

Türkiye'nin Güney ve Güneydoğusundaki Evlerin İklimlendirmelerinde *Balamuthia mandrillaris* Parazitinin İzolasyonu

Isolation of *Balamuthia mandriallaris* Parasite from air Conditioning of the Houses in South and Southeast of Turkey

Fadime EROĞLU^{1,2}

¹ FaBiyosıt Mikrobiyoloji-Biyoteknoloji ArGe Hizmetleri, Adana.

¹ FaBiyosıt Microbiology-Biotechnology R&D Co., Adana, Turkey.

² Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Adana.

² Çukurova University Institute of Science, Department of Biotechnology, Adana, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 24.04.2018 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 28.06.2018

ÖZ

Serbest yaşayan amipler insanlarda ve hayvanlarda *Acanthamoeba keratiti*, granülatöz amibik ensefalit, primer amibik meningoensefalit gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olmaktadır. Günümüze kadar insanlarda hastalığa neden olan serbest yaşayan amipler arasında yer alan *Acanthamoeba*, *Balamuthia mandriallis*, *Naegleria fowleria* ve *Sappinia* türleri birçok çevresel örnekten izole edilmiş ancak insanların evlerinde havalandırma amacıyla kullandıkları klimalardaki filtrelerden izole edilmemiştir. Bu çalışmada, araştırma bölgesinde yaşayan insanların evlerinde kullandıkları klimaların filtrelerinde serbest yaşayan amiplerin varlığının moleküler yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır. Adana ve Gaziantep il merkezlerindeki toplam 30 evde bulunan klimaların filtrelerinden toz örnekleri alınmıştır. Toz örneklerindeki patojenlere ait DNA'lar DNeasy PowerSoil kiti (Qiagen, Almanya) ile elde edilerek *Acanthamoeba* cinsi, *B.mandrillaris*, *N.fowleria* ve *Sappinia* türlerine özgü primerler ile çalışılmıştır. Çalışmanın sonucunda, Adana ilinde %33.3 (5/15) oranında *Acanthamoeba* spp., %6.6 (1/15) oranında *B.mandrillaris* izolatı bulunmuştur. Diğer yandan, Gaziantep ilinde %26.6 (4/15) oranında *Acanthamoeba* spp., %13.3 (2/15) oranında *B.mandrillaris* izolatı saptanmıştır. Her iki şehirde de *N.fowleria* veya *Sappinia* türlerine rastlanmamıştır. Tür düzeyinde doğrulama amacıyla DNA dizi analizi yapılmış ve sonuçlar %99-100 oranında Gen Bankasındaki diğer türler ile benzerlik göstermiştir. DNA dizi analizi ile çalışmada izole edilen *Acanthamoeba*'ların %66.6 (6/9)'ününün *Acanthamoeba castellanii* (T4), %33.3 (3/9)'ününün *Acanthamoeba griffini* (T3) olduğu tespit edilmiştir. *Acanthamoeba* türlerinin şehirlere göre dağılımında Adana'da %33.3 (3/9) *A.castellanii*, %22.2 (2/9) *A.griffini*; Gaziantep'de ise %33.3 (3/9) *A.castellanii* ve %11.1 (1/9) *A.griffini* olduğu saptanmıştır. Parazitlerin şehirler arasındaki dağılımında anlamlı bir fark ($p > 0.1$) görülmemiştir. Serbest yaşayan amiplerin neden olduğu hastalıklar hakkında toplumun bilinçlendirilmesi önem taşımaktadır. Daha önce

İletişim (Correspondence): Doç. Dr. Fadime Eroğlu, FaBiyosıt Mikrobiyoloji-Biyoteknoloji ArGe, Çukurova Üniversitesi Teknokent Binası B Blok No: 201, Sarıçam, Adana, Türkiye.

Tel (Phone): +90 535 959 8575, **E-posta (E-mail):** eroglufadime@hotmail.com

yapılan çalışmalarda Türkiye'deki çevresel materyallerden *Acanthamoeba* spp. Çok sık bildirilmekte birlikte, *B.mandriallis* rapor edilmemiştir. Bu çalışmada klimalarda bulunan toz partiküllerinde *B.mandriallis*'in varlığı belirlenmiştir. Bu sonuç insanların yaşam alanlarında serbest yaşayan amiplerin hastalıkları açısından risk taşıdıklarını göstermektedir. Öncelikle sağlık personelinin, daha sonra halkın ölümcül olan parazitler konusunda bilgilendirilmesi ve belirli dnemelerde evlerde klima temizliğinin yapılması gerektiği vurgulanmalıdır.

