumende bulunmakla birlikte musküler mukoza seviyesine kadar da nüfuz etmişlerdir. Lamina propria çok sayıda fibroblast, makrofaj ve globül lökosit ihtiva etmektedir. Duodenum bezleri boyut olarak değişkendir, bazı bezler genişlemiş ve doğrudan lumene açılmaktadır. Bağırsaklar daima sulu içerikle doludur ve kanalda en dikkat çekici değişiklikler, submukozal ödem, erozyon, bağırsak mukozasında özellikle kataral eksudatla kalınlaşmış duodenum mukozasında buruşukluk gibi bulguları içerir. Rumende papillaların korneum tabakasında boynuzlaşma artmış ve granulosum tabakasında hücrelerin büyüklükleri ve sayısı artmıştır. Sadece lamina propriaya değil, komşu musküler tabaka seviyesine kadar eozinofil, lenfosit ve mast hücresi infiltrasyonu vardır.

Malik ve ark. (2017), mandalarda *G. explanatum*'a karşı patolojik, hematolojik ve biyokimyasal yanıtları inceledikleri çalışmalarında safra kanallarında yaşayan parazitin neden olduğu patolojik değişiklikleri şöyle tanımlamışlardır. Ana safra kanalı (*ductus choledochus*) ve karaciğer kanalı (*ductus hepaticus*) şişkin ve safra kanalı

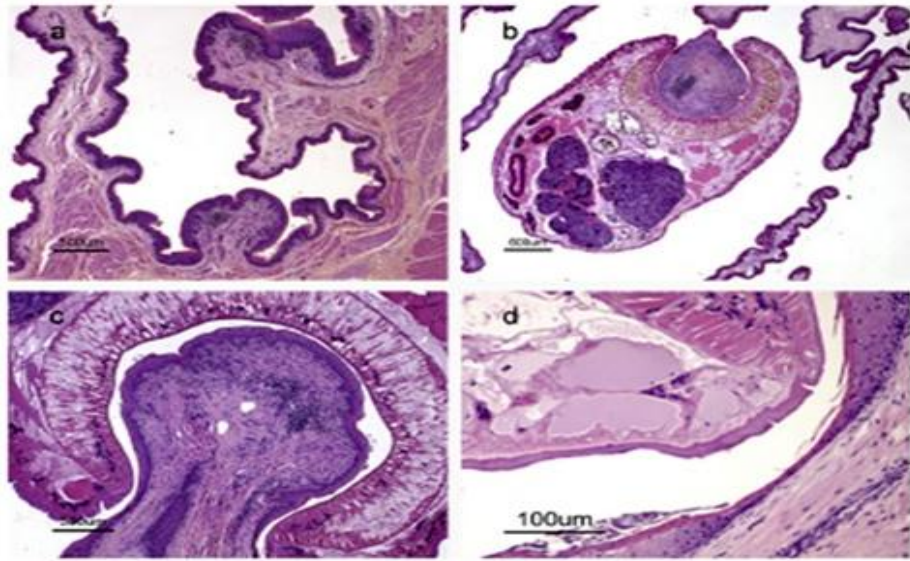
lümeni çok sayıda küçük parazitlerle doludur. Parazitlerin asetabulumları vasıtasıyla tutunmaları nedeniyle safra kanalının iç ve dış yüzeyi üzerinde çok sayıda nodüler yapı mevcuttur. Karaciğer ve safra kanalı yüzeyinde kanama odakları vardır. Parazit tutunmaları nedeniyle safra kanallarının iç yüzeyindeki genişlemeler kalıcı haldedir. Ciddi vakalarda safra kanalının lümeni parazitler tarafından tıkanmıştır. Enfekte safra kanalının ortalama çapı duodenumdan daha geniştir. Hiperplazi nedeniyle duvar kalınlığında artma vardır. Mikroskopik olarak en yaygın bulgu mukoza epitelinde hiperplaziyle birlikte mukozal hücre proliferasyonudur. Mukozal bezler genişlemiş ve şekilleri bozulmuştur. Submukoza da dikkat çekici bez proliferasyonu göstermektedir. Glandular dejenerasyon nedeniyle mukozada villus benzeri görünüm mevcuttur. Bez dejenerasyonu en çok parazitlerin tutunma bölgelerinde gözlenir. Asetabulum içine sıkıştırılmış mukoza bezsel mukozanın kalan kısmına göre farklıdır. Bezler şişmiş fakat ciddi enfeksiyon durumlarında tamamen bozularak yerlerini yangı hücreleri almıştır. Yangı hücreleri en baskın olarak lenfositlerden oluşur, eozinofiller de yavaş yavaş bezsel dokunun yerini aldıkları lamina propria da görülebilirler. Enfekte dokuda bez hücreleri şekil ve boyut olarak farklıdır. Yangı nedeniyle çekirdek büyüklüğü de artmıştır. Bez dokusu infiltrasyonu seroza ve muskuler tabakada da görülür. Kan damarları enfeksiyondan etkilemiş olup tıkanma ve pıhtılaşma yaygın bulgulardır. Kan damarları hiperplazi nedeniyle kalınlaşmış, normal dokuya göre boyutları genişlemiştir. Safra kanallarının kesit yüzlerinde kanama lekeleri vardır.

Khatoon ve ark. (2003), *P. cervi* ile enfekte mandalarda karaciğer hasarını organlardan aldıkları histolojik kesitler üzerinde incelemişler ve kesitlerin çoğunda karaciğer dokusunun ve hepatik kordonların, merkezi toplardamar ve portal triadların normal yapısının tamamen bozulmuş olduğunu tespit etmişlerdir. Karaciğer dokusunda nekroz ve safra kanalı hiperplazisine işaret eden dolgun safra kanallarıyla yoğun bir fibröz skar dokusu görülmüştür.

Fuertes ve ark. (2015), *C. daubneyi* ile doğal enfekte hayvanlardaki patolojik değişimleri incelemişler ve tespit ettikleri makroskopik bulguları şöyle bildirmişlerdir: Makroskopik olarak erişkin *C. daubneyi*'lerin daha çok rumenin yaprak şekilli papillaları arasında ve retikulumun bal peteği şeklindeki hücrelerinin daha derin kısımlarına asetabulumlarıyla tutunduklarını gözlemişlerdir. Parazitler kaldırıldıklarında bu papillalar, nekrozlarla kısalmış ve mantar şeklinde gözlenmiştir, uçlarında ülser

nadirdir. Ön midelerde parazitlerin yerleştiği alanların bazılarında fokal papilla kaybı gözlenmiştir. 9 parazitli ve 4 kontrol grubu sığırın ön mide mukozalarında yüzeyde yaygın kararmayla karakterize bir parakeratotik hiperkeratoz görülmüştür. Sindirim sisteminde muayene edilen bölgesel lenf yumruları sıklıkla büyümüştür.

Retikulum ve rumende mikroskopik olarak belli başlı değişiklikler, erişkin parazitin asetabulumuyla etrafını çevirdiği konik papillaların epitel, lamina propria ve submukozanın genişleme yaptığı çekirdek bölgesinde bulunmuştur. Parazitin tutunduğu konik papilla, incelmış sapı ve genişlemiş başıyla mantar şeklini almıştır. Bunlar değişen derecelerde akantozis, hiperkeratozis ve belirgin bağ doku uzantıları gösteren kalınlaşmış çok katlı keratinize epitel ile örtülmüştür. Tutunma bölgesinde başlıca papilla tabanında epitelyum örtüsü önemli derecede incelmıştır. Skuomöz katman incelmıştır (1-3 hücre) veya yoktur. Stratum granulosum ve korneum çok incelmış (2-3 hücre) veya aşınmıştır. Arasına yassılaştırmasına rağmen bazal tabaka genel olarak zarar görmemiştir. Bu sonucuda bazal lamina bozulmuş ve lamina propria sadece stratum korneum tarafından örtülmüştür (Şekil 15).



Şekil 15. *Calicophoron daubneyi* ile doğal enfekte hayvanlardaki patolojik değişiklikler; a) Rumino retiküler delik, sadece büyük rumen papillaları arasındaki kısa konik papilla etkilenmiş. b) Rumen girişi, rumen konik papillası erişkin parazitin asetabulumu tarafından kuşatılmış. c) Retikulum, incelmış sapı ve genişlemiş başıyla retikulum papillası. d) Şekil, c'deki görüntünün büyütülmüş hali, tutunma bölgesinde parazitin asetabulumunun aşındırıcı etkisi. Lamina propria, basal ve korneum tabaka tarafından örtülmüş (Fuentes ve ark.,2015'den uyarlanmıştır)

Parazitli örneklerde epitelyum içinde yangı hücreleri bulunmuştur. Bu yangı hücrelerine parazitsiz kontrol hayvanlarından elde edilen örneklerde rastlanmamıştır. Parazitlerin tutunduğu papillaların lamina propriası orta derecede yangısal hücre infiltrasyonu göstermiştir. Parazitli 2 hayvanda çok sayıda eozinofil, makrofaj, dev hücresi, lenfosit ve bağ dokudan bir dış katman tarafından çevrilmiş bir nekrotik döküntü merkezinden oluşan küçük granulomlar gözlenmiştir. Bunlar ruminoretiküler kıvrım ve dorsal kesenin lamina propriasında mevcuttur. Retikulumdaki lezyonlar rumen için tarif edilenlere benzerdir. Bölgesel lenf yumrularının çoğu, sinuslarda bol miktarda eozinofil, makrofaj ve medullar kordonlarda plazma hücreleriyle birlikte lenfoid hiperplazi göstermektedir (Fuertes ve ark., 2015).

2.9. Teşhis

Hastalığın seyri ve şiddetine göre farklılık gösterse de immunolojik teknikler ve serumda antikor tespiti genellikle sağlıklı sonuç vermediğinden paramphistomosisin klinik teşhisi zordur. Bu yüzden canlı hayvanlarda teşhis, tipik klinik öykü ve klinik bulgularla bağlantılı olarak dışkıda genç parazit ve/veya yumurta tespitine dayanır (Vorster ve Mapham, 2012).

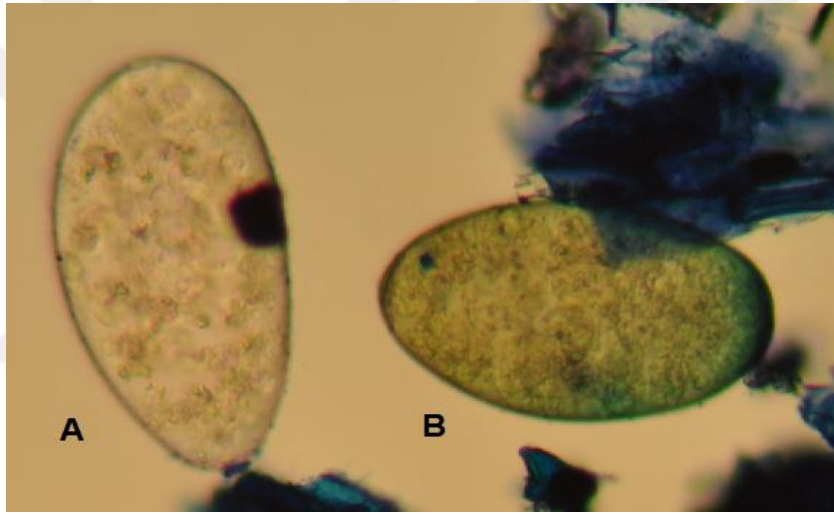
Parazitin prepatent süresi uzun olup bazen genç ve henüz yumurtlamayan erişkin parazitlere bağlı ağır enfeksiyonlarda bile dışkıda hiç yumurta olmayabilir veya çok az yumurta bulunabilir. Tablo böyleyken hayvan merada otluyorsa sürekli yeni metaserker alımıyla enfeksiyonun şiddeti artar ve parazit ölümcül hale döner (Sanabria ve Romero, 2008).

Ölüm sonrası muayene, genellikle gençlere bağlı akut paramphistomosisin doğrulanması için gereklidir. Dışkıda yumurta bulunmaması, akut larval paramphistomosis varlığını ihtimal dışı bırakmaz. Akut hastalıkta, ön midelerde erişkin parazit bulunmayabilir. Bazen şiddetli akut enfeksiyonlarda erginleşmemiş, genç paramphistomumlar dışkıda tespit edilebilir (Millar ve ark., 2012).

Teşhiste bir başka sorun da dışkıda yumurta tespitinde kullanılan standart flotasyon metodlarının çoğuyla trematod enfeksiyonlarını tespit etmenin mümkün olmamasıdır. Akut enfeksiyonlarda yapılması gereken metod olarak yaklaşık 10 gr. ishali dışkı alınır ve örneğe 100-200 ml su eklenir. Karışım çökmesi için 5 dakika bekletilir, dipteki tortu oynatılmadan üsteki sıvı dökülür ve bu işlem 4-5 kez tekrarlanır. Sediment siyah bir zemin üzerinde muayene edilir. Genç parazitler küçük, beyaz veya

pembe, kırık veya küçük pirinç tanelerine benzerler. Yumurtalar gümüşü-gri renkte, büyük ve belirgin çok sayıda blastomere ve bir kapağa (operkulum) sahiptir (Vorster ve Mapham, 2012).

Dışkıda yumurta tespitinin en büyük riski, paramphistomum yumurtalarının *F. hepatica* yumurtaları ile karışma ihtimalidir (Rieu ve ark. 2007). Yumurtalar şekil olarak *F. hepatica* yumurtalarına benzer, fakat biraz daha büyük (160-180 µm), görünüşü daha şeffaf ve kapağın karşısındaki kutupta dışa doğru küçük bir çıkıntı vardır (Şekil 16). Yumurtalar arasındaki farkları daha iyi görebilmek için lugol yerine metilen mavisi ve metil green gibi kontrast boyaların kullanılması yararlıdır (Sanabria ve Romero, 2008).



Şekil 16. a) *Paramphistomum* sp. **b)** *Fasciola* sp. yumurtalarının mikroskopik görünümü (Gordon ve ark., 2013'den uyarlanmıştır)

Diğer bazı durumlar da, paramphistomosis ile karıştırılabilir. En çok karıştırılan durumlar koyun ve sığırlarda nematod ve karaciğer kepenegi enfeksiyonları ve sığırlarda bakır eksikliğidir. Çeşitli viral, bakteriyel ve protozoal hastalıklar ve kimyasal ve bitkisel zehirlenmeler de benzer belirtilere sebep olabilir (Lloyd ve ark., 2007).

Rieu ve ark. (2007), Fransa'da sığırlarda paramphistomosisin teşhisinde modifiye McMaster metodunu ve onun güvenilirliğini test etmiştir. Postmortem olarak muayene edilmiş ineklerden elde edilen toplam 148 adet örneği incelemişler ve yumurta sayısı ile parazit yükü arasında önemli bir ilişki olduğunu göstermişlerdir. Gram

dışkıdaki yumurta sayısı (epg) 100'den fazla ise, rumen ve retikulumda 100'den fazla erişkin parazit varlığını göstermiştir. Bu, paramphistomosisin patolojik etkileri yüksek parazit yüküyle bağlantılı olduğundan tedaviye karar vermek için kıymetli bir bilgidir.

Dorny ve ark. (2011), Batı Kamboçya'da parazit enfeksiyonlarının varlığı ile morbidite işaretleri arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Düşük vücut kondisyon skoru gastrointestinal nematod ve karaciğer kepenek enfeksiyonları ile yumuşak kıvamlı dışkı ise *Paramphistomum* ile ilişkili bulunmuştur.

İmmunoloji ve serumda antikor tespit teknikleri, bu parazitlerin bazı trematodlarla non-spesifik veya çapraz reaksiyonla sonuçlanan ortak antijenik epitopları paylaşımları nedeniyle diagnostik olarak kesin sonuç veren yöntemler olarak kabul edilmezler (Vorster ve Mapham, 2012). Nitekim Shabih ve Juyal (2006), Hindistan Pencab eyaletinin farklı bölgelerinden 2000-2004 yılları arasında 3757 ruminant dışkı örneği toplamış ve bunları sedimentasyon yöntemiyle mikroskopik olarak muayene etmişlerdir. Toplam üzerinden 157 örnekte (116 manda, 28 sığır, 2 keçi ve 11 koyun) *Paramphistomum* yumurtası bulunmuş ve insidens %4,18 olarak hesaplanmıştır. Klinik/saha serum örnekleri toplanmış ve değişik serodiagnostik testlere tabi tutulmuştur. Toplam 259 serum örneği (72 manda, 85 sığır, 93 koyun, 9 keçi) dot-ELISA ile muayene edilmiştir. Toplam üzerinden 164 örnek (50 manda, 66 sığır, 45 koyun ve 3 keçi) pozitif bulunmuş ve prevalans oranı %63,32 olarak hesaplanmıştır. En yüksek prevalans oranı sığır ve takiben manda, koyun ve keçilerde bulunmuştur. Dolaylı plak-ELISA, pozitif kontrol olarak tavşanlardan elde edilen hiperimmün serumla somatik erişkin *P. epiclitum* antijeni kullanılarak standardize edilmiştir. Toplam 300 klinik/saha serum örneği (92 manda, 86 sığır, 93 koyun, 29 keçi) dolaylı plak-ELISA kullanılarak muayene edilmiştir. Toplam üzerinden 118 örnek %39,3 prevalans oranıyla pozitif olarak bulunmuştur. Erişkin somatik *P. epiclitum* antijeninin western blot analizinde yüksek titre anti tavşan *P. epiclitum* antijen serumu kullanılarak molekül ağırlığı 94,4; 59,5; 53,1; 44,4; 42,1; 37,5 ve 32,5 kDa olan 7 immunojenik molekül ortaya çıkarılmıştır. Western blot profili *P. epiclitum*, *C. cotylophorum* ve *G. crumenifer* arasında çapraz reaksiyon olduğunu açığa çıkarmıştır. Kendi aralarında 56,2 kDa ve 50,1 kDa ağırlığında 2 ortak immunoreaktif bant bulunan *G. crumenifer* ve *C. cotylophorum* ile molekül ağırlığı 42,1 kDa olan bir ortak immunoreaktif band tespit edilmiştir. ELISA, *C. cotylophorum*, *Gigantocotyle explanatum*, *Gastrohylax*

crumenifer ve *Fischoederius elongatus*'un erişkin somatik antijenleriyle anti-*P. epiclitum* tavşan hiperimmün serumu arasında çapraz reaksiyon olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bununla birlikte *P. epiclitum* antiserumu ile *Fasciola* sp, antijenleri arasında çapraz reaksiyon gözlenmemiştir.

Anuracpreeda ve ark. (2013), *P. cervi*, *Fasciola gigantica*, *Strongylid*, *Trichuris* spp. ve *Strongyloides* spp. tarafından doğal olarak enfekte edilmiş sığırlardan elde edilmiş serumlardan erişkin *P. cervi* ekskresyon-sekresyon (ES) fraksiyonlarının immunojenik bileşenlerini SDS-PAGE ve immunoblotting tekniklerini kullanarak tespit etmişlerdir. SDS-PAGE kullanılarak ES fraksiyonunun 13 farklı protein bandından oluştuğu saptanmıştır. Bu proteinlerin immunoblotting analizleri paramphistomosis antiserumu tarafından tanınan, 10-170 kDa arasında moleküler ağırlığa sahip başlıca 9 antijenik band göstermiştir. 40 kDa ağırlığında bir antijenik protein bandının tüm enfekte sığırların serumuyla istikrarlı reaksiyon verdiği bulunmuştur. Testte kullanılan bu proteinin tanısal hassaslığı, özgüllüğü ve kesinliği sırasıyla %100, %98,9 ve %99,3'tür. Pozitif ve negatif öngörü değerleri sırasıyla %98 ve %100'dür. *Paramphistomum cervi* enfeksiyonunun teşhisinde 40 kDa'luk proteinin antijenitesi bir serum havuzu ve enfekte ineklerden elde edilen bireysel serum örneklerinin kullanıldığı immunoblotting ve dolaylı ELISA yöntemleriyle teyit edilmiştir. Bulgular 40 kDa'luk proteinin paramphistomosis için teşhis antijeni olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Itagaki ve ark. (2003), Japonya'da yaygın olan 3 amphistom türü olan *C. calicophorum*, *O. streprocoelium* ve *Homalogaster paloniae*'da ITS2 dizisini ilk olarak tanımlamak ve parazitlerden elde edilen tek bir yumurtadan tür teşhisi yapabilmek için bir PCR-RFLP metodu geliştirmek amacıyla bir çalışma yürütmüşlerdir. Bunun için, mezbahada kesilmiş doğal enfekte ineklerden toplanan ergin parazitler morfolojik olarak tür seviyesinde teşhis edildikten sonra -80 °C veya %70 etil alkolde ihtiyaç duyulana kadar saklanmıştır. Taze yumurtalar uterusdan toplanmıştır. Genomik DNA tek veya bir araya toplanmış erişkinlerden şu şekilde hazırlanmıştır: Parazitler bir buffer (50 mM Tris-HCl, 100 mM EDTA, 200 mM NaCl, %0,5 SDS, pH 9.0) içinde proteinaz K (150 µg/ml) ile homojenize edilmiş ve 65 °C de 4 saat boyunca inkübe edilmiştir. DNA, fenol-kloroform içinde ekstrakte edilmiş ve etil alkol içinde çöktürülmüştür. Sonra TE bufferin (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) uygun miktarında yeniden asılı hale getirilmiş ve DNA solüsyonu RNase (15 µg/ml) ile muamele edilmiştir.

ITS2+ primer yan dizisi yetişkin DNA'sı ve doğrudan tek bir yumurtadan PCR ile çoğaltılmıştır. 5.8S, ITS2 ve 28S'yi kapsayan bir fragman üretmek için kullanılan PCR primerleri, forward ITS2-F (5'-TGTGTCGATGAAGAGCGCAG-3') ve reverse ITS2-R (5'-TGGTTAGTTTTTTTTTCTCCGC- 3') olup PCR işlemi üretici firmanın protokülüne göre yapılmıştır. Üç amphistomun kısmi 5.8S ve 28S'ini içeren ITS2 sekanslarının (430 bp) tür içi varyasyonlar gösterdiği tespit edilmiştir. ITS2 dizisinin uzunluğu, *C. calicophorum* ve *O. streptocoelium*'da 284 bp ve *H. paloniae*'de 285 bp olarak belirlenmiştir. ITS2 dizilerinin bir boşluk içeren 19 değişken bölge kapsadığı görülmüş ve üç tür arasında varyasyon derecesi, %4,2-5,3 olarak kaydedilmiştir.

Restriksiyon haritası, üç amphistomun restriksiyon bölgelerinin birkaç endonükleaz için aynı olduğunu, ancak Acc II bölgesinde farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. PCR ürünlerinin büyüklüğünün üç amphistom türü için yaklaşık 480 bp olduğu tahmin edilmiştir. Restriksiyon haritalarından beklendiği gibi, Acc II ile kesilen PCR ürünleri, *O. streptocoelium* için yaklaşık 250 bp, 125 bp ve 105 bp üç parça ve *H. paloniae* için iki 250 bp ve 230 bp iki parça üretirken, *C. calicophorum*' un PCR ürünleri kesilememiştir. Bu çalışma, üç amphistom türünün tek bir yumurtasının ITS2 sekansına dayalı PCR-RFLP kullanılarak birbirinden ayırt edilebileceğini ortaya koymuştur.

Rinaldi ve ark. (2005) tarafından İtalya'nın güneyindeki Campania ve Calabria bölgelerinde bulunan mezbahalarda kesilen doğal enfekte 10 sığır, 6 manda ve 10 koyunun rumen ve retikulumlarından toplanan erişkin parazitler serum fizyolojik (SF) ile yıkanmış ve bazıları moleküler analiz için -80 °C'de ve bazıları morfolojik analiz için %70'lik etil alkol içinde saklanmıştır. Çalışmada her bir ruminanttan elde edilen 20 erişkin parazitten 15'i genomik DNA ekstraksiyonu için kullanılmıştır. Ekstraksiyondan sonra, genomik DNA, 150 ml bidistile su ile ayrıştırılmış ve -20 C'de saklanmıştır.

ITS-2 rDNA 5.8S ve 28S plus yan dizileri (ITS-2+) PCR ile Itagaki ve ark. (2003)'nın tanımladığı şekilde ITS-2F (TGTGTCGATGAAGAGCGCAG) ve ITS-2R (TGGTTAGTTTCTTTTCTC- CGC) primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır.

