



ERCIYES ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University

Araştırma Makalesi / Research Article
22(1), 28-35, 2025
DOI: 10.32707/ercivet.1595487

Nevşehir Yöresindeki Sahipli Kedi ve Köpeklerde *Giardia duodenalis*'in Moleküler Prevalansı ve Genetik Karakterizasyonu*

Beyzanur SATAŞMAZ^{1,a}, Gupse Kübra KARADEMİR^{1,2,b}, Arif ÇİLOĞLU^{2,c}

¹Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Parazitolojisi Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

² Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

ORCID No: ^a0009-0008-3898-5585; ^b0000-0002-3594-1770; ^c0000-0003-2695-7102

Sorumlu yazar: Arif ÇİLOĞLU; E-posta: arifciloglu@erciyes.edu.tr; arifciloglu@gmail.com

Atıf yapmak için: Sataşmaz B, Karademir GK, Çiloğlu A. Nevşehir yöresindeki sahipli kedi ve köpeklerde *Giardia duodenalis*'in moleküler prevalansı ve genetik karakterizasyonu. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2025; 22(1):28-35

Öz: Bu çalışmada, Nevşehir yöresinde çeşitli şikayetler ile özel veteriner kliniklerine getirilen sahipli kedi ve köpeklerde, *Giardia duodenalis*'in moleküler prevalansının araştırılması, genetik karakterizasyonlarının sağlanması, filogenetik yapılarının belirlenmesi ve moleküler epidemiyolojik veriler kapsamında kedi ve köpeklerin halk sağlığı yönünden risk faktörlerinin ortaya konması amaçlanmıştır. Bu amaçla 2023 yılında Nevşehir yöresinde farklı yaş ve cinsiyetteki sahipli 100 kedi ve 100 köpekten toplam 200 adet dışkı örneği toplanmıştır. Toplanan dışkı örneklerinden genomik DNA izolasyonu gerçekleştirildikten sonra elde edilen izolatlar, β -giardin gen bölgesini amplifiye eden spesifik primerlerle nested PCR analizine tabi tutulmuştur. Nested PCR analizleri sonucu ikisi kedi ve biri köpek olmak üzere toplam üç (%1.5) örnek *G. duodenalis* DNA'sı yönünden pozitif belirlenmiştir. Pozitif belirlenen ampiklonlar, sekans analizlerine tabi tutularak hedef gen bölgesine ait nükleotid dizilimler elde edilmiştir. Elde edilen izolatların veri tabanlarına kaydedilmiş diğer *G. duodenalis* izolatları ile çoklu hizalamaları yapılarak filogenetik analizleri gerçekleştirilmiş ve GenBank veri tabanı kayıtları yapılmıştır (PQ514072-4). Yapılan çoklu hizalama ve filogenetik analizler sonucunda sahipli kedilerden elde edilen izolatların zoonotik Assemblage B ile Assemblage C ve sahipli köpekten elde edilen izolatın Assemblage D'de yer aldığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu çalışma ile Nevşehir yöresinde sahipli kedi ve köpeklerde *G. duodenalis*'in ilk kez moleküler karakterizasyonu yapılmış ve sahipli kedi ve köpeklerin halk sağlığı yönünden oluşturabileceği risk potansiyelleri ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: *Giardia duodenalis*, Nevşehir, PCR, β -giardin

Molecular Prevalence and Genetic Characterization of *Giardia duodenalis* in Owned Cats and Dogs from Nevşehir Province

Abstract: This study aimed to investigate the molecular prevalence of *Giardia duodenalis* in owned cats and dogs presented with various clinical complaints at private veterinary clinics in the Nevşehir region. It was also aimed to determine the genetic characterization and phylogenetic relationships of *G. duodenalis* isolates. Furthermore, it evaluated the potential public health risks posed by cats and dogs within the context of molecular epidemiological data. In 2023, a total of 200 fecal samples were collected from 100 owned cats and 100 owned dogs of various ages and sexes in the Nevşehir region. Genomic DNA was subsequently isolated from the fecal samples and then subjected to nested PCR using specific primers targeting the β -giardin gene region of *G. duodenalis*. Nested PCR analysis identified *G. duodenalis* DNA in three samples (1.5%): two from cats and one from a dog. Positive amplicons were sequenced. The sequence analysis revealed three distinct genotypes among the isolates. These genotypes were submitted to the GenBank database with accession numbers PQ514072-4. Phylogenetic analyses were performed by aligning sequences from other *G. duodenalis* isolates available in the databases. Multiple sequence alignment and phylogenetic tree construction indicated that the isolates obtained from cats belonged to zoonotic Assemblage B and Assemblage C, whereas the isolate from the dog was classified as Assemblage D. In conclusion, this study represents the first molecular characterization and phylogenetic analysis of *G. duodenalis* in owned cats and dogs in the Nevşehir region and highlights the potential public health risks posed by owned cats and dogs.

Keywords: *Giardia duodenalis*, Nevşehir, PCR, β -giardin

Giriş

Giardiasis dünya çapında geniş bir yayılım gösteren, insan ve hayvanlarda özellikle gastrointestinal sis-

temde ciddi sorunlara yol açabilen protozoal bir enfeksiyondur (Dixon, 2021). *Giardia duodenalis* (syn. *Giardia intestinalis*, *Giardia lamblia*), kırktan fazla memeli hayvan türünde görülen ve yıllık ortalama 280 milyon insanda semptomatik enfeksiyona neden olan bir parazit türüdür (Upcroft ve Upcroft, 1998; Lane ve Lloyd, 2002; Monis ve ark., 2009). Bu protozoon türü, dünyanın hemen her yerinde yayılım göstermesi ve

Geliş Tarihi/Submission Date : 03.12.2024

Kabul Tarihi/Accepted Date : 06.03.2025

* Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenen TYL-2024-13516 kodlu Yüksek Lisans tez projesinden özetlenmiştir.