Anahtar sözcükler: *Acanthamoeba castellanii*; *Acanthamoeba griffini*; *Balamuthia mandrillaris*; serbest yaşayan amipler; iklimlendirme sistemi; polimeraz zincir reaksiyonu.

ABSTRACT

The free living amoebae cause various infections such as *Acanthamoeba* keratitis, granulomatous amoebic encephalitis, primer amoebic meningoencephalitis in humans and animals. The free living amoebae *Acanthamoeba*, *Balamuthia mandriallis*, *Naegleria fowleria* and *Sappinia* species that cause disease in humans have been isolated from many environmental materials until today. However, no isolation has been reported from the filters of the air conditions from the houses used for ventilation. The aim of this study was to investigate the existence of free living amoebae using molecular methods in the filters of air-conditions used in the study living area of the people. A total of 30 dust samples were taken from the filters of air-conditions in Adana and Gaziantep province of Turkey. DNA isolation of the dust samples was performed using the DNeasy PowerSoil kit (Qiagen, Germany) and polymerase chain reaction was done with specific primers of *Acanthamoeba* spp., *B.mandriallis*, *N.fowleria* and *Sappinia* species. As a result of this study, *Acanthamoeba* spp. was determined as 33.3% (5/15) and *B.mandriallis* was determined as 6.6% (1/15) in Adana province. On the other hand, *Acanthamoeba* species was determined as 26.6% (4/15) and *B.mandriallis* was determined as 13.3% (2/15) in Gaziantep province. *N.fowleria* and *Sappinia* species were not detected in both of the cities. DNA sequence analysis was performed for the confirmation of the species and 99% of the results were similar to the other species in GenBank. The rates of *Acanthamoeba castellanii* and *Acanthamoeba griffini* (T3) were determined as %66.6 (6/9) and 33.3% (3/9), respectively by DNA sequencing. Distribution of *Acanthamoeba* species according to the cities were 33.3% (3/9) for *A.castellanii* and 22.2% (2/9) for *A.griffini* in Adana. It was 33.3% (3/9) for *A.castellanii* and 11.1% (1/9) for *A.griffini* in Gaziantep. There was no significant difference in the distribution of the parasite species among cities ($p > 0.1$). It is important to raise awareness of the diseases caused by free living amoebae among people. *Acanthamoeba* species have been reported frequently from environmental materials in Turkey, but *B.mandriallis* has not been reported from any environmental sample since this study. The presence of *B.mandriallis* has been reported in the air-conditions of houses in this study. This result shows that people have risk in terms of illness of free living amoebae in living areas. Our study emphasized that firstly the health personnel and then the people should be informed about the deadly parasites and the cleaning of the air conditions should be done in certain periods.

Keywords: *Acanthamoeba castellanii*; *Acanthamoeba griffini*; *Balamuthia mandrillaris*; free living amoebae; air-conditioner systems; polymerase chain reaction.

GİRİŐ

Acanthamoeba türleri, *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri* ve *Sappinia* türleri serbest yaşayan amipler olarak bilinmektedir¹. Serbest yaşayan amipler doğada, nemli topraklarda, gllerde, yüzme havuzlarında, eşme sularında, havada ve toz parçalarında yaygın olarak grlmektedir². Bu parazitler insanlarda *Acanthamoeba* keratiti (AK), granülomatöz amibik ensefalit (GAE), primer amibik meningoensefalit (PAME) ve kutanöz lezyonlara neden olmaktadır².

Acanthamoeba türleri, doğada çok yaygın olarak görülen bir parazittir. Trofozoit, lobo- pod ile acantopod tipi yalancı ayaklara sahiptir; bu nedenle *Naegleria* türlerinden kolayca ayırt edilmektedir³. *Balamuthia* cinsi içerisinde günümüze kadar yalnız *B.mandrillaris* türü bildirilmiştir. Trofozoit formu geyik boynuzu gibi dallı, budaklıdır ve mitoz bölünmeyle karakterizedir. Kistleri ise yuvarlak veya yuvarlağa yakın görünümde, tek çekirdekli ve çift çeperlidir³. *Sappinia* insanlardan nadir olarak izole edilen amip türlerindedir. *Sappinia*'nın oval şekilde trofozoitleri ve yuvarlak şekilde kist formları bulunmaktadır⁴.