PCR-RFLP, dört restriksiyon endonükleazı (MseI, RsaI, HaeIII ve Bsh1236I) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ek olarak, *C. daubneyi* ITS-2 + dizileri, GenBankTM veritabanında *C. calicophorum* ve *C. microbothroides* ITS-2 + dizileriyle (GenBank erişim numarası sırasıyla AB042188 ve AB056570) karşılaştırılmıştır. Çalışmada tüm

parazitler morfolojik analizler neticesinde *C. daubneyi* olarak tanımlanmıştır. *Calicophoron daubneyi* örneklerinden elde edilen ITS-2 + 'nın PCR analizleri, uzunluğu yaklaşık 500 bp olan özdeş fragmanlar üretmiştir. PCR ürünlerinin RFLP analizlerinde *C. daubneyi* örnekleri arasında hiçbir fark gözlenmemiştir. PCR-RFLP analizlerinden çıkan fragmanların sayısı ve uzunlukları MseI için yaklaşık 300 bp, 160 bp ve 40 bp'lik üç fragman, HaeIII için yaklaşık 400 bp ve 100 bp'lik ve Bsh1236I için 260 bp ve 240 bp'lik iki fragman şeklinde olup RsaI, PCR ürününü herhangi bir noktadan kesmemiştir. Her bir *C. daubneyi* örneğindeki ITS-2 + 'nın dizi analizleri, hepsinin 428 bp olduğunu ve tam ITS-2 dizisinden (282 bp) oluştuğunu göstermiştir.

Lotfy ve ark. (2010), *Paramphistomum* türlerinin identifikasyonu için kullanışlı bir moleküler işaret olarak ve Paramphistomoidea ailesinde yer alan değişik taksonlardan örnekler arasındaki genetik akrabalığı tespit etmek için ITS2' yi kullanan PCR temelli bir tekniği önermişlerdir.

2.10. Tedavi

Ergin parazitlerde tedavinin hayvana doğrudan önemli bir faydası olmamasına rağmen tedavi, meradaki enfektif gelişim şekillerin miktarını, bu da sümüklü arakonaklar için enfeksiyon kaynağını azaltacaktır (Khan, 1991; Lloyd ve ark., 2007). Genç parazitlerden ileri gelen hastalığın etkili tedavisi için parazitler yanında bataklik arazilerdeki enfeksiyon kaynaklarının ortadan kaldırılması gerekir. Uygun bir ilaçla tedavi ilk ve sonbaharda planlanmalıdır. Destekleyici tedavi, dehidrasyonu ve herhangi bir ikincil enfeksiyonu önlemek veya tedavi etmek için yararlı olabilir (Lloyd ve ark., 2007).

Rolfe ve Boray (1987) yaptıkları çalışmada çoğunlukla *C. calicophorum*'dan oluşan genç trematodlar üzerinde antelmintiklerin etkisini değerlendirmek için 7 hafta bulaşık meralarda otlatılmış 127 danayı tedavi etmiş ve mezbahada kestirmişlerdir. Oksiklozanid ve levamizol kombinasyonu bir ürün kullanıldığında 18,7 mg/kg dozunda oksiklozanid, ince bağırsak, abomazum ve rumen-retikulumda parazit sayısını sırasıyla %61-96,1, %50-92,6 ve %56,5-98,1 oranında azalmıştır. Üç gün arayla 2 doz verildiğinde oksiklozanid, bahsedilen organlarda sırasıyla %99,9; 100% ve 100% etkili olmuş ve klinik olarak etkilenmiş danalarda iyileşme sağlamıştır. Bu tedavi geçici bir ishale neden olmuştur. Hekzaklorofen 20 mg/kg tek doz olarak uygulandığında ince

bağırsak, abomazum ve rumendeki trematodlara sırasıyla %99,5; %100 ve %100 etkili olmuş, fakat bazı danalarda ciddi sinirsel bulgular gözlenmiştir.

Niklozamid 160 mg/kg dozda tek veya 3 gün arayla 2 doz verildiğinde ince bağırsaktaki parazitlere karşı sırasıyla %91,1 ve %92,6 etkili olmuştur. Herhangi bir zehirlenme gözlenmemiştir. Klosantel 7,5 mg/kg dozda etkisizdir. Oksiklozanid ve niklozamid tek doz verildiğinde etkileri değişkendir. 2 doz oksiklozanid ve tek doz heksoklorofen kalıcı etkilidir.

Dışkıda yumurta sayısının azaltılmasına dayalı ileri testler, tedaviden 10-14 gün sonra, 207 inekte, olgun parazitlere karşı oksiklozanid ve heksoklorofenle yapılmıştır. Oksiklozanid tek veya 3 gün arayla 2 kez 12,8-18,7 mg/kg dozunda yumurta sayısını %93,6-97,5 azaltmıştır. Heksoklorofen 20 mg/kg dozunda %83 etkilidir.

Balachandran ve ark. (2010), Hindistan, Tamilnadu eyaletinde 40 Madras Red melezi koyundan 15'inin (%37,5) derialtı ödemi ve asites hikâyesiyle ölümünü araştırmışlardır. Ölüm klinik belirtilerin görülmesinden sonra 1-2 gün içinde gerçekleşmiştir. Hayvanlar ilk ölümün gözükmesinden 4 gün önce oksiklozanid-virbac (ticari bir mama) kombinasyonu ile 10 mg/kg dozunda oral olarak ilaçlanmışlar, fakat ilaçlamadan 4 gün sonra ölümler görülmeye devam etmiştir. Daha sonra albendazol %2,5-rafoksanid %2,27 kombinasyonu 15 mg/kg oranında, 2 doz olarak uygulanmıştır. Bu tedaviden sonra ölüm görülmemiş ve albendazol-rafoksanid kombinasyonunun amphistomlara karşı tek doz oksiklozanid-virbac kombinasyonundan daha etkili olduğu bulunmuştur.

Mısır'da benzer bir çalışmayı 20 manda üzerinde yapan Shaheen ve ark. (2013), oral yolla önce iki gün arayla iki kez 20 ml/100 kg dozda oksiklozanid ve son dozdan sonra iki hafta arayla beş kez 125 mg/kg dozda Paraziquantel kullanmışlar ve 6. haftanın sonunda dışkıda yumurta sayısının sıfırlandığını ve hayvanların kilo aldığını ve herhangi bir yan etki gözlenmediğini kaydetmişlerdir.

Islam (2013), sığırlarda helmintlere karşı uygun enjektabl formülasyonunun belirlenmesi amacıyla 56 sığırı üç gruba ayırmış, birinci grup 27, ikinci grup 16 ve üçüncü grup 14 hayvandan oluşmuştur. Dışkı örnekleri tedaviden önce ve tedaviden sonra 15, 30, 45 ve 60. günlerde toplanmıştır. Gruplara sırası ile ivermektin+klorsulon (1 ml'de 10 mg ivermektin+ 100 mg klorsulon, 1ml /50 kg dozda derialtı uygulama),

nitroksinil (1 ml'de 250 mg nitroksinil, 1 ml/25 kg, derialtı dozda) ve her iki ürün birlikte uygulanmıştır. Birinci grupta ivermektin+klorsulon *Paramphistomum* türlerine karşı tedaviden sonra 60. günde %80 oranında etkinlik göstermiştir. Nitroksinil, tedaviden sonra 15. günde %82 ve tedaviden sonra 60. günde %87 etki göstermiştir. Nitroksinil, klorsulon ve ivermektinle kombine tedavide, tedaviden sonra 60. günde dışkıda *Paramphistomum* spp. yumurtaları tespit edilememiştir. *Paramphistomum* türlerine karşı kombine ilaç uygulamasının ivermektin+klorsulon uygulamalarından daha etkili ($p<0.05$) bulunduğu ve ivermektin, klorsulon ve nitroksinil kombinasyonun kontrol programlarında başarılı bir şekilde kullanılabilceği sonucuna ulaşılmıştır.

Arias ve ark. (2013) tarafından *C.daubneyi* ile doğal olarak enfekte süt sığırlarında 4 antelmintiğin paramphistomidial etkisini araştırmak için 70 holstein ineğin 19'u albendazol, 23'ü netobimin, 13'ü klosantel ve 15'i oksiklozanid ile kuru dönemde tedavi edilmiş, 21'i kontrol grubu olarak bırakılmıştır. Antelmintik etki her bir antelmintik için dışkıdaki yumurta sayısındaki azalmanın hesaplanmasıyla tespit edilmiştir. Hiçbir ilaç uygulamasından sonra *C. daubneyi* yumurta üretimi tamamen baskılanamamıştır. Tedaviden sonra %11-39 iyileşme oranıyla albendazol veya netobimin alan sığırlarda dışkıdaki yumurta sayısında azalma değerleri %0-26 arasında değişmektedir. Koproskopi sonuçlarına göre, %85-93 iyileşme ve dışkıda yumurta sayısında %97-99 azalma değeriyle oksiklozanid ve klosantel ile daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. *C.daubneyi*'ye karşı klosantel ve oksiklozanid ile benzer etkinin gözlenmesi nedeniyle oksiklozanid'in bulunmadığı ülkelerde klosantel uygulaması tavsiye edilmektedir.

Priya ve ark. (2013), şikakayı (*Acacia concinna*) bitkisi kabuklarının sulu ekstresinin değişik konsantrasyonlarda (5, 10, 20 mg/ml) koyunlarda paramphistomum enfeksiyonlarına karşı etkisini araştırdıkları çalışmalarında koyunlarda gram dışkıdaki yumurta sayısı ve hemobiyokimyasal parametreler incelenmiştir. Tedavi edilen koyunlarda 7. günde yumurta sayısı önemli derecede azalmış ve deney süresinin sona erdiği tedavi sonrası 21. güne kadar daha da düşmeye devam etmiştir. Oral uygulamayı takiben gram dışkıda yumurta sayısındaki azalmanın derecesinin dozaj ve tedaviden sonraki süreyle orantılı olduğu bildirilmiştir. En büyük azalma (%97,41) ile 20 mg/ml dozda ve 21. günde gözlenmiştir. Anemi ve hipoproteinemi görülen enfekte koyunlarda tedaviden sonra hematolojik ve biyokimyasal profil normale dönmüştür.

Aynı şekilde Lalhmingchhuanmawii ve ark. (2014), nar (*Punica granatum*) meyvesinin kabuğunun etanol ekstresinin *Paramphistomum* spp. ile enfekte koyunlara karşı antelmintik etkisini araştırmışlardır. Hasta koyunlar, nar kabuğu etanol ekstresi oral yolla 30 ve 50 mg/ml dozunda kullanılarak tedavi edilmiş, gram dışındaki yumurta sayısı ve koyunların hematolojik ve biyokimyasal parametreleri incelenmiştir. Tedavi edilen koyunlarda gram dışındaki yumurta sayısı süre ve dozaj ile orantılı olarak dikkate değer şekilde azalmıştır. En büyük azalma 50 mg/ml konsantrasyonda ve tedaviden 21 gün sonra %97,95 oranında görülmüştür. Enfekte koyunlarda standart fizyolojik değerlerin altında olan hemoglobin ve protein değerlerinde tedaviden sonra iyileşme gözlenmiştir.

Sığır ve koyunlar için paramphistomosis tedavisinde kullanılabilir bazı antelmintikler Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3: Sığır ve koyunlarda paramphistomosis tedavisinde kullanılan ilaçlar ve dozları (FAO, 2018 ve Tınar ve Umur, 2015’ten uyarlanmıştır)

Etkin Madde	Kullanım Şekli	Doz (mg/kg)		Etkinlik (%)		
		Koyun	Sığır	İnce Bağırsak ve Abomasumdaki Gençler İçin		Rumendeki Erginler İçin
				Koyun	Sığır	Koyun / Sığır
Clixanide*	O	20-40	TE			
Niclosamide	O	50-100	50-100	95	0-96	0
Niclofolan*	O	6	6	76-95	-	42
Oxyclozanide*	O	15	15	85-100	61-96	73-100
Rafoxanide*	O	75-100	25-50	99-100	9-100	63-98
Bithionol, S03*	O	40	40	-	-	97-100
Resorantel	O	65	65	80-90	62-99	85-100
Brotianide	O	10-15	-	E		E
Hexachlorophene	O	10-20	15-20			E
Hexachloroethane	O	200-300	200-300			E
Hexachloroparaxylene	O	150	125			E

O = Oral, TE = Tavsiye Edilmez, E= Etkilidir, * = Karaciğer kepeneklerine de etkilidir.

2.11. İmmunite

Sığır, koyun ve keçiler parazite maruz kaldıktan sonra direnç geliştirebilirler. Bu bağımsızlık birçok probleme neden olabilecek genç parazitlerin tekrarlayan yoğun enfeksiyonlarından hayvanları korur. Sütten yeni kesilmiş buzağı ve kuzular en hassas hayvanlardır, ancak yetişkin hayvanlar da, eğer daha önceden parazitle karşılaşmamış veya dengesiz beslenme gibi başka bir problem nedeniyle zayıf düşmüşlerse gene hastalanabilirler.

Hastalık riski daha önce enfeksiyonla karşılaşmamış hayvanlar enfeksiyonun yoğun olarak görüldüğü bölgelere götürüldüğünde artar. Bu durum özellikle kurak mevsimlerde önemlidir, çünkü önceden su basan çayırlar kurur ve hayvanlar belli alanlarda yoğunlaşır (Lloyd ve ark., 2007).

Paramphistomum microbothrium ile yapılan deneysel enfeksiyonlarda, enfeksiyonun 21. gününe kadar sığırlarda erişkinlerin yüzdesinin koyun veya keçilere göre daha düşük olduğunu bildirmiştir. *P. microbothrium*'un en patojen olduğu dönem göç öncesi ve göç esnasıdır. On bin metaserkerle enfekte edilmiş sığırlarda yaşam döngüsünün bu evresinde düşük ergin parazit yüzdesi, yaşam çemberlerinin en patojenik döneminde parazitlere bir miktar doğal direnç olduğunu göstermektedir (Horak, 1967).

Hafeez ve Rao (1981), 3-4 aylık erkek oğlak ve kuzuları kullanarak yaptıkları çalışmada doğal enfekte *Indoplanorbis exustus* sümüklülerinden elde ettikleri *Paramphistomum epiclitum* (*C. imlicae* XXVI) serkerlerini kobalt 60 kaynağıyla 2 ve 3 kradlık radyasyonla irradiye etmişlerdir. Benzer yaş ve ağırlıktaki 2 oğlakla bir ön deney yapılmış ve oğlaklardan bir tanesine 3 krad radyasyonla ışınlanmış 3000 metaserker verilmiş, diğerine immunize doz verilmeyip kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Oğlaklara 42 gün sonra ışınlanmamış 5000 metaserker verilmiş ve bundan 42 gün sonra da nekropsileri yapılmıştır.

İkişer kuzudan oluşan 3 gruptan birincisi 2 krad radyasyonla irradiye edilmiş 3000 metaserkerle, ikinci grup 3 krad radyasyonla irradiye edilmiş aynı sayıda metaserkerle enfekte edilmiştir. Üçüncü gruba ise irradiye metaserker verilmemiş ve kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Her 3 gruba da bağımsızlığı kontrol etmek için 40 gün sonra radyasyonla ışınlanmamış 5000 metaserker verilmiştir. Hayvanlar bundan 40 gün sonra nekropsiyeye alınmıştır.

Birinci gruptaki 2 kuzuya enfeksiyondan sonra 81. günde yapılan nekropside kuzuların birinci enfeksiyondan 151 ve uyarı dozundan 36 olmak üzere toplam 187 parazit barındırdığı tespit edilmiştir. İkinci gruptaki kuzuların 82. günde yapılan nekropsisinde hiç parazit bulunmamıştır. Üçüncü gruptaki 2 kuzudan birinde ilk enfeksiyondan 1203 ve uyarı dozundan 102 tane olmak üzere 1305 adet, diğer kuzuda 173 tane ilk enfeksiyondan ve 42 tanesi uyarı dozundan olmak üzere 215 parazit toplanmıştır.

Üç krad radyasyonla ışınlanmış 3000 metaserkerle enfekte edilip 5000 normal metaserkerle uyarılmış oğlaktan hiç parazit toplanmamıştır. 3000 normal metaserkerle enfekte edilip 5000 metaserkerle uyarılmış diğer oğlakta 84'ü ilk enfeksiyondan ve 34'ü uyarı dozundan olmak üzere 118 parazit toplanmıştır.

İki krad radyasyonla ışınlanmış serkerlerden gelişen parazitlerle ışınlanmamış serkerlerden gelişenler arasında bazı karakteristik morfolojik değişiklikler gözlenmiştir. Işınlanmış gruptan gelen parazitlerde büyüme görece gecikmiş ve daha az parazit bulunmuştur. Bu grup parazitlerde bağırsak sekumlarının gelişimi farklılaşmış ve genital organların gelişimi engellenmiştir. Testisler içinde boşluklar oluşmuş ve dejeneratif değişiklikler göstermiştir. Vesikula seminalis spermatozoa içermez ve içeriği dejenere olmuştur. Prostat bezi tamamen dejenere olmuştur ve primordial hücrelerde mitoz görülmektedir. Çalışmada serkerlerin attenuasyonu için 2-3 kradlık dozun uygun olduğu tespit edilmiştir.

2.12. Kontrol

Trematod enfeksiyonlarının çoğu için etkili kontrol, kemoterapötiklerin stratejik kullanımına dayanır. İyi bir çiftlik idaresi ile ara ve son konaklar arasındaki teması sınırlamak, enfeksiyonu önlemek ve kontrol etmek için kritik öneme sahiptir. Ek olarak arakonak popülasyonunu azaltmak veya elimine etmek için önlemler alınabilir. Bu önlemlerin herhangi birinin veya tamamının bir entegre strateji içinde kullanımı, hastalığın ekonomik değerlendirilmesi ve kontrol seçeneklerinin görece olarak buna değip değmeyeceği temeline dayanmalıdır.

Çevre, arakonaklardaki enfeksiyon prevalansı ve mevsimsel hava koşullarına dayanan epidemiyoloji ve hastalık önleme bilgisi kontrol programının temelini oluşturur. Örneğin uzamış bir kurak veya aşırı soğuk mevsim gibi parazitlerin veya arakonakların etkinliklerinin azaldığı bir periyodun sonuna doğru ruminantlar koruyucu

olarak tedavi edilebilir. Bunda amaç larval gelişim ve sümüklü aktivitesinin sürdüğü uygun iklim koşullarından önce çayırdaki yumurta kontaminasyonunu azaltmaktır.

Son konaklarda enfeksiyonun zirve yapmasının beklendiği zamandan sonra yaklaşık 1-2 hafta boyunca sağaltıcı tedavi uygulanabilir. Tek tedaviyle otlar üzerinde sağ kalmış metaserkerlerden edinilmiş parazit yükünü ortadan kaldırarak sağaltıcı etki başarılabilir.

Mevsimsel değişikliklerin sümüklülerin yaşam çemberi üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı fazla bulaşık alanlarda ilave tedavi uygulanabilir. Bu ilave tedavi mevsimsel iklim koşullarının parazit ve sümüklü gelişimi için elverişli olduğu veya kuru sezon boyunca sulu çevre etrafındaki sınırlı alanlarda otlatmanın bir sonucu olarak yüksek metaserker alımının sık sık ortaya çıktığı alanlarda gereklidir. Hayvanlar ortak alanlarda otluyorsa, eğer mümkünse meraların yumurtalarla kontaminasyonunu senkronize olarak azaltmak önemlidir. İdeal olan alandaki bütün hayvanların kısa bir zaman süresi içinde tedavi edilmeleridir (Vorster ve Mapham, 2012).

Paramphistomid enfeksiyonlarının kontrolünde kullanılacak önemli işletmecilik yöntemleri şunlar olabilir:

1- Sümüklü gelişimi için uygun alanlardaki vejetasyonlar düzenli olarak temizlenerek sümüklü habitatlarının büyümesi önlenir. Bataklık veya alçak arazilerin iyi drenajı veya uygun yerlere gölet veya baraj yapılması sümüklü problemini azaltabilir.

2- Çiftlik hayvanları metaserkelerle kontamine alanlardan uzak tutulabilir veya meradaki hayvan sayısı makul miktarda tutulabilir (Vorster ve Mapham, 2012). Çiftliklerde eğer mümkünse, yumurta kontaminasyonu ihtimali ve prepatent süreye göre sürü rotasyonu yapılabilir. Yetişkin hayvanlar daha az duyarlı olduğu için enfekte alanlarda önce bunlar otlatılabilir ve sonra prepatent süre tamamlandığında daha yüksek çayırda götürülebilirler (Sanabria ve Romero, 2008). Ciddi salgınlar, doğal su kaynaklarıyla sulanan çayırlarda sadece ilkbahar ve erken yaz mevsiminde otlatılarak önlenir. Geç yaz, sonbahar ve erken kış mevsiminde otlatmaktan kaçınılmalıdır. Eğer sulak çayırlarda sürekli otlatma yapılıyorsa genç, yeni süten kesilmiş hayvanlar yetişkinlerle birlikte otlatılmamalıdır (Lloyd ve ark., 2007).

3-Hayvanların göl, gölet veya akarsulardan su içmesini önlemek için uygun sulama tesisleri kurulabilir (Vorster ve Mapham, 2012).

Sümüklü arakonakların kontrolü için mollusidlerin kullanımı sümüklü enfeksiyonlarının kontrolü için potansiyel bir araçtır. Bakır klorür (Vorster ve Mapham,

2012), bakır sülfat ve sodyum pentaklorofenat (Sanabria ve Romero, 2008) gibi mollusidlerin kullanılması ekolojik zararlar nedeniyle kolay uygulanabilir seçenekler değildir. Böyle bir girişimde bulunmadan önce çok dikkatli bir “çevresel etki değerlendirilmesi” yapılmalıdır (Vorster ve Mapham, 2012). Problemler alanları çitle çevreleme, böylece arazileri sınırlama, zor olmasına rağmen en doğru seçenek olabilir (Sanabria ve Romero, 2008).

Pfukenyi ve Mukaratirwa (2018), niklozamid gibi mollusidler kullanarak sümüklülerin kimyasal kontrolü denenebileceğini, fakat uygun maliyetli kontrolü temin etmek için bu tip bir kontrolün, enfekte sümüklü sayısını ve serker saçılımını azaltmak için bulaşma periyodunun zirve yaptığı dönem boyunca yapılması gerektiğini bildirmiştir. Fakat uygun koşulların olduğu kısa dönemlerde sümüklü popülasyonlarının hızlı toparlanma yetenekleri nedeniyle düzenli uygulama gereklidir. Bununla birlikte mollusid uygulamalarının çevresel kirliliğe ve hedeflenmeyen sucul canlıların ölümüne de neden olabileceği unutulmamalıdır.

Dünyanın farklı yerlerinden birtakım bitkilerin mollusidal etkileri olduğu bildirilmiştir. Şistosomiasisin bulaşmasını önlemek için *Oncomelania hupensis*, *Biomphalaria alexandrina* ve *Bulinus truncatus* gibi arakonak sümüklülerin kontrolünde *Camellia oleifera*'nın tohumlarından ekstrakte edilmiş saponinlerin (Jia ve ark.,2019), *Biomphalaria alexandrina*'ya karşı *Callistemon viminalis*' in kabuk, meyve ve yapraklarının metanol özütlerinin (Gohar ve ark, 2014) ve *Agava filifera*'nın tüm bitki, *Ammi majus* ve *Canni indica*'nın yaprak ve çiçeklerinin su süspansiyonları ve soğuk ve kaynamış sudaki özütlerinin (Rawi ve ark, 2011) ve *Fasciola hepatica*'nın arakonaklarından *Lymnea natalensis*'e karşı *Balanite egyptica*'nın yaprak, kabuk ve köklerinin sulu özütlerinin (Abdullahi ve ark., 2018) etkili olduğu bildirilmiştir. Su kanalları veya akarsular boyunca bu ağaç ve çalılıkların dikilmesi popülasyondaki sümüklü sayısını azaltabilir. Fakat bu yöntemin sümüklü kontrolündeki etkinliği henüz değerlendirilmemiştir. (Vorster ve Mapham, 2012).

Ördek gibi su kuşları bir biyolojik kontrol yöntemi olarak kullanılabilirler. Ördekler sümüklüleri yerler ve ördeklere spesifik trematod türleri sümüklüleri enfekte etmede ruminantları enfekte eden parazit türleriyle rekabet ederler. Ördeklere spesifik trematodlarla enfekte sümüklülerin çiftlik hayvanlarına spesifik türlerle enfekte olmadığı rapor edilmiştir (Vorster ve Mapham, 2012).