özellikle de gelişmekte olan ülkelerde en sık rastlanan bağırsak paraziti olarak bildirilmesi nedeniyle, giardiasis neden olan diğer protozoon türleri içerisinde oldukça önemli bir yere sahiptir (Feng ve Xiao, 2011). Özellikle kalabalık yaşam ortamları ve kontamine çevresel koşullar altında hayvanlardan insanlara veya insanlardan hayvanlara doğrudan veya dolaylı temasla bulaşabilen *G. duodenalis*, tek sağlık kavramı çerçevesinde veteriner hekimlik ve halk sağlığı alanında ortak öneme sahip bir patojen olarak kabul edilmektedir (Dixon, 2021). Bu bağlamda, *G. duodenalis*'in etkeni olduğu giardiasisin yayılım dinamiklerinin ve bulaşma kaynaklarının anlaşılması, bu zoonoz hastalığa karşı kontrol ve mücadele stratejilerinin geliştirilmesi açısından kritik önem arz etmektedir (Cai ve ark., 2021).

Giardia duodenalis'in teşhisi, geleneksel olarak mikroskopik veya immünolojik testler ile yapılmakla birlikte bu yöntemler, parazitin düşük yoğunlukta bulunduğu durumlarda özellikle de kronik enfeksiyonlarda sınırlı hassasiyet sergileyebilmektedir (Koehler ve ark., 2014; Soares ve Tasca, 2016; Adeyemo ve ark., 2018). Bu kapsamda teşhisin doğru ve net bir şekilde yapılamaması nedeniyle özellikle hastalık etkenini herhangi bir klinik belirti göstermeden taşıyan rezervuar konaklar, etkenin yayılım ve bulaşmasında rol oynamakta, böylece hem insan hem de hayvan sağlığını tehdit etmektedirler (Sommer ve ark., 2018; Cai ve ark., 2021). Son yıllarda moleküler tabanlı tekniklerin yaygınlaşmasıyla birlikte *G. duodenalis*, daha kesin ve hassas bir şekilde teşhis edilmeye başlanmıştır (Feng ve Xiao, 2011). Bu yöntemler içerisinde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yönteminin *G. duodenalis*'in direkt identifikasyonu noktasında moleküler karakterizasyon analizlerinin gerçekleştirilmesine temel oluşturduğu ve parazitin genetik yapısının detaylı bir şekilde incelenmesine olanak tanıyarak hastalığa karşı etkin kontrol ve mücadele stratejilerinin geliştirilmesinde önemli katkılar sağladığı bildirilmektedir (Wielinga ve Thompson, 2007; Feng ve Xiao, 2011).

Kedi ve köpekler gibi evcil hayvanlarda *G. duodenalis* enfeksiyonlarının tespiti, mevcut zoonotik risk nedeniyle büyük önem taşımaktadır (Cai ve ark., 2021). Özellikle yavru kedi ve köpekler, giardiasis olgularında sık rastlanılan ishal gibi klinik semptomlar göstermese bile rezervuar konaklar olarak parazitin kist formlarını çevrelerine yayabilmekte ve etkenin farklı konaklara bulaşmasında rol oynayabilmektedirler (Traub ve ark., 2004; Dado ve ark., 2012). Yetişkin kedi ve köpeklerde enfeksiyon yayma riski, gençlere kıyasla daha düşük olabilmekle birlikte yine bu hayvanlar da rezervuar konak olarak parazitin bulaşma ve yayılmasında görev alabilmektedir (Kurnosova ve ark., 2024). Bu nedenle, insanlarla yakın temasta olan ve hatta evde beslenen hayvanlara başta *G. duodenalis* olmak üzere zoonotik patojenlerin tespiti için güvenilirliği yüksek yöntemlerle yapılan tarama

testlerinin düzenli olarak uygulanması büyük önem arz etmektedir (Barutzki ve Schaper, 2011).

Son yıllarda çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarla kedi ve köpeklerde *G. duodenalis*'in moleküler epidemiyolojisi üzerine kapsamlı veriler elde edilmiştir (Feng ve Xiao, 2011; Cai ve ark., 2021). Türkiye'de ise günümüze kadar bu hayvanlarda *G. duodenalis* ile ilgili yapılan çalışmaların çoğunlukla konvansiyonel mikroskopik teşhis yöntemleri temelinde gerçekleştirildiği, etkenin moleküler düzeyde identifikasyonu ve filogenetik karakterizasyonlarının belirlenmesini içeren çalışmaların ise oldukça sınırlı olduğu görülmektedir. Ancak *G. duodenalis*'in bulaşma dinamiklerinin ortaya konması, epidemiyolojik faktörlerin analizi, çeşitli coğrafik bölgeler arasındaki ilişkilerin araştırılması ve etkin kontrol stratejilerinin geliştirilebilmesi için enfeksiyona yol açan genotip/alttiplerin moleküler olarak ortaya konulması ve filogenetik yapılanmalarının belirlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Sprong ve ark., 2009; Hao ve ark., 2024). Nitekim, Türkiye'de kedi ve köpeklerde *G. duodenalis* genotiplendirmesi üzerine yapılan sınırlı sayıda çalışmada zoonotik karakterli genotiplerin yaygın olarak bulunduğu rapor edilmiş ve bu kapsamda kontrol stratejilerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulduğu vurgulanmıştır (Gultekin ve ark., 2017; Sursal ve ark., 2020; Aslan Çelik ve ark., 2023a).

Bu çalışmada, Nevşehir yöresinde çeşitli şikayetler ile özel veteriner kliniklerine getirilen sahipli kedi ve köpeklerde, *G. duodenalis*'in varlığının ve moleküler prevalansının araştırılması, genetik karakterizasyonlarının sağlanması, filogenetik yapılanmalarının belirlenmesi ve elde edilecek moleküler epidemiyolojik veriler kapsamında halk sağlığı yönünden risk potansiyellerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Araştırma sahası ve örneklerin toplanması

Çalışmanın materyalini, 2023 yılında Nevşehir yöresinde çeşitli şikayetlerle (iştahsızlık, kusma, ateş, iştah kaybı, letarji, sarılık, kabızlık, ishal vb.) veteriner kliniklerine getirilen farklı yaş ve cinsiyetteki sahipli 100 kedi ve 100 köpekten tekniğine uygun olarak toplanan 200 adet dışkı örneği oluşturmuştur. Toplanan dışkı örnekleri öncelikle steril dışkı kaplarına aktarılmış ve daha sonra hayvanlara ait yaş ve cinsiyet bilgileriyle birlikte kayıt altına alınmıştır. Örnekler, ilk aşamada -20 °C'de muhafaza edilmiş ve sonrasında soğuk zincirde Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarları'na intikal ettirilmiştir. Örnek alınan hayvanların yaş ve cinsiyetlerine göre dağılımları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. İncelenen kedi ve köpek dışkı örnekleri ve *Giardia duodenalis* pozitifliğinin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı

