



**KİST HİDATİKLİ VAKALARDAN ELDE EDİLEN
İZOLATLARDA *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS*'UN
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Özge ÖZYALIN

Parazitoloji Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Metin ATAMBAY**

Doktora Tezi-2019

T.C
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİST HİDATİKLİ VAKALARDAN ELDE EDİLEN İZOLATLARDA
***ECHINOCOCCUS GRANULOSUS*'UN MOLEKÜLER**
KARAKTERİZASYONU

Özge ÖZYALIN

Parazitoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Metin ATAMBAY

MALATYA
2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan; **Özge ÖZYALIN**'ın “ **Kist Hidatikli Vakalardan Elde Edilen İzolatlarda Echinococcus granulosus'un Moleküler Karakterizasyonu** ” konulu bu çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

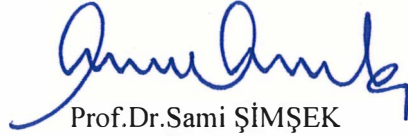
Tez Savunma Tarihi: 03/05/2019



Prof. Dr. Metin ATAMBAY
İnönü Üniversitesi
Tez Danışmanı
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Mustafa KAPLAN
Fırat Üniversitesi
Üye



Prof. Dr. Sami ŞİMŞEK
Fırat Üniversitesi
Üye



Prof. Dr. Selma AY
İnönü Üniversitesi
Üye



Prof. Dr. Mehmet Sait TEKEREKOĞLU
İnönü Üniversitesi
Üye

ONAY

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../2019 tarih ve 2019/.....sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vi
ABSTRACT.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Sınıflandırma	4
2.2. Tarihçe	4
2.3. Morfoloji.....	5
2.3.1. Erişkin.....	5
2.3.2. Metasestod (Hidatik Kist).....	7
2.3.3. Yumurtalar	8
2.4. Biyoloji	9
2.5. Epidemiyoloji.....	10
2.5.1. Kistik Ekinokokkozis'in Dünyadaki Yaygınlığı.....	11
2.5.2. Kistik Ekinokokkozis'in Dünyadaki Moleküler Epidemiyolojisi	12
2.5.3. Kistik Ekinokokkozis'in Türkiye'deki Yaygınlığı	13
2.5.4. Kistik Ekinokokkozis'in Türkiye'deki Moleküler Epidemiyolojisi	14
2.6. Kistik Ekinokokkozis'te Tanı Yöntemleri.....	17
2.6.1. Klinik Tanı.....	18
2.6.2. Görüntüleme Yöntemleri	18
2.6.3. Serolojik Testler.....	19
2.6.4. Moleküler Yöntemler.....	20
2.6.4.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	20
2.6.4.2. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)	21
2.6.4.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriction Fragment Length Polymorphism (PZR- RFLP).....	21
2.6.4.4. Random Amplified Polymorphic DNA-PZR (RAPD-PZR)	22
2.6.4.5. Tek Zincir Yapı Polimorfizmi, PZR-SSCP (Single Stranded Conformation Polimorphism).....	22
2.6.4.6. DNA Dizi Analizi (Sekanslama)	23

2.7. Tedavi	23
2.7.1. İnsanda Tedavi Yöntemleri.....	23
2.7.1.1.Cerrahi Tedavi	23
2.7.1.2. Ponksiyon–Aspirasyon–Enjeksiyon-Reaspirasyon (PAIR).....	24
2.7.1.3. Kemoterapi.....	24
2.7.2. Son Konakların Tedavisi	24
2.8. Korunma ve Kontrol	25
2.8.1. Erişkin Parazitlerle Mücadele	25
2.8.2. Larvalarla Mücadele	25
2.8.3. Eğitim Programları	26
2.8.4. Aşılama	26
2.9. <i>Echinococcus granulosus</i> 'un Suşları	26
2.9.1. <i>Echinococcus granulosus sensu stricto</i> (G1-G3).....	28
2.9.2. <i>Echinococcus equinus</i> (G4)	29
2.9.3. <i>Echinococcus ortleppi</i> (G5)	29
2.9.4. <i>Echinococcus canadensis</i> (G6-G10).....	30
2.9.5. <i>Echinonoccus felidis</i> (Aslan suşu)	30
3. MATERYAL VE METOT	32
3.1. Örneklerin Toplanması	32
3.2. Direkt Mikroskopik Bakı	32
3.3. Genomik DNA İzolasyonu	32
3.4. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz Subunit 1 (mt-CO1) Geninin PZR İle Çoğaltılması.....	34
3.5. DNA Dizi Analizi	34
3.6. Filogenetik Ağaç Oluşturulması	34
4. BULGULAR.....	35
5.TARTIŞMA	40
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	46
KAYNAKLAR	47
EKLER.....	66
Ek 1. Özgeçmiş	66
Ek 2. Etik Kurul Onay Formu.....	67

TEŐEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca her tŸrlŸ desteğini gŸrdŸđŸm saygıdeğer hocam Prof. Dr. Metin ATAMBAY'a ve doktora eğitimime baŐlangıç dŸnemimdeki danıŐmanım emekli Ÿđretim Ÿyesi Prof. Dr. NilgŸn DALDAL'a bana sağladıkları değerli katkılarından dolayı teŐekkŸrŸ borç bilirim.

ÇalıŐmamın planlanması ve gerçekteŐirilmesi dŸneminde, aynı zamanda tez yazımı sırasında bana her tŸrlŸ desteği sağlayan, yardımlarını esirgemeyen Fırat Ÿniversitesi Veteriner FakŸltesi Parazitoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sami Şimşek'e, yaptığım laboratuvar çalışmaları esnasında fazlaca yardımını gŸrdŸđŸm, aynı bŸlŸmde doktora Ÿđrencisi olan Figen Çelik'e, Ÿrnek toplama dŸnemimde çalıŐmama katkı sağlayan İnŸnŸ Ÿniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Ÿđretim Ÿyesi Prof. Dr. Burak IŞık'a teŐekkŸrlerimi sunarım.

Sadece Doktora sŸrecimde değil tŸm yaŐamım boyunca arkamda olduğunu hissettiğim aileme teŐekkŸr ederim. Bu sŸreçte ve her daim varlığı bana ilham kaynağı olan canım kızım Eylül Ÿzyalın'a da teŐekkŸr ederim.

ÖZET

Kist Hidatikli Vakalardan Elde Edilen İzolatlarda *Echinococcus granulosus*'un Moleküler Karakterizasyonu

Amaç: KE, Türkiye’de endemik olarak görülen bir paraziter enfeksiyondur. *Echinococcus granulosus*'un farklı suşlarının belirlenmesi, hastalığın eradikasyonu bakımından önemlidir. Bu çalışmada, hastalığı kontrol altına almak ve uygulanacak kontrol programlarına katkı sağlamak amacıyla bölgede hastalığa sebep olan farklı suşları tespit etmek amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Kasım 2013–Aralık 2015 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi’nde KE ön tanısı ile opere edilen 53 hasta çalışma kapsamına alınmıştır. Hastalardan elde edilen hidatik kist materyalleri direkt mikroskopik bakı ile protoskoleks ve çengel varlığı bakımından incelenmiştir. Mikroskopik tanısı yapılan tüm örnekler çalışılincaya kadar korunmuştur. Örneklerden genomik DNA ekstraksiyonu yapılmış, mt-CO1 gen bölgesi PZR ile çoğaltılmıştır. 446 bp band görüntüsü elde edilen 33 örneğin tek yönlü DNA dizi analizi yaptırılmıştır.

Bulgular: Direkt mikroskopi sonucu incelenen tüm örneklerde protoskoleks ve çengel yapıları görülmüştür. mt-CO1 gen bölgesinin amplifikasyonu neticesinde 33 örnekte 446 bp band görüntüsü elde edilmiştir. Bu 33 PZR ürününün tek yönlü DNA dizi analizi sonucu tüm izolatların *E. granulosus sensu stricto* (G1-G3) olduğu belirlenmiştir.

Sonuç: *Echinococcus granulosus*'un farklı suşlarını belirlemeye yönelik yapılmış çalışmalarda en yaygın türün *E. granulosus sensu stricto* olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda incelenen izolatların tümünün *E. granulosus sensu stricto* olduğu belirlenmiştir. Daha kapsamlı çalışmalarla farklı suşların varlığının araştırılması uygun olacaktır. Malatya’da KE’e karşı kontrol çalışmalarının başarılı şekilde yürütülebilmesi için bu türün biyolojik özelliklerinin iyi bilinmesi gerekmektedir.

Anahtar Sözcükler: DNA dizi analizi, *Echinococcus granulosus*, Malatya, PCR

ABSTRACT

Molecular Characterisation of *Echinococcus granulosus* Obtained From Isolates of Cystic Hydatidosis Cases

Aim: CE is a parasitic infection that is endemic in Turkey. The identification of different strains of *Echinococcus granulosus* is important for eradication of the disease. The aim of this study is to determine the different strains that cause the disease in the region because of controlling the infection and to contribute to the control programmes.

Material and Method: Between November 2013 and December 2015, CE pre-diagnosed patients who were operated at Inonu University Turgut Ozal Medical Center were included to the study. 53 samples were obtained from the patients and evaluated with direct microscopic examination for protoscolex and hook presence. All microscopically diagnosed specimens were preserved until studying. Genomic DNA was extracted from the specimens and mt-CO1 gene region was amplified by PCR. One-way DNA sequence analysis was performed on 33 specimens with 446 bp band images.

Results: Protoscoleces and hooks were observed in all specimens examined by direct microscopy. 446 bp of bands were observed in 33 samples as a result of amplification of mt-CO1 gene region. As a result of one-way DNA sequence analysis of 33 PCR products, all isolates were determined as *E. granulosus sensu stricto* (G1-G3).

Conclusion: Studies for identifying different strains of *E. granulosus* was reported that the most common type is *E. granulosus sensu stricto*. In our study, all of the isolates studied were identified as *E. granulosus sensu stricto*. It would be appropriate to investigate the presence of different strains with more extensive studies. In order to carry out the control studies against CE in Malatya, the biological properties of this type must be well known.