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Mandalardaki Ergin Parazitler ile İlgili Çalışmalar

Ağustos 2016-Temmuz 2018 tarihleri arasında Kızılırmak Deltası ile ilişkili olan Atakum (Florya) ve Bafra ilçe mezbahalarına haftada bir gün ziyaret gerçekleştirilmiş ve 139 mandanın kesim sonrası safra keseleri, rumen ve retikulumları Paramphistomid türlerin varlığı yönünden incelenmiştir (Şekil 17). Hayvanların kayıtları tutulduktan sonra, enfekte organ ve parazitler uygun plastik torbalara konarak laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvarında organlardan toplanan parazitler, içerisinde serum fizyolojik bulunan kaplara konarak temizlenmiş ve sayımları yapılmıştır. Parazitler stereo mikroskopta dıştan incelenerek, morfolojik olarak farklı görünenler ve/veya farklı tür olma olasılığı olanlar ayrılmıştır.



Şekil 17. Bafra Belediye Mezbahasında manda kesimi

Morfolojik olarak farklı görünen veya şüphe edilen türler için, her enfekte hayvandan en az 10 örnek ayrılmıştır. Bu örneklerden ikisi normal boyama için fizyolojik serum, ikisi de moleküler analizler için ayrılarak %70 etil alkol içinde muhafazaya alınmıştır. Kalan örnekler kanıt numune olarak saklanmıştır. Numune

sayısının az olduğu bazı hayvanlarda bu sayılar yarıya veya mümkün olan sayılara indirilmiştir. Tanı yöntemlerinde hata olması veya sonuç alınamaması durumunda, mevcut şahit numunelerin 1/3'üne aynı işlem uygulanmış ve en az bir veya iki örnek yine şahit numune olarak saklanmıştır.

3.1.2. Arakonak (Sümüklü) Çalışmaları

Aynı tarihler arasında, sümüklülerin aktif olduğu ilkbahar ve sonbahar mevsimlerinde, ayda bir olmak üzere mandaların otladığı 19 Mayıs İlçesine bağlı Yörükler ve Engiz mahallelerine ait meralara gidilmiş, sulak ve bataklık alanlardan sümüklü (küçük salyangoz) örnekleri toplanmıştır (Şekil 18-21). Saha çalışmaları boyunca toplam 550 sümüklü örneklenmiş ve her bölgeden toplanan örnekler ayrı plastik kutular içerisine konularak laboratuvara getirilmiştir.

Sümüklü örnekleri, stereo mikroskopta ilgili literatüre göre (Yıldırım ve ark., 2006) morfolojik olarak cins ve/veya tür düzeyinde teşhisleri yapıp stereo mikroskop altında diseke edilerek sporokist, redi, serker gibi gelişim dönemlerinin varlığı açısından kontrol edilmiştir. Enfekte sümüklülerde rastlanan trematod gelişim şekilleri bir pastör pipeti yardımıyla toplanarak mikroskopik fotoğrafları çekilmiş ve eppendorf tüplere alınarak moleküler (PCR) analizler için kullanılmaya kadar %70 lik etanol içerisinde -20 °C'de saklanmıştır.



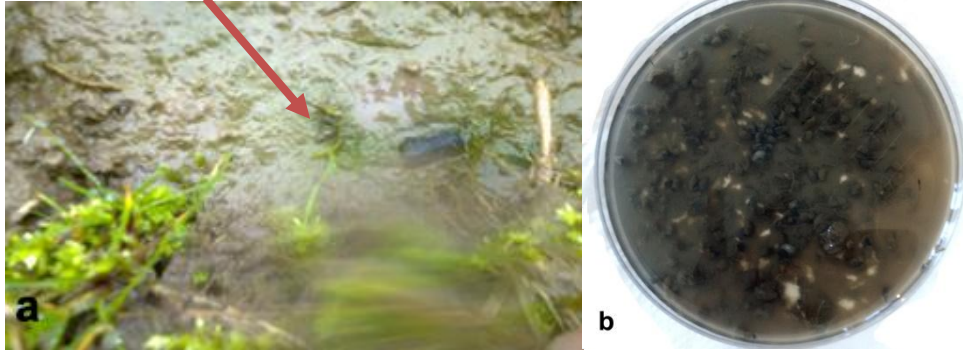
Şekil 18. Sümüklü örneklerinin toplandığı Yörükler ve Engiz Meralarının coğrafi konumu



Şekil 19. Engiz merasında sulak alanda otlayan mandalar



Şekil 20. Yörükler merasında otlayan mandalar



Şekil 21. *Galba truncatula* örnekleri a) Engiz Merasında (ok), b) Petride

3.2. Metot

3.2.1. Parazitlerin Bütün Olarak Boyanması ve Teşhisi

Boyama için ayrılan iki örnek steril ultra saf suda yıkandıktan sonra, her biri ayrı ayrı olmak üzere, modifiye trişinoskop veya iki lamel arasında ince lastik bantla sıkıştırılarak yassılaştırılmış, sonra Bouin's fiksatifine konarak oda ısısında 24 saat süreyle tespit edilmiştir. Sonraki basamakta örnekler yavaş akan çeşme suyu ile yıkanmış, distile su serilerinden geçirilmiş ve %0,5 lik boraks carmine ile 24 saat boyanmıştır. Daha sonra pembe renk alıncaya kadar %1'lik hikroklorik asit ile fazla boyası alınmıştır. En sonunda parazitler bol suyla yıkanmış, birer saat süreyle %50, 70, 85 ve 100 derecelik etil alkol serilerinden geçirilerek dehidre edilmiştir. Örnekler iki gruba ayrılarak kapaklı cam petriye konulmuş, yarısı metil benzoate, diğer yarısı ksilol içine konarak, 10-30 dakika süreyle saydamlaştırılmıştır. Saydamlaştırma sırasında beş dakika aralıklarla parazitler stereo mikroskopta incelenerek, saydamlaştırma süresi konusunda karar verilmiştir. Daha sonra örneklerin yarısı Depex media, yarısı Kanada balsamı ile monte edilmiştir. Depex ile monte edilmiş preparatlar oda ısısında bekletilerek, Kanada balsamı ile yapıştırılanlar ise 45 °C'ye ayarlı inkübatöre konularak bir hafta süreyle kurutulmuştur. Doğal ve tam haliyle boyanmış örnekler stereo mikroskop ve ışık mikroskobunda incelenmiş, morfolojik özelliklerine bakılarak ilgili literatürler (Choudhary ve ark, 2015; Coşkun, 1987; Coşkun, 1988a; Eduardo, 1980a) yardımıyla teşhis edilmiş ve önemli bölgelerin fotoğrafları çekilmiştir.

3.2.2. Histolojik Kesitlerin Boyanması ve Teşhisi

Bütün boyama ve moleküler yöntemler için ayrılan örneklerden arta kalan örnekler histolojik kesitlerin alınması amacıyla %10'luk formolde saklanmıştır.

Örnekler bunun için Leica TP1020 marka doku takip cihazında %50'lik etil alkolde altı saat, sonra sırasıyla %70 ve %80'lik etil alkolde birer saat, her ikisi de % 96'lık etil alkol içeren kaplarda birer saat ve her üçünde de %100'lük etil alkol bulunan kapların ilk ikisinde birer ve sonuncusunda 2 saat tutularak dehidre edilmiştir. Örnekler sonra ksilol içeren iki ayrı kapta birer saat ve daha sonra parafin bulunan 2 ayrı kapta yine birer saat bekletilmiştir. Doku takip süreci 18 saat devam etmiştir. Bloklama işlemi için 2x2 cm ebadındaki saydam lamel kutuları kullanılmıştır. Kutuların her birine bir örnek yerleştirilerek üzerlerine örneklerin protokol numaraları yazılmıştır. Sıcak parafin içerisindeki parazitler bir pens yardımıyla alınarak dışbükey olan dorsal kısmı alta, asetabulum ve genital deliğin bulunduğu içbükey olan ventral kısımları üste gelecek şekilde yerleştirilmiş ve bir öze yardımıyla pozisyonları düzeltilmiştir. Pozisyonları düzeltilerek kutu tabanına yapışmaları sağlandıktan sonra, örneklerin üzerlerine sıcak parafin dökülerek soğumaları için bir müddet beklenmiştir. Başlangıçta saydam olan sıcak parafin soğudukça opak bir görünüm almaya başlamış ve bu aşamadan sonra bloklar dikkatli bir şekilde naylon ambalaj içerisinde buzdolabına kaldırılarak muhafaza edilmiştir.

Paramphistomid parazitlerin tür teşhislerinde kullanılan en önemli kassal organlar olan farinks, genital delik ve asetabulumun uzunlamasına tam ortalarından geçen “median sagittal” kesitleri alınmıştır. Histolojik olarak birbirine çok benzeyen türlerin birbirinden ayrılmasında kullanılan, parazitin her iki yanında bulunan vitellojen bezlerin birleşme eğilimi ve testislerdeki loplanma durumu gibi bazı histolojik karakterlerin tespit edilebilmesi ve fiksasyon ve kesit alma sürecinde oluşabilecek bazı kıvrılma ve katlanmaların teşhisi imkânsız hale getirmemesi için median sagittal kesitlerin sınırları biraz geniş tutulmuştur (Coşkun, 1987).

Parazitlerin gömülü olduğu parafin bloklar buzdolabından alınarak kutularından çıkarılmış ve bir mikrotom bıçağı yardımıyla fazla parafin tıraşlanarak bloklar küçültülmüştür. Uygun boyuta getirilmiş blok içerisindeki parazitler dorsal kısımları yere paralel ve ventral kısımları mikrotomun bıçağına doğru gelecek şekilde Leica RM2125RT marka mikrotomun tutucuları arasına yerleştirilmiştir.

Parazitin tür teşhisinde önem taşımayacak lateral kısımları mikrotomla tıraşlanarak atılmış ve median sagittal hatta yaklaşıldığında 10 µm kalınlığında seri kesitleri alınmıştır. Sürecin sağlıklı ilerleyebilmesi için kesitler bir fırça yardımıyla

alınarak ılık su banyosu içinde gevşeyip açılmaları sağlanmış ve sonra lam üzerine alınarak mikroskop altında boyanmadan muayene edilmiştir. Özellikle farinks, asetabulum ve genital delik gibi kassal organların gözlenmesini sağlayacak kesitler alınıncaya kadar bu kontrol işlemine devam edilmiştir. Doğru seviyeden alınan seri kesitler yine fırça marifetiyle alınarak ılık su banyosunda açılmaları sağlandıktan sonra 2-3 tanesi birlikte olacak şekilde lam üzerine alınmıştır.

Alınan kesitler daha sonra 24 saat süre ile 38 °C' deki etüvde kurumaya terk edilmiştir. Daha sonra hematoksilin-eozin ile boyama işlemine geçilmiştir. Bunun için örnekler içinde ksilol bulunan 2 kaptan her birinde beşer dakika sonra sırasıyla %96 ve %80' lik etil alkol bulunan kaplarda yine beşer dakika bekletilmiştir. Distile suya alınan örnekler 5 dakika tutulduktan sonra boyama için 3 dakika boyunca hematoksilin bulunan kapta bekletilmiş ve 2 dakika akan su altında tutularak fazla boyası giderilmiştir. Daha sonra asit alkole 2 kez yavaşça daldırılmış ve 30 saniye akan su altında yıkanmıştır. 20 saniye lityum karbonat bulunan kapta bekletildikten sonra distile suda yıkanıp boyama için 3 dakika eozin bulunan kapta tutulmuştur. Sonra sırasıyla %80, %96 ve %100'lük etil alkol serilerinde onar saniye tutularak 12 saat oda ısısında kurumaya bırakılmıştır. Kurumayı müteakip içinde ksilol bulunan 2 kapta sırasıyla beşer dakika bekletilip 60 dakika sonra entellan ile monte edilmiştir.

3.2.3. Moleküler analizler

Ergin ve Gelişim Dönemlerinden Genomik DNA Ekstraksiyonu

Her hayvan için ayrılan farklı örneklerden ergin parazitler %70'lik etil alkolden alınarak, asetabulum bölgesi kesilmiş ve genomik DNA (gDNA) izolasyonuna alınmıştır. Gelişim formlarından gDNA izolasyonu için ise sümüklü örnekleri petri kutusu içinde, stereo mikroskop altında diseke edilmiştir. Gelişim formları daha beyaz renkleri ve kompakt yapılarıyla sümüklü dokusundan kolayca ayırt edilmiş ve pastör pipeti yardımıyla %70'lik etil alkol içeren eppendorf tüplerine alınmıştır. İzolatlardan gDNA eldesinde ticari DNA ekstraksiyon kiti (İnvitrogen, PureLink Genomic DNA Kit) kullanılmış ve kit prosedürü uygulanmıştır. Elde edilen gDNA izolatları moleküler analizlerde kullanıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır. Genomik DNA konsantrasyonları spektrofotometre (NanoDrop 2000, Thermo Scientific) ile ölçülmüş ve kayıt edilmiştir.

PCR ve RFLP Analizleri

Türlerin moleküler teşhisi için iki farklı gen bölgesi hedef alınmıştır. Genel moleküler teşhis için ITS2+ rDNA (Parsiyal 5.8S, ITS2, parsiyal 28S) gen bölgesi PCR ile çoğaltılmıştır. Bu amaçla ITS2-F (5'-TGTGTCGATGAAGAGCGCAG-3') ve ITS2-R (5'- TGGTTAGTTTCTTTTCTCCGC-3') primerleri kullanılmıştır (Itagaki ve ark., 2003; Rinaldi ve ark., 2005). PCR master miks karışımı ergin ve larval dönemlere ait template DNA (10-30 ng) dahil toplam 50 µl olacak şekilde; 10x taq buffer, 250 nM her bir primer (Macrogen), 200 µM dNTP miks (Sigma), 2,0 mM MgCl₂ ve 2,5 U taq polimeraz (Life Technologies) olacak şekilde ayarlanmıştır. Karışım porsiyonlanarak termal siklus cihazına (SimpliAmp, Applied Biosystems) konularak amplifikasyon koşulları ilk denatürasyon 95 °C'de 10 dk; 35 siklus denatürasyon 94 °C'de 1 dk, bağlanma 53 °C'de 90 sn, uzama 72 °C'de 1 dk ve son uzama 72 °C'de 10 dk olacak şekilde ayarlanmıştır.

Elde edilen PCR ürünlerinin 5 µl'lik kısmı 2 µl yükleme boyası ile karıştırılarak, etidium bromid ile boyanmış %1,5 agoroz jele yüklenmiştir. Örnekler yatay elektroforez (Thermo Easycast B1) yardımı ile yürütülmüş, ardından fotoğraflanmıştır (DNR Bio-imaging Systems, Minibis Pro).

Gerek ergin, gerekse larval dönemlerde ITS2+ rDNA gen bölgesinin çoğaltılması ile elde edilen PCR ürünleri, teşhisi doğrulamak amacı ile dört endonükleaz enzimi [MseI (Tru1I), HaeIII (BsuRI), RsaI, Bsh1236I (BstUI)] kullanılarak PCR-RFLP işlemine tabi tutulmuştur (Rinaldi ve ark., 2005).

Endonükleaz enzimleri ile kesim işlemi için karışım, PCR ürününden 10 µl, nükleaz içermeyen sudan 18 µl, 10x Buffer R'den 2 µl (RsaI için Buffer Tango) ve enzimden 1 µl eklenerek hazırlanmıştır. Karışım MseI (Tru1I) enzimi için 65 °C'de, diğer enzimler için ise 37 °C'de 16 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda elde edilen PCR ürünlerinin 5 µl'lik kısmı 2 µl yükleme boyası ile karıştırılarak, etidium bromid ile boyanmış %1,5 agoroz jele yüklenmiştir. Örnekler yatay elektroforez (Thermo Easycast B1) yardımı ile yürütülmüş, ardından fotoğraflanmıştır (DNR Bio-imaging Systems, Minibis Pro).

Morfolojik olarak *Calicophoron daubneyi* olduğu düşünülen örneklerle arakonaklardan elde edilen gelişim formlarına ait örneklerde mitokondriyal DNA (mtDNA)'nın parsiyal Cox1, tRNA-Thr (threonine)'nin tamamı ve parsiyal 16S rRNA

(large ribosomal RNA subunit) gen bölgesi Cd-Cox1F (5'-TGGAGAGTTTGGCGTCTTTT-3') ve Cd-Cox1R (5'-CCATCTTCCACCTCATCTGG-3') primer çifti ile çoğaltılmıştır (Martinez-Ibeas ve ark., 2013; Zintl ve ark., 2014). PCR master miks 50 µl olacak şekilde; 10x taq buffer, 400 nM her bir primer (Macrogen), 200 µM dNTP miks (Sigma), 2,5 mM MgCl₂ ve 1,25 U taq polimeraz (Life Technologies) olacak şekilde ayarlanmıştır. Karışım porsiyonlanarak ergin ve larva dönemlerine ait gDNA izolatlarından 10-30 ng eklenmiş ve PCR tüpleri termal siklus cihazına (SimpliAmp, Applied Biosystems) konularak amplifikasyon koşulları ilk denatürasyon 92 °C'de 2 dk; 38 siklus denatürasyon 95 °C'de 30 sn, bağlanma 52 °C'de 30 sn, uzama 72 °C'de 90 sn ve son uzama 72 °C'de 10 dk olacak şekilde ayarlanmıştır.

Elde edilen PCR ürünlerinin 5 µl'lik kısmı 2 µl yükleme boyası ile karıştırılarak, etidium bromid ile boyanmış %1,5 agoroz jele yüklenmiştir. Örnekler yatay elektroforez (Thermo Easycast B1) yardımı ile yürütülmüş, ardından fotoğraflanmıştır (DNR Bio-imaging Systems, Minibis Pro).

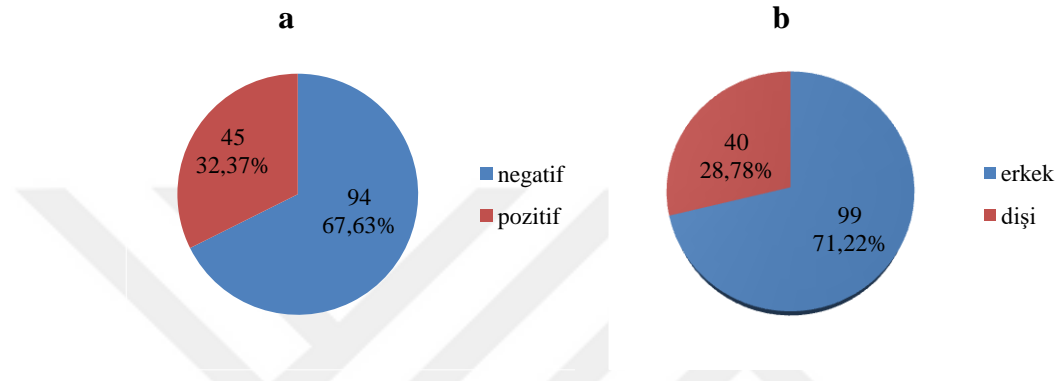
Sekans Analizleri

Ergin ve gelişim formlarından birer örneğin mtDNA Cox1 gen bölgesi çoğaltıldıktan sonra PCR ürününün purifikasyonu ve aynı primer çiftleri ile çift yönlü DNA dizi analizleri ticari bir firmaya yaptırılmıştır (Macrogen). Sekans analizleri yapılan örneklerin Contig Express in Vector NTI Advance 11.5 (Invitrogen) sekans analiz programı ile kromotogramları dikkatlice analiz edilmiş, ileri ve geri yönlü okumaların hizalamaları yapılmış ve her bir izolat için ortak bir nükleotid dizisi (sekans dizisi) elde edilmiştir. Elde edilen dizilerin GenBank veri tabanında blastn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) analizleri (Altschul ve ark, 1997) yapılmıştır.

İzolatlara ait nükleotit dizilimleri, ergin parazit için MH939278 (*Calicophoron daubneyi* voucher OMUPAR.31.17.01, cytochrome oxidase subunit I (Cox1) gene, partial cds; tRNA-Thr gene, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial) ve larva dönemi için MH939279 (*Calicophoron daubneyi* voucher OMUPAR.31.17.02, cytochrome oxidase subunit I (Cox1) gene, partial cds; tRNA-Thr gene, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial) olarak GenBank veri tabanına girilmiştir.

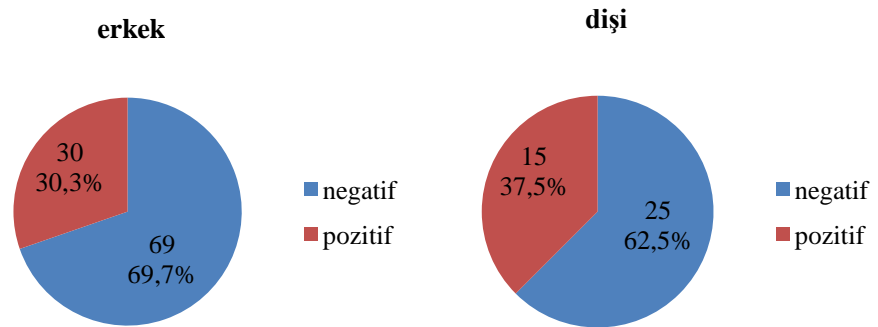
4. BULGULAR

Araştırmada toplam 139 manda muayene edilerek 45 hayvan Paramphistomid trematodlar yönünden pozitif olarak saptanmış ve enfeksiyon oranı %32,37 olarak belirlenmiştir (Şekil 22a). Muayene edilen 139 mandanın 40'ı (%28,78) dişi ve 99'ı (%71,22) erkektir (Şekil 22b).



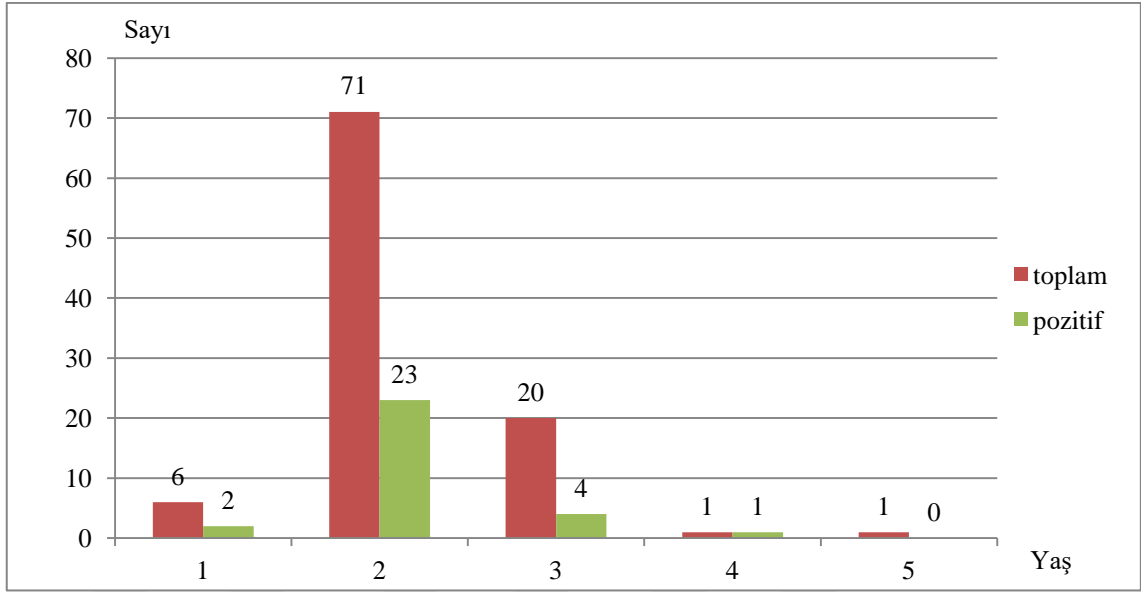
Şekil 22. a) Negatif ve pozitif örneklerin sayısal ve yüzdesel dağılımı, b) Örneklerin cinsiyete göre sayısal ve yüzdesel dağılımı

Paramphistomosis yönünden enfekte (pozitif) oldukları tespit edilen 45 örneğin 15'inin dişi ve 30'unun da erkek olduğu tespit edilmiştir. Enfeksiyon oranı dişilerde %37,5; erkeklerde ise % 30,3 olarak belirlenmiştir (Şekil 23).