	İncelenen Örnek Sayısı		Pozitif örnek sayısı		Toplam
	Köpek	Kedi	Köpek	Kedi	
Cinsiyet					
Dişi	52	43	1	-	1
Erkek	48	57	-	2	2
Yaş grubu (yıl)					
<1	37	23	-	-	-
1-3	30	35	1	1	2
>3	33	42	-	1	1
Toplam	100	100	1	2	3

Genomik DNA İzolasyonu

Dışkı örneklerinden genomik DNA izolasyonları, ticari kit (NucleoGene Stool DNA Quick Extraction Kit, NucleoGene, Türkiye) kullanılarak ve üreticinin belirlediği prosedür takip edilerek gerçekleştirilmiştir. İzole edilen genomik DNA'lar Qubit® 3.0 Fluorometric Quantitation (Thermo Scientific, Waltham, MA, ABD) cihazında işlenmiş ve total genomik DNA miktarları (ng/µl) belirlenmiştir. Takiben, ölçümleri tamamlanan genomik DNA'lar analize tabi tutulana kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

β-giardin Gen Bölgesinin Amplifikasyonu ve Sekans Analizleri

Dışkı numunelerinden elde edilen genomik DNA izolatları, *G. duodenalis*'in β-giardin gen bölgesini amplifiye eden ve Tablo 2'de verilen primerler ile nested PCR analizine tabi tutulmuştur. Reaksiyon karışımı 25 µl final konsantrasyonda; 12.5 µl ticari master mix (DreamTaq™ Hot Start Green PCR Master Mix, Thermo Scientific, ABD), 1.3 µl her bir primer (10 µM konsantrasyon), 7.9 µl steril ddH₂O ve 2 µl template DNA (10-20 ng/µl) içerecek şekilde hazırlanmıştır. Birinci amplifikasyon için protokol; ön denatürasyon: 95 °C'de 3 dk; denatürasyon: 95 °C'de 1 dk, bağlanma: 65 °C'de 30 s, uzama: 72 °C'de 1 dk, 35 siklus; final uzama: 72 °C'de 10 dk olacak şekilde dizayn edilmiştir. İkinci PCR'da ilk reaksiyon ürününden 1 µl amplikon kullanılmış steril ddH₂O miktarı 8.9 µl olarak ayarlanmış ve bağlanma sıcaklığı 55 °C olarak belirlenmiştir. PCR analizlerinin geçerliliğinin ve herhangi bir kontaminasyonun olup olmadığının test edilmesi amacıyla her analizde pozitif kontrol olarak laboratuvarı muhafaza edilen referans *G. duodenalis* genomik DNA'sı ile negatif kontrol olarak sterilize edilmiş ddH₂O kullanılmıştır.

Amplifikasyon sonunda elde edilen PCR ürünleri (5 µl) %1.5'luk agaroz jelde elektroforeze tabi tutularak, iBright™ CL1500 Jel Görüntüleme Sisteminde (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, ABD) görüntülenip analiz edilmiştir. Hedef baz aralığında görünen bantlar sekans analizleri öncesinde ticari kit kullanılarak (High Pure PCR Product Purification Kit, Roche, Almanya) jelden pürifiye edilmiştir.

Sekans analizleri ikinci PCR analizlerinde kullanılan forward ve reverse primer dizileri ile çift yönlü olarak gerçekleştirilmiştir (Macrogen Europe). Çift yönlü DNA dizisi belirlenen izolatlar ait kromotogramlar Quality (Phred) skorlarına göre dikkatlice analiz edildikten sonra Geneious Prime (<https://www.geneious.com>) yazılımında işlenmiş ve kalite skoru yüksek 511 bp uzunluğundaki hedef bölge sekansları sağlanarak izolatlar için final nükleotid dizilimleri elde edilmiştir.

Genotiplendirme ve Filogenetik Analizler

Çalışmada elde edilen izolatlar ait nükleotid dizilimleri, GenBank BLASTn algoritması (Altschul ve ark., 1990) kullanılarak GenBank'ta kayıtlı tüm *G. duodenalis* genotiplerine ait nükleotid sekansları ile çoklu hizalamaları yapılarak karşılaştırılmış ve moleküler karakterizasyonları yapılmıştır. Takiben karakterize edilen nükleotid dizilerinin GenBank veri bankasına kayıtları yapılmış ve erişim numaraları alınmıştır. *Giardia duodenalis* izolatları arasındaki genetik farklılıklar Geneious Prime yazılımı kullanılarak belirlenmiştir.

Filogenetik yapılanmaların belirlenmesinde Maximum Likelihood (ML) analizleri uygulanmıştır. Bu kapsamda öncelikle GenBank veri tabanında kayıtlı çeşitli assemblage'lere ait izolatların β-giardin gen bölgesi dizilimleri ile veri seti oluşturulmuştur. Daha sonra ML

Tablo 2. β-giardin gen bölgesinin nested PCR analizlerinde kullanılan primerler

	Primer İsmi	Primer Dizilimi (5' - 3')	Kaynak
1. PCR	G7	AAGCCCGACGACCTCACCCGACGTGC	Cacciò ve ark. (2002)
	G759	GAGGCCGCCCTGGATCTTCGAGACGAC	
2. PCR	2005F	GAACGAACGAGATCGAGGTCCG	Lalle ve ark. (2005)
	2005R	CTCGACGAGCTTCGTGTT	

analizleri için en uygun modelin belirlenmesinde jModelTest v.0.1.1 (Posada, 2008) kullanılmış ve en düşük AIC (Akaike Information Criterion) değeri model filogenetik ağaçların oluşturulmasında tercih edilmiştir. ML analizleri MEGA X (Kumar ve ark., 2018) yazılımı üzerinden gerçekleştirilmiştir. ML analizleriyle oluşturulan ağaçların güvenilirliğinin tespit edilmesinde 1000 tekrarlı Bootstrap testi kullanılmıştır.