Keywords: DNA sequence analysis, *Echinococcus granulosus*, Malatya, PCR.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BT	: Bilgisayarlı tomografi
CE	: Cystic Echinococcosis
cm	: Santimetre
co-A Test	: Koaglutinasyon testi
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksiribonükleotit trifosfat
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
<i>E. granulosus</i>	: <i>Echinococcus granulosus</i>
ELISA	: Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ID	: Immundifüzyon
IE	: Immun Elektroforez
IFAT	: Indirekt Floresan Antikor Testi
IHA	: Indirekt Hemaglutinasyon
KE	: Kistik Ekinokokkozis
Kg	: Kilogram
LA	: Lateks Aglutinasyon testi
M.Ö	: Milattan Önce
mm	: Milimetre
MR	: Manyetik Rezonans
mt-CO1	: Mitokondriyal sitokrom c oksidaz subunit 1
°C	: Santigrat derece
PAIR	: Punksiyon-Aspirasyon-Enjeksiyon-Reaspirasyon
PCR	: Polimerase Chain Reaction
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	: Random Amplified Polymorphic DNA
RE	: Restriksiyon Enzimleri
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
USG	: Ultrasonografi
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. <i>Echinococcus granulosus</i> 'un erişkin formu	6
Şekil 2.2. <i>Echinococcus granulosus</i> 'un metasestod formu	8
Şekil 2.3. <i>Echinococcus spp</i> yumurtasının iç yapısı.....	9
Şekil 4.1. <i>Echinococcus granulosus</i> 'un insan izolatlarının mt-CO1 gen bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonucunda oluşan bandların görünümü	35
Şekil 4.2. mt-CO1 gen bölgesinin sekanslarına ait alignment sonuçları..	36
Şekil 4.3. İnsan izolatlarına ait mt-CO1 gen sekansları ile referans sekanslar kullanılarak oluşturulan filogenetik ağacın phylogram görünümü.	37
Şekil 4.4. İnsan izolatlarına ait mt-CO1 gen sekansları ile referans sekanslar kullanılarak oluşturulan filogenetik ağacın cladogram görünümü.....	38
Şekil 4.5. İnsan izolatlarına ait mt-CO1 gen sekansları ile referans sekanslar kullanılarak oluşturulan filogenetik ağacın circular cladogram görünümü.	39

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. <i>Echinococcus granulosus</i> 'un suşları.....	28



1. GİRİŞ

Taeniidae ailesine ait zoonoz bir sestot olan *Echinococcus granulosus*'un erişkin formunun son konak olan köpeklerin ince bağırsaklarında, hidatik kist olarak bilinen larvalarının ise koyun, keçi, sığır ve insan gibi birçok memelinin iç organlarında yerleştiği ve Kistik Hidatidoz ya da Kistik Ekinokkozis (KE) denen hastalığa sebep olduğu bildirilmiştir (1).

Kistik Ekinokkozis'in, yurdumuz da dahil olmak üzere hayvancılığın yaygın olarak yapıldığı birçok ülkede önemli bir halk sağlığı problemi olduğu belirtilmiştir (2). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), sosyo ekonomik öneminden dolayı KE'i tüm dünyayı ilgilendiren zoonoz bir hastalık olarak tanımlamaktadır (1).

Kesin konak dışısıyla atılan enfektif yumurtaların oral yolla alınması sonucu ara konaklarda enfeksiyonun başladığı, nadiren solunum yoluyla oluşan enfeksiyonların da görülebildiği belirtilmiştir (2).

Oluşan kistlerin boyutuna, yerleştiği doku ya da organa ve hastanın immun direncine bağlı olarak KE'de çok farklı klinik bulgular şekillenebilmekte olup enfeksiyon başlangıcı ile klinik belirti vermesi arasındaki sürenin genellikle birkaç yılı bulduğu bildirilmiştir. Oluşan kistlerin %60'ının karaciğer, %25'inin akciğer lokalizasyonlu olduğu, hastaların %20'sinde birden fazla bölgede tutulum olduğu, rüptüre olan kistlerden dışarı sızan kist sıvısına bağlı olarak hastalarda ateş, pruritus, ürtiker, anaflaktik şok ve ölüm gözlenebileceği, bakterilerin kiste girmesi sonucu kistte piyojenik apse gelişebileceği belirtilmiştir. Hastalığın tanısında klinik bulgular tek başına yetersiz olmakla birlikte kesin tanı; klinik bulgular yanında görüntüleme teknikleri, serolojik ve moleküler yöntemlerle elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesi ile yapılmaktadır (3, 4).

Echinococcus cinsi içerisinde aynı türün diğer gruplardan hem gen frekanslarında hem de KE'in epidemiyolojisi ile kontrolü bakımından önem taşıyan bir veya daha fazla karakterinde istatistiksel olarak farklılık gösteren varyantları, farklı suşlar olarak tanımlanmıştır (5).

Hem tanı amacıyla hem de parazitin tür ve suş ayırımında kullanılan Deoksiribonükleik asit (DNA) tabanlı yöntemlerin, konak ve çevreye bağlı faktörlerden etkilenmeyip doğrudan parazit genomunu incelediğinden oldukça önemli olduğundan

bahsedilmiştir (6). Geçmiş yıllarda bu yöntemler kullanılarak yapılmış moleküler çalışmalarda *E. granulosus*'un mitokondriyal DNA sekansları incelenmiş ve içerisinde on farklı genotipin (G1-G10) bulunduğu bildirilmiştir (7). Tanımlanan 10 farklı genetik yapı şu şekilde tanımlanmıştır:

- G1: Evcil koyun suşu
- G2: Tazmanya koyun suşu
- G3: Manda suşu
- G4: At suşu
- G5: Sığır suşu
- G6: Deve suşu
- G7: Domuz suşu
- G8: Amerikan geyik suşu
- G9: İnsan-domuz suşu
- G10: Fennoscandian geyik suşu (8, 9).

Güncel detaylı taksonomik çalışmalarda ise suş içi genetik farklılaşmadan dolayı *E. granulosus* türü içerisinde dört farklı türün bulunduğu bildirilmiştir. G1-G3 arasında bulunan suşların *E. granulosus sensu stricto* ismi altında birleştiği, at suşu olarak bilinen G4 suşunun *E. equinus*, sığır suşu olarak bilinen G5 suşunun *E. ortleppi*, G6-G10 aralığında bulunan suşların ise *E. canadensis* ismiyle tek bir tür adı altında birleştirildiği rapor edilmiştir (10-12). Arslan suşu olarak bilinen *E. felidis*, *E. granulosus*'un kardeş sınıfı kabul edilmiştir (13).

Son zamanlarda *E. granulosus s.s.*, *E. ortleppi* ve *E. canadensis* türleri arasında genetik bilgi transferinin gerçekleştiği ihtimalinin üzerinde durulmaktadır (10).

Echinococcus granulosus'un suşları içindeki intraspesifik varyasyon, parazitin kendisini, biyolojik döngüsünü, konak özgüllüğünü, gelişme hızını, patojenite ve antijenitesini, kemoterapötik ajanlara duyarlılığını, bulaşma dinamiklerini, hastalığın epidemiyolojisini ve kontrol tekniklerini etkilemektedir. Bu sebeple hastalığın kontrol altına alınarak eradikasyonunun sağlanabilmesi ve hastalığa özgü tanı yöntemlerinin geliştirilmesi, aşılarda üretilmesi, ilaçların etkinliğinin belirlenmesi bakımından endemik

bir bölgedeki baskın suş ya da suşların tespitinin oldukça önemli olduğu belirtilmiştir.
(14).

Bu çalışmanın amacı Malatya ilinde KE ön tanısı ile opere edilen hastalardan elde edilen hidatik kist materyallerini moleküler teknikler kullanarak incelemek ve bölgedeki mevcut *E. granulosus* suşlarını belirleyerek yapılacak kontrol ve eradikasyon programlarına ışık tutmaktır.



2.GENEL BİLGİLER

2.1. Sınıflandırma

Ülkealtı	: Metazoa
Alem	: Platyhelminthes
Sınıf	: Cestoda
Alt Sınıf	: Eucestoda
Takım	: Cyclophyllidae
Aile	: Taeniidae (Ludwig, 1986)
Cins	: Echinococcus (Rudolphi, 1801)
Türler	: <i>Echinococcus granulosus</i> (Batsch, 1786) <i>Echinococcus multilocularis</i> (Leuckart, 1863) <i>Echinococcus shiquicus</i> <i>Echinococcus oligarthus</i> (Diesing, 1863) <i>Echinococcus vogeli</i> (Raush ve Bernstein, 1972) (5, 15).

2.2. Tarihçe

Ekinokok türleri ile ilgili olarak tarihi çok eskiye dayanan kaynaklarda çeşitli bilgiler mevcuttur. Milattan önce (M.Ö) 16. yüzyılda eski Mısır hekimliği hakkında bilgi içeren Eber Papyrusunda intestinal taeniosisten bahsedilmektedir (16). Bu dönemde koyun, sığır ve keçilerin iç organlarında içi sıvı dolu keselere rastlanılmış, bunlar kiste dönüşmüş tümör veya doku olarak kayda geçirilmiştir (17, 18).

Hipokrat, sığır ve domuzda KE'in varlığını bildirmiş, insan karaciğerinde gördüğü kiste 'Jecur aqua repletum' adını vermiştir. Aristoteles, KE'nin karaciğer ve akciğerde yıkım yaptığını bildirmiştir. Galenos, sığır karaciğerinde gördüğü hidatik keseleri insanda da gördüğünü bildirmiştir (19).

Kistik Ekinokokkozis'in zoonoz karakterde olduğu 1684'de Francesco Redi, 1685'de Hartmann, 1691'de Tyson tarafından bildirilmiştir. Köpek bağırsağında

bulunan erişkin ekinokoku dünyada ilk kez 1694'de Hartmann göstermiştir. 1760'da Pallas, ekinokok kesesinde oluşan yavru keseleri tanımlamış ve 1766'da insan ve hayvanlarda görülen hidatik kistlerdeki yapısal benzerlik üzerinde durmuştur. 1782'de Goeze hidatik kistte skolekslerin varlığını saptamış, skoleks ve çengelleri inceleyerek bunlar hakkında detaylı bilgi vermiştir. 1786 yılında Batsch köpekte bulunan şeritler ile evcil hayvanların ve insanın değişik organlarında meydana gelen hidatik keselerin aynı parazite ait farklı gelişim evreleri olduğunu bildirmiştir (19).

1801'de Rudolph erişkin *E. granulosus*'un morfolojik özelliklerini incelemiş, larvaların KE'e neden olduğunu saptayarak bu parazite '*Echinococcus*' ismini vermiştir (19).

Siebold 1853'de koyun ve sığırlardaki kistleri köpeklere yedirerek bağırsaklarından erişkin parazitleri elde etmiş, kistlerin parazitin larval formu olduğunu bildirmiştir. Olgun şeklini *Taenia echinococcus* olarak isimlendirmiştir (17, 18).

Deve 1901'de yırtılan kistlerden çıkan protoskolekslerin dokuya yerleşmesiyle sekonder kistlerin oluştuğunu deneysel olarak göstermiştir. 1906'da Gedhini, 1908'de Apphatie ve Lorentz hidatidozun serolojik tanısı üzerine ilk çalışmaları başlatmışlardır (19).