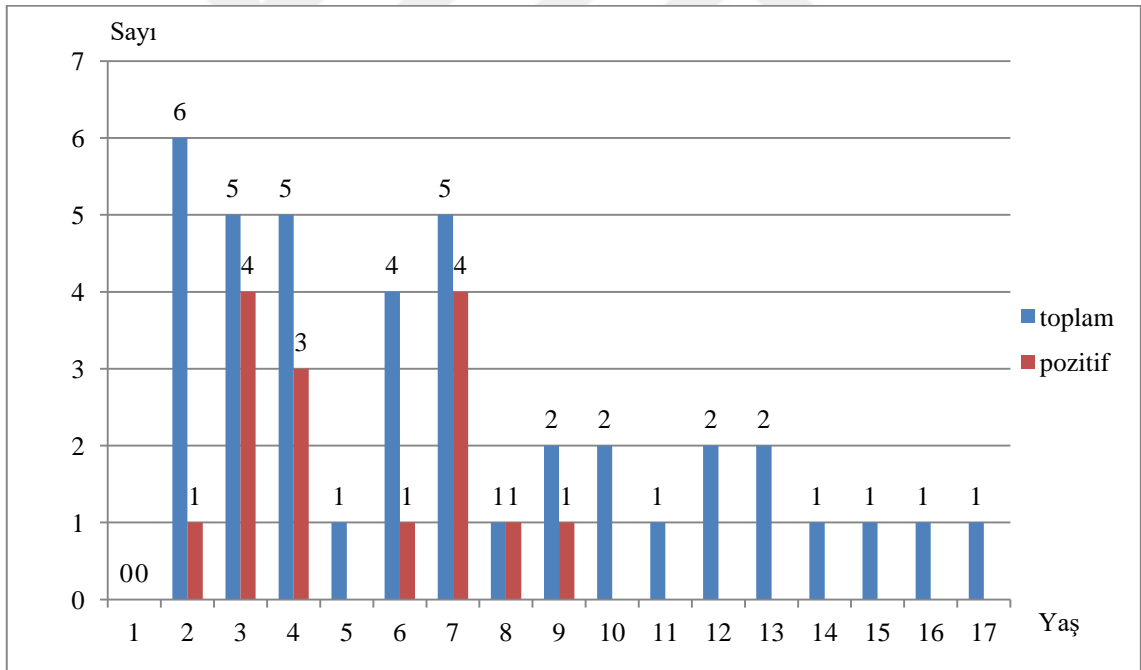


Şekil 23. Cinsiyete göre pozitif ve negatif örneklerin sayısal ve yüzdesel dağılımları

Yaş gruplarına göre enfekte erkek ve dişi manda sayıları Şekil 24 -25'de verilmiştir.



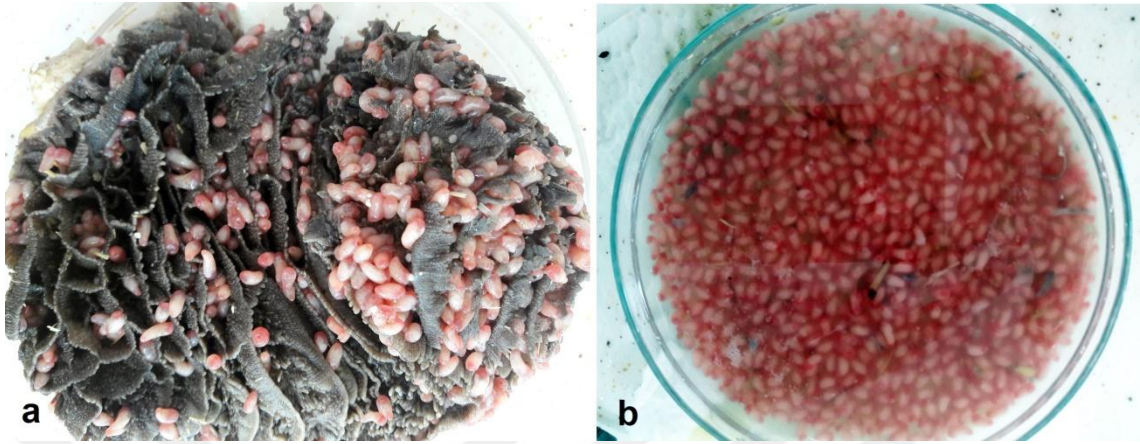
Şekil 24: Erkek mandaların yaş gruplarına göre toplam ve enfekte manda sayıları



Şekil 25. Dişi mandaların yaş gruplarına göre toplam ve enfekte manda sayıları

İncelenen organlardan sadece rumen ve retikulumda Paramphistomid trematodlara rastlanmıştır, safra yolları, safra kesesi ve diğer organlarda parazitlere tesadüf edilmemiştir. Parazitler yeni kesilmiş hayvanlarda rumen papillaları arasına

gömülmüş, adeta nar çekirdeği şeklinde, pembe kırmızı renkte görünmektedir. Bu nedenle çıplak gözle tanınmaları kolay olmuştur (Şekil 26a,b).



Şekil 26. Ergin parazitlerin makroskobik görünümü, a) enfekte retikulum papillaları arasında, b) petride

Enfekte organlardan toplanan parazitlerin petri kabına alınınca da, pembe rengini bir süre daha koruduğu, ancak çeşitli işlemlere tabi tutulunca veya bekletilince renklerinin kaybolmaya ve boz-beyaz renk almaya başladığı dikkat çekmiştir. Çıplak gözle dikkatli bakıldığında, parazitin ağız ve asetabulumu (arka çekmen) görülebilmektedir. Benzer şekilde stereo mikroskopta küçük büyütmeyle bakılınca, bu yapılar ek olarak genital atrium da kolayca görülebilmektedir (Şekil 27a,b).



Şekil 27. Tespit edilmiş ergin parazitler, a) doğal, b) stereo mikroskopik görünüm

Hayvanlarda parazit sayısının genelde çok fazla olmadığı gözlenmiş, enfekte 45 hayvandan toplam 4754 parazit toplanmış ve hayvan başına parazit sayısı ortalama 105,6 adet olarak saptanmıştır. Bir hayvandan en az 2, en fazla 1884 parazit toplanmıştır.

Ortalama parazit sayısı dikkate alınınca, enfekte hayvanlardaki parazit yükü genel olarak klinik belirtiyeye yol açmayacak düzeyde bulunmuş, ancak bir hayvanda 813, diğer bir hayvanda ise 1884 parazit sayılmıştır. Son iki hayvandaki parazit sayısının, kronik enfeksiyona özgü bazı klinik belirtilere yol açacak düzeyde olduğu düşünülmektedir.

Parazitler doğal halde, pirinç tanesi şeklinde tombul ve kalın yapılı olup tespit edebilmek ve düzgün preparat yapabilmek için iki lamel arasında sıkıştırılmaları gerekmektedir. Bu durum parankime gömülü olan ovaryum, uterus, testisler gibi organların şekil ve pozisyon değiştirmesine yol açmış ve aynı kalitede ve standartta boyama sağlanamamıştır. Ayrıca teşhiste önemli olan farinks, genital organlar ve asetabulum gibi yapıların detaylı olarak incelenmesine izin vermemiştir (Şekil 28).

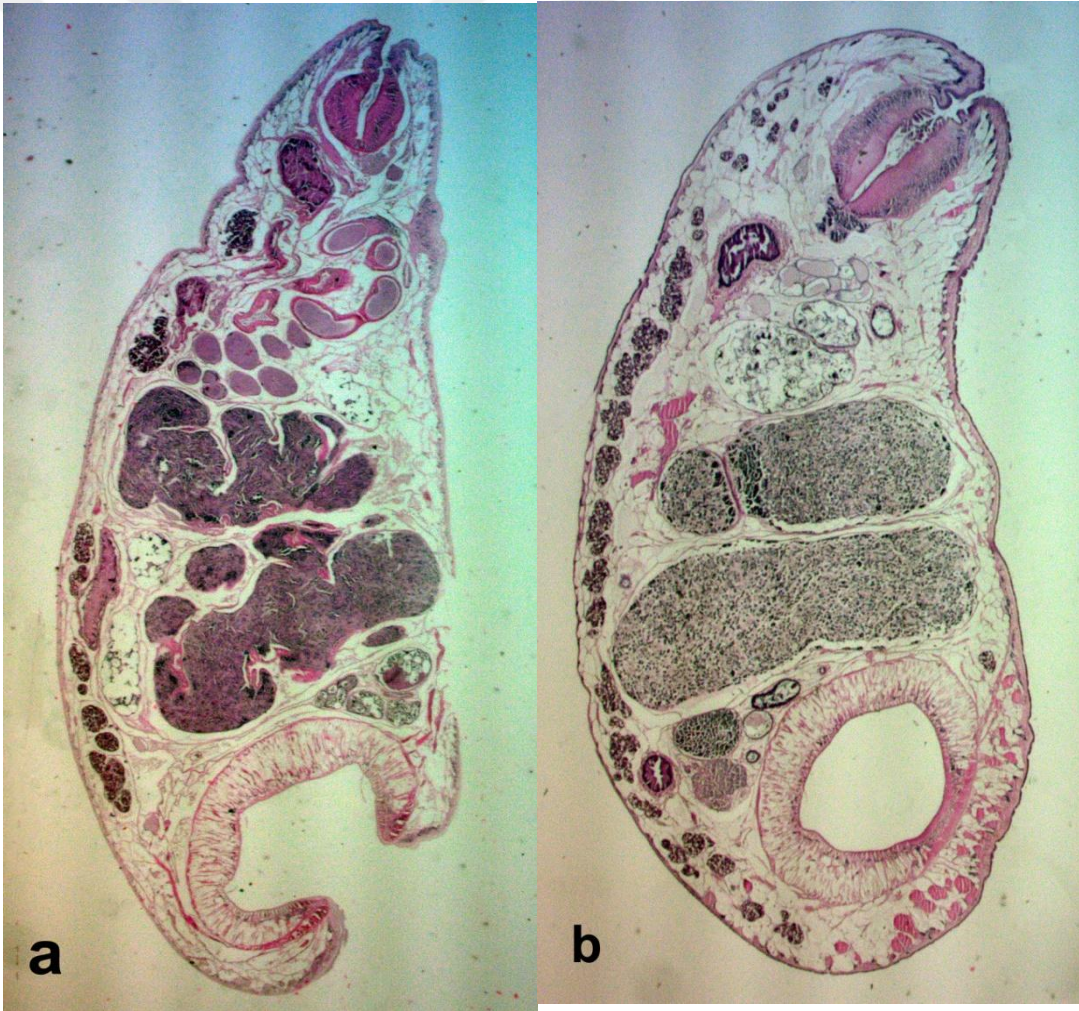


Şekil 28. Doğal haliyle boyanmış üç farklı örneğin mikroskopik görünümü

Parazitlerin bütün olarak boyanması yöntemi, parazitin doğal haline göre daha iyi incelenmesine ve sekumların uzanımı, vitellojen bezlerin vücudun ön ve arkasında

birleşme ve testislerin loblanma durumları gibi tür teşhisi için taksonomik değeri olan birtakım bilgilere olanak vermesine karşın kesin tür teşhisi için tek başına yeterli bulunmamıştır.

Enfekte her hayvandan alınan birer örnek histolojik kesit yöntemiyle muayene edilmiş ve 42 örneğin *Calicophoron daubneyi* (Şekil 29a) ve 3 örneğin *Paramphistomum cervi* (Şekil 29b) olduğu saptanmıştır. *Paramphistomum cervi* saptanan hayvanlara ait birer örneğe tekrar kesit yapılmış ve bunlar da *C. daubneyi* olarak teşhis edilmiştir. Dolayısıyla histolojik kesit yöntemine göre *C. daubneyi* ile enfeksiyon oranı %32,37 ve *C. daubneyi* ve *P. cervi* ile miks enfeksiyon oranı %2,16 olarak bulunmuştur. Her iki türe ait ölçümler Tablo 4’de sunulmuştur.

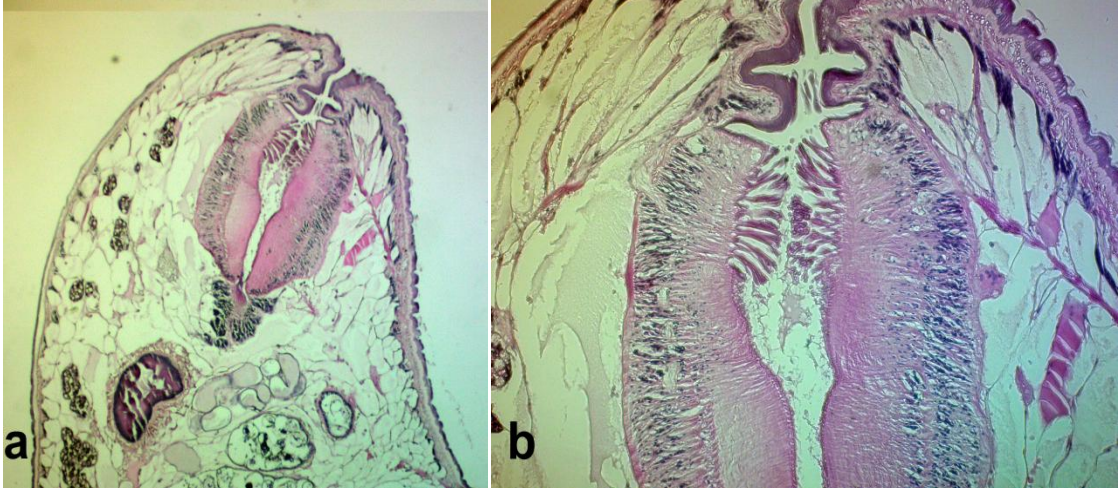


Şekil 29. Histolojik kesitte, a) *C. daubneyi* ve b) *P. cervi*' nin genel mikroskopik görünümü

Tablo 4: *Calicophoron daubneyi* ve *P. cervi*'nin morfolojik olarak karşılaştırılması

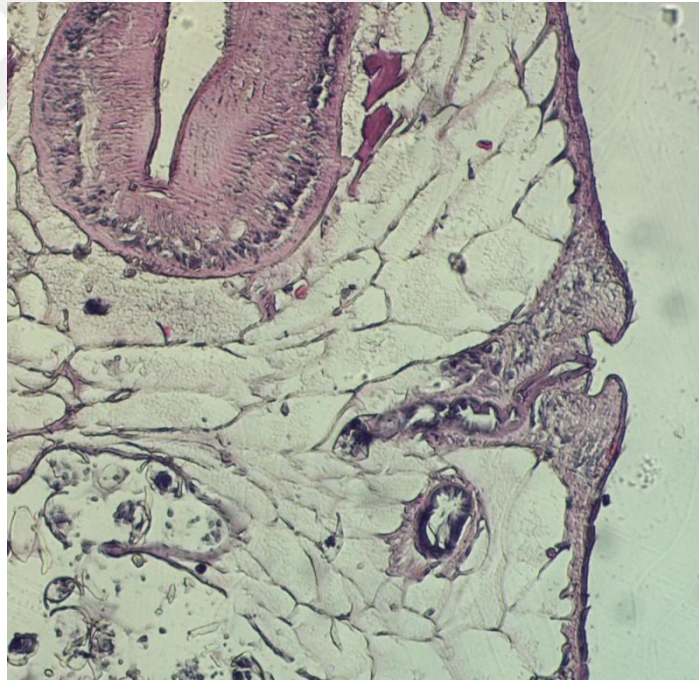
	<i>Calicophoron daubneyi</i>	<i>Paramphistomum cervi</i>
Vücut Uzunluğu	4,05-10,50 mm	5,28-7,30 mm
Vucut Genişliği (Asetabulum Hızasında Dorso-Ventral)	2,10-3,40 mm	2,48-2,73 mm
Asetabulum Dorso-Ventral Dış Çapı	1,53-2,45	1,55-1,65
Vucut Uzunluğu/Asetabulum Çapı	2,57-5,47	4,39-4,71
DEC 1	12-21	15-19
DEC 2	21-39	26-31
DIC	31-55	46-48
VEC	13-19	17-19
VIC	39-60	42-49
MEC	14-22	7-11
Farinks Uzunluğu	0,44-0,93 mm	0,88-1,3 mm
Farinks Genişliği	0,36-0,64 mm	0,51-0,62 mm
Vucut Uzunluğu/ Farinks Uzunluğu	8,60-16,27	5,12-8,30
Asetabulum Çapı/Farinks Uzunluğu	2,16-4,26	1,76-1,89
Ösofagus Uzunluğu	0,34-0,95 mm	0,88 mm
Ön Testis Çap	0,68-2,00 mm	0,85-1,15 mm
Ön Testis Dorso-Ventral Çap	0,95-2,35 mm	1,70-2,15 mm
Arka Testis Çap	0,7-2,00 mm	0,73-1,10 mm
Arka Testis Dorso-Ventral Çap	1,2-2,45 mm	1,88-2,30 mm
Ovaryum Çap	0,50-0,68 mm	35-60 mm
Ovaryum Dorso-Ventral Çap	0,40-0,58 mm	34-40 mm

Paramphistomum cervi olarak teşhis edilen örneklerde farinks armut biçiminde olup vücudun ön ucunda yerleşmekle birlikte fiksasyon durumuna göre biraz içeriye gömülmüş olabilmektedir. Kesitlerde *Liorchis tip* (Şekil 30a) olarak saptanmıştır. Farinkste orta ve dış sirküler kas birimleri iyi gelişmiş olup orta sirküler birimler özellikle posterior yarımda, dış sirküler birimler ise boylu boyunca net olarak görülmüştür. Farinksin içerisinde lümene doğru uzamış çok sayıda papil mevcuttur. Papillerin farinksin ön yarımı veya ön 1/3'ünde yerleştiği ve uzunluklarının 10-100 µm arasında değiştiği gözlenmiştir (Şekil 30b).



Şekil 30. a) *Paramphistomum cervi*'nin *Liorchis* tip yutağı b) *Liorchis* tip yutakta papillerin görünümü

Genital delik *Gracile* tip olup özofagusun ikiye ayrıldığı yerin biraz gerisinde yerleşmiştir (Şekil 31).

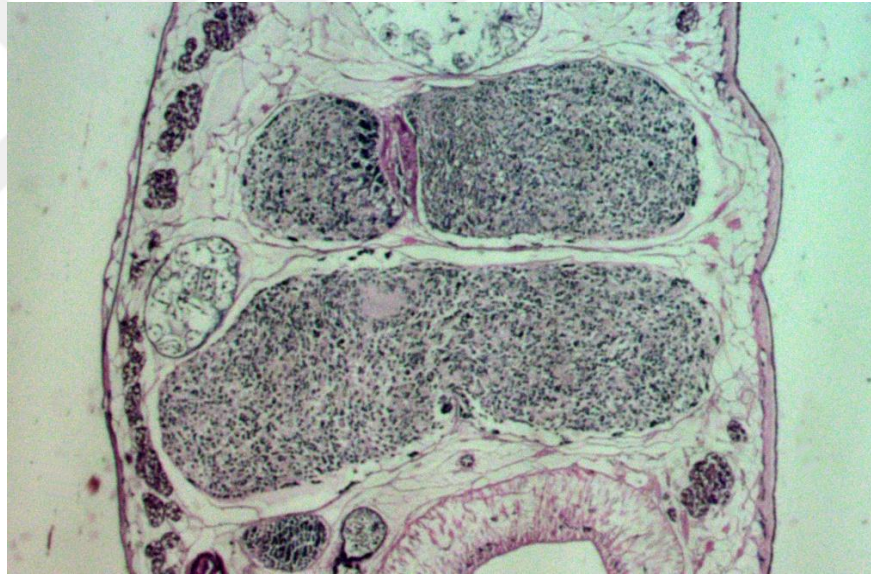


Şekil 31. *Paramphistomum cervi*'nin *Gracile* tip genital deliği

Asetabulum subterminal yerleşimli olup *Paramphistomum* tip'tir (Şekil 32). Testisler vücudun orta 1/3'ünde tandem pozisyonda yerleşmiş ve *C. daubneyi*'ye göre daha az ve yüzeysel loplanma gösterdiği için neredeyse tek veya iki lobluymuş gibi gözlenmiştir (Şekil 33).



Şekil 32. *Paramphistomum cervi*'nin *Paramphistomum* tip asetabulumu.



Şekil 33. *Paramphistomum cervi*'nin testislerinin görünümü

Calicophoron daubneyi olarak teşhis edilmiş örneklerde de farinks armut şeklinde olup parazitin ön ucunda yerleşmiştir, fakat fiksasyon durumuna göre biraz içeriye doğru gömülmüş olabilir. Enine kesitlerde *Calicophoron* tip olup içerisinde lümenine doğru uzanan papillere rastlanmamıştır. İç sirküler kas birimleri küçük fakat belirgin, orta sirküler birimler çok zayıf, dış sirküler birimler ise oldukça kuvvetli ve basal sirküler birimler iki sıra halinde teşekkül etmiştir. Özofagus kassal duvarı tüm uzunluğu boyunca yeknesak olup orta kalınlıktadır (Şekil 34-35a,b).

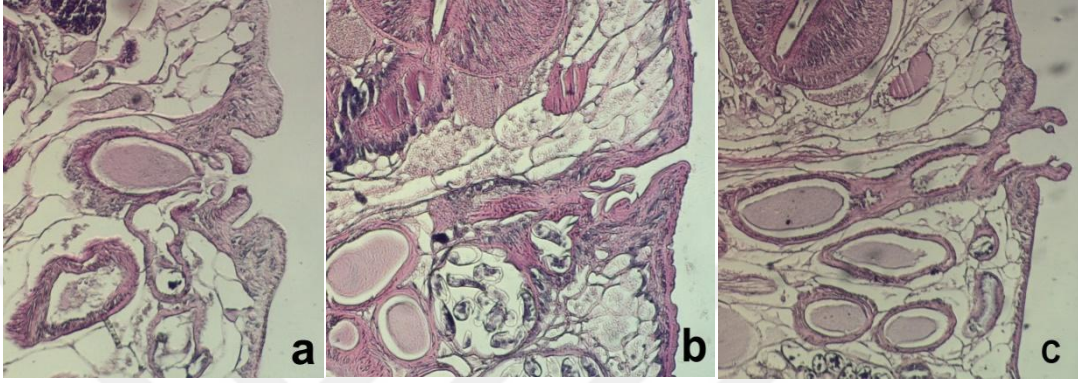


Şekil 34. *Calicophoron daubneyi*'nin *Calicophoron* tip farinksi ve özofagusu



Şekil 35. *Calicophoron daubneyi*'nin *Calicophoron* tip farinksinin a) tümü, b) sol yarımını

Genital delik özofagusun ikiye ayrıldığı yerin biraz gerisinde yerleşmiş olup *Microbothrium* tiptir (Şekil 36a,b,c). Vitellojen bezler vücudun ön ve arka ucunda birleşmez ve arkada asetabulum hizasına kadar devam ederler. Sekumlar vücut uzunluğu boyunca 6-7 kıvrım yaparak kör uçları ventrale dönük şekilde asetabulum hizasını biraz geçerek sonlanırlar.



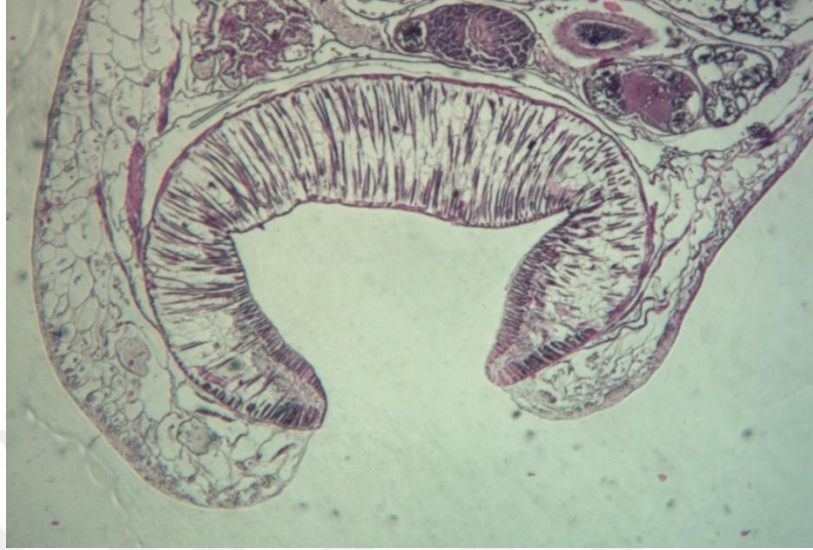
Şekil 36. *Calicophoron daubneyi*'nin *Microbothrium* tip genital atriumunun genital papillanın farklı kontraksiyon derecelerindeki görünüşü **a)** genital papilla geri çekilmiş **b,c)** genital papilla papilla ileride



Şekil 37: *Calicophoron daubneyi*'nin derin loblu, tandem pozisyondaki testisleri

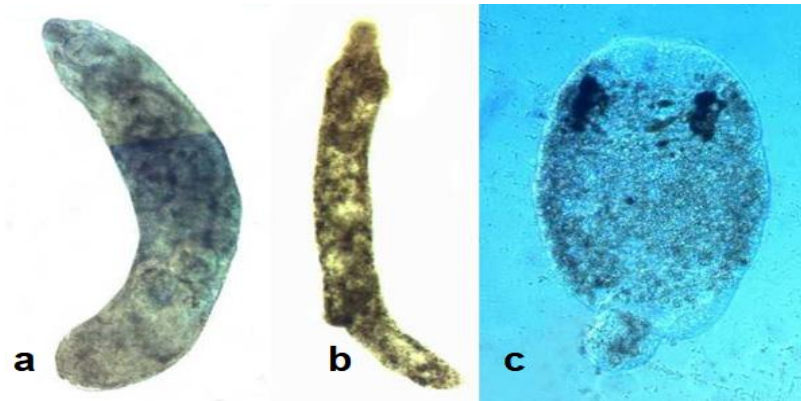
Testislerin vücudun arka 1/2 veya arka 2/3'ünde yerleşmiş olup arka arkaya (tandem) veya oblik-tandem pozisyondadır. Testislerin çok sayıda derin loplara sahip olduğu gözlenmiş ve bu nedenle de çok parçalıymış gibi görüntülenmiştir (Şekil 37). Vesicula seminalis ince duvarlı ve kıvrımlı, pars musculosa iyi gelişmiş, kalın duvarlı

ve kıvrımlıdır. Asetabulum subterminal yerleşimli olup kesitlerde *Paramphistomum* tiptedir (Şekil 38).