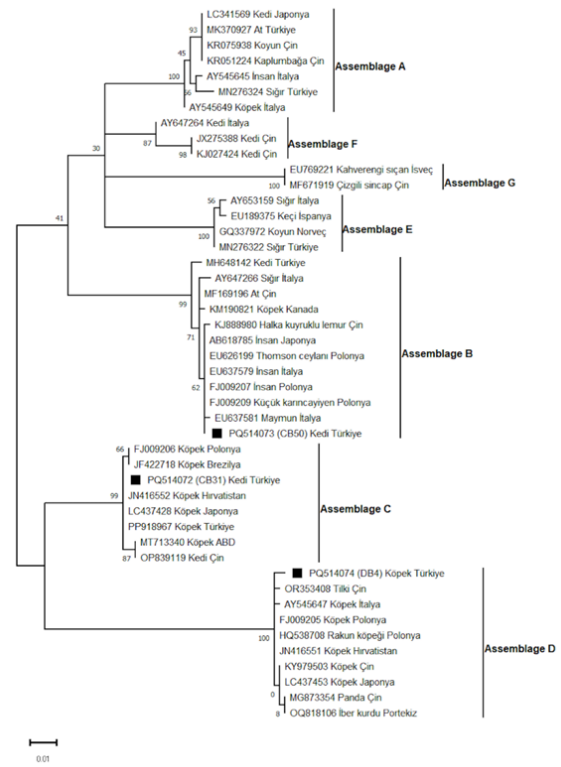
Bulgular

Nested PCR analizleri sonucu farklı yaş ve cinsiyetteki sahipli 100 kedi ve 100 köpeğe ait dışkı örneklerinden elde edilen toplam 200 genomik DNA örneğinin üçünde (%1.5) *G. duodenalis* DNA'sı tespit edilmiştir (Tablo 1). *Giardia duodenalis* pozitifliği sahipli kedilerde, köpeklere kıyasla daha yüksek oranda gözlenmiştir. Bununla birlikte erkeklerde ve 1-3 yaş aralığında bulunan hayvanlarda, dişilere ve diğer yaş gruplarına kıyasla daha fazla sayıda pozitiflik tespit edilmiştir (Tablo 1). Pozitif örnek sayısının düşük olması nedeniyle örneklenen kedi ve köpeklerin yaş ve cinsiyetleri temelinde herhangi bir istatistik analiz ve değerlendirme yapılamamıştır.

Yapılan analizler sonucunda β -giardin gen bölgesine göre sekanslanan toplam üç izolattın, üç farklı genotip yapısında olduğu tespit edilmiştir. Bu izolatlara, oluşturulan protokol numaraları kapsamında CB31 (kedi), CB50 (kedi) ve DB4 (köpek) olarak isimlendirilmiştir. CB31 izolattının, CB50 ve DB4 izolatlara sırasıyla %94.9 ve %93.9 oranlarında, CB50 izolattının ise DB4 izolattına %92.9 oranında genetik benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

CB31, CB50 ve DB4'ün GenBank BLASTn analizleri ile yüksek genetik benzerlik gösterdikleri saptanan kayıtlı izolatlara ile yapılan analizler sonucunda 2 yaşındaki erkek kedi dışkısından izole edilen CB31'in Assemblage C'de yer aldığı belirlenirken, 5.5 yaşındaki erkek kedi dışkısından elde edilen CB50'nin ise zoonotik Assemblage B'de bulunduğu tespit edilmiştir. 1.5 yaşındaki dişi bir köpek dışkısından izole edilen DB4'te yine aynı analizlere tabi tutulmuş ve bu genotipin Assemblage D'de yer aldığı görülmüştür. İzolatlar, PQ514072 (CB31), PQ514073 (CB50) ve PQ514074 (DB4) aksesyon numaraları ile GenBank veri tabanına kaydedilmiştir.

Filogenetik analizler için oluşturulan β -giardin gen bölgesi veri setine, çalışmadan elde edilen Assemblage C, B ve D'de yer alan sırasıyla CB31, CB50 ve DB4 izolatlarıyla birlikte GenBank'ta mevcut olan farklı assemblajelerde yer alan toplam 46 izolat dahil edilmiştir. ML filogenisi için en uygun model Tamura-Nei (GTR+G+I) olarak belirlenmiş ve midpoint temelli filogenetik ağaç oluşturulmuştur (Şekil 1).



Şekil 1. *Giardia duodenalis* izolatlarının β -giardin gen bölgesi Maximum Likelihood (ML) analizine göre filogenetik ilişkileri. Çalışmada belirlenen izolat isimlerinin başına siyah kare işareti konmuştur. Düğümlelerin önündeki rakamlar ML olasılığını göstermektedir. Ölçek çizgisi yerleşim yeri başına nükleotid değişimini göstermektedir

Şekil 1'de görüldüğü üzere analize dahil edilen tüm izolatlara, assemblage bazında monofiletik yapıda bir kümelenme göstermiş ve filogenetik çözünürlük, genotipler bazında yüksek bootstrap oranları ile desteklenmiştir. Assemblage A, E, F ve G'de yer alan izolatlara birbirine yakın kardeş kladlar oluştururken Assemblage B'nin bu assemblajelerle aynı düğümde temsil edildiği fakat uzak bir klad oluşturduğu görülmektedir. Bunun yanında Assemblage C ve D'nin ise söz konusu assemblajelerden farklı bir düğüm ile temsil edildiği ve birbirine yakın kardeş kladlar oluşturdukları görülmektedir.