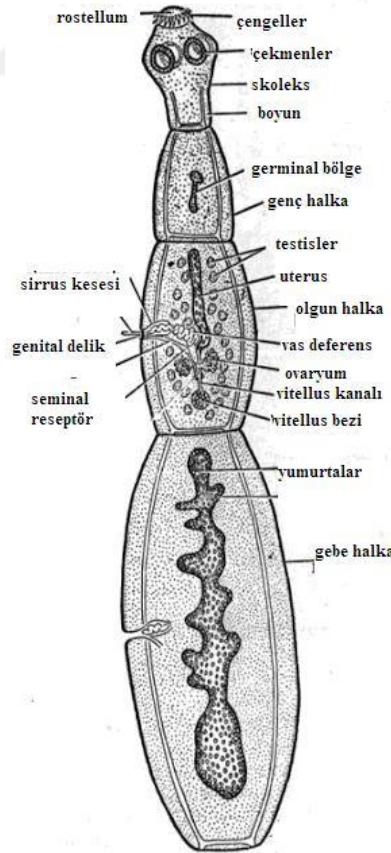
Osmanlı döneminde Kistik Hidatidoz ile ilgili ilk bilgi 1872 yılında Doktor Katibian tarafından '*kyste hydatique multiloculare*' olgusu ile bildirilmiştir. 1903'de Dr. Ali Rıza Bey karaciğer kist hidatik sıvısından kimyasal analiz yapmıştır. Türkiye'de köpeklerde ilk *E. granulosus* taramasını İsmail Hakkı Çelebi 1928'de İstanbul'da yapmış, nekropsisini yaptığı 100 köpekten üçünde erişkin parazite rastladığını bildirmiştir. Ülkemizde insanlardaki ilk kist hidatik olgusunu 1939'da Kamile Aygün bildirmiştir. 1950 yılında Ekrem Kadri Unat hidatid çengellerini Ziehl Nielsen ile boyamış, daha sonraki yıllarda serolojik tanıda indirekt hemaglutinasyon testini kullanmıştır. 1976 yılında Ahmet Merdivenci 'Türkiye'de Hidatidoz' kitabını yazmıştır (17, 18, 20).

2.3. Morfoloji

2.3.1. Erişkin

Boyu ortalama 2–11 mm, eni ise 0.6 mm olan *E. granulosus*'un vücudu; baş (skoleks), boyun (proliferasyon bölgesi) ve strobila denen halkalardan oluşmaktadır

(Şekil 2.1). 0.26-0.36 mm çapta olan baş (skoleks) üzerinde parazitin bağırsağa tutunmasını sağlayan 4 adet çekmen ve rostellumda çift sıra halinde çengeller yer almaktadır. Proliferasyonun olduğu bölge olan boyun çok kısadır. Kopan halkaların yerine bu bölgeden tomurcuklanma ile yeni halkalar oluşmaktadır (17). Gövde (strobila) çoğunlukla 3 halkalı olmakla birlikte nadiren 4 halkalı şeritlere rastlanıldığı bildirilmiştir. Başa en yakın olan halka genç, ortadaki olgun, sondaki ise gebe halka olarak adlandırılmaktadır. Genç halkanın genital organları gelişmemiştir. Boyu eninin yaklaşık 2 katı olan olgun halkada gelişmiş genital organlar bulunmaktadır. Dişi üreme organları halkanın arka üçte birlik kısmında olup halkanın ortasında ovaryum, onun arkasında da vitellus kesesi bulunmaktadır. 25-80 arasında değişen foliküle sahip olan testisler genital deliğin ön ve arka kısmında bulunmaktadır. Genital delik tek taraflı olup, halkanın ortasına yakın yada arka yarısından dışarı açılmaktadır. Parazitin toplam uzunluğunun yarısı kadar veya daha büyük olan gebe halkada içi yumurta ile dolu uterus bulunmaktadır. Uterus halkanın içinde önden arkaya doğru uzanmakta ve yan taraflarda farklı sayıda dallar vermektedir. Uterus içerisinde 200-800 adet yumurta bulunmakta olup parazit embriyonlu yumurta çıkarmaktadır (18).



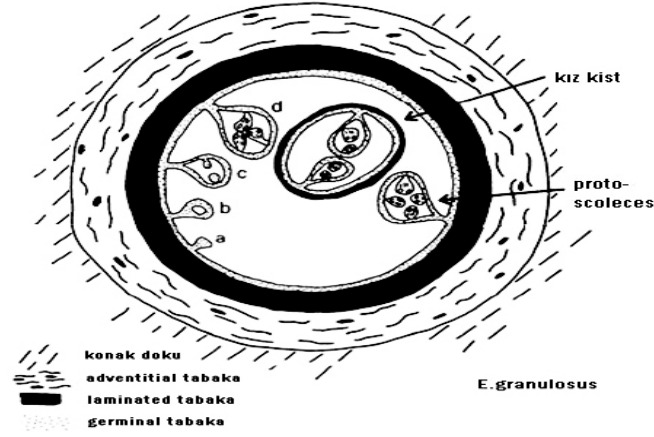
Şekil 2.1. Echinococcus granulosus'un erişkin formu (19)

2.3.2. Metasestod (Hidatik Kist)

Makroskopik olarak uniloküler ya da multiveziküler (multikistik) olmak üzere iki farklı şekilde görülebilen hidatik kistlerin, tüm ekinokok larvaları arasında en basit yapıya sahip larva tipi olduğu bildirilmiştir. Büyük bir kese şeklinde olan uniloküler kistlerin içerisinde çok sayıda kız kese bulunmaktadır. Multiveziküler kistler ise tek bir kistin dışı doğru çok sayıda kız kese oluşturmasıyla meydana gelen, birbirine yapışık çok sayıda küçük ve bağımsız kistler topluluğudur. İnsan ve koyunlarda yerleşen kistlerin çoğunlukla uniloküler yapıda, sığırlarda yerleşenlerin ise multiveziküler yapıda ve steril olduğu bildirilmiştir (15, 21). Hidatik kistler dıştan içe doğru şu yapıları içermektedir; En dışta kisti çevreleyen, yangı hücrelerinin dejenerasyonu sonucu oluşan, konağa ait fibröz tabaka (perikist)

- Fibröz tabakanın altında altın kütiküler tabaka
- Ortada laminar tabaka
- İçte germinal tabaka
- Germinal tabakaya bağlantılı protoskoleksler
- Germinal tabakadan kopmuş, serbest halde yüzen protoskoleksler
- Germinal tabakaya bağlantılı üreyici kapsüller
- Germinal tabakadan kopmuş, serbest yüzen üreyici kapsüller
- Serbest üreyici kapsüllerin gelişmesi sonucu oluşan kız keseler (Şekil 2.2).

Konağın oluşturduğu fibröz tabaka (perikist) ile parazitin arasındaki boşlukta az miktarda berrak, açık sarı renkte kist sıvısı bulunmaktadır. Steril kistlerin içerisinde üreme kapsülleri, protoskoleks ve kız keselerin bulunmadığı, fertil kistlerin ise bol miktarda protoskoleks içerdiği bildirilmiştir (15).

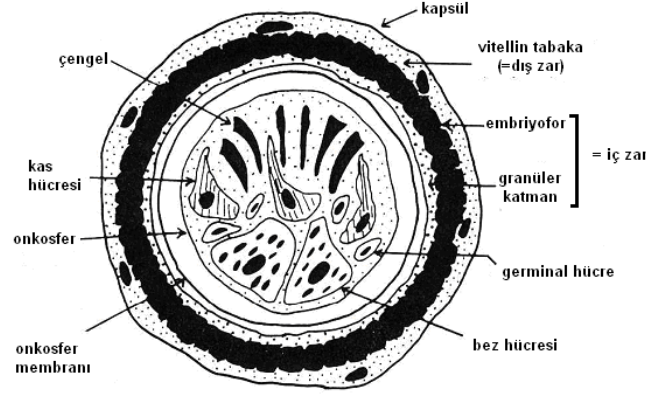


Şekil 2.2. Echinococcus granulosus'un metasestod formu (5)

2.3.3. Yumurtalar

20-50 µm büyüklüğünde, oval yapıda, çift membranlı ve kapaksız olan *E. granulosus* yumurtaları, içerisinde altı çengelli gelişmiş bir onkosfer (embriyo) taşımaktadır (Şekil 2.3). Yumurtalar morfolojik olarak diğer *Taenia* türlerinin yumurtalarına benzemekte olup birbirinden ayırt edilmeleri zordur. Ancak Smyth'in bildirdiğine göre Craig ve arkadaşları *Echinococcus* yumurtalarını spesifik olarak tanımlamaya yönelik anti-onkosferal monoklonal antikorlar geliştirmişlerdir (22, 23).

Yumurtanın en dış katmanı olan embriyofor, onkosferi korumak ile görevli olup yumurtanın fiziksel dayanıklılığını sağlamaktadır. Oldukça kalın olan bu tabakanın keratin benzeri bir protein yapısında olduğu, geçirgen olmadığı ve yumurtaya radial çizgili görünüm verdiği belirtilmiştir (23, 24). Yumurtaların bu tabaka sayesinde dış ortamda düşük ısıda uzun süre (+2 °C'de 2.5 yıl) canlı kaldığı ancak kuraklık ve yüksek ısıya karşı fazla dayanıklı olmadığı bildirilmiştir (25). Gebe halka dışkıyla dışarı atılırken çok ince yapıda olan yumurta kapsülü uterus içinde parçalanmakta bu nedenle dışkıda bulunan yumurtalarda kapsül görülmemektedir (24).



Şekil 2.3. Echinococcus spp yumurtasının iç yapısı (10)

2.4. Biyoloji

Echinococcus granulosus biyolojik döngüsünü iki farklı memeli konakta tamamlamaktadır. Son konak olan köpeklerin dışkıları ile dışarı atılan gebe halkaların parçalanmasıyla serbest kalan yumurtaların arakonaklar tarafından oral yada solunum yoluyla alınmasıyla ara konaklarda enfeksiyon başlamaktadır (15, 23). İnce bağırsakta sindirim enzimlerinin etkisi ile yumurtaların parçalanması sonucu onkosferin serbest kaldığı, sonrasında çengel hareketleri ve histolitik enzimlerin yardımıyla villüs epitellerine penetre olarak lamina propria'ya ulaştığı, bağırsak duvarını delerek venöz dolaşımına pasif olarak karaciğere taşındığı bildirilmiştir. Karaciğerde tutunamayanların portal sistemle kalbe, oradan da akciğerlere geçtiği, akciğerlerde tutunamayanların pulmoner venler aracılığı ile tekrar kalbe taşınıp oradan sistemik dolaşımına vücudun herhangi bir organına gidip yerleştiği bildirilmiştir (24, 26). Yapılan çalışmalar sonucu *Echinococcus* türlerine ait onkosferlerin hedef dokuya ulaştıktan sonraki 14 gün içinde bir takım değişikliklere uğradığı bildirilmiştir. Bunlar; hücresel proliferasyon, onkosferal çengellerin dejenerasyonu, kas atrofisi, vezikularizasyon, santral kavite oluşumu, germinal ve laminar tabakaların gelişimidir. Sonrasında kistik, aseksüel olarak çoğalan metasestod gelişmektedir (27-29). Oldukça yavaş bir büyüme hızına sahip olan kistlerin beş ayda ortalama 5–10 cm çapa ulaştığı, yıllar sonra 30 cm çapa kadar ulaşabileceği bildirilmiştir. Bu kistlerin büyüme oranları konağın türüne, yaşına ve kistin yerleştiği organa göre değişiklik göstermektedir. İçerisinde protoskoleks bulunan fertil kistlerin yenilmesi sonucu son konaklarda enfeksiyon oluşmaktadır. Oral yolla alınmadan önce protoskoleksin üzerinde çekmen, rostellum ve çengellerin bulunduğu apikal bölgenin, mukopolisakkarit kaplı bir tabaka içine invagine durumda olup bu

sayede evaginasyona uğrayıncaya kadar korunduğu belirtilmiştir (30). Deneysel olarak evagine *E. granulosus* protoskoleksleri ile enfekte edilen köpeklerde invagine protoskolekslerle enfekte edilenlere göre bağırsaklarda daha az parazitin yerleştiği bildirilmiştir (5). İlk olarak midedeki pepsin enzimine, daha sonra ince bağırsaklardaki pH değişikliği ve safraya maruz kalan protoskolekslerin 24 saat içinde evagine olduğu, çekmenleri sayesinde ince bağırsak villuslarına tutunarak halkalar oluşturmaya başladığı ve beş ile sekiz hafta içerisinde içi yumurta ile dolu gebe halkaların dışı ile dışarı atıldığı bildirilmiştir (15, 31, 32).