Şekil 38. *Calicophoron daubneyi*'nin *Paramphistomum* tip asetabulumu

Paramphistomid türlerin olası arakonakları olma şüphesiyle sahadan toplanan 300 *Galba* spp., 200 *Physella* (*Physa*) spp. ve 50 *Planorbis* spp.'den oluşan toplam 550 sümüklü örneği stereo mikroskopta diseke edildiğinde sadece *Galba truncatula* olarak teşhis edilenlerde trematod gelişim şekillerine rastlanmıştır. İncelenen 300 *G. truncatula* örneğinin 19'unda sporocyst, redi, proserker gibi gelişim şekilleri saptanmıştır (Şekil 39a,b,c). Trematod larval formlarından tür bazında morfolojik tanı mümkün olmadığı için, 19 enfekte *G. truncatula*'dan elde edilen tüm gelişim şekillerine de moleküler analizler uygulanmıştır.

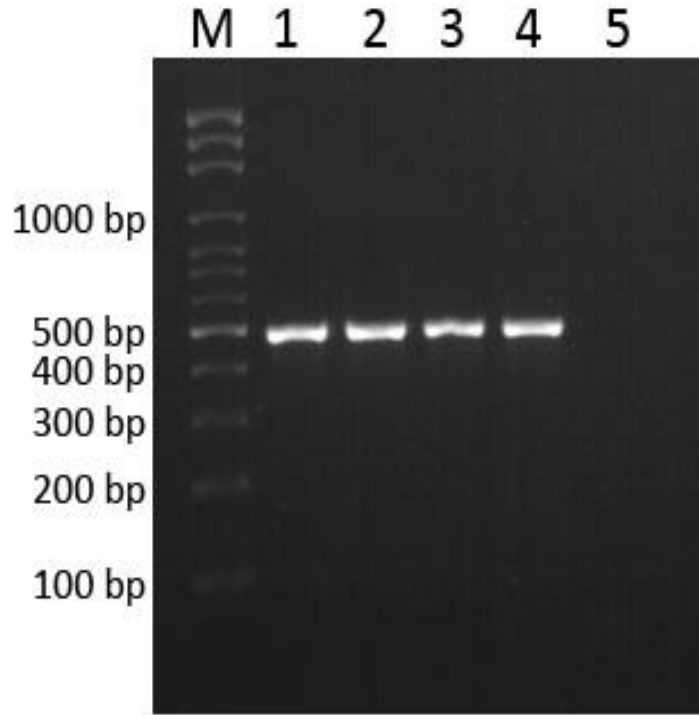


Şekil 39. *Galba truncatula*'larda saptanan *C. daubneyi*'ye ait gelişim şekilleri, a) sporocyst, b) redi, c) proserker

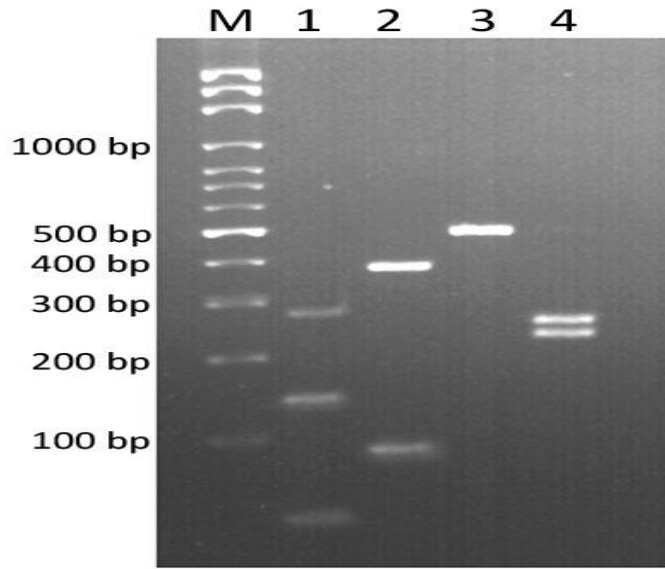
Ergin parazitlerin ve arakonaklardan elde edilen gelişim dönemlerinin ITS2+ rDNA gen bölgesinin PCR ile çoğaltılması sonucunda, incelenen örneklerde 500 bp'de bantlar gözlenmiştir (Şekil 40).

PCR ürünlerinin RFLP analizleri sonucunda ise MseI (Tru1I) enzimi ile kesimde 300 bp, 160 bp ve 40 bp'de üç fragment, HaeIII (BsuRI) enzimi ile kesimde 400 bp ve 100 bp'de iki fragment, Bsh1236I (BstUI) enzimi ile kesimde 260 bp ve 240 bp'de iki fragment gözlenmiştir. RsaI enziminin ise PCR ürününü herhangi bir yerden kesmediği gözlenmiştir (Şekil 41). ITS2+ rDNA gen bölgesinin endonükleaz enzimleri ile kesim şablonları *C. daubneyi* türü ile uyumlu bulunmuştur.

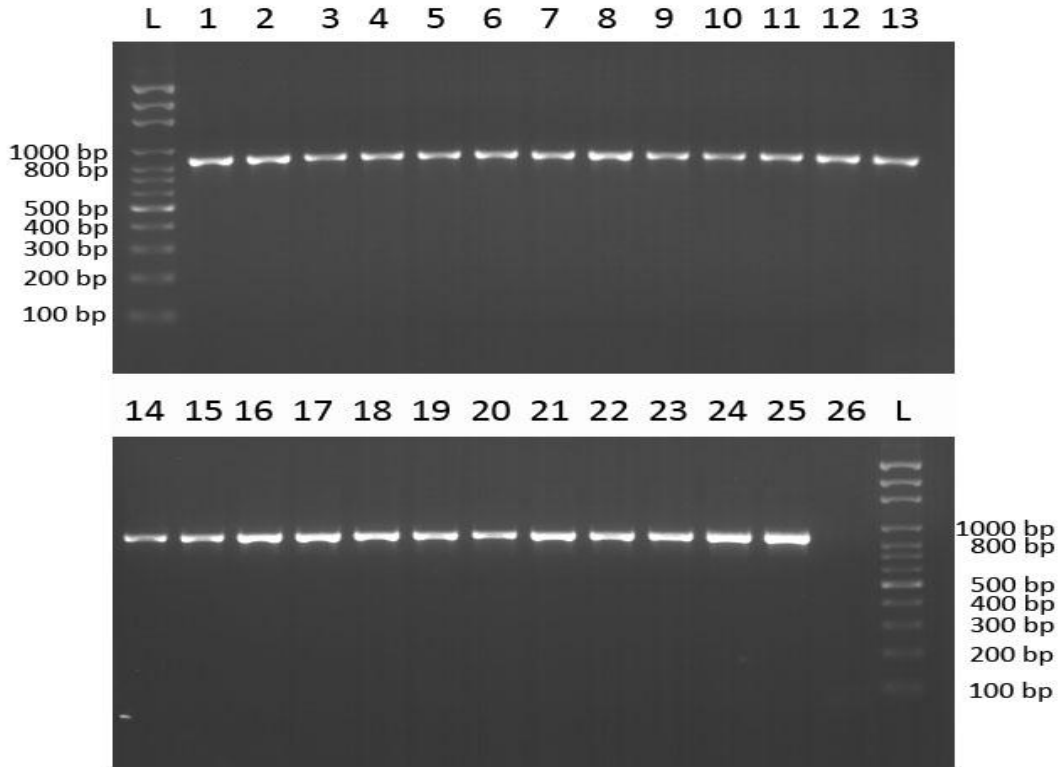
Ergin parazitlerin ve arakonaklardan elde edilen gelişim dönemlerinin mitokondriyal DNA (mtDNA)'nın parsiyal Cox1, tRNA-Thr (threonine)'nin tamamı ve parsiyal LrRNA (large ribosomal RNA subunit) gen bölgesinin PCR ile çoğaltılması sonucunda 885 bp'de bantlar gözlenmiş ve sekans analizi sonucu türün *C. daubneyi* olduğu anlaşılmıştır (Şekil 42-43).



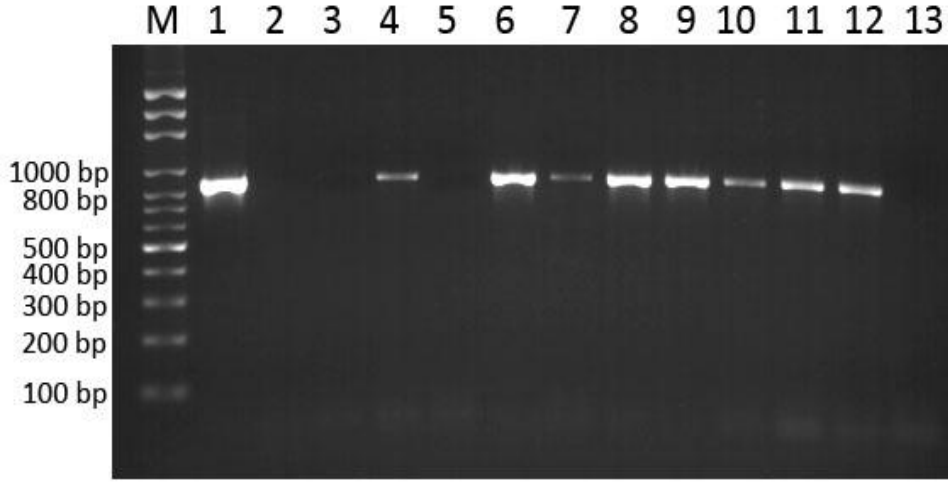
Şekil 40. Ergin parazitlerin ITS-2+ gen bölgesinin PCR ile çoğaltılması sonucu elde edilen bantlar (L: Ladder; 1-4: İzolatlar; 5: Negatif kontrol)



Şekil 41. *Calicophoron daubneyi* izolatından çoğaltılan ITS-2+ gen bölgesinin dört endonükleaz enzimi ile kesiminden sonrasında ait PCR-RFLP şablonları [M: Marker, 1: MseI (Tru1I), 2: HaeIII (BsuRI), 3: RsaI, 4: Bsh1236I (BstUI)]



Şekil 42. Ergin parazitlerin Cox1 gen bölgesinin PCR ile çoğaltılması sonucu elde edilen bantlar (L: Ladder; 1-25: Pozitif örnekler; 26: Negatif kontrol).



Şekil 43. Arakonaklardan elde edilen larva formlarının Cox1 gen bölgesinin çoğaltılması sonucu elde edilen bantlar (M: Marker; 1: Pozitif kontrol; 2,3,5: Negatif örnekler; 4,6-12: Pozitif örnekler; 13: Negatif kontrol)

Çalışmada paramphistomosis yönünden pozitif bulunmuş 45 mandadan elde edilen ergin örneklerin moleküler yöntemler kullanılarak yapılan incelemesinde örneklerin tamamı *C. daubneyi* olarak tespit edilmiş ve enfeksiyon oranı %32,37 olarak tespit edilmiştir. Bunun yanında incelenen 300 *G. truncatula* örneğinden larval formları barındıran 19 tanesinin PCR ile yapılan analizinde 12 örnekte *C. daubneyi* moleküler olarak teşhis edilmiştir. Sümüklülerde enfeksiyon oranı % 4 olarak tespit edilmiştir.

Gerek son konaklarda bulunan ergin parazitler, gerekse ara konaklarda bulunan larva türlerine ait DNA dizilimleri GenBank'a kayıt edilmiş ve sırasıyla MH939278 ve MH939279 erişim numaraları alınmıştır. İzolatlara ait sekans sonuçları Tablo 5 - 6' da verilmiştir.

Tablo 5: *Calicophoron daubneyi* ergin izolatu parsiyal Cox1, tRNA-Thr (threonine)'nin tamamı ve parsiyal LrRNA (large ribosomal RNA subunit) gen bölgesinin sekans sonucu

>MH939278.1 *Calicophoron daubneyi* voucher OMUPAR.31.17.01 cytochrome oxidase subunit I (cox1) gene, partial cds; tRNA-Thr gene, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

```
TTTGGTGCTTTTTTGTCTGGTGATTAGTGCTTTTTTTTTTGGTACTTATTTTGTGGGAGTCTTTGG
TTGTACATAATGTTGTAGTGGCTGCTTGGGGTAGTTCAAATGTTTCTTTGAAAGTTGTTGTGT
TACCTGTGCCTCAGCATGTTGTATATATGAGTGGTTCTGGTTCGTTGGTTTTAAGGGTGAGAGA
AAAGGTAGTTTAGGGGGTAGAATGTTGTTTTTGTAAAACAGAGGTGTTGTTGAGATTCTTTT
CATTAATAAGTTGAGGGACGGTTTTGTTGATTTTCTTGGGAATAGGGTGTGGTACCTTTTGCATC
ATGATTTCGCTGAGGTAGTGTTAAGAAGTTAGAGACTCGAAGGGTCACGATTATCATTCAATA
TGTTTTGGGACGTTATAGTTAGGTGGGTAATTTTCTAGATAGTTGTTTGAAGTGTGAAAAATA
ATTCGTGTGATCTAATAGCTAGTTGGGAAGGAGTTTTGTATGTTATGTTTTATTGCGAAGCGG
TGATAAAATAGTTAAGAAATAGGTTATGATGTGGTGAAGGACTTAAGGTCAGAGTTACCTTT
GGTTTAGTAGTATGTTATTATAAGTTGTTTGTAGTGTTATTGTTTTTAGTTGTGTACTTTCTTA
TATTAATTGGTTGATGATTAATGGTGAATAAGTAGAATTGGTAATACCTCCTTTTTTTCTCG
GTGCTTGTCTGGTCTGTTTTTCAAAAACATTTCCATTTGTGGTGGTTAAATGGTAGGACCTGCC
CTATGTTTGTATAAATGGCCGCAGTATATTGACTGTGCAAAGGTAGCATAATTAATTGTCTC
ATAATTAGGGAATTGTTTGAATGGTTGAACCA
```

Tablo 6: *Calicophoron daubneyi* larva izolatu parsiyal Cox1, tRNA-Thr (threonine)'nin tamamı ve parsiyal LrRNA (large ribosomal RNA subunit) gen bölgesinin sekans sonucu

>MH939279.1 *Calicophoron daubneyi* voucher OMUPAR.31.17.02 cytochrome oxidase subunit I (cox1) gene, partial cds; tRNA-Thr gene, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial

```
TCTTTTGGTGCTTTTTTGTCTGGTGATTAGTGCTTTTTTTTTTGGTACTTATTTTGTGGGAGTCTTT
GGTTGTACATAATGTTGTAGTGGCTGCTTGGGGTAGTTCAAATGTTTCTTTGAAAGTTGTTGT
GTTACCTGTGCCTCAGCATGTTGTATATATGAGTGGTTCTGGTTCGTTGGTTTTAAGGGTGAGA
GAAAAGGTAGTTTAGGGGGTAGAATGTTGTTTTTGTAAAACAGAGGTGTTGTTGAGATTCTT
TTCATTAATAAGTTGAGGGACGGTTTTGTTGATTTTCTTGGGAATAGGGTGTGGTACCTTTTGC
TCATGATTTCGCTGAGGTAGTGTTAAGAAGTTAGAGACTCGAAGGGTCACGATTATCATTCAA
TATGTTTTGGGACGTTATAGTTAGGTGGGTAATTTTCTAGATAGTTGTTTGAAGTGTGAAAAA
TAATTCGTGTGATCTAATAGCTAGTTGGGAAGGAGTTTTGTATGTTATGTTTTATTGCGAAGC
GGTGATAAAATAGTTAAGAAATAGGTTATGATGTGGTGAAGGACTTAAGGTCAGAGTTACC
TTTGGTTTAGTAGTATGTTATTATAAGTTGTTTGTAGTGTTATTGTTTTTAGTTGTGTACTTTT
TTATATTAATTGGTTGATGATTAATGGTGAATAAGTAGAATTGGTAATACCTCCTTTTTTTT
TCGGTGCCTGTCTGGTCTGTTTTTCAAAAACATTTCCATTTGTGGTGGTTAAATGGTAGGACCT
GCCCTATGTTTGTATAAATGGCCGCAGTATATTGACTGTGCAAAGGTAGCATAATTAATTGT
CTCATAATTAGGGAATTGTTTGAATGGTTGAACCA
```

Calicophoron daubneyi izolatlarından elde edilen dizilerin GenBank veri tabanında blastn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) analizi sonucu Şekil 45'te verilmiştir.

	Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
✓	Calicophoron daubneyi voucher OMUPAR.31.17.02 cytochrome oxidase subunit I (co	1568	1568	100%	0.0	100.00%	MH939279.1
✓	Calicophoron daubneyi voucher OMUPAR.31.17.01 cytochrome oxidase subunit I (co	1568	1568	100%	0.0	100.00%	MH939278.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate IE4 cytochrome oxidase subunit I (Cox1) gene. partial	1338	1338	85%	0.0	100.00%	KJ574049.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate D-Lg cytochrome c oxidase subunit 1 (cox1) gene. par	558	558	35%	1e-154	100.00%	KP979656.1
✓	Calicophoron daubneyi mitochondrial COX1 gene for cytochrome c oxidase subunit 1	1327	1327	85%	0.0	99.72%	LC278941.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate IE7 cytochrome oxidase subunit I (Cox1) gene. partial	1327	1327	85%	0.0	99.72%	KJ574052.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate IE3 cytochrome oxidase subunit I (Cox1) gene. partial	1327	1327	85%	0.0	99.72%	KJ574048.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate IE8 cytochrome oxidase subunit I (Cox1) gene. partial	1321	1321	85%	0.0	99.59%	KJ574053.1
✓	Calicophoron daubneyi mitochondrial COX1 gene for cytochrome c oxidase subunit 1	1321	1321	85%	0.0	99.59%	LC278942.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate IE11 cytochrome oxidase subunit I (Cox1) gene. partia	1315	1315	85%	0.0	99.45%	KJ574056.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate IE1 cytochrome oxidase subunit I (Cox1) gene. partial	1315	1315	85%	0.0	99.45%	KJ574046.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate IE12 cytochrome oxidase subunit I (Cox1) gene. partia	1310	1310	85%	0.0	99.31%	KJ574057.1
✓	Calicophoron daubneyi cytochrome oxidase subunit I (Cox1) gene. partial cds; tRNA-	1537	1537	100%	0.0	99.18%	JQ815200.1
✓	Calicophoron daubneyi mitochondrial COX1 gene for cytochrome c oxidase subunit 1	1306	1306	85%	0.0	99.17%	LC278943.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate IE15 cytochrome oxidase subunit I (Cox1) gene. partia	1293	1293	85%	0.0	98.90%	KJ574060.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate IE13 cytochrome oxidase subunit I (Cox1) gene. partia	1293	1293	85%	0.0	98.90%	KJ574058.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate IE5 cytochrome oxidase subunit I (Cox1) gene. partial	1293	1293	85%	0.0	98.90%	KJ574050.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate IE2 cytochrome oxidase subunit I (Cox1) gene. partial	1293	1293	85%	0.0	98.90%	KJ574047.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate IE6 cytochrome oxidase subunit I (Cox1) gene. partial	1288	1288	85%	0.0	98.76%	KJ574051.1
✓	Calicophoron daubneyi mitochondrial COX1 gene for cytochrome c oxidase subunit 1	1288	1288	85%	0.0	98.76%	LC278940.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate PMB2c cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene. con	813	813	53%	0.0	98.69%	KT182248.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate Newcastle4d cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gen	813	813	53%	0.0	98.69%	KT182244.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate Kokstad2d cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene.	813	813	53%	0.0	98.69%	KT182225.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate Kokstad2b cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene.	813	813	53%	0.0	98.69%	KT182223.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate Hluhluwe2b cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene	813	813	53%	0.0	98.69%	KT182220.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate Hluhluwe2a cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene	813	813	53%	0.0	98.69%	KT182219.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate Glencoe2e cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene.	813	813	53%	0.0	98.69%	KT182218.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate Glencoe2d cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene.	813	813	53%	0.0	98.69%	KT182217.1
✓	Calicophoron daubneyi isolate Glencoe2b cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene.	813	813	53%	0.0	98.69%	KT182216.1

Şekil 44: *Calicophoron daubneyi* izolatlarından elde edilen dizilerin blastn analizi sonucu

5. TARTIŞMA

Son yıllarda, ekonomik refahın artması, toplum bilincinin gelişmesi ve sağlıklı beslenmeye olan ilgi artışı nedeniyle doğal ve yerel ürünler tercih edilmeye başlanmıştır. Bu bağlamda manda, sütü ve süt ürünlerine olan ilgi artmıştır (Atasever ve Erdem, 2008). Mandalar verimleri düşük olmakla birlikte genellikle çobana gereksinim duymadan ve özgürce otladığı için yetiştirilmesi kolay ve maliyeti ucuzdur. Bu nedenle uygun bir bölge olan Kızılırmak Deltası'nda manda yetiştiriciliği tercih edilmektedir.

Mandalar, dayanıklı hayvanlar olarak bilinsede, verim düşüklüğü ve ölümlere neden olan birçok hastalığa yakalanmaktadırlar. Bunlar arasında paraziter hastalıklar çoğunlukla subklinik seyrettiğinden gözden kaçmakta ve bazen ölüme varan sorunlara yol açmaktadır. Bataklık ve sulak alanlarda yaşayan hayvanlarda görülen en önemli paraziter hastalıkların başında arakonak sümüklüleri ile bulaşan paraziter hastalıklar gelmektedir (Ojeda-Robertos ve ark., 2017).

Paramphistomosis (amphistomosis) otçul hayvanlarda çoğu kez önemsenmeyen, ancak ciddi verim kayıpları ve bazen ölümlere yol açan paraziter hastalıklardan birisidir. Parazitlerin vücut içinde yaşaması, ateşe yol açmaması ve klinik belirtilerin hafif ishale başlaması nedeniyle hastalığın başlangıç aşamasında gözden kaçmakta, bu nedenle bazen ağır klinik tabloya ve ölüme neden olmaktadır (Balachandran ve ark., 2010; Tınar, 2011).

Rumene yerleşen ergin parazitlerin patojenitesi gençlere göre daha hafiftir. Ancak ağır enfeksiyonlarda rumen papillalarını tahrip ederek sindirim bozuklukları ve çeşitli verim kayıplarına yol açmaktadır (Tınar, 2011; Zintl ve ark, 2015). Gençler ise çok daha patojen olup duodenuma yerleşerek duodenum mukozasını yıkmalar; kanama, kalınlaşma, villöz atrofi ve ülserlere neden olur; gıda emilimini engeller, bağırsak peristaltliğini artırır ve şiddetli ishale, ciddi verim kayıplarına ve sıklıkla ölüme neden olur. Ağır enfeksiyonlar ve ölümler özellikle genç hayvanlarda yaygındır (Coşkun, 1987; Coşkun, 1988a; Mavenyengwa ve ark., 2005; González-Warleta ve ark., 2013). Ancak daha önce hastalıkla karşılaşmamış yaşlı hayvanlar, aynen gençlerde olduğu gibi hastalığa duyarlıdır. Kısa zamanda 2000-5000 metaserker alınması hayvanlarda ölüme neden olabilmektedir (Sanabria ve Romero, 2008).