Çalışmada kedi dışkısından izole edilen CB31'in filogenetik ağaçta (Şekil 1) Assemblage C'de yer alan izolatlarla birlikte kümelenildiği ve Hırvatistan (JN416552), Japonya (LC437428) ve Türkiye (PP918967)'de bulunan köpeklerin dışkılarında elde edilen *G. duodenalis* izolatlarıyla %100 identiklik gösterdiği belirlenmiştir. Öte yandan çalışmada yine kedi dışkısından izole edilen CB50'nin ise Assemblage B'de yer alan izolatlarla birlikte kümelenildiği ve Ja-

ponya (AB618785), Polonya (EU626199, FJ009207, FJ009209) ve İtalya (EU637579)'dan sırasıyla insan, Thomson ceylanı ve küçük karıncayiyen ile %100'lük bir genetik benzerlik oranı gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 1). Çalışmada köpek dışkısından izole edilen DB4'ün de Assemblage D'de yer alan izolatlarla birlikte kümelendiği ve en yüksek genetik benzerliği % 99.8 ile Çin (KY979503) ve Japonya (LC437453)'da köpek dışkılarından izole edilerek kaydedilen *G. duodenalis* izolatlarıyla gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 1).

Tartışma ve Sonuç

Türkiye'de kedi ve köpekler üzerinde yürütülen ve teşhis metodu olarak hem yüksek hassasiyet ve özgünlüğe sahip olması hem de zoonotik karakterli genotiplerin belirlenebilmesi amacıyla nükleik asit temelli yöntemler içerisinde PCR yönteminin kullanıldığı çalışmaların oldukça sınırlı olduğu görülmektedir. Bu kapsamda kediler üzerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde, Sursal ve ark. (2020)'nın *G. duodenalis*'in moleküler yöntemlerle teşhisi noktasında ilk çalışmayı gerçekleştirmiş oldukları ve moleküler prevalansı %29.4 olarak belirledikleri görülmektedir. Takiben Önder ve ark. (2021) Kayseri ve Samsun yörelerinde 100 kedide *G. duodenalis*'in varlığını moleküler yöntemleri kullanarak araştırdıkları çalışmalarında 8 (%8) kedide pozitiflik tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Aslan Çelik (2022) ve Aslan Çelik ve ark. (2023a)'nın sırasıyla Mardin ve Siirt yörelerindeki kedilerde yaptıkları çalışmalarda %16.6 ve %2.5 prevalans oranlarında *G. duodenalis* pozitifliği saptadıkları görülmektedir. Bunun yanında Türkiye'de köpekler üzerinde yürütülen moleküler çalışmalar incelendiğinde ise Gultekin ve ark. (2017)'nin Aydın yöresinde sahipli köpeklerin yanında barınak köpeklerini de dahil ettikleri moleküler çalışmalarında *G. duodenalis* pozitifliğini %18.8 olarak bildirildikleri görülmüştür. Öte yandan Aslan Çelik ve ark. (2023b) Diyarbakır yöresinde barınak köpekleri üzerinde yürüttükleri çalışmalarında bu oranı %4 olarak bildirmişlerdir.

Çalışmamızda farklı yaş ve cinsiyette 100 kedi ve 100 köpek olmak üzere toplam 200 sahipli hayvandan tekniğine uygun bir şekilde alınan dışkı örnekleri, genomik DNA izolasyonunu takiben nested PCR yöntemi ile *G. duodenalis* varlığı yönünden araştırılmıştır. PCR analizleri sonucunda ikisi kedi (%2) ve biri köpek (%1) olmak üzere toplam üç (%1.5) hayvanda *G. duodenalis* DNA'sı saptanmıştır. Bu kapsamda çalışmamızda sahipli kedi ve köpeklerde *G. duodenalis* prevalansının yukarıda bahsedilen Türkiye'deki kedi ve köpekler üzerinde gerçekleştirilen moleküler çalışmalardan bildirilen prevalans oranlarına kıyasla daha düşük olduğu dikkati çekmiştir. Bu durumun dışkı örneği alınan evde beslenen kedi ve köpeklerin bakım şartlarının barınak veya sokak şartlarına göre oldukça yüksek olması ve dolayısıyla hayvanların *Giardia* kistleri ile kontamine olmuş besin ve su kaynaklarından uzak olmaları, hijyen, dışkı kontrolü ve

genel bakım besleme koşullarının diğer çalışmalarda örneklenen hayvanlara göre daha yüksek derece sağlanması neticesinde gerçekleşebileceğinin yanında örneklem sayısı, coğrafik bölge koşulları ve iklimsel özelliklere de bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Giardia duodenalis'in genotip ve alt genotiplerinin saptanması ve moleküler karakterizasyonu enfeksiyonun epidemiyolojisi, surveyans, korunma ve kontrolde oldukça önem arz etmektedir. *Giardia duodenalis*'in genotiplendirilmesi için sık kullanılan genler β -giardin, triose phosphate isomerase, glutamate dehydrogenase ve küçük alt ünite ribozomal RNA (ssu-rRNA) genleridir (Ryan ve Caccio, 2013). Tüm bu gen bölgelerine ait sekansların tek başına veya birlikte kullanılması neticesinde *G. duodenalis*'in genotip ve alt genotipleri üzerine veriler sağlanabilmektedir (Pallant ve ark., 2015). *Giardia duodenalis*'in hem konak spesifik genotipleri (C-H) hem de belirli bir konakla sınırlı olmayan genotiplerinin (A ve B) varlığı, ilgili genlerin sekans analizleriyle ortaya koyulmuştur (Cai ve ark., 2021). Bu kapsamda çalışmamızda *G. duodenalis*'in genotiplendirilmesinde en sık kullanılan genlerden biri olan β -giardin geni amplifiye edilmiş ve böylece elde edilen izolatların genotipleri hakkında veriler sağlanarak ilgili veri bankalarına kayıtları gerçekleştirilmiştir.