Acanthamoeba türlerinin neden olduğu AK'da, şiddetli oküler ağrı, yangı, görme bozukluğu ve halka şeklinde stromal infiltrasyon görülmektedir. Bu hastalık nedeniyle kişinin görme yeteneği bozulmakta, hatta bazı olgularda göz tamamen kaybedilmektedir. Serbest yaşayan amiplerden *Acanthamoeba* ve *Balamuthia* türleri insanlarda GAE'ye neden olmaktadır. GAE sinsi olarak başlayan, PAME'e göre subakut veya kronik seyreden, klinik olarak baş ağrısı, ense sertliği, bulantı, kusma, beyinde fokal granülatöz lezyonların oluşmasıyla karakterize olan bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. PAME'nin etkeni *Naegleria* türleri olup, bu hastalık çok hızlı ilerleyerek ve ani bir şekilde hastanın ölümüne neden olmaktadır⁵.

Serbest yaşayan amiplerin neden olduğu enfeksiyonlar ve hayat döngülerini tamamladıkları çevresel örnekler ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır^{1,2,4}. Ancak, insanların evlerinde havalandırma amacıyla aktif olarak kullanılan klimaların filtrelerinde serbest yaşayan amiplerin varlığı araştırılmamıştır. Bu çalışmada, Türkiye'nin güneyinde bulunan Adana ve güneydoğusunda yer alan Gaziantep il merkezlerinde yaşayan halkın evlerinde kullanılan klima filtrelerinden alınan toz örneklerinde moleküler yöntemlerle serbest yaşayan amiplerin (*Acanthamoeba* spp., *B.mandrillaris*, *N.fowleria*, *Sappinia* spp.) varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Örneklerin Toplanması

Türkiye'nin güneyinde yer alan Adana ilinde (15 evde kullanılan klima) ve güneydoğusunda yer alan Gaziantep ilinde (15 evde kullanılan klima) toplam 30 evde kullanılan klimaların filtrelerinden örnek toplandı. Evde yaşayanlara çalışma hakkında bilgi verilerek çalışmanın gerçekleştirilmesi için gerekli izinler alındı. Klimaların kullanma talimatlarında belirtildiği şekilde kapağı açılarak ön filtre bölümüne erişildi. Filtre dikkatlice yerinden çıkarıldıktan sonra üzerindeki toz partikülleri bir fırça yardımıyla steril kap içine alındı.

DNA İzolasyonu ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Klima filtrelerinden alınan toz parçalarındaki patojen mikroorganizmaların DNA'ları DNeasy PowerSoil Kit (Cat No; 12888, Qiagen, Almanya) kullanılarak elde edildi. Serbest yaşayan amiplerin PCR yöntemiyle tanısını koymak için her cinse özgü olan farklı primerler kullanıldı. Çalışmada kullanılan primerler Tablo 1'de gösterilmiştir⁶⁻⁹.

Acanthamoeba türleri için 2X Taq Polimeraz (ThermoFisher Scientific, Litvanya), 200 nmol primer, 10 ng DNA ve saf sudan oluşan toplam 25 µl reaksiyon karışımı hazırlandı. PCR, 94°C'de 1 dakika denatürasyon, 60°C'de 45 saniye bağlanma, 72°C'de 1 dakika uzama döngüsü şeklinde 35 kez tekrarlanarak ısı bloğunda (SensoQuest, Göttingen, Almanya) gerçekleştirildi. *B.mandriallis* parazitini tanımlamak için son konsantrasyon 1X Platinum™ Hot Start PCR Master Mix (ThermoFisher Scientific, Litvanya), her bir primerden 0.2 µM, 10 ng DNA ve saf sudan oluşan toplam 25 µl'lik reaksiyon karışımı hazırlandı. Amplifikasyon 94°C'de 30 saniye denatürasyon, 58°C'de 45 saniye bağlanma, 72°C'de 1 dakika uzama ile gerçekleştirildi. *N.fowleri* tanımlamak için toplam 25 µl olan 2X Taq polimeraz tamponu (ThermoFisher Scientific, Litvanya), 200 nm primer, 10 ng DNA ve saf su içeren PCR reaksiyon karışımı hazırlandı. Isı döngü cihazında 95°C 6 dakika, 55°C 1 dakika, 72°C 2 dakika şeklinde devam eden program ile çoğaltıldı. *Sappinia* türleri için 2X Taq polimeraz (ThermoFisher Scientific, Litvanya), 200 nmol primer, 10 ng DNA ve saf sudan oluşan toplam 25 µl'den oluşan reaksiyon karışımı hazırlandı. Amplifikasyon 94°C'de 30 saniye, 55°C'de 45 saniye, 72°C'de 1 dakika şeklinde gerçekleştirildi.