2.5. Epidemiyoloji

Echinococcus granulosus'un gelişiminde ormansal (silvatik) ve kırsal (pastoral) olmak üzere iki farklı biyolojik döngü vardır. Silvatik döngü; kurt, çakal, tilki gibi yabani kanideler ile geyik, karaca gibi yabani memeliler arasında seyreder. Pastoral döngü ise köpek ile koyun, keçi, sığır ve insanın da arasında bulunduğu memeliler arasında seyreder. İnsan sağlığı açısından kırsal döngünün daha büyük önem taşıdığı bildirilmiştir çünkü insanlar için bulaşma kaynağı köpekler, köpekler için ise enfekte kasaplık hayvanlardır (33, 34).

Besi ve mezbaha hayvancılığının önemli gelir kaynağı olduğu ülkelerde hastalığın prevalansının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu ülkelerin kırsal alanlarında yaşayan köpeklerin kaçak kesimler sonucu kesilen hayvanların enfekte organlarıyla beslemesi bulaşmada önemli rol oynar. Yumurtaların suda uzun süre canlı kalabildiği, bu sebeple sabit su kaynaklarının insan ve çiftlik hayvanları açısından bulaşma kaynağı olabileceği bildirilmiştir. Kişilerde enfeksiyon görülme sıklığı; kişisel sağlık, hijyen, sosyoekonomik ve kültürel farklılıklar gibi faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Sudan, Peru ve Kenya gibi yaşam ve sağlık standartları düşük olan ülkelerde hastalığın prevalansının oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir. Hastalığın bulaşımı bakımından mesleğin rolünün oldukça fazla olduğu, son konak ya da ara konaklarla yakın ilişki içerisinde olan Veteriner hekim, avcı, kasap, çiftçi, çoban gibi meslek gruplarının, ayakkabı tamircisi ve mezbaha çalışanlarının daha büyük risk altında olduğu belirtilmiştir (35).

Yumurtaların, sahip olduğu embriyofor sayesinde fiziksel ve çevresel faktörlere karşı oldukça dayanıklı olduğu ve enfektivitelerini uzun süre koruduğu bildirilmiştir. Bu faktör hastalığın epidemiyolojisinde önemli rol oynamaktadır. Kuraklık ve yüksek ısıya

karşı fazla direnç gösteremeyen yumurtaların, +4°C ile +15°C arasındaki sıcaklık değerlerinde bir yıl kadar canlı kalabildiği bildirilmiştir (5, 36).

2.5.1. Kistik Ekinokokkozis'in Dünyadaki Yaygınlığı

Kistik Ekinokokkozis bütün kıtalar ve kutuplarda, ılıman, tropikal ve subtropik bölgelerde görülmektedir. Parazit prevalansının en yüksek olduğu bölgelerin Avrasya, Afrika, Avustralya ve Güney Amerika'nın bazı kesimleri olduğu bildirilmiştir. Kanada, Alaska, İskandinav ülkeleri ve eski Sovyetler Birliği ülkelerinde ormanlık alanların fazla olması sebebiyle enfeksiyonun kurtlarla yabancı memeliler arasında gelişme gösterdiği, bu sebeple insan enfeksiyonlarının nadir görüldüğü belirtilmiştir (37).

Kıbrıs'da 1970'li yıllara kadar hem insan, hem de hayvanlarda önemli bir sorun olan KE'e karşı 1971 yılında kontrol programı uygulanmaya başlanmıştır. Sonraki yıllarda enfeksiyona düşük oranlarda da olsa tekrar rastlanılmış ve 1993 yılında ikinci bir kontrol programı uygulamaya konulmuştur (38).

Kuzey Afrika'da Fas, Cezayir, Tunus ve Libya'da prevalansın yüksek olduğu, Mısır'da ise bu oranın belirgin olarak daha düşük olduğu bildirilmiştir (39). Sudan, Etiyopya, Kenya ve Tanzanya'da 1985-1987 yıllarında yapılan çalışmalarda KE'in insanlardaki prevalansı ortalama %1.8 oranında bulunurken, Kenya'da bulunan Turkana bölgesinde %7.5 olduğu, sonrasında uygulanan kontrol çalışmaları ile 10 yılda %3.1'e düşürüldüğü bildirilmiştir (40). Güneydoğu Turkana'da Kenny ve arkadaşları tarafından 538 kişiyi kapsayan bir sero-epidemiolojik çalışmada %16.4 oranında seropozitiflik saptanmıştır (41).

Bulgaristan'da 1950-1962 yıllarında cerrahi olarak doğrulanmış 6469 *E. granulosus* enfeksiyonu saptanmış, enfeksiyonun yüksek oranda endemik olmasından dolayı (6.5/100000) 1960 yılında kontrol programı başlatılmıştır. 1971-1982 tarihleri arasında yıllık insidans insanlarda 2/100000'e düşürülmüştür (42).

1969-1975 yılları arasında Yunanistan'da yapılan bir araştırmada hastane kayıtlarına göre 4566 KE vakası bildirilmiştir (43).

Kazakistan'da cerrahi olguların insidansı 1974-1990 yıllarında 100000'de 0.9-1.4'ten 1997 yılında 100000'de 2.5'a yükselmiştir (44).

Çin'in batısında KE'in endemik olarak görüldüğü ve insidansın yüksek olduğu altı eyalette 1951-1990 yılları arasında 26.065 cerrahi olgunun varlığı bildirilmiştir (45).

Arjantin’de 6348 kişiyi kapsayan detaylı bir araştırmada serolojik ve radyolojik yöntemlerle toplam 41 (% 0.65) pozitif KE olgusu bildirilmiştir (46).

1976-1986 yılları arasında Ürdün’de beş farklı hastanenin kayıtlarından elde edilen veriler doğrultusunda, cerrahi operasyon ve patolojik incelemelerle doğrulanan 306 KE olgusu bildirilmiştir. Ayrıca Ürdün’de sokak köpeklerinin %14’ünde *E. granulosus* görüldüğü bildirilmiştir (47).

Hindistan, Nepal, İran ve Pakistan gibi Asya ülkelerinde hem son konak hem de ara konaklardaki enfeksiyon oranının oldukça yüksek olduğu, İran’ın kırsal bölgelerinde 1968-1970 yılları arasında 352 olguya rastlanıldığı bildirilmiştir (48, 49).

Güney Amerika’da her yıl 2000’den fazla yeni KE’li hastanın ameliyat edildiği bildirilmiştir (50).

Yapılan çalışmalar sonucu çeşitli ülkelerde son konak köpeklerde *E. granulosus* görülme yüzdeleri şu şekildedir; Güney Amerika’da %2.1-19.7, Avrupa’da %1-8.1, Afrika kıtasında %22-72, Asya kıtasında %10.2-48, Avustralya kıtasında %86.9-100 (51).

2.5.2. Kistik Ekinokokkozis’in Dünyadaki Moleküler Epidemiyolojisi

Echinococcus granulosus’un varyantları üzerine yapılan moleküler analizler sonucu Çin’in kuzeybatısında en baskın suşun yaygın koyun suşu (G1) olduğu bildirilmiştir (52, 53).

Kenya’da oldukça yüksek prevalansta koyun (G1) ve deve (G6) suşlarının varlığı bildirilmiştir (54).

İran’da incelenen 200 izolatin tümünde yaygın koyun suşu (G1) belirlenmiştir (55).

Arjantin’de yapılan araştırmalar, insan ve koyunlarda yaygın koyun suşu (G1) ile Tazmanya koyun suşunun (G2), bununla birlikte insanlarda deve suşunun (G6) domuzlarda domuz suşunun (G7) varlığını ortaya koymuştur (56, 57).

Nepal’de hayvanlardan elde edilen izolatların incelendiği çalışmada *E. granulosus*’un koyun (G1), sığır (G5) ve deve (G6) suşları belirlenmiştir. Aynı çalışmada iki insan izolatu incelenmiş ve insanda deve suşu (G6) bildirilmiştir (58).

KE'nin hem silvatic hem de pastoral döngüsünün bildirildiği Avustralya'da yapılan detaylı moleküler çalışmalar sonucu yaygın koyun suşunun (G1) baskın olduğu belirtilmiştir (59, 60).

10 koyun, 5 deve, 12 sığır ve 3 insana ait toplam 30 izolatin incelendiği Libya'da mt-CO1 gen bölgesinin dizi analizi yapılmış ve tüm örneklerin yaygın koyun suşu (G1) olduğu bildirilmiştir (61).

2.5.3. Kistik Ekinokozisin Türkiye'deki Yaygınlığı

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de büyük bir kesimin hayvancılıkla uğraşması sebebiyle KE'in önemli bir halk sağlığı problemi olduğu bildirilmiştir. Ülkemizde verilerin düzenli olarak toplanamaması veya yanlış bildirilmesinden dolayı Sağlık Bakanlığı verilerinin gerçeği tam olarak yansıtmadığı düşünülmektedir. Bu verilere göre 1861-1922 yılları arasında 39, 1923-1972 yılları arasında 2086, 1975-1994 yılları arasında 40.242 olgu bildirilmiştir. Bununla birlikte ülkemizde çeşitli araştırmacıların yaptığı çalışmalar ve derlemeler enfeksiyonun prevalansı hakkında bilgi vermektedir (19, 62).

Yıllık ortalama olgu sayısı Manisa'da 1995-2000 yılları arasında 21, Aydın'da 1986-1995 yılları arasında 11, İzmir'de ise 1997-2001 yılları arasında 210 olarak bildirilmiştir. Olguların büyük çoğunluğunda kistlerin karaciğer yerleşimli olduğu, enfeksiyona kadınlarda rastlanma oranının erkeklere göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (63, 64).

Gürsel, 1960-1967 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi 2. Cerrahi Kliniğinde 38, 1932-1962 yılları arasında Ankara Numune Hastanesi'nde 662 KE'li hastanın tedavi edildiğini bildirmiştir (65, 66).

Marmara bölgesinde Edirne, Kırklareli ve Tekirdağ illerinde 1991 yılında insanlarda Casoni yöntemi ile % 9.2 olarak belirlenen KE seropozitifliğinin IHA testi ile %12 olduğu bildirilmiştir (67).

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahiliye ve Cerrahi Klinikleriyle, Şişli Çocuk Hastanesi ve Haseki Hastanesi Cerrahi Servisleri'nde 1969 yılında 321 KE olgusu bildirilmiştir (68).