Köpeklerde, Assemblage C ve D en yaygın genotip grupları olarak bildirilmekle birlikte, zoonotik Assemblage A da köpeklerde yine yaygın bir grup olarak belirtilmektedir (Cai ve ark., 2021). Assemblage A ve canin-spesifik assemblagelerin (C ve D) dağılımı göz önüne alındığında, köpeklerde *G. duodenalis*'in bulaşmasının iki farklı yol ile olabileceği varsayılmaktadır (Feng ve Xiao, 2011). Bunların ilki Assemblage C ve D temelinde, kötü hijyen şartlarına sahip, kalabalık barınaklar veya yaşam alanlarında köpekten köpeğe bulaşma şeklidir (Feng ve Xiao, 2011). Diğer bulaşma şekli ise zoonotik Assemblage A temelinde sahipli köpekler ve insanlar arasında gerçekleşen bulaşma durumudur (Feng ve Xiao, 2011). Nitekim Thompson ve ark. (2008) çalışmalarında aynı evi paylaşan insan ve köpeklerden izole ettikleri *G. duodenalis* izolatlarının genetik olarak identik oldukları bildirmişlerdir. Araştırmacılar (Thompson ve ark., 2008), elde ettikleri bu verilerle *G. duodenalis*'in hem köpekten insanlara hem de insanlardan köpeklere bulaşabildiğini kaydetmişlerdir. Assemblage B köpeklerde çoğunlukla sporadik olarak bildirilmesine rağmen (Feng ve Xiao 2011) İspanya'da yapılan bir çalışmada (Gil ve ark., 2017), Assemblage B'nin köpeklerdeki *G. duodenalis* enfeksiyonlarının %42.1'ini (8/19) oluşturduğu kaydedilirken, Assemblage C ve D'nin ise yalnızca %21.1 oranında tespit edildiği bildirilmiştir. Gultekin ve ark. (2017)'nin Türkiye'de yaptıkları bir çalışmada ise Assemblage B, genotiplendirmesi yapılan 89 köpek izolatının 51'inde (%57.3) tespit edilmiştir. Yapılan bu son çalışmalar göz önüne alındığında özellikle son yıllarda köpeklerde Assemblage A ve B'nin yayılışın-

da bir artış olduğu, bunun da insanlar ve köpeklerin bir arada daha çok yaşamaya başlaması sonucunda *G. duodenalis*'in yaşam çemberini insan-köpek döngüsü çerçevesinde devam ettirebileceği, dolayısıyla da bulaşmanın insan-köpek temelinde daha çok gerçekleşebileceği dikkati çekmiştir. Çalışmamızda farklı yaş ve cinsiyetten 100 sahipli köpekten alınan dışkı örneklerinin sadece birinde *G. duodenalis* pozitifliği saptanmış ve yapılan genotip analizleri sonucunda bu izolatin zoonotik assemblajelerden farklı şekilde canin-spesifik olarak nitelendirilen Assemblage D'de yer aldığı tespit edilmiştir. Bu kapsamda çalışmamızda *G. duodenalis* pozitif bulunan 1.5 yaşındaki bu dişi köpeğin etkeni muhtemelen başka bir enfekte köpekten almış olabileceği düşünülmüştür.

Kedilerde *G. duodenalis*'in genotiplendirildiği çalışmalar dikkate alındığında bu hayvanların çoğunlukla feline-spesifik Assemblage F ile enfekte oldukları belirtilmiştir (Cai ve ark., 2021). Zoonotik Assemblage A ise F'den sonra kedilerde en yaygın görülen *G. duodenalis* genotip grubu olarak bildirilmektedir (Cai ve ark., 2021). Nitekim Kanada'da Hoopes ve ark. (2015)'nin yaptıkları bir çalışmada, kedilerden elde edilen ve genotiplendirmesi yapılan sekiz izolatin tümünün zoonotik Assemblage A'da yer aldığı ifade edilmiştir. Assemblage B, C ve D kedilerden izole edilen örneklerde az sayıda bildirilmelerine rağmen Sursal ve ark. (2020) Türkiye'de yaptıkları çalışmalarında kedilerden izole ettikleri tüm *G. duodenalis* izolatlarının Assemblage B'de yer aldıklarını bildirmişlerdir. Yine Önder ve ark. (2021) Kayseri ile Samsun yörelerinde ve Aslan Çelik ve ark. (2023a) Siirt yöresindeki kedilerde yaptıkları çalışmalarda genotiplendirdikleri tüm izolatların Assemblage B'de yer aldıklarını belirtmişlerdir. Dünya'nın farklı bölgelerinde yürütülen diğer çalışmalarda da kedilerden elde edilen izolatların feline-spesifik assemblajelerin yanında Assemblage B'de de yer aldıkları bildirilmiştir (Jaros ve ark., 2011; McDowall ve ark., 2011; Pallant ve ark., 2015; Lijima ve ark., 2018). Çalışmamızda farklı yaş ve cinsiyetten 100 sahipli kediden alınan dışkı örneklerinin ikisinde *G. duodenalis* pozitifliği saptanmış ve yapılan moleküler genotiplendirme analizleri sonucunda bu izolatların Assemblage B ve C'de yer aldıkları tespit edilmiştir. Bu kapsamda çalışmamızda zoonotik Assemblage B olarak genotiplendirilen izolatin Türkiye'de kedilerden bildirilen diğer tüm izolatlarla aynı genotip grubunda olduğu görülmüştür. Bunun yanında Assemblage B'nin Türkiye'de insanlarda (Aydin ve ark., 2004) ve hatta su kaynaklarında da (Koloren ve ark., 2016) tespit edilmiş olması bu genotip grubunun ülkede yaygın bir şekilde seyrettiğini göstermektedir. Dolayısıyla çalışmamızda elde edilen Assemblage B'nin 5.5 yaşındaki erkek kediye başta insan olmak üzere diğer kedilerden veya kontamine sularla bulaşmış olma ihtimali göz önüne alınmış ve söz konusu hayvanın sporadik olarak kist atımı yapabileceği düşünüldüğünde, başta insanlar olmak üzere