Hastalık tropik ve subtropik iklime sahip bölgeler başta olmak üzere dünyanın her yerinde görülmektedir (Choudhary ve ark, 2015). Hastalığın yayılması ve meraların bulaştırılmasında yağış ve nem (Rangel-Ruiz ve ark., 2003) ile yaşlı hayvanlar önemli rol oynamakta ve enfekte hayvanlar tedavi edilmediği takdirde dokuz yıl boyunca merayı bulaştırmaktadır (González-Warleta ve ark., 2013).

Paramphistomosisin yayılışı hayvan türüne, ülkeden ülkeye, hatta aynı ülkede bölgelere, çiftliklere ve mevsimlere göre bile değişmektedir. Nitekim Meksika'da sığırlarda ortalama yayılışı oranı %39,1 iken, farklı yöreler ve farklı mevsimlere göre %3,3 ile %96,7 arasında değiştiği kaydedilmiştir (Rangel-Ruiz ve ark., 2003). İspanya'da sığırlarda ortalama %18,8 olarak belirlenmiş, ancak etçi sığırlarda yayılış oranının sütçü sığırlardan (ortalama %13,9) daha yüksek olduğu ve yaklaşık %30'a ulaştığı kaydedilmiştir. Enfekte hayvanlarda ortalama parazit sayısı 266 olarak saptanırken, bazı hayvanlarda bu rakamın 11.895'e ulaştığı kaydedilmiştir (González-Warleta ve ark., 2013). Hastalığın yayılışı Hollanda'da mezbahada kesilen sığırlarda %23,3 ve koyunlarda %4,9 olarak bulunmuştur (Ankum, 2015). Kısmen soğuk iklime sahip İrlanda'da bile 2004-2013 yılları arasında yayılışı sığırlarda %3-32, koyunlarda ise %50 'ye ulaşmıştır (Zintl ve ark, 2014). Pakistan'da yayılışın ortalama %22 olduğu, koyunlarda %28,6; keçilerde %23,8; sığırlarda %17,6 ve mandalarda ise %20 olduğu, hayvanlar arasındaki yayılış farkının istatistiki açıdan önemli olmadığı belirtilmiştir (Raza ve ark., 2009). İran'da sığırlarda %36,9 oranında saptanmıştır (Khedri ve ark., 2015). Yağışlı iklime sahip Kamboçya'da dışkı bakısına göre sığırlarda %45-95 arasında değişmektedir (Dorny ve ark., 2011).

Ülkemizde paramphistomosis ile ilgili araştırma sayısı sınırlıdır (Coşkun, 1987; 1988a; Celep ve ark, 1995; Çetindağ ve Doğanay, 1996; Değer ve Ayhan, 2011; Gıcık ve ark., 2003; Özdal ve ark, 2010; Acıöz ve ark, 2016;). Hastalığın yayılışı yörelere göre değişmekle birlikte, ekonomik açıdan azımsanmayacak düzeydedir (Özdal ve ark, 2010). Türkiye'de yapılan ilk çalışmalarda rastlanan parazitler teşhis amacıyla yurtdışı merkezlere gönderilmiş, gelen cevaplarda *Paramphistomum clavula*, *P. cervi*, *P. epiclitum*, *P. leydeni*, *P. microbothrium* ve *Calicophoron daubneyi* teşhisi konulmuştur (Eduardo, 1980; Güralp, 1981; Coşkun, 1988b). Bununla birlikte daha sonra yapılan çalışmalarda ülkemizde yalnızca *Paramphistomum cervi*, *P. ichikawai* ve *Calicophoron daubneyi* bulunduğu belirtilmiş, diğer türlerin yanlış teşhis edilmiş

olabileceği öne sürülmüş (Coşkun, 1988b) ve mandalarda yaygın olan türün *C. daubneyi* olduğu kaydedilmiştir (Çetindağ ve Doğanay, 1996).

Ülkemizde paramphistomosisle ilgili yapılan çalışmaların çoğunluğu sığır ve koyunlarla ilgili olup mandalarla ilgili yurtdışı merkezlere gönderilen numuneler hariç tutulursa, yalnızca iki çalışma mevcuttur. Çalışmaların biri dışkı bakısı, diğeri ise kesim sonrası organ incelenmesine dayanmaktadır. Dışkı bakısı ile yapılan çalışmalar prepatent dönem içerisinde gelişmekte olan parazitlerin durumunu göstermediğinden, yayılış oranları nekropsi çalışmalarından daha düşük görünmektedir. Özellikle parazit sayısı düşük olduğunda dışkıda yumurtaya rastlama olasılığı iyice azalmaktadır (Rieu ve ark, 2007). Nitekim Çetindağ ve Doğanay (1996), dışkı bakısında hayvanların %39'unun sindirim sistemi parazitleriyle enfekte olduğunu belirlemişler, ancak aynı hayvanlara nekropsi yapıldığında enfeksiyon oranı iki kat yüksek bulunmuş ve %78 olarak saptamışlardır. Bu nedenle araştırmalarda doğru sonuç alabilmek için nekropsi yöntemi tercih edilmeli veya her iki yöntem birlikte uygulanmalıdır. Bununla birlikte eğer hayvanda 100'den fazla ergin parazit varsa dışkı muayenesi ve dışkıda yumurta sayımı, hayvanın parazit yükü ve tedavi seçeneği hakkında fikir verebilmektedir (Rieu ve ark., 2007).

Ülkemizde paramphistomosis ile ilgili dışkı bakısı ve nekropsi yöntemleriyle yapılan çalışmalarda yayılış yöreye ve yıllara göre sığırlarda %1,75-79,34; koyunlarda %1,64-80,76; keçilerde %1,0-10,0 arasında değişmektedir (Güralp ve Oğuz, 1967; Coşkun,1988a; Umur, 1991; Tınar ve ark, 1992; Celep ve ark., 1994; Öncel, 2000; Yıldırım ve ark., 2000; Değer ve Biçek, 2005; Kırçalı-Sevimli ve ark., 2005; Gönenci ve Yıldırım, 2008; Kara ve ark., 2009; Özdal ve ark. 2010; Avcıoğlu ve Güven, 2011; Değer ve Ayhan, 2011; Kozan, 2014; Acıöz ve ark., 2016).

Türkiye'de mandalarda paramphistomosisin yayılışıyla ilgili yalnız üç araştırma ve dört kaynak mevcut olup ülkemizde yayılış %0,19-93,75 arasında değişmektedir (Güralp, 1981; Tınar ve ark. 1992; Çetindağ ve Doğanay, 1996; Güzel, 2012).

Samsun yöresinde tek araştırma mevcut olup bu çalışmada (Çetindağ ve Doğanay, 1996) 100 manda sindirim sistemi parazitleri yönünden kontrol edilerek *C. daubneyi*'nin yayılışı %31 olarak bulunmuş, bir hayvandaki parazit sayısı ortalama 288,1 (28-2070) olarak belirlenmiştir. Bunun yanında 1990 yılında Celep ve ark. (1990)

tarafından Samsun yöresinde sığırlarda yapılan başka bir çalışmada 142 hayvan incelenmiş, genel enfeksiyon oranı %40,1 belirlenmiş ve etken türlerin %0,7'si *P. cervi* geriye kalan %39,4' ü *C. daubneyi* olarak saptanmıştır.

Paramphistomid türlerin kısa, kalın ve etli yapıda olmaları ve iç organlarının saydamlaştırılınca bile iyi görülmemesi nedeniyle tür teşhisleri çok zordur. Bu sorunu çözebilmek için birçok teknik geliştirilmiştir. Birisi parazitlerin iki lam arasına koyarak yassılaştırıp boyama esasına dayanan metot olup, tür düzeyinde doğru teşhis için tek başına, fazla güvenilir yöntem olarak kabul edilmemektedir (Eduardo, 1980). Parazitlere uzunlamasına histolojik kesitler yapıp boyanarak ağız, farinks, genital delik ve asetabulum yapılarının mikroskopik olarak incelenmesi yöntemi ise çok uzun süreli laboratuvar çalışması ve ciddi bir deneyim gerektirdiği için pratik değildir ve yanlış teşhislere açıktır (Eduardo, 1987; Sanabria ve ark., 2009).

Günümüzde yapılan bazı çalışmalarda benzer hataların yapıldığı ve yine yanlış teşhis ya da isimlendirme yapıldığı görülmektedir. Örneğin İskenderun mezbahasında yapılan çalışmada Gönenci ve Yıldırım, (2008) rumende görülen paramphistomid erginler, morfolojik veya moleküler herhangi bir teşhis yöntemine başvurulmadan direkt olarak *P. cervi* olarak adlandırılmıştır. Keza Founta ve ark. (2018) Kuzey Yunanistan'da mandalardan alınan dışkı örneklerini Teleman yöntemiyle muayene ederek herhangi bir moleküler yöntemle başvurmaksızın etkeni *Paramphistomum cervi* olarak bildirmişlerdir. Bu durum ülkemizde ve dünyada geçmiş yıllarda yapılan çalışmalarda etken tür olarak genellikle *P. cervi* yazılması ve bu kullanımın yaygınlaşması ya da yerleşmiş olmasından kaynaklanmaktadır.

Eduardo (1987) dünyanın farklı bölgelerinden eski ve yakın zamanda toplanmış örnekleri yeniden incelediği çalışmasında *P. cervi*'nin aslında daha dar bir yayılımı olduğunu ve sadece bazı Avrupa ülkelerindeki koleksiyonlarda teşhis edilebildiğini, *E. explanatum*'un Afrika'daki ve *Cotylophoron* türlerinin Avustralya ve eski Sovyetler Birliği'ni de kapsayan Avrupa'daki bildirimlerinin yanlış teşhisle ilgili olduğunu bildirmiştir. Keza Sanabria ve ark. (2009) Arjantin'de önceden *C. cotylophrum* olarak tanımlanan örnekleri histolojik yöntemle muayene ederek *P. leydeni* olarak yeniden tanımlamıştır. Bu nedenlerle PCR temelli teknikler geliştirilmiş ve bu amaçla birçok dijenik trematodun teşhisinde kullanılabilen rDNA ITS2 gen bölgesini çoğaltan primerler kullanılarak Paramphistomid türler moleküler olarak teşhis

edilmeye başlanmıştır (Lotfy ve ark., 2010). Son yapılan çalışmalarda, türlerin teşhisi için direkt boyama, kesit boyama, taramalı elektron mikroskopik inceleme ve moleküler teknikler ayrı ayrı veya birkaçı birlikte kullanılmaktadır (Panyarachun ve ark., 2013; Ferreras ve ark., 2014; Zintl ve ark., 2014; Yang ve ark., 2015).

Bu çalışmada parazitler hem iki lamel arasında inceltip boyanmış, hem histolojik kesit yapılmış, hem de moleküler metotlar uygulanmıştır.

Parazitlerin iki lam, lamel veya trişinoskop arasında sıkıştırılarak tespit edilmesi ve akabinde boyanması tür teşhisi için yeterli bulunmamıştır. Bu yöntemin tür teşhisi için çok kullanışlı ve güvenilir olmayacağı fakat diğer özelliklerle birlikte sekumların vücudun yan taraflarındaki uzanımı, testislerdeki loblanma, vitellojen bezlerin vücudun ön ver arkasındaki birleşme durumları ve parazitin pozisyonu doğru ayarlanıp boyama iyi yapılırsa ve farinks çok net olarak görülebilirse, *Liorchis* tip farinks gibi taksomik değer taşıyan özelliklerin tespit edilebileceği değerlendirilmektedir. Ayrıca ülkemizde varlığı bildirilmemekle birlikte taksonomik değer taşıyan diğer özelliklerle beraber değerlendirildiğinde testislerin asetabulumun hemen önünde yan yana veya hafif antero dorsal yerleştiği Gastrothylacidae ailesindeki türlerin Paramphistomidae ailesindekilerden ayrılmasında faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Örneklerin histomorfolojik muayeneleri neticesinde *P. cervi* olarak teşhis edilenlerde yutak *Liorchis* tip, terminal genityum *Gracile* tip, asetabulum *Paramphistomum* tip ve testis loblanması yüzeysel olarak belirlenmiştir. *Paramphistomum* cinsinde bulunan ve kassal organların histomorfolojik profili aynı veya benzer olan *P. epiclitum*, *P. gracile* ve *P. ichikawai*'de yutak *Calicophoron* tip olup iç yüzeyde papiller mevcut bulunmamaktadır. Keza *P. epiclitum* ve *P. ichikawai*'nin terminal genityum tipleri sırasıyla *Epiclitum* ve *Pisum* tipleridir. *Paramphistomum epiclitum* ve *P. gracile*'de testisler, testis loblanmasını önemli bir taksonomik özellik olarak kabul eden Eduardo (1980a; 1982) tarafından derin loblanmış olarak bildirilmiştir. Aynı şekilde *P. ichikawai*'de vitellojen bezlerin anterior uçta birleştiği ve bunun da Eduardo (1980a) tarafından tür düzeyinde önemli bir taksonomik özellik olduğu bildirilmiştir. Sey (1976) tarafından arakonak spektrumunun kesin konak spektrumundan daha dar olduğu, parazitin türüne göre değişmekle birlikte 2 veya daha fazla aileye ait arakonak kullanan bir türün bilinmediği ve arakonak özgüllüğünün değişmeyen bir özellik olduğu bildirilmiştir. *P. epiclitum*'un arakonağının monotipik

bir tür olan ve ülkemizde varlığı bildirilmeyen *Indoplanorbis exustus* olduğu bilinmektedir. *Liorchis* tip yutağa ve *Paramphistomum* tip asetabulumu sahip türlerden *P. hibernia*'da testis boyutlarının oldukça küçük olduğu ve derin loblandığı, genital deliğin *Leydeni* tip olduğu ve vitellojen bezlerin anteriorda birleştiği (Eduardo, 1980a; 1982) bildirilmiştir. Yutak ve asetabulumu aynı tip ve testis özellikleri *P. cervi*' ye benzeyen *P. leydeni* ise genital papillası kalın ve genital kıvrımı iyi gelişmiş bir tip olan *Leydeni* tip terminal genitalyuma sahiptir. Yüzey papilları varlığı açısından ön yarımında bu papillalara sahip olan *P. leydeni* ile yüzey papillalarına sahip olamayan *P. cervi* arasında farklar olduğu bildirilmekle (Eduardo, 1980a; 982) birlikte bu çalışmada yüzey papillaları ile ilgili TEM (taramalı elektron mikroskobu) kullanarak fotoğraflama yapılmamıştır. Yine testis loblanmasına taksonomik bir değer atfeden Eduardo (1980a; 1982) çizimlerinde *P. leydeni*' nin testislerini *P. cervi*'ye göre daha derin loblu olarak göstermiştir. Nikander ve Saari (2007) ren geyiklerinde *P. leydeni*'deki mevsimsel değişimleri inceledikleri çalışmalarında testis morfolojisinde de mevsimsel varyasyon görüldüğünden bahsetmiştir. *P. leydeni* testislerinin loblu olduğu, kışın testislerin çok küçük olduğu ve kalın ve katlı bir kapsüle ile sarıldığı, yazın ise daha büyük oldukları ve bazen güçlü septumlarla ayrı loblara bölündükleri kaydedilmiştir. Varlığı sadece Amerika kıtasında ve geyiklerde bildirilen (Eduardo, 1987; Bouvry ve Rau, 1984; Kennedy ve ark., 1985) *P. liorchis* de *Liorchis* tip yutak ve *Paramphistomum* tip asetabulumu sahipken kısa bir genital papilla ve zayıf ama fark edilebilir bir büzücü papilla ile *Liorchis* tip terminal genitalyuma sahiptir. Ayrıca Eduardo (1980a; 1982) tarafından testisleri tamamen lobsuz ve yuvarlak olarak bildirilmiştir. Sadece Amerika kıtasında bulunması arakonak özgüllüğünü, sadece geyiklerde bulunması kesin konak özgüllüğünü akla getirmektedir. Çünkü arakonakların sadece o kıtada bulunduğu düşünülse de farklı türden ruminantlar Amerika'da da bulunmaktadır, fakat parazit onlarda şimdiye kadar bildirilmemiştir. *Paramphistomum gotoi*, *Liorchis* tip yutak, *Paramphistomum* tip asetabulum ve *Gracile* tip terminal genitalyum ile kassal organların histomorfojik yapısı açısından *P. cervi* ile birebir aynı özellikleri sergilemektedir ve yakın komşularımız Romanya (Sey, 1980) ve İran'da (Eslami ve ark.,2011; Coşkun ve ark., 2012) sığırlarda ve Sey (1977) tarafından Mısır'da mandalarda (Eduardo, 1987) varlığı bildirilmiştir. Sey tarafından (1980; 1982) yutakta daha büyük papillerin varlığıyla, Eduardo tarafından (1980a; 1982) testislerinin derin

loblu olmasıyla *P. cervi*'den ayrıldığı bildirilmiştir. Çalışmada *P. cervi* olarak teşhis edilen 3 örneğinden ikisinde papillalar Sey (1980) tarafından hazırlanan anahtarda *P. gotoi* için verilen 65-70 µm boyutunun altında ölçülürken, bir örnekte 100 µm'ye kadar papillere rastlanmıştır. Fakat bu örnekte de papiller, Sey (1980), Sey ve Eslami (1982) ile Eslami ve ark. (2011)'nin *P. gotoi* olarak verdiği fotoğraflarda görünenden farklı olarak, küçük ve büyük papiller karışık değil, büyük ve bir örnek yapıda gözlenmiştir. Üç örneğin tamamında testis morfolojisi Eduardo'nun (1980a; 1982) *P. cervi* için bildirdiği gibi yüzeysel lobludur.

Histomorfolojik olarak *C. daubneyi* olarak teşhis edilen örnekler moleküler olarak da doğrulanmıştır. Çalışmada *C. daubneyi*'nin *Calicophoron* tip yutak, *Paramphistomum* tip asetabulum ve *Microbothrium* tip terminal genityuma sahip olduğu tespit edilmiştir. *Calicophoron daubneyi*'nin *Calicophoron* cinsi içinde kassal organların histomorfolojisi açısından benzer profil gösteren diğer türlerle mukayesesinde özellikle *Microbothrium* tip terminal genityuma dikkat edilmiştir. Bu tip genital yapıya sahip türlerden *C. sukumum* ve *C. microbothrioides*, d.e.s.2 üniteleri düzensiz ve d.e.s.1'lerden sayıca az olan *Pisum* tip asetabulumuna sahiptir. Ek olarak *C. microbothrioides*'in testis loblanmasının orta seviyede olduğu ve özofagus posterior yarımında musküler bulbus bulunduğu da yine Eduardo (1980a; 1983) tarafından bildirilmiştir. Bununla birlikte bu türün A.B.D.'den ithal edilen Holstein sığırlar nedeniyle Avrupa'da varlığı bildirilmiş ve arakonak olarak *G. truncatula* kullanılarak yaşam çemberi kuzularda tamamlanmış ve histolojik muayeneyle *C. microbothrioides* olduğu tespit edilmiştir (Sey, 1980). *Calicophoron sukari* ise *Calicophoron* tip bir asetabulum, posterior yarımında silyumlu epitelyum bulunan özofagusa, görece büyük testislere sahiptir (Eduardo 1980a; 1983) ve tek arakonağı Afrika'ya özgü bir sümüklü olan *Biomphalaria pfeifferi*'dir (Sey, 1976; Pfukenyi ve Mukaratirwa, 2018). Varlığı sadece Afrika kıtası'nda bildirilen (Eduardo, 1987) *C. phillerouxi*, *Calicophoron* tip yutak, *Paramphistomum* tip asetabulum ve *Microbothrium* tip terminal genityuma sahip olmakla birlikte arakonağı ülkemizde bulunmayan *Bulinus forskalii*'dir (Pfukenyi ve Mukaratirwa, 2018). Ülkemizde *Bulinus* cinsinden yalnızca *B. truncatus* çeşitli araştırmacılar tarafından sadece Güneydoğu Anadolu bölgesinde bildirilmiştir (Yıldırım ve ark., 2006). *C. daubneyi* ile aynı kassal organ tiplerine sahip olan türlerden biri olan *C. microbothrium*'un da arakonaklarından biri bu sümüklüdür. *C. microbothrium*

arakonak olarak Bulinid sümüklüleri kullanmaktadır ve Dinnik'in (1962) *C. microbothrium* mirasidyumlarıyla *G. truncatula*'ları enfekte etme denemeleri başarısızlıkla sonuçlanmıştır (Sey, 1976). Bu yüzden Sey (1980), Avrupa'da daha önce *C. microbothrium* olarak yapılan bildirimlerin yanlış yorumlamadan kaynaklanabileceğini ve sadece arakonak Bulinid türlerin bulunduğu bazı güney Avrupa ülkelerindeki bildirimlerin doğru kabul edilebileceğini bildirmiştir. Ayrıca Sey (1980) *C. microbothrium*'un *Microbothrium* tip genital atriumunun sirküler muskületürünün daha kuvvetli teşekkül ettiğini ve sekumların kör uçlarının *C. microbothrium*'da dorsale, *C. daubneyi*'de laterale dönük olduğunu, Eduardo (1980a; 1983) ise *C. microbothrium*'da dorsomediale, *C. daubneyi*'de ventrale dönük olduğunu bildirmiştir.

Diğer karakterlerle birlikte asetabulum ve yutağın büyüklükleri cins seviyesinde birer karakter olarak değerlendirilerek *Gigantocotyle*, *Explanatum* ve *Macropharynx* cinslerinin oluşturulmasında temel alınmıştır. Eduardo (1980a), *Gigantocotyle* ve *Explanatum* cinslerinde asetabulumun karakteristik olarak daha büyük ve belirgin olduğunu ve bu ikisinin diğer cinslerden bu karakter vasıtasıyla ayrılabilirdiğini göstermiştir. Yine bazı türlerin tanımlanması ve çok yakın olan diğerlerinden ayrılması, temel olarak vücut büyüklüğüne bağlı olarak bildirilmiştir. Bununla birlikte vücut büyüklüğünün ve buna bağlı olarak vücut genişliğinin aynı tür içerisinde bile yaş, enfeksiyon yoğunluğu, konaktaki tutunma bölgesi, konak türü ve hatta aynı yaş grubundaki türler arasındaki farklı büyüme oranları gibi faktörlere bağlı olarak büyük farklar gösterebildiği unutulmamalıdır (Eduardo, 1980a). Özetle vücut şekli ve büyüklüğü gibi morfolojik karakterlerden faydalanılarak tür düzeyinde ayrımların yapılamayacağı değerlendirilmektedir. Çalışmada numunelerin makroskopik muayenesinde yutak veya asetabulum gibi kassal organların büyüklükleriyle ayırt edilebildiği örneğe rastlanmamıştır.

Yine karaciğer, safra kesesi ve safra yollarında yerleşen *Explanatum* cinsindeki türler farklı habitatları nedeniyle diğer cinslerden ayırt edilebilirler. Fakat bu çalışmada parazitlere sadece ön midelerde rastlanmış, karaciğer, safra kesesi ve yollarında Amphistomid türlere rastlanmamıştır.

Ülkemizde daha önceden Paramphistomidae ailesinden *P. cervi*, *P. ichikawai* ve *C. daubneyi* olmak üzere 3 türün varlığı bildirilmiştir (Coşkun, 1987; Coşkun, 1988a; Coşkun, 1988b; Çetindağ ve Doğanay, 1996; Celep ve ark., 1990). Önceleri

Calicophoron cinsindeki türler önceleri *Paramphistomum* cinsi içerisinde kabul edilirken Naesmark (1937) tarafından *Calicophoron* cinsi oluşturulmuştur. Bu iki cinsin ayrımı ise pars musculosanın gelişme derecesine göre yapılmakta, pars muscosa kalın duvarlı, iyi gelişmiş ve kıvrımlı ise *Calicophoron*, kısa ve zayıf gelişmişse *Paramphistomum* cinsi olarak tanımlanmaktadır. Çalışmada histolojik kesit olarak yapılan muayenede 3 adet hayvanın *C. daubneyi* ve *P. cervi* ile miks enfekte olduğu tespit edilmiştir. *Paramphistomum* ve *Calicophoron* cinsleri arasındaki yakınlık, bu cinsler altındaki türlerin makroskopik olarak ayrımını zorlaştırdığından *C. daubneyi* ve *P. cervi* ile miks enfekte hayvanlardan toplanan numunelerden moleküler çalışma için ayrılmış olanların tamamı yeniden PCR yöntemine tabi tutulmasına rağmen bu örnekler de *C. daubneyi* olarak tespit edilmiş ve *P. cervi*'nin varlığı moleküler olarak doğrulanamamıştır. Gerçi Coşkun (1988c), Burgu (1980) tarafından Çifteler Devlet Üretme Çiftliği mezbahasında kesilen koyunlardan elde edilerek %10 formolde fikse edilip saklanmış ve *P. cervi* olarak teşhis edilmiş örnekleri stereo mikroskop altında yeniden inceleyerek daha büyük ve iyi gelişmiş genital deliğe sahip olanlarını ayırmış ve *P. ichikawai*'nin ülkemizde varlığını ilk olarak bildirmiştir. Bununla birlikte bu ayrımın tarafımızca *P. ichikawai*'nin iyi gelişmiş bir genital kıvrıma, iyi gelişmiş, kalın ve geniş bir genital papillaya sahip *ichikawai* tip genital atriuma sahip olması sayesinde yapılabildiği değerlendirilmektedir. Bu çalışmada *P. ichikawai*'ye ne histolojik ne de moleküler çalışmada rastlanılamamıştır.