Elazığ'da 1998-2000, Şanlıurfa'da 1997-1999 ve Malatya'da 1990-2001 yılları arasındaki olguların değerlendirildiği çalışmalarda sırasıyla yılda ortalama 15, 38 ve 40

olgu saptandığı ve bu olguların çoğunluğunun kadınlar olduğu bildirilmiştir. Olguların ortalama %71'inin karaciğerde, %18'inin akciğerde, daha az sıklıkla böbrek, dalak ve diğer organlarda görüldüğü bildirilmiştir (69-71).

Malatya'da temizlik işçilerinde KE prevalansını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada 240 serum örneği İndirekt Hemaglutinasyon Tekniği (IHAT) ve İndirekt İmmunofluoresans Tekniği (IFAT) ile incelenmiştir. Serumların 17'si (%7.08) pozitif olarak değerlendirilmiştir (72).

Kars'ta kist hidatiğin seroprevalansını belirlemek amacıyla 511 insan serumunun IHAT ve IFAT ile incelendiği araştırmada, %34.6 oranında sero-pozitiflik saptanmıştır (73).

Sağlık Bakanlığı kayıtlarına göre Samsun'da 1999-2000 yıllarında 16'sı erkek, 8'i kadın olmak üzere toplam 24 adet insan olgusuna rastlanılmıştır. Ondokuz Mayıs Üniversitesi'nde aynı dönemde çeşitli kliniklerde toplam 41 olgu bulunduğu yayınlanmıştır (74).

Sivas'ta 1996-2001 yılları arasında toplam 117 olgu bildirilmiştir (75).

Van'da 1999-2000 yılları arasında KE şüpheli 962 hastanın serumları araştırma hastanesi parazitoloji laboratuvarında IHA yöntemiyle incelenmiş ve 352'sinin (%36.6) pozitif olduğu bildirilmiştir (76).

Adana ve Mersin'de Sağlık Bakanlığı kayıtlarına göre 1996-2000 yılları arasında KE tanısı alan olguların sayısı sırasıyla 1073 ve 289 olarak bildirilmiştir (77).

Alkan ve Özcel 1991 yılında Türkiye'de kırsal alanda yaşayan 684 kişide KE yaygınlığını sero epidemiyolojik olarak belirlemeye yönelik yaptıkları çalışmada 100.000'de 585 seropozitiflik saptadıklarını bildirmişlerdir (78).

Yapılan çalışmalara göre son konak köpeklerde *E. granulosus*'un yaygınlık oranları; Ankara'da %0.94, Bursa'da %36, İzmir'de %5.5, Kayseri'de %24, Kars'ta %40.5, Konya'da %28.3, Adana'da %24.72, Elazığ'da %3.33, Sivas'ta %28, Muş'ta %9, Antakya'da %8.86, İstanbul'da %0.8 olarak bildirilmiştir (51, 79, 80-82).

2.5.4. Kistik Ekinokokkozis'in Türkiye'deki Moleküler Epidemiyolojisi

Ütük ve arkadaşları 2008 yılında Erzurum, Malatya, Elazığ ve Diyarbakır illerinden elde ettikleri 179 koyun, 19 sığır, 7 keçi, 1 deve, 1 insan izolatu ile bir

köpekten elde ettikleri erişkin *E. granulosus* örneğinin ribozomal ITS-1 gen bölgesini PZR-RFLP analizi ile incelemiş, sonrasında yaptıkları mt-CO1 sekans analizi ile sadece yaygın koyun suşu (G1) bulduklarını belirtmişlerdir (83).

Şimşek ve arkadaşları 2009 yılında yaban koyunundan (*Ovis gmelinii anatolica*) elde ettikleri hidatik kist materyalini mt-CO1 sekans analizi ile incelemiş, Türkiye’de ilk kez yaban koyununda yaygın koyun suşu (G1) bulduklarını belirtmişlerdir (84).

Snabel ve arkadaşları İzmir ve Manisa illerinden elde ettikleri 12 koyun ve 10 insan izolatına mt-CO1, atp6, nad1, rrrS sekans analizleri uygulamış, Türkiye’de ilk kez domuz suşu (G7) bulduklarını belirtmişlerdir (85).

Vural ve arkadaşları mt-CO1 sekans analizi ile inceledikleri 100 koyun ve 12 sığır izolatında 98 koyun ile 9 sığır izolatının G1, 2 koyun ve 3 sığır izolatının da G3 olduğunu bildirmişlerdir (6).

Şimşek ve arkadaşları 2010 yılında Erzurum’da 220 sığıra ait hidatik kist materyalinin 12S rRNA gen bölgesini PZR ile çoğaltmış, takibinde örneklerin mt-CO1 bölgesine sekans analizi uygulamışlardır. Araştırmacılar, 12S rRNA gen bölgesi analizine göre 147 örneğin G1-G3 (*E. granulosus sensu stricto*) olduğunu, DNA dizi analiz sonucuna göre bunların 28’inin G1 suşu olduğunu bildirmişlerdir. DNA sekans analizi sonucu kalan 73 örneğin 7’sinde G3 suşu belirlemişlerdir (86).

Eryıldız ve arkadaşları 39 koyun izolatının protoskolekslerinde *E. granulosus* actin genlerini analiz etmişler ve *EgactI* geninin *EgactII* geninden daha polimorfik olduğunu belirleyerek *EgactI* geninin üç allelini tanımlamışlardır. Tüm örneklerde parsiyal *EgactI* geninin 6. pozisyonunda nükleotid değişikliği saptanmış ve Anadolu haplotipi olarak adlandırılmıştır (87).

Şimşek ve arkadaşları Erzurum ve Elazığ illerinden elde ettikleri 31 koyun ve 23 sığır izolatını PZR-SSCP yöntemiyle genotiplendirilmiş ve örneklerin hepsini *E. granulosus sensu stricto* (G1-G3) olarak tanımlamışlardır. Sonrasında DNA dizi analiziyle G1 ve G3 suşlarını birbirinden ayırmışlar, SSCP analizinin G5 ve G7 suşları için farklı band profilleri verdiğini belirtmişlerdir (88).

Şimşek ve arkadaşları histolojik olarak KE olduğu onaylanmış 70 hastaya ait parafinli bloklardan yapılan kesitlerden DNA izolasyonu yapıp elde ettikleri örneklerin 12S rRNA bölgesini PZR ile çoğaltmış, takibinde mt-CO1 geninin dizi analiziyle genotiplendirme yapmışlardır. 12S rRNA geninin direkt PZR ile amplifikasyonu sonucu

70 örneğin 26'sında *E. granulosus sensu stricto* (G1-G3) belirlemişlerdir. Kalan 44 örneğin mt-CO1 gen bölgesinin DNA dizi analizi neticesinde bir örnekte G3 ve iki örnekte de G6 suşunu belirlemişlerdir (89).

2013 yılında bir ata ait hidatik kist materyalinde mt-CO1 geninin dizi analizini yapan araştırmacılar, at izolatını *E. granulosus sensu stricto* (G1-G3) belirlemişlerdir (90).

Ütük ve arkadaşları bir dağ keçisinin akciğerinden elde ettikleri hidatik kist materyalinin PZR işlemi sonrasında mt-CO1 gen bölgesini sekanslanmış ve yaygın koyun suşu (G1) bulduklarını belirtmişlerdir (91).

Yıldıran ve arkadaşları Kırıkkale'de 24 koyuna ait hidatik kist materyallerini RAPD-PZR ile incelemiş ve tümünü G1 suşu olarak belirlemişlerdir (1).

Gökpinar ve arkadaşları Kırıkkale'de 20 sığırdan elde ettikleri hidatik kist materyaline mt-CO1 sekans analizi yapmışlar, tüm izolatları *E. granulosus sensu stricto* (G1 - G3) belirlemişlerdir (92).

Ergin ve arkadaşları İstanbul'da hidatik kistli 46 insan izolatının genotipik karakterizasyonu amacıyla yaptıkları çalışmada mt-CO1 gen bölgesinin sekans analizi sonucu tüm izolatların yaygın koyun suşu (G1) olduğunu bildirmişlerdir (93).

Beyhan ve arkadaşları Karadeniz bölgesinde mandalarda KE'nin moleküler karakterizasyonu ve prevalansını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada inceledikleri 9 manda izolatının 6'sının yaygın koyun suşu (G1), diğer 3 izolatın ise *E. granulosus sensu stricto* (G1-G3) olduğunu belirtmişlerdir (94).

Eryıldız ve arkadaşları PZR-RFLP ve PZR-SSCP yöntemlerini kullanarak Trakya bölgesinde 42 insan, 13 sığır ve 3 koyun izolatı üzerinde yaptıkları çalışmada ITS-1 ve NAD1 gen bölgelerinin dizi analizini yapmış, koyun ve sığır izolatlarının tümünde yaygın koyun suşu (G1), insan izolatlarında ise G1 ve G7 suşları belirlemişlerdir (95).

Ütük ve arkadaşları Kilis'te 19 koyundan elde ettikleri 28 hidatik kist izolatının hepsini *E. granulosus sensu stricto* (G1-G3) olarak belirlemişlerdir (96).

Altıntaş ve arkadaşları Manisa ilinde 2010-2012 yılları arasında 18 sığır izolatı üzerinde yaptıkları çalışmada tüm izolatların *E. granulosus sensu stricto* (G1-G3) olduğunu tespit etmişlerdir (97).

Şimşek ve arkadaşları katır karaciğerinden alınan bir hidatik kist materyalinin moleküler karakterizasyonunu yapmış ve G4 suşunu belirlemişlerdir. Bu çalışma ile Türkiye’de ilk kez katırlarda G4 suşu bildirilmiştir (98).

2.6. Kistik Ekinokokkozis’te Tanı Yöntemleri

Son Konaklarda Tanı: Erken dönemde tanı, enfeksiyonun kontrol altına alınabilmesi bakımından önem taşımaktadır. Enfekte son konaklarda nadiren klinik bulgulara rastlanılmaktadır. Son yıllarda *E. granulosus* enfeksiyonlarının tanısı amacıyla farklı yöntemler geliştirilmiştir. Erişkin parazitin teşhisi amacıyla kullanılan yöntemlerin; direkt dışkı bakışı, arekolin pürgasyon yöntemi, serumda spesifik antikorların aranması ve dışkıda koproantijen aranması olduğu belirtilmiştir (99). Dışkı ile genellikle parazitin halkaları atıldığı için dışkı muayenesinde yumurtaları görmek zordur. Dışkı sulandırıldıktan sonra çıplak gözle veya stereomikroskop altında incelenerek halkalar aranabilir. Yumurtalar, flotasyon teknikleriyle yapılan muayenelerde veya perianal bölgeye uygulanan selofan bantın mikroskopta incelenmesi sonucu tespit edilebilmekte ancak diğer *Taenia* türlerinin yumurtalarından morfolojik olarak ayırt edilememesi nedeniyle kesin tanı yapılamamaktadır (15, 100, 101). Arekolin pürgasyon yönteminde köpeklere 1.75-3.5 mg/kg arekolin uygulandıktan sonra pürgasyon sonucu atılan dışkıda erişkin parazitler ya da halkalar aranmaktadır (24). Serumda spesifik antikorların aranmasına yönelik uygulanan serolojik yöntemlerin bireysel olarak güvenilir tanı olanağı sağlamadığı ancak populasyon düzeyinde hastalığın belirlenmesinde faydalı olabileceği bildirilmiştir (102, 103). Son zamanlarda geliştirilen *Echinococcus* proglottid somatik antijenlerine karşı antikorların kullanıldığı, dışkıda antijenleri saptamaya yönelik koproantijen ELISA yönteminin, köpeklerde *E. granulosus* tanısındaki en pratik yöntem olduğu bildirilmiştir (104). Bu yöntem, parazitin erken dönemde teşhisini sağlaması bakımından oldukça önemlidir (99). En güvenilir tanı yönteminin nekropsisi sonucu parazitin teşhisi olduğu belirtilmiştir. Bu yöntemde sırasıyla bağırsakların direk muayenesi, sedimentasyon ve sayım tekniği uygulanmaktadır (24).