diğer hayvanlar için oluşturabileceği risk faktörleri dikkati çekmiştir. Çalışmamızda ayrıca 2 yaşındaki erkek kedi dışkısından izole edilen diğer *G. duodenalis* izolati ise Assemblage C'de yer almıştır. Assemblage C grubunda yer alan izolatlar daha çok köpeklerden bildirilmesine rağmen çalışmamızda bu izolatin bir kediden bildirilmesi rastlantısal olarak değerlendirilmekle birlikte, Türkiye'de kedilerde bu gruptan bildirilen ilk izolat olması önem arz etmiştir. Ayrıca Dünya'da yapılan diğer çalışmalar (Mancianti ve ark., 2015; Adriana ve ark., 2016; Xu ve ark., 2016; Ito ve ark., 2017; Kostopoulou ve ark., 2017; Liu ve ark., 2017; Tangtrongsup ve ark., 2020) incelendiğinde Assemblage C'nin kedilerden izole edilen izolat gruplarında az sayıda da olsa bildirildiği görülmektedir. Bunun yanında Assemblage C'nin sadece köpekgillerden bildirilen spesifik bir grup olmadığı da dikkati çekmektedir. Nitekim, Traub ve ark. (2009) yapmış oldukları çalışmalarında insanlardan elde edilen izolatların (%2.5) Assemblage C grubunda yer aldıklarını bildirmişlerdir. Bu da Assemblage C'nin gelecekte zoonotik bir önem taşıyabileceği ve halk sağlığı yönünden tehdit oluşturabileceği ihtimalini göz önüne getirmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmayla birlikte, Nevşehir yöresindeki sahipli kedi ve köpeklerde *G. duodenalis*'in moleküler prevalansı ve genetik karakterizasyonu ilk kez ortaya koyulmuştur. Bu çalışma aynı zamanda Türkiye'de kedilerde Assemblage C grubunda yer alan bir izolatin bildirildiği ilk çalışma özelliğini de taşımaktadır. Bu kapsamda çalışmada Dünya literatürü için özgün veriler sağlanmış olmakla birlikte kedi ve köpeklerin insan enfeksiyonları için oluşturabilecekleri risk potansiyeline dikkat çekilmiştir. Çalışma, elde edilen sonuçlar çerçevesinde Türkiye'de *G. duodenalis* enfeksiyonlarının tek sağlık temelinde bir bütün olarak ele alınması gerekliliğini bir kez daha ortaya koymuş ve gelecekte giardiasisin moleküler epidemiyolojisi ile giardiasise karşı korunma ve kontrol stratejilerinin geliştirilmesi noktasında daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermiştir.

Teşekkür

Bu çalışmayı TYL-2024-13516 proje kodu ile destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Adeyemo FE, Singh G, Reddy P, Stenström TA. Methods for the detection of *Cryptosporidium* and *Giardia*: From microscopy to nucleic acid based tools in clinical and environmental regimes. Acta Trop 2018; 184: 15-28.
- Adriana G, Zsuzsa K, Mirabela Oana D, Mircea GC, Viorica M. *Giardia duodenalis* genotypes in domestic and wild animals from Romania identified by PCR-RFLP targeting the *gdh* gene. Vet Parasitol

- 2016; 217: 71-5.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 1990; 215(3): 403-10.
- Aslan Çelik B, Çelik ÖY, Ayan A, Akyıldız G, Oruç Kılıncı Ö, Oktay Ayan Ö, Ercan K. Preliminary investigation of the prevalence and genotype distribution of *Cryptosporidium* spp., and *Giardia duodenalis* in cats in Siirt, Turkey. *Acta Vet-Beograd* 2023a; 73(3): 317-324.
- Aslan Çelik B, Çelik ÖY, Koçhan A, Ayan A, Oruç Kılıncı Ö, Akyıldız G, İrak K, Oktay Ayan Ö, Ercan K. Prevalence and genotypes of *Giardia duodenalis* in shelter dogs of southeastern Türkiye. *Vet Res Forum* 2023b; 14(11): 595-599.
- Aslan Çelik B. First detection of *Giardia duodenalis* in cats in Mardin province. *FU Vet J Health Sci* 2022; 36(2): 108-11.
- Aydin AF, Besirbellioglu BA, Avci IY, Tanyuksel M, Araz E, Pahsa A. Classification of *Giardia duodenalis* parasites in Turkey into groups A and B using restriction fragment length polymorphism. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004; 50(2): 147-51.
- Barutzki D, Schaper R. Results of parasitological examinations of faecal samples from cats and dogs in Germany between 2003 and 2010. *Parasitol Res* 2011; 109 Suppl 1: S45-S60.
- Cacciò SM, De Giacomo M, Pozio E. Sequence analysis of the β -giardin gene and development of a polymerase chain reaction-restriction fragment 35 length polymorphism assay to genotype *Giardia duodenalis* cysts from human faecal samples. *Int J Parasitol* 2002; 32(8): 1023-30.
- Cai W, Ryan U, Xiao L, Feng Y. Zoonotic giardiasis: an update. *Parasitol Res* 2021; 120(12): 4199-218.
- Dado D, Montoya A, Blanco MA, Miró G, Saugar JM, Bailo B, Fuentes I. Prevalence and genotypes of *Giardia duodenalis* from dogs in Spain: possible zoonotic transmission and public health importance. *Parasitol Res* 2012; 111(6): 2419-22.
- Dixon BR. *Giardia duodenalis* in humans and animals - Transmission and disease. *Res Vet Sci* 2021; 135: 283-89.
- Feng Y, Xiao L. Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clin Microbiol Rev* 2011; 24(1): 110-40.
- Gil H, Cano L, de Lucio A, Bailo B, de Mingo, MH, Cardona GA, Fernández-Basterra JA, Aramburu-Aguirre J, López-Molina N, Carmena D. Detection and molecular diversity of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in sheltered dogs and cats in Northern Spain. *Infect Genet Evol* 2017; 50: 62-9.
- Gultekin M, Ural K, Aysul N, Ayan A, Balıkcı C, Akyıldız G. Prevalence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* in dogs in Aydın, Turkey. *Int J Environ Health Res* 2017; 27(3): 161-8.
- Hao Y, Liu A, Li H, Zhao Y, Yao L, Yang B, Zhang W, Yang F. Molecular characterization and zoonotic potential of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in humans and domestic animals in Heilongjiang Province, China. *Parasit Vectors* 2024; 17(1): 155.
- Hoopes J, Hill JE, Polley L, Fernando C, Wagner B, Schurer J, Jenkins E. Enteric parasites of free-roaming, owned, and rural cats in prairie regions of Canada. *Can Vet J* 2015; 56(5): 495-501.
- Lijima Y, Itoh N, Ito Y, Kimura Y. Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* isolates from household cats and pet shop kittens. *Vet Parasitol* 2018; 259: 44-8.
- Ito Y, Lijima Y, Itoh N, Kimura Y. Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* isolates from breeding cattery cats in Japan. *JFMS Open Rep* 2017; 3(2): 2055116917745237.
- Jaros D, W Zygmier, S Jaros, H. Wedrychowicz. Detection of *Giardia intestinalis* assemblages A, B and D in domestic cats from Warsaw, Poland. *Pol J Microbiol* 2011; 60: 259-63.
- Koehler AV, Jex AR, Haydon SR, Stevens MA, Gasser RB. Giardia/giardiasis - a perspective on diagnostic and analytical tools. *Biotechnol Adv* 2014; 32(2): 280-89.
- Koloren Z, Seferoğlu O, Karanis P. Occurrence of *Giardia duodenalis* assemblages in river water sources of Black Sea, Turkey. *Acta Trop* 2016; 164: 337-44.
- Kostopoulou D, Claerebout E, Arvanitis D, Ligda P, Voutzourakis N, Casaert S, Sotiraki S. Abundance, zoonotic potential and risk factors of intestinal parasitism amongst dog and cat populations: The scenario of Crete, Greece. *Parasit Vectors* 2017; 25;10(1):43.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol* 2018; 35(6): 1547-49.
- Kurnosova OP, Panova OA, Arisov MV. Prevalence of *Giardia duodenalis* in dogs and cats: age-related predisposition, symptomatic, and asymptomatic cyst shedding. *Vet World* 2024; 17(2): 379-83.