Moleküler teşhis için genel primerler yanında spesifik primerler de mevcuttur (Bazsalovicsova ve ark., 2010; Ichikawa ve ark., 2013; Ma ve ark, 2015). Bu nedenle bu çalışmada şüpheli örnekler için iki farklı gen bölgesi kullanılarak PCR yapılmış ancak moleküler çalışmada sadece *C. daubneyi* tespit edilmiştir. Önce genel moleküler teşhis için ITS2+ rDNA (Parsiyal 5.8S, ITS2, parsiyal 28S) gen bölgesi PCR ile çoğaltılmıştır. Daha sonra teşhisi doğrulama amacıyla ITS2+ rDNA gen bölgesinin çoğaltılması ile elde edilen PCR ürünleri dört endonükleaz enzimi [MseI (Tru1I), HaeIII (BsuRI), RsaI, Bsh1236I (BstUI)] ile kesilerek PCR-RFLP işlemine tabi tutulmuş ve örneklerin tamamının *C. daubneyi* olduğu doğrulanmıştır.

Bunun yanında ergin parazitlerin ve arakonaklardan elde edilen gelişim dönemlerinin mitokondriyal DNA (mtDNA)'nın parsiyal Cox1, tRNA-Thr (threonine)'nin tamamı ve parsiyal LrRNA (large ribosomal RNA subunit) gen bölgesi

kullanılarak PCR yapılmış ve elde edilen ampikonların sekans analizleriyle *C. daubneyi* teşhisi doğrulanmıştır.

Bu çalışmada, Çetindağ ve Doğanay'ın (1996) sonuçlarına uygun şekilde, mandalarda baskın tür *C. daubneyi* olarak belirlenmiş ve enfekte hayvanların tamamında parazite rastlanmıştır. Sadece üç hayvanda *C. daubneyi*'ye ek olarak *P. cervi*'ye rastlanmıştır. Enfekte hayvanlar dikkate alınınca *C. daubneyi*'nin yayılışı %100, *P. cervi* ise %6,6 olarak belirlenmiştir. Bunun nedeninin Kızılırmak Deltası'nın sulak ve irili ufaklı çok sayıda bataklı alana sahip olması ve böyle ortamlarda yaşayan bir sümüklü olan *G. truncatula*'nın parazitin arakonağı olmasına bağlanabilir.

Çalışmada Çetindağ ve Doğanay'ın (1996) ve Celep ve ark.'nın (1990) bulgularıyla uyumlu olarak muayene edilen 139 mandanın %32,37'si *C. daubneyi*, %2,16'sı *C. daubneyi* ve *P. cervi* ile miks enfekte bulunmuştur.

Bir hayvandaki parazit sayısı ortalama 105,6 (2-1884) adet ile Çetindağ ve Doğanay (1996)'dan (ort. 288,1) daha düşük, Ferreras ve ark. (2014)'na yakın (ortalama 144) bulunmuştur. Bu durumun, yıllar içinde yetiştiricilerin parazitler hastalıklar konusunda bilinçlenmesi ve antelmintik ilaçlara erişim kolaylığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca yörede 7 aylık dönemde herhangi bir ilaç uygulaması yapılmaksızın sulak alanda serbestçe otlayan mandaların kesim öncesi beş aylık bir besi programına ve program başlangıcında yoğun antelmintik ilaç uygulamasına tabi tutulmaları da bir neden olarak değerlendirilmektedir.

Sonuç olarak mandalarda *C. daubneyi*'nin varlığı ve baskın tür olduğu moleküler olarak da kanıtlanmıştır. Bu çalışma ülkemizde Paramphistomid parazitler üzerine yapılan ilk moleküler araştırma olup, *C. daubneyi*'nin doğru teşhis ile ilk kez konfirmasyonu yapılmıştır. Ergin parazitlere ait nükleotit dizilimleri OMUPAR.31.17.01 kodu ve MH939278 erişim numarasıyla Gen Bank'a kaydedilmiştir.

Ülkemizde Paramphistomid türlerin arakonakları hakkında yapılmış yalnız bir çalışma mevcuttur. Burgu (1981) Çifteler Harası yöresinde hayvanların otladığı meralarda bulunan *Planorbis planorbis*, *P. carinatus*, *Valvata macrostoma*, *Aplexa hypnorum*, *Lymnaea truncatula*, *L. auricularia* ve *Succinea pfeifferi* türü sümüklülerde doğal *P. cervi* enfeksiyonunu araştırmış ve sadece *P. planorbis*'in parazitin gelişimine arakonaklık yaptığını tespit etmiştir. Aynı çalışmada deneysel enfeksiyon denemelerinde *P. cervi* mirasidyumlarına yalnızca *P. planorbis* duyarlı bulunmuş, diğer

salyangozlarda gelişme olmamıştır. Ülkemizde mevcut araştırmaya göre *P. cervi*'nin doğal koşullarda birincil arakonağı su sümüklüsü olan *P. planorbis* ve kısmen *Gyraulus laevis*'dir (Burgu 1981, Kamel ve Burgu, 1986), ancak *C. daubneyi*'nin arakonağının hangi sümüklü türü olduğu hakkında herhangi bir bilgi veya çalışmaya rastlanmamıştır.

Türkiye'de *C. daubneyi*'nin gelişiminde rol oynayan arakonaklarla ilgili bir çalışma olmamakla birlikte Avrupa ülkelerinde *G. truncatula*'nın *C. daubneyi*'nin de doğal arakonağı olduğu kanıtlanmıştır (Martinez-Ibeas ve ark., 2013, Jones ve ark., 2017). Bu çalışmada meradan toplanan sümüklü örneklerinden sadece *G. truncatula* olarak teşhis edilenlerinde trematod gelişim şekillerine rastlanmıştır. Bu gelişim şekillerini tür düzeyinde teşhis edebilmek için morfolojik kriterler yetmediğinden pozitif örneklere PCR uygulanmış ve 300 örnek içinde trematod gelişim evreleri raslanan 19 örneğin 12' sinde *C. daubneyi* teşhis edilmiş ve sonuçlar PCR-RFLP ile doğrulanmıştır. Sümüklülerde enfeksiyon oranı Jones ve ark.'nın (2017) bulgularıyla uyumlu olarak %4 olarak tespit edilmiştir.

Gelişim dönemlerine ait nükleotit dizilimleri OMUPAR.31.17.02 kodu ve MH939279 erişim numarasıyla GenBank'a kaydedilmiştir.

Mandalar sığırlardan, planorbis sümüklüler de lymneidlerden daha sucul olmalarına rağmen, mandalarda arakonağı bataklik sümüklüsü *G. truncatula* olan *C. daubneyi* daha yaygın bulunmuştur. Bunun olası nedeninin; termoregülasyon, güneş ışığı ve ektoparazitlerden korunmak için zamanını çoğunu bataklik alanlarda geçiren mandaların, habitatı böyle yerler olan *G. truncatula* kaynaklı metaserkerlerin kistlendiği otlarla daha çok karşılaşması ve beslenmesi olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak; *C. daubneyi* ülkemizde ilk kez moleküler olarak teşhis edilmiş ve parazitin arakonağı Kızılırmak Deltası'nda *G. truncatula* olarak belirlenmiştir. Buna ek olarak, mandalarda parazitin %32,37 gibi azımsanmayacak düzeyde yaygın olduğu, buna karşın hayvanlarda ortalama parazit sayısının ağır enfeksiyona yol açmayacak düzeyde bulunduğu, sadece iki hayvanda rastlanan parazit sayısının kronik hastalık belirtilerine sebep olacak kadar yüksek olduğu anlaşılmıştır. Kızılırmak Deltası'ndaki mandalarda baskın tür olarak *C. daubneyi* belirlenmiş, ancak miks enfeksiyon şeklinde olmak üzere, sadece 3 hayvanda (%2,16) *P. cervi*'ye rastlanmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması ile;

1- Kızılırmak Deltası'nda mandalarda paramphistomosis etkeni ve baskın tür olarak *C. daubneyi* belirlenmiş, parazite yılın her mevsiminde rastlanmıştır. İkinci düzeyde sorumlu etken olarak *P. cervi* saptanmış, ancak düşük oranda görülmüş ve sadece üç hayvanda rastlanmıştır.

2- Hastalığın yayılışı %32,37 ve enfekte hayvan başına ortalama parazit sayısı 105,6 olarak belirlenmiştir. Bu oranlar acil önlem almayı gerektirmeyecek düzeyde olmasına karşın, sürekli verim kayıplarına yol açabilecek orandadır. Bunun yanında paraziter enfeksiyonların bulaşma ve yayılma hızının çok yüksek olması nedeniyle hastalık ve hayvanlar sürekli gözlem altında tutulmalıdır. Kontrol tedbirlerinin gevşetilmesi veya bırakılması, kısa sürede akut hastalık tablosu ve ölümcül vakalara yol açabilir.

3- Yöremizde mandalarda baskın tür olan *C. daubneyi*'nin arakonağı bir bataklık sümüklüsü olan *G. truncatula* olarak belirlenmiş ve bu durum ülkemiz için de ilk bilgi ve kayıt olmuştur. Bu sümüklü türü, ülkemizin her yerinde yaygın olarak bulunmakta ve rakımı 1800 metreye kadar bölgelerde yayılım göstermektedir.

4- *Galba truncatula*, aynı zamanda çok patojen ve öldürücü bir helmint türü olan *Fasciola hepatica*'nin de doğal arakonağıdır. Bundan dolayı, yöremiz hatta ülkemiz için genişletiren hayvanlarda iki önemli paraziter hastalık olan fasciolosis ve paramphistomosis mutlaka birlikte düşünülmeli, ortak korunma tedbirleri uygulanmalıdır. Bununla birlikte fasciolosis için kullanılan ilaçların paramphistomosis etkisiz olduğu da unutulmamalıdır.

5- Adı geçen sümüklü ılıman mevsim olan ilkbahar ve sonbahar mevsimlerinde aktif olarak toprak yüzeyine çıkmış, soğuk kış ve sıcak yaz aylarında toprağa gömülerek saklanmıştır. Bununla birlikte bu sümüklülerden açığa çıkan serkerler otlar üzerine yapışıp metaserker haline geçerek serin ve nemli ortamlarda iki ay kadar canlı kalabildiği için hayvanların enfeksiyona yakalanmasında mevsimin önemli olmadığı, hayvanların bataklık alanlarda otlatıldığı her mevsimde enfeksiyonun bulaşabileceği, ayrıca yaz aylarındaki yüksek yağışın sümüklü arakonakların yayılımını arttırabileceği unutulmamalıdır.

6- *Calicophoron daubneyi*'nin gelişiminde başka sümüklü türlerinin arakonak rolü oynayıp oynamadığının belirlenebilmesi için yöremiz dahil birçok yörede, farklı sümüklü türleri ile ilgili yeni ve daha kapsamlı araştırmalar yapılmalıdır.

7- Türkiye'de ve bölgemizde daha önce kaydedilen türlerden başka Paramphistomid etken olup olmadığının belirlenmesi ve bunların arakonaklarının saptanabilmesi için farklı konaklar ve farklı coğrafyalarda yeni araştırmalar yapılmalıdır.

8- Yöredeki hayvanların paramphistomosis ve hatta fasciolosisten korunması için merada otlayan hayvanlardan rastgele seçilen örneklerle mümkünse her mevsimde en az bir kez dışkı muayenesi yapılmalı ve yöre mezbahalarında görevli veteriner hekimler mevsim geçişlerinde kesilen hayvanları dikkatlice muayene etmeleri konusunda uyarılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abdullahi Y; Muhammad I; Yerima MI, Molluscicidal activity of aqueous extract of leaves, stem back and roots of desert date (*Balanite egyptiaca* Del.) against common liver fluke (*Fasciola hepatica*) found in the Snail (*Lymnea natalensis*). J Appl Sci Environ Manage 2018; 22 (3): 409 - 413.
- Abunza MD, Ahmad A, Fana SA. Prevalence and of paramphistomiasis in ruminants slaughtered at Sokoto Central abattoir, Sokoto. Nigerian J Basic Appl Sci 2008; 16(2): 287-292
- Acıöz M, Çeliksöz A, Özçelik S, Değerli S. Sivas yöresi sığırlarında *Paramphistomum* spp. yaygınlığı. Mehmet Akif Ersoy Üniv Vet Fak Derg 2016; 1 (2): 7-10.
- Açııcı M, Umur Ş, Yıldırım MZ, Gürler AT, Beyhan YE. Karadeniz bölgesinde *F. hepatica*'nın arakonakları ve mevsimsel dağılımları. OMU BAP. Vet 060 nolu Proje Kesin raporu. Samsun. 2008.
- Ahmad T, Reshi ML, Cheshi MZ, Tanveer S, Shah ZA. A case report of *Gastrothylax crumenifer* incidence in sheep in Kashmir Valley. Iraqi J Vet Sci 2013; 27 (1):71-72.
- Alabay M. Koyunlardaki *Paramphistomum cervi*, Schrank, 1790 enfeksiyonunun İmmunoperoksidaz ve İndirekt Floresan Antikor Teknikleriyle karşılaştırmalı teşhisi Üzerinde araştırmalar. Ankara Univ Vet Fak Derg 1981; 28(1-4): 72-88.
- Altschul SF, Madden TL, Schâffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Res 1997; 25(17): 3389-3402.
- Ankum L. Presence and pathogenicity of Paramphistomidae in ruminants in The Netherlands. Utrecht University. Utrecht. Master Thesis. 130087 Final Report. 2015; 1-20.
- Anonim. Kızılırmak deltası. <http://www.samsunkulturveturizm.gov.tr/TR,59848/kizilirmak-deltasi.html>. Son erişim tarihi. 5 Temmuz 2015.
- Anuracpreeda P, Poljaroen J, Chotwivatthanakun C, Tinikul Y, Sobhon P. Antigenic components, isolation and partial characterization of excretion–secretion fraction of *Paramphistomum cervi*. Exp Parasitol 133 (2013) 327–333
- Arias MS, Sanchís J, Francisco I, Francisco R, Piñeiro P, Cazapal-Monteiro C, Cortiñas FJ, Suárez JL, Sánchez-Andrade R, Paz-Silva A. The efficacy of four anthelmintics against *Calicophoron daubneyi* in naturally infected dairy cattle. Vet Parasitol 2013; 197: 126-129.
- Atasever S, Erdem H. Manda yetiştiriciliği ve Türkiye'deki geleceği. OMÜ Ziraat Fak Derg 2008; 23(1): 59-64.

- Avcıoğlu H, Güven E. 2011. Erzurum Yöresi sığırlarında dışkı bakısına göre saptanan trematodların yaygınlığı. 17. Ulusal Parazitoloji Kongresi. Kars. Program ve Özet Kitabı, 2011: 288.
- Aypak S, Eren H, Bakırcı S, Uner S, Simsek E, Boga B, Güler AG, Ünlü AH. Parasites detected by examination of fecal samples in wrestling camels. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2013; 19 (3): 371-374.
- Balachandran C, Raman A, Pazhanivel N. An outbreak of amphistomosis in an organized sheep farm, Tamilnadu J Vet Anim Sci 2010; 6 (6): 286-288.
- Bargues MD, Artigas P, Khoubbane M, Ortiz P, Naquira C, Mas-Coma S. Molecular characterisation of *Galba truncatula*, *Lymnaea neotropica* and *L. schirazensis* from Cajamarca, Peru and their potential role in transmission of human and animal fascioliasis Parasit Vectors 2012; 5:174.
- Bazsalovicsova E, Kralova-Hromadova I, Spakulova M, Reblanova M, Oberhauserova K. Determination of ribosomal internal transcribed spacer 2 (ITS2) interspecific markers in *Fasciola hepatica*, *Fascioloides magna*, *Dicrocoelium dendriticum* and *Paramphistomum cervi* (Trematoda), parasites of wild and domestic ruminants. Helminthologia 2010; 47(2): 76-82.
- Bouvry M, Rau ME. *Paramphistomum* spp. in dairy cattle in Quebec, Can Vet J. 1984; 25: 353-356.
- Burgu A. Eskişehir Çifteler Harası Yöresinde Koyunlarda *P. cervi* Schrank, 1790'nin Biyolojisi Üzerinde Çalışmalar. Ankara Üniv Vet Fak. Ankara. Doçentlik Tezi, 1980; 28-45.
- Burgu A. Kistlenme sırasında *P. cervi* serkerlerinde renk seçimi. Ankara Üniv Vet Fak Derg 1982; 29 (1-2): 143-150.
- Celep A. Samsun ve Ordu illeri ve ilçelerinde sığırlarda gaita muayene sonuçlarına göre tespit edilebilen helmintolojik bulgular ve perifer kan frotisi sonuçları. Etlik Vet Mikrobiyol Derg 1984; 5 (6-7): 106-112.
- Celep A, Açıcı M, Çetindağ M, Coşkun ŞZ, Gürsoy S. Samsun yöresi sığırlarında helmintolojik araştırmalar. Etlik Vet Mikrobiyol Derg 1990; 6 (6): 117-130.
- Celep A, Açıcı M, Çetindağ M, Gürbüz İ. Samsun yöresi sığırlarında paraziter epidemiyolojik çalışmalar. Etlik Vet Mikrobiyol Derg 1994; 7(5): 153-162.
- Celep A, Açıcı M, Çetindağ M, Gürbüz İ. Samsun yöresi koyunlarında paraziter epidemiyolojik çalışmalar. Türkiye Parazitoloji Derg 1995; 19(2): 290-296.
- Choudhary V, Hasnani JJ, Khyalia MK, Pandey S, Chauhan VD, Pandya SS, Patel PV. Morphological and histological identification of *Paramphistomum cervi* (Trematoda: Paramphistoma) in rumen of infected sheep. Vet World 2015; 8 (1): 125- 129.
- Coşkun ŞZ. Ankara Mezbatasında Kesilen Ruminantlarda Paramphistomiasis'in Yayılışı ve Görülen Türler. Ankara Üniv. Sağlık Bil. Enst., Ankara. Doktora Tezi. 1987.

- Coşkun ŞZ. The prevalence of *Paramphistomum* spp. in ruminants. Doga Türk Vet Hayv Derg 1988a; 12 (3): 168-179.
- Coşkun ŞZ. *Paramphistomum ichikawai* Fukui, 1922 (Trematoda: Paramphistomidae) in sheep in Turkey. Ankara Üniv Vet Fak Derg 1988b; 35 (11): 118-123.
- Coskun ŞZ, Eslami A, Halajian A, Nikpey A. Amphistome species in cattle in South Coast of Caspian Sea, Iranian J Parasitol 2012; 7 (1):32-35.
- Çetindağ M, Doğanay A. Samsun yöresi mandalarında sindirim sistemi helmintleri, Etlık Vet Mikrobiyol Derg 1996; 8(3): 46-57.
- Değer S, Biçek K. Van ve yöresinde koyunlarda endoparaziter fauna tespiti ve paraziter invazyonların kontrolü üzerine öneriler. Yüzüncü Yıl Üniv Vet Fak Derg 2005; 16(1): 51-54.
- Değer S, Ayhan Ç. Bandırma (Çoban Et) Mezbahasında kesilen hayvanların endoparaziter fauna tespiti. 17. Ulusal Parazitoloji Kongresi. Kars. Program ve Özet Kitabı, 2011:188.
- Dorny P, Stoliaroff V, Charlier J, Meas S, Sorn S, Chea B, Holl D, Van Aken D, Vercruyse J. Infections with gastrointestinal nematodes, *Fasciola* and *Paramphistomum* in cattle in Cambodia and their association with morbidity parameters. Vet Parasitol 2011; 10: 293-299.
- Dreyfuss G, Vignoles P, Rondelaud D. *Paramphistomum daubneyi*: the number of sporocysts developing in experimentally and naturally infected *Galba truncatula*, Parasitol Res 2008; (103): 345–349.
- Dube S, Dlamini NR, Masanganise KE, Dube C. Abattoir studies on Paramphistomes recovered from cattle in Masvingo and Manicaland provinces of Zimbabwe, Folia Vet 2004; 48(3): 123-129.
- Dube S, Onyedineke NE, Aisien MSO. *Ceylonocotyle*, *Bothriophoron*, and *Calicophoron* species parasitic in some Nigerian Cattle. Adv Biores 2013; 4 (2): 38- 43.
- Durie P.H. The Paramphistomes (Trematoda) of Australian Ruminants II. The life history of *Ceylonocotyle streptocoelium* (Fischoeder) Naesmark and of *Paramphistomum ichikawai* Fukui. Aust J Zool 1953; 1(2): 193-222.
- Eduardo SL. The taxonomy of the family Paramphistomidae Fischoeder, 1901 with special reference to the morphology of the species occurring in ruminants. London University. Londra. PhD thesis. 1980a; 19-526.
- Eduardo SL. *Bilatorchis papillogenitalis* N. G., N. Sp. (Paramphistomidae: Orthocoelinae), A parasite of the red leche (*Kobus leche* Gray, 1850) from Zambia. Syst Parasitol 1980b; 1 (2): 141-149.

- Eduardo SL. New genus, *Leiperocotyle*, for *Cotylophoron* Okapi Leider, 1935 and *C. congolense* Baer, 1936 and redescription of *C. okapi*. Syst Parasitol 1980c; 1 (3/4): 255-263.
- Eduardo SL. The taxonomy of the family Paramphistomidae Fiscoeder, 1901 with special reference to the morphology of species occurring in ruminants. II. Revision of the genus *Paramphistomum* Fiscoeder, 1901. Syst Parasitol 1982; 4: 189-238.
- Eduardo SL. The taxonomy of the family Paramphistomidae Fiscoeder, 1901 with special reference to the morphology of species occurring in ruminants. III. Revision of the genus *Calicophoron* Naesmark, 1937. Syst Parasitol 1983; 5: 25-79.
- Eduardo SL. The taxonomy of the family Paramphistomidae Fiscoeder, 1901 with special reference to the morphology of species occurring in ruminants IV. Revision of the genus *Gigantocotyle* Naesmark, 1937 and elevation of the subgenus *Explanatum* Fukui, 1929 to full generic status Syst Parasitol. 1984; 6: 3-32.
- Eduardo S.L. The taxonomy of the family Paramphistomidae Fiscoeder, 1901 with special reference to the morphology of species occurring in ruminants. V. Revision of the genus *Cotylophoron* Stiles & Goldberger, 1910. Syst Parasitol 1985a 7: 3-26.
- Eduardo SL. The taxonomy of the family Paramphistomidae Fiscoeder, 1901 with special reference to the morphology of species occurring in ruminants. VI. Revision of the genus *Orthocoelium* (Stiles & Goldberger, 1910) Price & McIntosh, 1953. Syst Parasitol 1985b; 7: 125-158.
- Eduardo SL. The taxonomy of the family Paramphistomidae Fiscoeder, 1901 with special reference to the morphology of species occurring in ruminants. VIII. The genera *Stephanopharynx* Fiscoeder, 1901 and *Balanorchis* Fiscoeder, 1901. Syst Parasitol 1986; 8: 57-69.
- Eduardo SL. Zoogeographical affinities of paramphistomids of ruminants. Trans Nat Acad Sci Tech (Phils.) 1987; 9: 229-242.
- Eslami A, Halajian A, Bokaie S. A survey on the bovine amphistomiasis in Mazanderan province, north of Iran. Iran J Vet Res 2011; 12 (34): 55-57.
- Family Paramphistomidae. Texas A&M University. <http://bug.tamu.edu/research/collection/hallan/test/Platyhelminthes/Family/Paramphistomidae.txt>, Erişim Tarihi: 01.01.2018).
- Ferreras MC, González-Lanza C, Perez V, Fuertes M, Benavides J, Mezo M, González-Warleta M, Giráldez J, Martínez-Ibeas AM, Delgado L, Fernández M, Manga-González MY. *Calicophoron daubneyi* (Paramphistomidae) in slaughtered cattle in Castilla y Leon (Spain). Vet Parasitol 2014; 199: 268-271.