Ara Konaklarda Tanı: Ara konaklarda KE’in tanısı; klinik bulguların yanısıra, görüntüleme teknikleri, serolojik ve moleküler tekniklerle elde edilen bulguların birlikte değerlendirilmesi ile yapılmaktadır (4, 105).

2.6.1. Klinik Tanı

Kistik Ekinokokkozis'te çok farklı klinik tabloların ortaya çıkabildiği belirtilmiştir. Hastaların şikayetleri; kistin yerleştiği organa, kistin büyüklüğüne ve hastanın bağışık direncine bağlı olarak değişebilmektedir. Hastalarda ürtiker nöbetleri ve eozinofili gibi genel belirtilerin yanı sıra kistlerin yerleştiği organlara göre değişen lokal tümör belirtilerinin ortaya çıkabileceği, kistten etrafa sızan sıvının alerjik reaksiyonlara neden olabileceği, hepatosplenomegali, kistlerin bası etkisine bağlı olarak abdominal bölgede kronik ağrılar, kolestaz, bilier siroz, portal hipertansiyon ve huzursuzluk gibi bulguların oluşabileceği bildirilmiştir (106). Akciğerde yerleşim gösteren olgularda kronik öksürük, balgam, dispne, göğüs ağrısı, hemoptizi görülebileceği, kistlerin enfekte olması sonucunda akciğer apsesi gelişebileceği bildirilmiştir. Klinik bulguların hiçbiri tek başına KE tanısı için yeterli değildir. Bu sebeple farklı tanı yöntemleri ile elde edilmiş sonuçların birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir (107).

2.6.2. Görüntüleme Yöntemleri

Kistik Ekinokokkozis'in tanısında kullanılan başlıca görüntüleme yöntemleri; direkt grafi, ultrasonografi (USG), bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans (MR) ve sintigrafidir.

Direkt Grafi: Özellikle akciğerlerde yerleşen hidatik kistlerin tanısında kullanılmakla beraber rüptüre olmamış kistlerin keskin sınırlı olduğu, genellikle 1-20 cm çapta, yuvarlak, oval yapıda ve içleri homojen sıvı ile dolu olarak görüntü verdiği bildirilmiştir (108).

Ultrasonografi (USG): Kolay uygulanabilir olması ve KE tanısındaki etkinliğinden dolayı özellikle karaciğer kistlerinde ilk tercih edilen yöntem olduğu bildirilmiştir. USG muayenesinde iç kısımda görülebilir bir duvarı olan kistlerin (dalgalanan membran ya da nilüfer belirtisi) KE için patognomik olduğu belirtilmiştir (108).

Bilgisayarlı Tomografi (BT): Tüm vücudu tarayabilmekle beraber kalsifiye olmuş ve 1 cm'den küçük kistlerin de tanısını sağlayabildiği belirtilmiştir (108).

Manyetik Rezonans (MR): Yumuşak dokudaki kistlerin tanısında çok iyi sonuç verdiği ancak kalsifikasyonlar için uygun olmadığı bildirilmiştir (108).

2.6.3. Serolojik Testler

Günümüzde KE'in ön tanısı amacıyla daha çok radyolojik yöntemler kullanılmaktadır. Bununla birlikte oluşan kistlerin tümör, apse gibi diğer yer kaplayan olgularla ayırıcı tanısının yapılabilmesi ve post operatif nükslerin daha sağlıklı şekilde değerlendirilebilmesi için ön tanının serolojik tanı yöntemleriyle desteklenmesi gerektiği bildirilmiştir (46, 109). Konaklarda immün yanıtı neden olan birçok Ekinokok antijeni olmakla birlikte serolojik testlerde antijen kaynağı olarak sıklıkla kist sıvısı, protoskoleks ve germinatif membranların kullanıldığı bildirilmiştir (110). Ancak bu yapılar çoğul antijenik bileşimler içerdikleri için antijenik özellikler *Echinococcus* türleri için spesifik değildir. En çok tercih edilen hidatik kist sıvısı antijenlerinin Antijen 5 ve Antijen B lipoproteinleri olduğu belirtilmiştir (111). Kistlerin yapısı, lokalizasyonu, canlılığı, büyüklüğü, kişinin immün sistemi, kullanılan antijenin cinsi ve hazırlanma şekli gibi birçok faktörün serolojik testlerin duyarlılık ve özgüllüğünü değiştirebildiği bilinmektedir. Hastalığın tanısında kullanılan serolojik testler; Casoni deri testi, Kompleman Fiksasyon testi (Weinberg), Lateks Aglutinasyon (LA) testi, İndirekt Hemaglutinasyon (IHA) testi, İmmüdifüzyon (ID) ve İmmün elektroforez (IE) testi, İndirekt Floresan Antikor (IFAT) testi, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) testi, Koagülasyon (Co-A) testi ve Western Blot (WB) yöntemidir. KE tanısında eskiden yaygın olarak kullanılan Casoni ve Weinberg testlerinin günümüzde tercih edilmediği, antikor teşhisi amacıyla en sık IHA, IFAT, ELISA, Lateks Aglutinasyon ve Western Blot gibi testlerin kullanıldığı bildirilmiştir. İki yada daha fazla serolojik yöntemin birlikte kullanılması duyarlılığı yükseltmektedir (99).

İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHA): Koyun eritrositlerinin tannik asitle duyarlılaştırıldığı, bu sayede yüzey gerilimlerinin değiştirilerek antijen tutma özelliğinden yararlandığı bir serolojik yöntemdir. Antijenle kaplı eritrositler serumdaki antikorla reaksiyona girdiğinde aglutinasyon oluşturmaktadır (112). Kullanılan antijene bağlı olarak testin duyarlılığının ve özgüllüğünün değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (113).

İndirekt Floresans Antikor Testi (IFAT): Floresans verici maddelerle işaretlenmiş antikorun antijenle oluşturduğu serolojik reaksiyona dayanan bir testtir. İşaretlenmiş antikorlar spesifik antijenlerle bağlanınca floresans mikroskop altında görülebilir hale gelmektedir. Bu yöntemde germinatif membran kesiti ile protoskoleksin tamamı veya kesiti antijen olarak kullanılmaktadır. Zayıf pozitif sonuçların diğer yöntemlerle

doğrulanması gerektiği bildirilmiştir (114). IFAT ile duyarlılığın ve özgüllüğün %90 olduğu belirtilmiştir (115).

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA): Polistren plaklara emdirilmiş antijen moleküllerine bağlanan özel antikorlar üzerine enzim işaretli immunoglobulinlerin bağlanması ve enzimin substrat ile renk vermesi esasına dayanmaktadır. Doğal (ham kist sıvısı) ya da saflaştırılmış antijen kullanılabilir. Saflaştırılmış antijen kullanmanın özgüllüğü artırırken duyarlılığı düşürdüğü belirtilmiştir. ELISA'nın duyarlılığının %83-100, özgüllüğünün ise %76-99 arasında değiştiği bilinmektedir (116).

Western Blott (immunoblotting) Yöntemi: Bir membran üzerine sabitleştirilmiş proteinleri tanımlamada kullanılmaktadır (117). Bu yöntem diğer serolojik yöntemler ile kombine edildiğinde duyarlılığın %100'e yükseldiği görülmüştür (118).

2.6.4. Moleküler Yöntemler

2.6.4.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Kullanım alanı oldukça geniş bir moleküler yöntem olup, *Echinococcus*'larda gen karakterizasyonu, gen haritalama, teşhis ile türler arası ve tür içi genetik çeşitliliğin araştırılmasında kullanıldığı bilinmektedir. Yöntemin prensibi; patolojik materyallerde bulunan hedef genetik yapıların (DNA, RNA) spesifik oligonükleotid primerler kullanarak, deoksiribonükleotit trifosfat (dNTP) ve ısıya dayanıklı polimeraz enzimleri (Taq DNA Polimeraz) yardımıyla çoğaltılmasıdır. Reaksiyon başlıca; denatürasyon, primerlerin bağlanması (annealing) ve amplifikasyon (extension) olmak üzere üç aşamada gerçekleşmektedir. Üç aşamadan oluşan amplifikasyonun ilk aşamasının 30-35 kez tekrarlanması sonucunda, hedef DNA'nın sayısız kopyasının oluştuğu belirtilmiştir. Amplifikasyon aşamasından sonra elde edilen ürünler, agaroz jel veya poliakrilamid jel elektroforezi ile ayrıştırılıp, ethidium bromide ile boyanarak görünür hale getirilmektedir (119).

Dinkel ve arkadaşları, *Echinococcosis*'te çoğunlukla tanı amacıyla kullanılan bu yöntemi tiplendirme yapmak için kullanmışlardır. Yaptıkları çalışmada *E. granulosus*'un G1, G5, G6/G7 suşları için PZR/semi nested PZR, G1 suşunun ve G5/G6/G7 suşlarının tanısında klasik PZR, G5 ile G6/G7 suşlarının ayırımında ise semi-nested PZR yöntemini kullanmışlardır. *Echinococcus multilocularis*, *E. equinus*,

E.ortleppi ve *E.granulosus*'un G1, G6 ve G7 suşlarının da dahil olduğu 16 türün izolatlarının değerlendirildiği bu çalışmada PZR analizinin spesifitesi %100 olarak bulunmuştur (120). Elde edilen sonuçlar doğrultusunda Batı Afrika'da insanlarda ilk kez G6 suşu ile enfeksiyon bildirilmiştir. Yine Kenya ve Sudan'da çiftlik hayvanlarında G5 suşu belirlenmiştir (121-2).

2.6.4.2. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

Çift iplikçikli DNA'nın belli bölgelerinden kesim yaparak, DNA'dan bir genin veya gen taşıyan bir DNA segmentinin çıkarılmasını sağlayan enzimlere restriksiyon enzimleri (RE) adı verilmektedir. DNA'nın bu enzimlerden bir veya birkaçı ile kesime uğratıldıktan sonra agaroz jel elektroforezinde yürütülmesi, sonrasında ethidium bromide ile boyanan jelde DNA bandlarının yer, sayı ve büyüklüklerine göre karşılaştırılıp yorumlanmasına dayanan yöntem Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) adı verilmektedir (121, 123). Çin'de dört farklı bölgeden toplanan *E.granulosus* izolatlarından elde edilen DNA örnekleri, RFLP ve Southern blot analizi ile incelenmiş, örnekler arasında genetik bir varyasyon olmadığı bildirilmiştir (124). Çin'in kuzeybatısında insanların da dahil olduğu 117 arakonaktan elde edilen izolatlar, RFLP, PZR-RFLP ve mitokondriyal genom analizi ile incelenmiş, izolatlar arasında genetik varyasyon olmadığı bildirilmiştir (52).