DNA Dizi Analizi

PCR ürünleri, DNA dizi analizi yapılması amacıyla QIAquick PCR purification kiti (QiaGen, Hilden Almanya)'nin kullanma talimatlarına göre saflaştırıldı. ABI Prism BigDye Terminator V3.1 Cycle sequencing kit (ThermoFisher Scientific, Litvanya) kullanılarak toplam 20 µl'den oluşan dideoksi terminasyon reaksiyonu hazırlandı. PCR, 95°C'de 30 saniye denatürasyon, 50°C'de 10 saniye bağlanma ve 60°C'de 4 dakika uzama olmak üzere döngülerin 30 kez tekrarlanması ile gerçekleştirildi. Sonrasında 20 µl PCR ürününün üzerine 125 mM EDTA, 60 µl absölu etil alkol ilave edildi. Karışım, oda sıcaklığında 15 dk vortekslelendikten sonra 2000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi ve süpernatant atıldı. Kuyucuklara 20 µl %70'lik etil alkol ilave edildikten sonra plak vortekslelendi ve ardından oda sıcaklığında 15 dakika santrifüj edildi. Her bir örneğin üzerine 20 µl yükleme çözeltisi

Tablo 1. Serbest Yaşayan Amip Türlerini Tespit Etmek İçin Kullanılan Primer Dizileri ve Hedef Gen Bölgeleri

Parazit isimler	Primerler	Gen Bölgesi/ Uzunluk	Kaynaklar
<i>Acanthamoeba</i> spp.	F 5'-GCCCAGATCGTTATACCGGAA-3' R 5'-TCTCACAGCTGCTAGGGGAGTCA-3'	18SrRNA /551 bp	6
<i>Naegleria fowleri</i>	F 5'-GTGAAACCTTTTTCCATTTACA-3' R 5'-AAATAAAAGATTGACCATTTGAAA-3'	5.8SrRNA/331 bp	7
<i>Balamuthia mandrillaris</i>	F 5'-CGCATGTATGAAAGAAGACCA-3' R 5'-CCCCTTTTTAACTCTAGTCATATAGT-3'	16SrRNA/230 bp	8
<i>Sappinia</i> spp.	F 5'-TCTGGTCGCAAGGCTGAAAC-3' R 5'-GCACCACCACCTTGAATC	16SrRNA/160bp	9

eklendi. Örnekler hazırlandıktan sonra ABI 3100 (Applied Biosystems, ABD) dizi analizi cihazında bulunan örnek tepsisine yerleştirildi ve cihazda okuma yapıldı.

Filogenetik Analiz

DNA dizi analiz sonuçları önce BioEdit soft programı (CA, ABD)'yla analiz edildikten sonra, dizileme çalışmalarıyla elde edilen bilginin özetlenmesini ve görsel olarak anlaşılabilmesini sağlayan filogenetik analizi yapıldı. DNA dizi analizi sonucunda elde edilen nükleotit dizilerinin "alignment" (hizalama)'ının yapılması için çoklu alignment yöntemi olan ClustalW, MUSCLE (Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation), MAFFT (Multiple Alignment with Fast Fourier Transform) programları ve her bir programın var sayılan "default" değerleri kullanıldı. Çalışmada üç farklı filogenetik yöntem ve bu yöntemlerde ise değişik sayıda nükleotit modelleri kullanıldı. MetaPIGA2, MRBAYES v.3.1.2, Phylogenetic Analysis Using Parsimony (PAUP v.4.0b10), Unigen programları, Maksimum Likelihood (ML), Bayesian (BI) ve Parsimoni (P) yöntemleri kullanıldı. Filogenetik ağaç, FigTreev1.3.1 ve TreeView programları ile görselleştirildi.

BULGULAR

Toplam 30 evde kullanılan klimalardaki filtrelerin her birinden toplanan toz örneklerinin %30 (9/30)'unda *Acanthamoeba* spp., %10 (3/30)'unda *B.mandrillalis* tespit edilmiştir. Toz örneklerinin hiçbirinde *N.fowleri* ve *Sappinia* türlerine rastlanmamıştır. Parazitlerin şehirlere göre dağılımı incelendiğinde; Adana ilinde %33.3 (5/15) *Acanthamoeba* spp., %6.6 (1/15) *B.mandrillalis* olduğu tespit edilmiştir. Gaziantep ilinde ise %26.6 (4/15) *Acanthamoeba* spp., %13.3 (2/15) *B.mandrillalis* saptanmıştır (Tablo II).