- Founta A, Papadopoulos E, Chliounakis S, Bampidis VA, Papazahariadou M. Presence of endoparasites in the Greek buffalo (*Bubalus bubalis*) from Northern Greece, J Hellenic Vet Med Soc 2018; 69(2): 999-1003.
- Fuertes M, Pérez V, Benavides J, González-Lanza MC, Mezo M, González-Warleta M, Giráldez FJ, Fernández M, Manga-González MY, Ferreras MC. Pathological changes in cattle naturally infected by *Calicophoron daubneyi* adult flukes. Vet Parasitol 2015; 209 (34): 188-196.
- Galba (Galba) truncatula*(<http://www.habitas.org.uk/molluscireland/species.asp?ID=85>, 7.10.2019)
- Gıcık Y, Arslan MO, Kara M, Köse M. The prevalence of paramphistomiasis in sheep slaughtered in the Kars province. Türkiye Parazit Derg 2003; 27(4): 260-261.
- Gohar AA, Maatooq GT, Gadara SR, Aboelmaaty WS, El-Shazly AM. Molluscicidal activity of the methanol extract of *Callistemon viminalis* (Sol. ex Gaertner) G. Don ex Loudon fruits, bark and leaves against *Biomphalaria alexandrina* Snail. Iran J Pharm Res 2014; 13(2): 505 -514.
- González-Warleta M, Lladosa S, Castro-Hermida JA, Martínez-Ibeas AM, Conesa D, Munoz F, López-Quílez A, Manga-González Y, Mezo M. Bovine paramphistomosis in Galicia (Spain): Prevalence, intensity, aetiology and geospatial distribution of the infection. Vet Parasitol 2013; 191: 252-263.
- Gordon DK, Roberts LCP, Lean N, Zadoks RN, Sargison ND, Skuce PJ. Identification of the rumen fluke, *Calicophoron daubneyi*, in GB livestock: possible implications for liver fluke diagnosis. Vet Parasitol 2013; 195: 65–71.
- Gönenci R, Yıldırım M. İskenderun Mezbahasına getirilen sığırların rumen ve retikulumlarında karşılaşılan yabancı cisimler ve oluşturdukları komplikasyonlarının araştırılması. Yüzüncü Yıl Üniv Vet Fak Derg 2008; 2: 31-36.
- Güralp N. Helmintoloji. 2. Baskı. Ankara, Ankara Üniv. Veteriner Fak. Yayınları. 1981; 80-90.
- Güralp N, Oğuz, T. Yurdumuz tiftik keçilerinde görülen parazit türleri ve bunların yayılış oranı. Ankara Üniv Vet Fak Derg 1967; 14: 55-64.
- Güzel H. Afyonkarahisar civarı mandalarında bulunan helmintlerin yayılışı. Afyon Kocatepe Üniv Sağlık Bil Enst. Afyon Karahisar. Doktora Tezi, 2012; 52-56.
- Hafeez MD, Rao BV. Studies on amphistomiasis in Andhra Pradesh (India) VI. Immunization of lambs and kids with gamma irradiated metacercariae of *Cercariae indicae* XXV. J Helminthol 1981; 55: 29-32.
- Harris M, Weisler M, Faulkner P. A refined protocol for calculating MNI in archaeological molluscan shell assemblages: a Marshall Islands case study. J Archaeol Sci 2015; 57: 168-179.
- Horak IG. Paramphistomiasis of domestic ruminants. Adv Parasitol 1971; 9: 33-72.

- Horak IG. Host - Parasite relationships of *Paramphistomum microbothrium* (Fischoeder, 1901), in experimentally infested ruminants, with particular reference to sheep. Onderstepoort J Vet Res 1967; 34: 451- 540.
- Ichikawa M, Kondoh D, Bawn S, et al. Morphological and molecular characterization of *Explanatum explanatum* from cattle and buffaloes in Myanmar. J Vet Med Sci 2013; 75(3): 309-314.
- Iglesias-Piñeiro J, González-Warleta M, Castro-Hermida JA, Córdoba M, González-Lanza C, Manga-González Y, Mezo M. Transmission of *Calicophoron daubneyi* and *Fasciola hepatica* in Galicia (Spain): Temporal follow-up in the intermediate and definitive hosts. Parasites Vector 2016; 9: 610.
- Islam A. Comparative efficacy of ivermectin plus clorsulon and nitroxynil against naturally infected cattle. Eurasian J Vet Sci 2013; 29 (1): 43-45.
- Itagaki T, Tsumagari N, Tsutsumi K, Chinone S. Discrimination of three Amphistome species by PCR-RFLP based on rDNA ITS2 markers. J Vet Med Sci 2003; 65(8): 931-933.
- Jia TW, Wang W, Sun LP, Lv S, Yang K, Zhang NM, Huang XB, Liu JB, Liu HC, Liu RH, Gawish FA, Habib MR, El-Emam MA, King CH, Zhou XN. Molluscicidal effectiveness of Luo-Wei, a novel plant-derived molluscicide, against *Oncomelania hupensis*, *Biomphalaria alexandrina* and *Bulinus truncatus*. Infect Dis Poverty 2019; 8: 27.
- Jonathan SR. The life history of *Calicophoron ijimai* (stomach fluke of cattle in New Zealand). T Roy Soc NZ 1952; 79 (3-4): 518-524.
- Jones A. Family Paramphistomidae, Fischoeder, 1901. In, Jones A, Bray RA, Gibson DI, editors, Keys to the Trematoda. Vol. 2, London, CABI Publ. 2005a; 229-246.
- Jones A. Family Gastrothylacidae Stiles & Goldberger, 1910. In, Jones A, Bray RA, Gibson DI, editors, Keys to the Trematoda. Vol. 2, London, CABI Publ. 2005b; 337-342.
- Jones RA, Williams HW, Dalesman S, Ayodeji S, Thomas RK, Brophy PM. The prevalence and development of digenean parasites within their intermediate snail host, *Galba truncatula*, in a geographic area where the presence of *Calicophoron daubneyi* has recently been confirmed. Vet Parasitol 2017; 240: 68-74.
- KameI EG, Burgu A. First record of the fresh water snail *Gyraulus laevis* (Alder) naturally infected with *Paramphistomum* cercariae from Turkey. Ankara Üniv Vet Fak Derg 1986; 33 (3): 352-362.
- Khan MD. Studies on Amphistomes of domestic ruminants in Kashmir. University of Kashmir. Srinagar Kashmir. PhD Thesis. 1985; 16-32.
- Khan P. Surface plasma membrane characterization and metabolic studies of some Amphistomes. Aligarh Muslim University (India). Aligarh. PhD Thesis, 1991; 6: 1-14.

- Khatoon N, Bilqes FM, Mirza S. Histopathological changes in the liver of buffaloes by digenetic trematode *Paramphistomum cervi*. Pak J Biol Sci 2003; 6: 1540-1543.
- Kara M, Gıcık Y, Sarı B, Bulut H, Arslan MÖ. A slaughterhouse study of some helminths of cattle and sheep in Malatya province, Turkey. J Anim Vet Adv 2009; 8 (11): 2200-2205.
- Kaur S, Singla LD, Hassan SS, Juyal PD. Application of Indirect Plate Elisa in early diagnosis of paramphistomosis using purified polypeptides of somatic antigen of *Paramphistomum epiclatum*. Trends Parasitol Res 2013; 2(1): 9-15.
- Khedri J, Radfar MH, Borji H, Mirzaei M. Prevalence and intensity of *Paramphistomum* spp. in cattle from South-Eastern Iran. Iran J Parasitol 2015; 10 (2): 268-272.
- Kennedy MJ, Lankester MW, Barry Snider JB. *Paramphistomum cervi* and *Paramphistomum liorchis* (Digenea: Paramphistomatidae) in moose, *Alces alces*, from Ontario, Canada. Can J Zool 1985; 63: 1207-1210.
- Kırçalı-Sevimli, F. Köse M, Kozan E, Doğan N. Paramphistomiasis and distomatosis in cattle in the Afyon Province. Türkiye Parazit Derg 2005; 29(1): 43-46.
- Kozan E. Bartın yöresi sığırlarında dışkı bakışı ile tespit edilen helmintler. Türkiye Parazit Derg 2014; 38: 17-21.
- Lalhmingshuanmawii K, Veerakumari L, Raman M. Anthelmintic activity of *Punica granatum* ethanol extract against paramphistomes in infected sheep. J Res Anim Sci 2014; 2(1): 79-86.
- Leng J. Study on *Paramphistomum microbothrium* Fiscoeder, 1901. A rumen parasite of cattle in Israel. Bull Res Coun Israel 1960; 9B: 71-130.
- Lloyd J, Boray J, Love S. Stomach fluke (Paramphistomes) in ruminants, 2007, Primefact 452 (Replaces Agfact A0.9.26), Stomach Fluke (Paramphistomes) in Ruminants 4. (http://www.cpdsoptions.co.za/Publications/article_uploads/Paramphistomiasis.pdf. Erişim Tar.: 1.7.2018)
- Lotfy WM, Brant SV, Ashmawy KI, Devkota R, Mkojie GM, Lokerb ES. A molecular approach for identification of paramphistomes from Africa and Asia. Vet Parasitol 2010; 174: 234-240.
- Ma J, He JJ, Liu GH, Zhou DH, Liu JZ, Liu Y, Zhu XQ. Mitochondrial and nuclear ribosomal DNA dataset supports that *Paramphistomum leydeni* (Trematoda: Digenea) is a distinct rumen fluke species. Parasites Vector 2015; 8: 201.
- Mage C, Bourgne H, Toullieu JM, Rondelaud D, Dreyfuss G. *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi*: changes in prevalences of natural infections in cattle and in *Lymnaea truncatula* from central France over the past 12 years. Vet Res 2002; 33(5): 439-447.

- Malik SI, Afshan K, Qayyum M. Phenotyping of Amphistomes, and pathological, hematological and bile biochemical response to *Gigantocotyle explanatum* infection in buffaloes. *Pakistan J Zool* 2017; 49(2): 979-987.
- Martinez-Ibeas AM, Gonzalez-Warleta M, Martinez-Valladares M, Castro-Hermida JA, Gonzalez-Lanza C, Minambres B, C. Ferreras C, Mezo M, Manga-Gonzalez MY. Development and validation of a mtDNA multiplex PCR for identification and discrimination of *Calicophoron daubneyi* and *Fasciola hepatica* in the *Galba truncatula* snail. *Vet Parasitol* 2013; 195: 57- 64.
- Martínez JL, Trujillo LEV. *Cotylophoron panamensis* (Digenea: Paramphistomidae) in cattle from Meta and Guaviare, Colombia; *Acta biol Colomb* 2012; 17: 419-428.
- Mas-Coma S, Funatsu IR, Bargues MD. *Fasciola hepatica* and lymnaeid snails occurring at very high altitude in South America. *Parasitology* 2001; 123: 115-127.
- Mavenyengwa M, Mukaratirwa S, Obwolo M, Monrad J. A macro- and light microscopical study of the pathology of *Calicophoron microbothrium* infection in experimentally infected cattle. *Onderstepoort J Vet Res* 2005; (72): 321-332.
- Millar M, Colloff A, Scholes S. Disease associated with immature Paramphistome infection. *Vet Rec* 2012; 171: 509-510.
- Nikander S, Saari S. Notable seasonal variation observed in the morphology of the reindeer rumen fluke (*Paramphistomum leydeni*) in Finland, *Rangifer* 2007; 27 (1): 47-57.
- Ojeda-Robertos NF, Torres-Chablé OM, Peralta-Torres JA, Luna-Palomera C, Aguilar-Cabrales A, Chay-Canul AJ, González-Garduño R, Machain-Williams C, Cámara-Sarmiento R. Study of gastrointestinal parasites in water buffalo (*Bubalus bubalis*) reared under Mexican humid tropical conditions. *Trop Anim Health Prod* 2017; 9(3): 613-618.
- Öncel T. Guney Marmara Bölgesindeki koyunlarda helmint türlerinin yayılışı. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2000; 24(4): 414-419.
- Özdam N, Gül A, İlhan F, Değer S. Prevalence of Paramphistomum infection in cattle and sheep in Van Province, Turkey. *Helminthologia* 2010; 47(1): 20-24.
- Panyarachun B, Ngamniyom A, Sobhon P, Anuracpreeda P. Morphology and histology of the adult *Paramphistomum gracile* Fischoeder, 1901. *J Vet Sci* 2013; 14(4): 425-432.
- Paramphistomum, <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/paramphistomum>, Erişim Tarihi: 4.11.2019
- Paraud C, Fournier E, Robergeot V, Kulo A, Pors I, Baudry C, Chartier C. *Calicophoron daubneyi* infection in grazing goats: Results from a cross-sectional coprological survey in France. *Small Ruminant Res* 2009; 82: 66-68.

- Phiri AM, Chota A, Phiri IK. Seasonal pattern of bovine amphistomosis in traditionally reared cattle in the Kafue and Zambezi catchment areas of Zambia. *Trop Anim Hlth Prod* 2007; 39: 97-102.
- Pfukenyi DM, Mukaratirwa S. Amphistome infections in domestic and wild ruminants in East and Southern Africa: A review. *Onderstepoort J Vet Res* 2018; 85(1): e1-e13.
- Prasitirat P, Chompoochan T, Nithiuthai S, Wongkasemjit S, Punmamoang T, Pongrut P, Chinone S, Itagaki H. Prevalence of amphistomes of cattle in Thailand. *Parasit Hung* 1996-1997; 29-30: 27-32.
- Prince BE. Biological studies on the miracidia of *Paramphistomum microbothrioides*, Price and McIntosh, and its intermediate snail host, *Stagnicola (Nasonia) cubensis*, Pfeiffer. Louisiana State University. Doktora Tezi. 1953; 10-64
- Priya P, Veerakumari L, Raman M. Anthelmintic efficacy of *Acacia concinna* against paramphistomes in naturally infected sheep. *J App Anim Res* 2013; 41 (2): 183-188.
- Rangel-Ruiz LJ, Albores-Brahms ST, Gamboa-Aguilar J. Seasonal trends of *Paramphistomum cervi* in Tabasco, Mexico. *Vet Parasitol* 2003; 116: 217-222.
- Rawi M, Al-Hazmi M, Al Nassr FS. Comparative study of the molluscicidal activity of some plant extracts on the snail vector of *Schistosoma mansoni*, *Biomphalaria alexandrina*. *Int J Zool Res* 2011; 7 (2): 169-189.
- Raza MA, Murtaza S, Bachaya HA, Hussain A. Prevalence of *Paramphistomum cervi* in ruminants slaughtered in district Muzaffar Garh. *Pak Vet J* 2009; 29(4): 214-215.
- Rieu E, Recca A, Benet JJ, Saana M, Dorchie P, Guillot J. Reliability of coprological diagnosis of *Paramphistomum* sp. infection in cows. *Vet Parasitol* 2007; 146: 249-253.
- Rinaldi L, Perugini AG, Capuano F, Fenizia D, Musella V, Veneziano V, Cringoli G. Characterization of the second internal transcribed spacer of ribosomal DNA of *Calicophoron daubneyi* from various hosts and locations in southern Italy. *Vet Parasitol* 2005; 131: 247-253.
- Rolfe PF, Boray JC. Chemotherapy of paramphistomosis in cattle. *Aust Vet J* 1987; 64(11): 328-332.
- Rolfe PF, Boray JC, Nichols P, Collins GH. Epidemiology of paramphistomosis in cattle. *Int J Parasitol* 1991; 21(7): 813-819.
- Rolfe PF, Boray JC, Collins GH. Pathology of Infection with *Paramphistomum ichikawai* in sheep. *Int J Parasitol* 1994; 24 (7): 995-1004.
- Rondelaud D, Titi A, Vignoles P, Mekroud A, Dreyfuss G. Consequence of temperature changes on cercarial shedding from *Galba truncatula* infected with *Fasciola hepatica* or *Paramphistomum daubneyi*. *Parasite* 2013; 20: 10.

- Sanabria REF, Romero JR. Review and update of paramphistomosis. *Helminthologia* 2008; 45 (2): 64-68.
- Sanabria REF, Martorelli SR, Romero J. R. First report of *Paramphistomum leydeni* Näsmark, 1937 (Trematoda: Paramphistomidae) in Argentina, and re-examination of *Cotylophoron cotylophorum* sensu Racioppi et al. (1994). *Helminthologia* 2009; 46 (4): 225 - 229.
- Sanabria R, More G, Romero J. Molecular characterization of the ITS-2 fragment of *Paramphistomum leydeni* (Trematoda: Paramphistomidae). *Vet Parasitol* 2011; 177: 182-185.
- Sanabria R, Moreno L, Alvarez L, Lanusse C, Romero J. Efficacy of oxclozanide against adult *Paramphistomum leydeni* in naturally infected sheep. *Vet Parasitol* 2014; 206: 277-281.
- Shaheen H, Sadek KM, Bazh EK. Evaluation of oxclozanide and niclosamide combination as alternative antiparamphistomal therapy in buffaloes. *Afr J Pharmacy Pharmacol* 2013; 7(30): 2157-2166.
- Snider JB. The biology of rumen flukes (Trematoda: Paramphistomatidae) in moose, *Alces alces* L., in northwestern Ontario. Lakehead University, Ontario, Master Thesis. 1985;15-56.
- Sey O, Vishnyakov Y. Examination of paramphistomid species of Bulgarian domestic ruminants. *Parasit Hung.* 1976; 9: 25-29.
- Sey O. Revision of the amphistomes of European ruminants. *Parasit Hung* 1980; 13: 13-25.
- Sey O. The morphology, life-cycle and geographical distribution of *Paramphistomum cervi* (Zeder, 1790) (Trematoda: Paramphistomata), *Miscellanea Zool Hung.* 1982; 1: 11-24.
- Sey O. Revision of the family Gastrothylacidae Stiles & Goldberger, 1910 (Trematoda: Paramphistomata). *Acta Zool Acad Scienti Arum Hung* 1983; 29: 223-252.
- Sey O, Eslami A. Review of amphistomes (Trematoda: Paramphistomata) of Iranian domestic ruminants. *Parasit Hung* 1981-82; 14: 61-65.
- Sey O, Prasitirat P. Amphistomes (Trematoda, Amphistomida) of cattle and buffalo in Thailand. *Miscea Zool Hung* 1994; 9: 11-17.
- Shabih HS, Juyal PD. Diagnosis of paramphistomosis in domestic ruminants in Punjab (INDIA). Punjab. Proceedings of the 11th Int. Symposium on Vet. Epidemiology and Economics, 2006;1-6. www.sciquest.org.nz
- Sivajothi S, Reddy BS. Immature paramphistomosis in a sheep herd. *International J Biol Res* 2014; 2 (2): 140-142.

- Swart PJ, Reinecke RK. Studies on Paramphistomiasis, The mass production of metacercariae of *Paramphistomum microbothrium* Fiscoeder 1901, Onderstepoort J Vet Res 1962; 29(2): 189-195.
- Tandon V, Roy B, Shylla JA, Ghatani S. Chapter 11 Amphistomes, In. R. Toledo and B. Fried (Eds), Digenetic Trematodes. Adv Exp Med Biol 2014; 766: 365-392.
- Tariq KA, Chishti MZ, Ahmad F, Shawl AS. The epidemiology of paramphistomosis of sheep (*Ovis aries* L.) in the north west temperate Himalayan region of India. Vet Res Comm 2008; 32(5): 383-391.
- Tariq A, Chishti MZ, Tanveer S, Baqui A, Darzi MM, Mir MS. Histopathological study of the organs of sheep infected with *Paramphistomum cervi* in Kashmir Valley. Nanobiotechnica Universale 2011; 2(1): 7-12.
- The Taxonomicon, Taxon: Superfamily Paramphistomatoidea Fiscoeder, 1901 (flatworm). <http://taxonomicon.taxonomy.nl/TaxonTree.aspx?src=0&id=117538> Erişim: 05/8/2019.
- Tınar R. (ed.). Veteriner Helminoloji. 1. Baskı. Bursa, Dora Basın, Yayın, Dağıtım. 2011; 49-55.
- Tınar R, Umur ř. Veteriner Parazitoloji, Hayvan Türlerine Göre. Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri. 2015; 26-27, 74-75.
- Tınar R, Coşkun SZ, Doğan H, Demir S, Akyol řV. The prevalence of *Amphistomum* spp. in ruminants of South Marmara region. Turk J Vet Anim Sci 1992; 16: 187-197.
- Treatment and control strategies. <http://www.fao.org/Wairdocs/ILRI/x5492E/x5492e09.htm#7.4%20anthelmintics>. Erişim: 27.01.2018
- Titi A, Mekroud A, Chibat MH, Boucheikhchoukh M, Zein-Eddine R, Djuikwo-Teukeng FF, Vignoles P, Rondelaud D, Dreyfuss G. Ruminant paramphistomosis in cattle from northeastern Algeria: prevalence, parasite burdens and species identification. Parasite 2014; 21: 50.
- Türkiye İstatistik Kurumu. Hayvansal Üretim İstatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=101&locale=tr>. Son Erişim Tarihi. 1 Ekim 2018.
- Uddin MZ, Farjana T, Begum N, Mondal MMH. Prevalence of Amphistomes in black Bengal goats in Mymensingh district, Bangl. J Vet Med (2006); 4 (2): 103-106.
- Umur ř. Ankara Yöresi tiftik keçilerinde sindirim sistemi helmintleri. Ankara Üniv Vet Fak Derg 1991; 38(3): 322-338.
- Varma G. Observations on the biology and pathogenicity of *Cotylophoron cotylophorum* (Fiscoeder, 1901). J Helminthol 1961; 35: 161-168.
- Vignoles P, Rondelaud D, Dreyfuss G. *Paramphistomum daubneyi*: production dynamics and infectivity of metacercariae originating from snails dissected at regular intervals. J Helminthol 2008; 82: 175-180.

- Vorster JH, Mapham PH. Conical Flukes in Ruminants, (http://www.cpdolutions.co.za/Publications/article_uploads/Paramphistomiasis.pdf.2012.) erişim: 01.07.2018)
- Yang X, Zhao Y, Wang L, et al. Analysis of the complete *Fischoederius elongatus* (Paramphistomidae, Trematoda) mitochondrial Genome. Parasites Vector 2015; 8: 279.
- Yıldırım A, Kara M, Kozan E, Oge H. The prevalence of helminth infections in cattle raised in barns in Kayseri province. Ankara Univ Vet Fak Derg 2000; 47: 333-337.
- Yıldırım MZ, Gümüş BA, Kebapçı Ü, Bahadır Koca S. The *Basommatophoran pulmonate* species (Mollusca: Gastropoda) of Turkey. Turk J Zool 2006; 30: 445-458.
- Zintl A, Garcia-Campos A, Trudgett A, Chryssafidis AL, Talavera-Arce S, Fu Y, Egan S, Lawlor A, Negredo C, Brennan G, Hanna RE, De Waal Theo, Mulcahy G. Bovine paramphistomes in Ireland. Vet Parasitol 2014; 204:199-208.

ÖZ GEÇMİŞ

Adı Soyadı: Celil ATEŞ

Doğum Yeri: BAFRA/SAMSUN

Doğum Tarihi: 01.02.1974

Medeni Hali: Evli, 2 Çocuk.

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce.

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Yörükler İlkokulu: 1981-1986

Yörükler Ortaokulu: 1986-1989

Samsun Veteriner Sağ. Mes. Lisesi: 1989-1992

İ.Ü. S.B.F. Uluslararası İlişkiler (Lisans): 1994-1999

A.Ü. A.Ö.F. Lab. ve Vet. Sağ. (Önlisans): 2002-2004

O.M.Ü. Veteriner Fakültesi (Lisans): 2007-2013

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Ağrı İl Tarım ve Orman Müdürlüğü: 1992-2003

Ağrı/Taşlıçay İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü: 2003-2004

Tokat/Pazar İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü: 2004-2008

Samsun/19 Mayıs İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü: 2008-Halen

E-posta: c.atesh@hotmail.com, c.atesh@msn.com