2.6.4.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriction Fragment Length Polymorphism (PZR-RFLP)

Klasik RFLP'den farklı olarak; genomik DNA'nın belirli bir bölgesi, o bölgeye özgü oligonükleotid primerler aracılığıyla amplifiye edilmektedir. Elde edilen ürünler bir ya da daha fazla sayıda restriksiyon enzimi ile kesilip, agaroz jel elektroforezde yürütülmekte, ethidium bromide ile boyanmakta ve ultraviyole ışık altında görüntülenmektedir. PZR-RFLP'nin *Echinococcus* izolatlarının suş ve türlerinin belirlenmesinde oldukça basit, duyarlı ve hızlı bir yöntem olduğu bildirilmektedir (121, 123). PZR-RFLP ve DNA dizileme tekniklerinin birlikte kullanıldığı çalışmalarda *E.granulosus*'un sığır suşunun (G5) insan enfeksiyonlarına neden olduğu bildirilmiştir. Yine aynı teknikle Tunus'ta insan, koyun ve sığır kistlerine G1 suşunun sebep olduğu, Tunus'ta G6 suşunun belirlendiği bildirilmiştir (125). İspanya'da elde edilen 53 izolat bu yöntemle incelenmiş, *E. granulosus*'un *E. multilocularis*'ten ayrımı yapılarak

İspanya'daki *E. granulosus* suşları tanımlanmıştır. İspanya'da G1 ve G7 genotiplerinin bulunduğu bildirilmiştir (104).

2.6.4.4. Random Amplified Polymorphic DNA-PZR (RAPD-PZR)

Arbitrary primed PZR (AP-PZR) olarak da adlandırılan yöntem; genomik DNA'nın herhangi bir bölgesinin rastgele seçilmiş 9-10 bazlık kısa primerler aracılığıyla çoğaltılması işlemidir. Seçilen primerlerin kromozom üzerinde hem kendilerine özgü olan hem de olmayan bölgelere bağlandığı bilinmektedir. Primerlerin bağlanma bölgeleri arasındaki uzaklık, agaroz jelde farklı sayı ve uzunlukta bandların oluşumuna sebep olmaktadır. Aynı türün farklı suşlarında primerlerin bağlanma yerlerinin sayısı ve birbirine olan uzaklıkları farklı olacağından, amplifiye edilen parçaların sayı ve büyüklüğü agaroz jel elektroforezinde farklılık göstermektedir. Amplifikasyon sonucunda jel elektroforezinde gözlenen her bir izolata ait band profilleri birbirleri ile karşılaştırılmakta, aynı band profili gösteren izolatlar 'epidemiolojik olarak ilişkili' şeklinde yorumlanmaktadır. Yöntemin, çok miktarda genomik DNA'ya ve DNA dizi bilgisine gerek duyulmaması, hızlı ve kolay uygulanabilir olması yönlerinden avantajlı olduğu bildirilmiştir (126). *Echinococcus* cinsine bağlı türlerin tiplendirilmesinde uygun görülen bu yöntemin diğer moleküler tekniklerle doğrulanmasının, daha sağlam bir tanıya olanak sağlayacağı belirtilmiştir (127).

2.6.4.5. Tek Zincir Yapı Polimorfizmi, PZR-SSCP (Single Stranded Conformation Polimorphism)

Single Stranded Conformation Polimorphism (SSCP)'in sekans farklılığı gösteren tek sarmallı DNA örneklerinin belirlenmesinde kullanılan basit, duyarlı ve güvenilir bir yöntem olduğu belirtilmiştir. Bu metodun prensibini tek iplikçikli DNA'nın şekil ve büyüklüğüne bağlı olarak, denatüre olmayan jel içerisindeki elektroforetik hareketi oluşturmaktadır. PZR-RFLP veya RAPD-PZR teknikleri DNA dizilerinin sayı ve büyüklüklerine göre agaroz jelde ayrımı esasına dayanan analizler oldukları için bu yöntemlerde aynı büyüklükte olup sekans farklılığı gösteren diziler agaroz jel elektroforezinde birlikte yürüyebilmekte ve tek bir sekans olarak düşünülebilmektedir. SSCP analizinde böyle bir durumun söz konusu olmadığı belirtilmiştir çünkü bu yöntem; tek sarmallı DNA'nın şekil ve büyüklüğüne bağlı olarak, uygun büyüklükteki bir dizideki tek bir nükleotid farklılığını dahi tanımlamaya

olanak sağlamaktadır. SSCP'nin en büyük avantajının, çok sayıda PZR örneğini eş zamanlı olarak inceleyebilmesi olduğu bilinmektedir (123, 128-9).

2.6.4.6. DNA Dizi Analizi (Sekanslama)

Yöntem, herhangi bir DNA parçasında bulunan A, G, T, C nükleotid sıralarının belirlenmesi olarak tanımlanmıştır. Yöntemde Klenow, Tag DNA polimeraz, reverse transkriptaz veya sekans enzimlerinden birisi kullanılarak dizisi saptanacak DNA iplikçığının komplementeri sentezlenmektedir. Sentezlenen DNA iplikçığıne dNTP ilave edildiğinde uzamanın sürdüğü, ddNTP ilave edildiğinde ise uzamanın durduğu bildirilmiştir. Sonuçta ortaya çıkan farklı uzunluktaki DNA parçaları poliakrilamid jelde elektroforeze tabi tutulmaktadır. Analiz sonucunu görünür hale getirmek için radyoaktif madde ya da flouresan veren maddelerle işaretleme yapılmaktadır. Bu metod ile her iki DNA zincirinin dizi analizi yapılarak, artefakt ve başka faktörler ile alakalı hataların minimize edildiği bildirilmiştir (121, 126, 130).

2.7. Tedavi

2.7.1. İnsanda Tedavi Yöntemleri

Günümüzde cerrahi yöntemlerle kistlerin çıkarılmasının sağaltımda en etkili yöntem olduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte KE'in endemik olduğu ülkelerde hastalığın sağaltımında ilaçların tek başına yetersiz olması, cerrahi yöntemler uygulandığında ciddi morbidite ve mortaliteye neden olmasının yanında, nükslerin de sık görülmesi sebebiyle yeni alternatif sağaltım yöntemlerinin araştırılması gerekliliği ortaya konulmuştur. Enfekte kişilerde en uygun sağaltıma karar vermek için endikasyon ve kontraendikasyonların, risklerin ve yararların ayrı ayrı değerlendirilmesi gerektiği belirtilmiştir (131-2).

2.7.1.1.Cerrahi Tedavi

Endikasyonları: Çoğul endojen kistleri olan büyük karaciğer kistlerinin, yırtılabilecek yapıda olan yüzeysel karaciğer kistlerinin, enfekte kistlerin, safra kanalları ya da komşu organlara baskı yapan kistlerin, akciğer, beyin, böbrek, kemik ve diğer organlardaki kistlerin cerrahi yöntemlerle alınmasının uygun olduğu belirtilmiştir (133).

Kontraendikasyonları: Cerrahiye reddeden hastalara, yaşlı ve hamile hastalara, kardiyak, renal veya karaciğer hastalığı olanlara, diyabetli, hipertansiyonlu hastalara,

çoğul kistli hastalara, ulaşılması zor, kalsifiye olmuş ya da çok küçük kistlere cerrahi girişim yapılamadığı bildirilmiştir (133).

Cerrahi Teknikler: Radikal cerrahi, konservatif cerrahi, palyatif cerrahi (131). Cerrahiden önce albendazole sağaltımı ile intrakistik basıncın düştüğü ve buna bağlı olarak karaciğer kistlerinin canlılığının azaldığı bildirilmiştir (133). Cerrahi müdahale sırasında protoskoleksleri öldürmek için etkili ve güvenli bir protoskolisidal ajan kullanmak gerektiği belirtilmiş olup günümüzde etkili ve toksisite riski az olan % 70'lik etanol, %20'lik hipertonic tuz veya %0.5'lik setrimid solüsyonunun tercih edildiği bilinmektedir (131). Herhangi bir cerrahi uygulamada oluşabilecek başlıca riskler şu şekilde bildirilmiştir; anestezi, stres, kan transfüzyonu ile bulaşan hepatit ve HIV gibi enfeksiyonlar, canlı parazit materyalinin yayılmasına bağlı olarak olguların %2-25'inde görülen sekonder KE, %0.5-4 olguda mortalite (132).

2.7.1.2. Ponksiyon–Aspirasyon–İnjesiyon-Reaspirasyon (PAIR)

KE'in sağaltımı amacıyla uygulanan PAIR şu aşamaları içermektedir;

- Ultrason eşliğinde kist perkutan delinmektedir.
- Kist içerisindeki sıvının ortalama %25-50'si aspire edilmektedir.
- Aspire edilen sıvı hacminin yaklaşık %20'si kadar protoskolisidal madde enjekte edilerek en az 15 dk beklenmektedir.
- Kist içeriğinin mümkün olan en fazla miktarı tekrar aspire edilmektedir (132-4).

2.7.1.3. Kemoterapi

Operasyon öncesinde benzimidazol ile sağaltım sonucunda intrakistik basıncın azaldığı ve kistin daha kolay uzaklaştırıldığı belirtilmiştir. Kemoterapinin sekonder KE riskini azaltabileceği bildirilmekte ve cerrahiden 4 gün önce başlanması ve 1 ay albendazole ile sürdürülmesi önerilmektedir (131).

2.7.2. Son Konakların Tedavisi

Geçmiş yıllarda son konak köpeklerin tedavisi amacıyla en sık kullanılan ilacın Arekolin hidrobromid olduğu bildirilmiştir. İlacın başlıca etkisi düz kaslar üzerine olup paraziti felce uğrattığı fakat öldürmediği bilinmektedir. Bununla beraber bağırsak hareketlerinde artışa sebep olarak parazitin atılmasını sağladığı bildirilmiştir. Köpeklerdeki oral dozu 1,75-3,5 mg/kg olup ilaç uygulanmadan 12 saat önce

hayvanların aç bırakılmasının uygun olacağı belirtilmiştir (135). Günümüzde tedavide en sık kullanılan ilacın praziquantel olduğu bildirilmiştir. Oral veya subkutan uygulama seçenekleri olup, oral yolla 5 mg/kg, subkutan ise 5,5 mg/kg dozda uygulanmaktadır (136, 137). Bu dozlarda *E. granulosus* ve *E. multilocularis*'in genç ve erişkin formlarına karşı oldukça etkili olduğu belirtilmiştir. Hem dokularda yerleşmiş sestod larvalarına hem de sindirim kanalındaki erişkin sestodlara etki ettiği bilinmekte olup gebe hayvanlarda güvenli bir şekilde kullanılabilceği bildirilmiştir. Prepatent süre göz önüne alınarak 6-8 haftalık periyodlarla uygulanmasının uygun olacağı bildirilmiştir. Tek doz oral uygulamanın %100 etkili olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (137). Son yıllarda geliştirilen başka bir ilaç ise Epsipirantel'dir. Praziquantel'e yapı olarak benzeyen bu ilacın köpeklerdeki dozunun 5,5 mg/kg olduğu bildirilmiştir (138). Etki düzeyleri Praziquantel ve Epsipirantel kadar yüksek olmayan Nitroskanat ve benzimidazol türevleri gibi ilaçlar da tedavi amacıyla kullanılabilir (137).