Acanthamoeba türlerini tanımlamak için DNA dizi analizi yapılmıştır. DNA dizi analizi sonucunda *Acanthamoeba*'ların %66.6 (6/9)'ünün *Acanthamoeba castellanii* (T4), %33.3 (3/9)'ünün ise *Acanthamoeba griffini* (T3) olduğu belirlenmiştir. *Acanthamoeba* türlerinin şehirlere göre dağılımı ise Adana'da %33.3 (3/9)'ünün *A.castellanii*, %22.2 (2/9)'ünün *A.griffini*; Gaziantep'de ise %33.3 (3/9)'ünün *A.castellanii*, %11.1 (1/9)'ünün *A.griffini* olduğu tespit edilmiştir (Tablo III).

Tablo II. Çalışmada İzole Edilen Parazit Türlerinin Şehirlere Göre Dağılımı

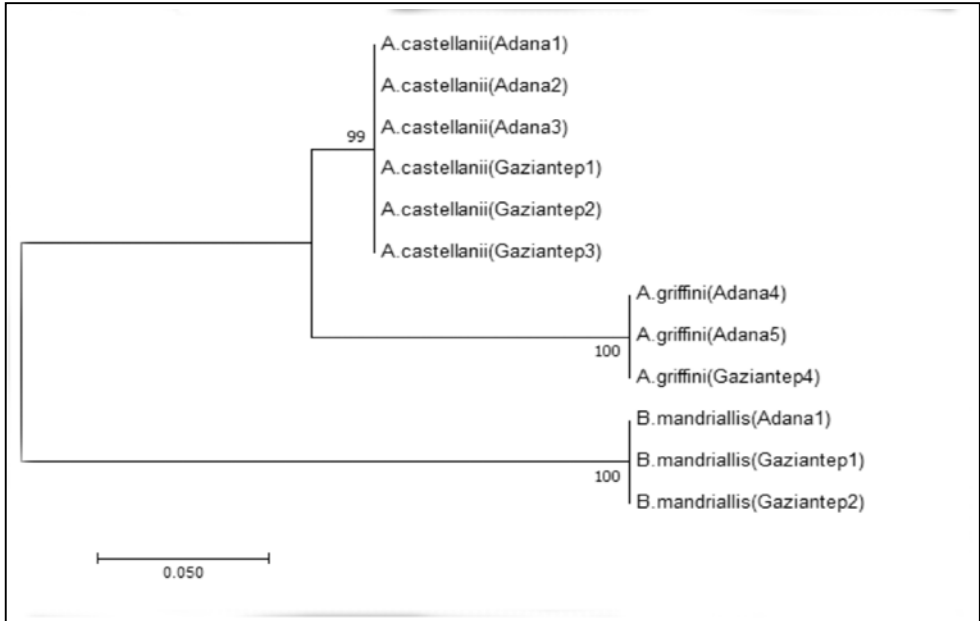
Şehir	Parazit türü	Görülme oranı
Adana	<i>Acanthamoeba</i> spp.	%33.3 (5/15)
	<i>Balamuthia mandrillalis</i>	%6.6 (1/15)
	<i>Naegleria fowleri</i>	0
	<i>Sappinia</i> spp.	0
Gaziantep	<i>Acanthamoeba</i> spp.	%26.6 (4/15)
	<i>Balamuthia mandrillalis</i>	%13.3 (2/15)
	<i>Naegleria fowleri</i>	0
	<i>Sappinia</i> spp.	0

B.mandriallis'in DNA dizi analizi sonucunda ise parazitlerin başta Portekiz suşları olmak üzere Gen Bankasına kayıtlı diğer suşlarla %98-100 oranında benzerlik gösterdiği görülmüştür. Çalışmada DNA dizi analizi sonucunda elde edilen nükleotid dizileri Bioedit programıyla kontrol edildikten sonra türler arasındaki ilişkinin tespit edilmesi için filogenetik analizi yapılmıştır (Şekil 1).

Filogenetik ağaca göre; Adana ve Gaziantep illerinden izole edilen *A.castellanii*, *A.griffini* ve *B.mandriallis* türlerinin birbirine %99-100 oranında benzerlik gösterdiği görülmüştür. Çalışmaya dahil edilen örneklerden izole edilen parazit türlerinin şehirlere göre dağılımı istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve anlamlı bir fark ($p > 0.1$) bulunamamıştır.