- Lalle M, Pozio E, Capelli G, Bruschi F, Crotti D, Cacciò SM. Genetic heterogeneity at the beta-giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *Int J Parasitol* 2005; 35(2): 207-13.
- Lane S, Lloyd D. Current trends in research into the water borne parasite *Giardia*. *Crit Rev Microbiol* 2002; 28(2): 123-47.
- Liu H, Shen Y, Liu A, Yin J, Yuan Z, Jiang Y, Pan W, Zhang Y, Zhao W, Cao J. Occurrence and multi-locus genotyping of *Giardia duodenalis* in pets and zoo animals in Shanghai, China. *J Infect Dev Ctries* 2017; 11(6): 479-86.
- Mancianti F, Nardoni S, Mugnaini L, Zambernardi L, Guerrini A, Gazzola V, Papini RA. A retrospective molecular study of select intestinal protozoa in healthy pet cats from Italy. *J Feline Med Surg* 2015; 17(2): 163-67.
- McDowall RM, Peregrine AS, Leonard EK, Lacombe C, Lake M, Rebelo AR, Cai HY. Evaluation of the zoonotic potential of *Giardia duodenalis* in fecal samples from dogs and cats in Ontario. *Can Vet J* 2011; 52(12): 1329-33.
- Monis PT, Cacciò SM, Thompson RC. Variation in *Giardia*: towards a taxonomic revision of the genus. *Trends Parasitol* 2009; 25(2): 93-100.
- Önder Z, Yetişmiş G, Pekmezci D, Delibaşı Kökçü N, Pekmezci GZ, Çiloğlu A, Düzlü Ö, İnci A, Yıldırım A. Investigation of zoonotic *Cryptosporidium* and *Giardia intestinalis* species and genotypes in cats (*Felis catus*). *Türkiye Parazit Derg* 2021; 45(4): 252-56.
- Pallant L, Barutzki D, Schaper R, Thompson RC. The epidemiology of infections with *Giardia* species and genotypes in well cared for dogs and cats in Germany. *Parasit Vectors* 2015; 8: 2.
- Posada D. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Mol Biol Evol* 2008; 25(7): 1253-56.
- Ryan U, Cacciò SM. Zoonotic potential of *Giardia*. *Int J Parasitol* 2013; 43(12-13): 943-56.
- Soares R, Tasca T. Giardiasis: an update review on sensitivity and specificity of methods for laboratorial diagnosis. *J Microbiol Methods* 2016; 129: 98-102.
- Sommer MF, Rupp P, Pietsch M, Kaspar A, Beelitz P. *Giardia* in a selected population of dogs and cats in Germany - diagnostics, coinfections and assemblages. *Vet Parasitol* 2018; 249: 49-56.
- Sprong H, Cacciò SM, van der Giessen JW; ZO-OPNET network and partners. Identification of zoonotic genotypes of *Giardia duodenalis*. *PLoS Negl Trop Dis* 2009; 3(12): e558.
- Sursal N, Simsek E, Yildiz K. Feline giardiasis in Turkey: prevalence and genetic and haplotype diversity of *Giardia duodenalis* based on the β -giardin gene sequence in symptomatic cats. *J Parasitol* 2020; 106(5): 699-706.
- Tangtrongsup S, Scorza AV, Reif JS, Ballweber LR, Lappin MR, Salman MD. Seasonal distributions and other risk factors for *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. infections in dogs and cats in Chiang Mai, Thailand. *Prev Vet Med* 2020; 174: 104820.
- Thompson RC, Palmer CS, O'Handley R. The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. *Vet J* 2008; 177(1): 18-25.
- Traub RJ, Inpankaew T, Reid SA, Sutthikornchai C, Sukthana Y, Robertson ID, Thompson RC. Transmission cycles of *Giardia duodenalis* in dogs and humans in Temple communities in Bangkok—a critical evaluation of its prevalence using three diagnostic tests in the field in the absence of a gold standard. *Acta Trop* 2009; 111(2): 125-32.
- Traub RJ, Monis PT, Robertson I, Irwin P, Mencke N, Thompson RC. Epidemiological and molecular evidence supports the zoonotic transmission of *Giardia* among humans and dogs living in the same community. *Parasitology* 2004; 128(3): 253-62.
- Upcroft J, Upcroft P. My favorite cell: *Giardia*. *Bioessays* 1998; 20(3): 256-63.
- Wielinga CM, Thompson RC. Comparative evaluation of *Giardia duodenalis* sequence data. *Parasitology* 2007; 134(12): 1795-821.
- Xu H, Jin Y, Wu W, Li P, Wang L, Li N, Feng Y, Xiao L. Genotypes of *Cryptosporidium* spp., *Enterocytozoon bieneusi* and *Giardia duodenalis* in dogs and cats in Shanghai, China. *Parasit Vectors* 2016; 9: 121.