Tablo III. Çalışmada İzole Edilen *Acanthamoeba* Türlerinin Şehirlere Göre Dağılımı

Şehir	Parazit türü	Görülme oranı
Adana	<i>Acanthamoeba castellanii</i>	%33.3 (3/9)
	<i>Acanthamoeba griffini</i>	%22.2 (2/9)
Gaziantep	<i>Acanthamoeba castellanii</i>	%33.3 (3/9)
	<i>Acanthamoeba griffini</i>	%11.1 (1/9)



Şekil 1. Çalışma sonucunda elde edilen parazitlerin filogenetik ağaç ile görselleştirilmesi.

TARTIŞMA

Günümüzde insanlar için vazgeçilmez hale gelen klimalar, evlerde hem ısıtma hem de soğutma amaçlı kullanılmaktadır. Bir klima ortalama her iki kullanım şeklinde de içinden yüksek debide hava üfleyerek ısıtma ve soğutma yapmaktadır. Yüksek debilerde hava çekip üfleyerek sıcak ve soğuk hava sirkülasyonu sağlayan klimaların kapaklarının altında filtre bulunmaktadır. Bu filtreler bulunduğumuz ortama partikülsüz hava üflemek için kullanılmaktadır. Çalışma mekanizmasından dolayı uzun süre kullanılan klimaların filtrelerinde partiküller birikmekte ve bu partikülerin içinde birçok sayıda patojen mikroorganizma yaşayabilmektedir¹⁰.

Doğada serbest yaşayan *Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Balamuthia* ve *Sappinia* parazitleri insanlarda AK, GAE ve PAME gibi hastalıklara neden olmaktadır^{11,12}. İmmün sistemleri baskılanmış kişilerde, AIDS hastalarında, kanserlilerde, organ transplantasyonu yapılanlarda, immün sistemi baskılayan ilaçların kullanılması durumunda, yetersiz beslenme ve devamlı stres altında kalma durumlarında, serbest yaşayan amiplerin insan vücuduna girerek patojen etki oluşturabilme ve hastalıklara neden olma riski artmaktadır¹³.

Acanthamoeba'nın neden olduğu AK, daha çok lens kullanımıyla ilişkili olup, insanların hava, toz ve toprakla temasına bağlı olarak da ortaya çıkmaktadır¹³. AK'da *A.castellanii* (T4) ve *A.griffini* (T3) başta olmak üzere *Acanthamoeba*'nın sekiz türü etken olarak gözlenmektedir^{14,15}. İspanya, Brezilya, Amerika ve Türkiye'de AK'da etken olan *Acanthamoeba* türleri ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmış ve en baskın türün *A.castellanii* (T4) olduğu bildirilmiştir¹⁶⁻¹⁹. *A.griffini*'de birçok bölgede AK olgularından izole edilmiş ve bu türün de insanlar için patojen olduğu bildirilmiştir^{18,19}. *Acanthamoeba* türlerinin görülebileceği çevresel örneklerde de çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Dünyanın farklı birçok bölgesindeki içme sularında, park ve bahçelerde bulunan toprak örneklerinde moleküler yöntemler kullanılarak *Acanthamoeba* türlerinin varlığı tespit edilmiştir²⁰⁻²³. Bu çalışmanın sonucunda Adana ve Gaziantep illerindeki bazı evlerde kullanılan klima filtrelerindeki toz partiküllerinde baskın olarak *A.castellanii* türü izole edilmiştir. Çalışmanın sonuçları daha önce *Acanthamoeba* türleri ile ilgili yapılan çalışmaları desteklemektedir. İnsanlar evlerinde patojen olan *Acanthameba* türleri ile iç içe yaşamakta ve bu tehlikeden haberleri olmamaktadır. Bu çalışma, bu konuda insanlar arasında farkındalık oluşturulmasına katkı sağlayacaktır.

İlk kez 1990 yılında San Diego Hayvanat Bahçesinde barınan bir maymundaki GAE etkeni olarak *B.mandrillaris* bildirilmiştir²⁴. Daha sonraki yıllarda *B.mandrillaris*'in neden olduğu GAE ile ilgili çeşitli olgular sunulmuştur. Shivam ve arkadaşları²⁵ 32 yaşında immünsupresif bir hastanın beyin dokusunda indirekt immünfloresan ve PCR yöntemleriyle *B.mandrillaris* varlığını göstermiştir. Farnon ve arkadaşları²⁶ yaptıkları çalışmada, *B.mandrillaris*'in organ transplantasyonları ile bulaşabileceğini bildirmiştir. Günümüze kadar *B.mandrillaris*'in neden olduğu 200 farklı GAE olgusu bildirilmiştir. Bu GAE olguları incelendiğinde bunların %41.1'inin frontal loba, %21.7'sinin pariyetal loba, %51.7'sinin temporal loba ve %31'inin oksipital loba yerleşim gösterdiği görülmüştür²⁵. *B.mandrillaris*'e bağlı birçok

kutanöz ve GAE olguları bildirilmesine rağmen, çevresel örneklerden nadir olarak izole edilmiş veya hiç izole edilmemiştir²⁷. Bu nedenle günümüzde hala *B.mandriallis*'in çevresel dağılımı ve biyolojik aktiviteleri hakkında tartışmalar bulunmaktadır. Latifi ve arkadaşları²⁸ PCR yöntemi ile İran'daki kaplıca sularında *B.mandriallis* varlığını araştırmış ve ilk kez kaplıca sularında bu parazitin varlığını bildirmiştir. Retana-Moreira ve arkadaşları¹¹ Amerika'da banyo sularında *A.castellani* (T4) ve *B.mandrillaris* türlerini izole etmiştir. Bu çalışmada da insanların yaşam alanları olan evlerinden *B.mandriallis* varlığı gösterilmiştir. Tedavi amacıyla kullanılan kaplıca suları, temizlik amacıyla kullanılan banyo suları, ısıtma ve soğutma amaçlı kullanılan klimalarda *B.mandriallis*'in izole edilmesi toplum sağlığı açısından önemli bir risk oluşturmaktadır. Bu nedenle, öncelikle sağlık personeli olmak üzere halkın bu parazit hakkında bilinçlendirilmesi gerekmektedir.

Klimaların çalışma mekanizmalarından dolayı zamanla filtrelerinde toz partikülleri birikmekte ve bu partiküllerin içinde birçok patojen mikroorganizma bulunmaktadır. Çalışmamızda moleküler yöntemler kullanılarak klima filtrelerinde *A.castellani*, *A.griffini* ve *B.mandrillaris* parazitleri tespit edilmiştir. İnsan sağlığının korunması için belirli aralıklarla klima temizliği yapılması gerekmektedir. Bu çalışma, serbest yaşayan amiplerin her türlü yaşam alanında olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, bu çalışmanın daha fazla sayıda örnek içeren farklı bölgelerde tekrarlanması faydalı sonuçlar ortaya koyabilir.

TEŞEKKÜR

Çalışmaya verdiği destekten dolayı Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bilim Dalı ve Fen Bilimleri Biyoteknoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Mustafa Yılmaz'a teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

1. Farra A, Bekondi C, Tricou V, Mbecko JR, Talarmin A. Free-living amoebae isolated in the Central African Republic: epidemiological and molecular aspects. *Pan Afr Med J* 2017; 1: 26-57.
2. Taravaud A, Ali M, Lafosse B, et al. Enrichment of free-living amoebae in biofilms developed at upper water levels in drinking water storage towers: an inter-and intra-seasonal study. *Sci Total Environ* 2018; 21: 157-66.
3. Saygı G, Polat Z. Free-living amebae and the parasitoses they case (primary amebic meningoencephalitis-granulomatous encephalitis-keratitis). *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2003; 25(3): 140-9.
4. Visvesvara GS, Moura H, Schuster FL. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandriallis*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2007; 50(1): 1-26.
5. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları Özcel, Özbel, Ak (eds). 2007, pp: 309-21. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını, No: 22. İzmir.
6. Schroeder JM, Booton GC, Hay J. Use of subgenetic 18S ribosomal DNA PCR and sequencing for genus and genotype identification of *Acanthamoeba* from humans with keratitis and from sewage sludge. *J Clin Microbiol* 2001; 39(5): 1903-11.
7. Sheehan KB, Fagg JA, Ferris MJ, Henson JM. PCR detection and analysis of the free-living amoeba *Naegleria* in hot springs in Yellowstone and Grand Teton National Parks. *Appl Environ Microbiol* 2003; 69(10): 5914-8.
8. Taravaud A, Ali M, Lafosse B, et al. Enrichment of free-living amoebae in biofilms developed at upper water levels in drinking water storage towers: an inter-and intra-seasonal study. *Sci Total Environ* 2018; 633: 157-66.

9. Qvarnstrom Y, da Silva AJ, Schuster FL. Molecular confirmation of *Sappinia pedata* as a causative agent of amoebic encephalitis. *J Infect Dis* 2009; 199(8): 1139-42.
10. Perez-Mota J, Solorio-Ordaz F, Cervantes-de Gortari J. Flow and air conditioning simulations of computer turbinctomized nose models. *J Med Biol Eng Comput* 2018. <https://doi.org/10.1007/s11517-018-1823-2>.
11. Retana-Moreira L, Snadi EA, Cabello-Vilchez C, et al. Isolation and molecular characterization of *Acanthamoeba* and *Balamuthia mandrillaris* from combinaton shower units in Costa Rica. *Parasitol Res* 2014; 113(11): 4117-22.
12. Visvesvara GS, Moura H, Schuster FL. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2007; 50(1): 1-26.
13. Yünlü Ö, Özçelik S, Arıcı MK. The investigation of *Acanthamoeba* and other free living amoeba in swab samples obtained from conjunctiva and eye lid. *Turkiye Parazit Derg* 2015; 39(3): 194-9.
14. Koltas IS, Eroglu F, Erdem E, Yagmur M, Tanır F. The role of domestic tap water on *Acanthamoeba* keratitis in non-contact lens wearers and validation of laboratory methods. *Parasitol Res* 2015; 114(9): 3283-9.
15. Carnt N, Stapleton F. Strategies for the prevention of contact lens-related *Acanthamoeba* keratitis: a review. *Ophthalmic Physiol Opt* 2016; 36(2): 77-92.
16. Rodriguez-Martin J, Rocha-Cabrera P, Reyes-Battle M, et al. Presence of *Acanthamoeba* in the ocular surface in a Spanish population of contact lens wearers. *Acta Parasitol* 2018; 63(2): 393-6.
17. Fabres LF, Mascio VJ, Santos DLD, et al. Virulent T4 *Acanthamoeba* causing keratitis in a patient after swimming while wearing contact lenses in Southern Brazil. *Acta Parasitol* 2018; 63(2): 428-32.
18. Gonzalez-Robles A, Salazar-Viilatoro L, Omana-Molina M, et al. Morphological Features and In vitro cytopathic effect of *Acanthamoeba griffini* trophozoites isolated from a clinical case. *J Parasitol Res* 2014; 256-10.
19. Heredero-Bermejo I, Criado-Fornelio A, De Fuentes I, Soliveri J, Copa-Patino JL, Perez Serrano J. Characterization of a human-pathogenic *Acanthamoeba griffini* isolated from a contact lens-wearing keratitis patient in Spain. *Parasitology* 2015; 142(2): 363-73.
20. Tavares M, Correia da Costa JM, Carpenter SS, et al. Diagnosis of first case of *Balamuthia* amoebic encephalitis in Portugal by immunofluorescence and PCR. *J Clin Microbiol* 2006; 44(7): 2660-63.
21. Dendana F, Trabelsi H, Neiji S, et al. Isolation and molecular identification of *Acanthamoeba* spp. form oasis water in Tunisia. *Exp Parasitol* 2018; 187(1): 37-41.
22. Coşkun KA, Özçelik S, Tutar L, Elaldı N, Tutar Y. Isolation and identification of free-living amoebae from tap water in Sivas, Turkey. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 675.
23. Evyapan G, Koltas IS, Eroglu F. Genotyping of *Acanthamoeba* T15: the environmental strain in Turkey. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2015; 109(3): 221-4.
24. Visvesvara GS, Martinez AJ, Schuster FL. Leptomyxid ameba, a new agent of amebic meningoencephalitis in humans and animals. *J Clin Microbiol* 1990; 28(12): 2750-6.
25. Ong TYY, Khan NA, Siddiqui R. Brain-Eating Amoebae: Predilection sites in the brain and disease outcome. *J Clin Microbiol* 2017; 55(7): 1989-97.
26. Farnon EC, Kokko KE, Budge PJ, et al. Transmission of *Balamuthia mandrillaris* by organ transplantation. *Clin Infect Dis* 2016; 63(7): 878-88.
27. Saburi E, Rajaii T, Behdari A, Kohansal MH, Vazini H. Free-living amoebae in the water resources of Iran: a systematic review. *J Parasit Dis* 2017; 41(4): 919-28.
28. Latifi AR, Niyati M, Lorenzo-Morales J, Haghghi A, Seyyed Tabaei SJ, Lasjerdi Z. Presence of *Balamuthia mandrillaris* in hot springs from Mazandaran province, northern Iran. *Epidemiol Infect* 2016; 144(11): 2456-61.