2.8. Korunma ve Kontrol

Zor tedavi gerektiren ve yüksek mortaliteye sahip bir enfeksiyon olan KE'in gerekli önlemler alınırsa kontrol altına alınabileceği bilinmektedir. Dünyanın birçok ülkesinde kontrol programlarının uygulanması sonucu parazitin eradikasyonu ile ilgili başarılı sonuçlar alındığı bildirilmiştir. (36, 139). Kistik Eknokokkozis'ten korunma ve kontrol amacıyla uygulanacak yöntemler başlıca üç ana başlık altında incelenmektedir.

2.8.1. Erişkin Parazitlerle Mücadele

Son konak köpeklere üç ayda bir olmak üzere praziquantel sağaltımı uygulanması önerilmektedir. İlaç uygulamasından sonraki birkaç saat hayvanların bağlı tutulmasının, dehelminstasyon sağlandıktan sonra dışkıların toplanarak yakılmasının ya da derin yerlere gömülmesinin uygun olacağı belirtilmiştir. Sahipsiz sokak köpekleri popülasyonunun kontrolünü sağlamak amacıyla hayvanların toplatılarak barınaklarda bakımlarının sağlanmasının ve köpeklerin kontrol altına alınmadığı bölgelerde meyve ve sebze bahçelerine, sulama kanallarına, çocukların oyun alanlarına girmesinin engellenmesinin uygun olduğu belirtilmiştir (140).

2.8.2. Larvalarla Mücadele

Kasaplık hayvanların kesiminin sadece mezbahalarda yapılması, kesimi yapılan hayvanlara Veteriner hekim tarafından sağlık kontrolü yapılması, mezbahalardaki atık su

ve organik materyallerin uygun bir şekilde imha edilmesi ve köpeklerle temasının engellenmesi gerektiği bildirilmiştir. Kistli organların mümkünse yakılması, aksi halde hayvanlar tarafından eşelenerek ortaya çıkarılamayacak derinlikteki çukurlara gömülmesi ve üzerine sönmemiş kireç dökülmesi uygun görülmüştür (141).

2.8.3 Eğitim Programları

Hastalığın genellikle verimsiz kırsal alanlardaki sürüler ile bu sürüleri gütmek ve korumak amacıyla bulunan köpeklerde ve bu köpekler ile yakın teması olan insanlarda görüldüğü bilinmektedir. Çeşitli basın organları kullanılarak özellikle hayvancılıkla uğraşan kesimin, bununla birlikte kesim yerlerinde çalışan personelin, kasapların, çiftçilerin ve çobanların eğitiminin sağlanmasının, yine okullarda öğrencileri bilinçlendirmek amacıyla çeşitli eğitim programların düzenlenmesinin uygun olacağı belirtilmiştir (140).

2.8.4. Aşılama

Son yıllarda modern tıbbın ilerlemesiyle birlikte çeşitli ülkelerde araştırmacılar tarafından KE'den korunmak amacıyla aşı geliştirme çalışmaları başlatılmıştır. Avusturalya ve Yeni Zellanda'da sığır ve koyunlarda Taeniidae familyasına bağlı türlerin larvalarına karşı etkili olan aşilar geliştirilmiş olup bu aşılarda kist sıvısı, germinatif membran ya da protoskoleks antijenlerine kıyasla daha iyi seviyede koruma sağlayan onkosfer antijenlerinin kullanıldığı belirtilmiştir (142-3). Eg95 aşısının, onkosferden klonlanan bir aşı olduğu, immunitiyi en yüksek düzeyde uyardığı ve KE'e karşı aşılama çalışmalarında başarı ile kullanılabileceği bildirilmiştir. Koyunlarda yüksek derecede koruma sağlayan bu aşının kistleri %90-100 oranında azalttığı bildirilmiştir (144). Reenfeksiyon oluşmadığı durumlarda bağışıklığın 1 yıl boyunca devam ettiği ve doğumdan önce aşılanmış gebe koyunlardaki yüksek antikor seviyelerinin kolostrum yoluyla yavrulara geçtiği bildirilmiştir (145).

2.9. Echinococcus granulosus'un Suşları

Günümüzde, bağımsız bir tür ya da *Echinococcus granulosus*'un alt türü olarak tanımlanmış olan bazı yapıların, mitokondriyal sitokrom c oksidaz subunit1 (mt-CO1) DNA dizi analizlerinin yapılarak taksonomideki durumlarının gözden geçirilmesi gerektiği gündeme gelmiştir (28). Mitokondriyal DNA'nın haploid özellik göstermesi sebebiyle daha net bir şekilde tanımlanabilmesi, evrim hızının nükleer DNA'ya göre

çok daha fazla olması, homoplazmik oluşu, rekombinasyon özellik göstermemesi gibi avantajları nedeniyle mt-CO1 gen bölgesinin incelenmesinin *Echinococcus* türlerinin tanımlanmasında oldukça faydalı olduğu bildirilmiştir (146). *Echinococcus granulosus* izolatları arasındaki genetik farklılıkların kanıtlanması ile suş kavramı daha belirginleşmiş ve fenotipik değişkenlik ile ilişkilendirilen varyasyonlar sonucu konağa uyumlu suş kavramı ortaya konulmuştur (21). *Echinococcus* türleri için suş kavramı; ‘aynı türün diğer gruplarından gen frekansları yönünden istatistiksel olarak farklılık gösteren varyantları’ şeklinde tanımlanmaktadır. Bu farklılıklar, parazitin biyolojik döngüsü, konak spesifitesi, gelişim hızı, patojenite ve antijenitesi, kemoteropatik ajanlara duyarlılığı, bulaşma dinamikleri, hastalığın epidemiyolojisi ile kontrol yöntemleri üzerinde önemli derecede rol oynamaktadır. Bu bakımdan hastalığın kontrolünün sağlanması ve eradikasyonu bakımından endemik bir bölgedeki baskın suş ya da suşların belirlenmesinin oldukça önemli olduğu bildirilmiştir (9, 14, 21).

Yapılan moleküler çalışmalar neticesinde *E.granulosus* cinsi içerisinde bugüne kadar 10 suş (G1-G10) tanımlanmıştır. Bunlar; evcil koyun suşu (G1), Tazmanya koyun suşu (G2), manda suşu (G3), at suşu (G4), sığır suşu (G5), deve suşu(G6), domuz suşu (G7), geyik suşu (G8), insan suşu (G9), Fennoscandian geyik suşu (G10)’dur (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. *Echinococcus granulosus*'un suşları (9, 96)

Genotip	Yeni sınıflandırma	Son Konak	Ara Konak	Coğrafi Dağılım
Evcil Koyun Suşu (G1)	<i>Echinococcus granulosus sensu stricto</i>	Köpek, tilki, dingo, çakal, Sırtlan	Koyun, insan, kanguru, sığır, deve, domuz, keçi	Avustralya, Avrupa, Amerika, Yeni Zelanda, Afrika, Çin, Ortadoğu
Tazmanya Koyun Suşu (G2)		Köpek, tilki	Koyun, sığır	Tazmanya, Arjantin, Romanya, Hindistan
Manda Suşu (G3)		Köpek, tilki	Manda, sığır	Asya, Avrupa
At Suşu (G4)	<i>Echinococcus equinus</i>	Köpek	At, eşek, katır ve diğer tek tırnaklılar	Avrupa, Orta Doğu, Güney Afrika, Yeni Zelanda, Amerika
Sığır Suşu (G5)	<i>Echinococcus ortleppi</i>	Köpek	Sığır	Avrupa, Güney Afrika, Asya, Rusya, Güney Amerika
Deve Suşu (G6)	<i>Echinococcus canadensis</i> (G6/7)	Köpek	Deve, keçi, sığır, koyun	Orta Doğu, Afrika, Asya, Arjantin
Domuz Suşu (G7)		Köpek	Domuz	Avrupa, Rusya, Güney Amerika
Geyik Suşu (G8)	<i>Echinococcus canadensis</i> (G8-10)	Kurt, köpek	Geyikler	Kuzey Amerika, Avrasya
İnsan Suşu (G9)		Kanideler	İnsan	Polonya
Fennoscandian Geyik Suşu (G10)		Kanideler	Geyikler	Finlandiya

Günümüzde *Echinococcus* türlerinin mitokondriyal genom analizi taksonomik revizyona yol açmış ve *E. granulosus* türü içinde 4 farklı yapının bulunduğu ortaya konulmuştur. G1-G3 grubunun *E. granulosus sensu stricto* ismi altında birleştiği, G4 olarak bilinen at suşunun *E. equinus*, G5 olan sığır suşunun *E. ortleppi*, G6-G10 aralığında bulunan suşların ise *E. canadensis* ismiyle tek bir tür adı altında birleştirildiği bildirilmiştir (9, 11, 12). Aslan suşu olarak bilinen *E. felidis*, *E. granulosus*'un kardeş sınıfı olarak tanımlanmıştır. Tibet'te bulunan *E. shiquicus*, Xiao tarafından *E. multilocularis*'in kardeş türü olarak tanımlanmıştır (13). Son zamanlarda *E. granulosus sensu stricto*, *E. ortleppi* ve *E. canadensis* türleri arasında meydana gelen genetik bilgi akışının olasılığı üzerinde durulmaktadır (10).

2.9.1. *Echinococcus granulosus sensu stricto* (G1-G3)

Bowles ve arkadaşları tarafından 1992 yılında *E. granulosus*'un mt-CO1 ve mt-NADH1 genleri üzerinde yapılan analizler neticesinde G1, G2 ve G3 adıyla üç farklı suş belirlenmiş ancak güncel taksonomik veriler sonucunda bu üç suşun *Echinococcus granulosus sensu stricto* adı altında tek bir tür olarak adlandırılması gerektiği ortaya

konulmuştur (146). *E. granulosus sensu stricto'nun*, eski sınıflandırmadaki koyun suşuna (G1) karşılık geldiğini bildiren çalışmalar mevcuttur. Güncel mitokondriyal genom analizleri sonucu bu üç genotipin birbirine çok benzer olduğu, oldukça düşük oranlarda sekans farklılığı gösterdikleri, bu sebeple detaylı ayrımının yapılamadığı ve çok sayıda haplotipin olduğu ortaya konulmuştur (10). Ortadoğu'dan köken alan bu türün diğer bölgelere de yayılım gösterdiği, ara konağının koyun olmasına rağmen pek çok çiftlik hayvanı türünde (keçi, sığır, manda, deve, domuz, at, eşek, katır, tıbet sığırı) ve otobur vahşi hayvan türlerinde yerleştiği bildirilmiştir (147).

2.9.2. *Echinococcus equinus* (G4)

Önceleri *E. granulosus equinus* adıyla *E. granulosus'un* alttürü olarak tanımlanan bu suş (G4), detaylı güncel moleküler çalışmalar sonucunda tür bazında değerlendirilmiş ve *E. equinus* olarak isimlendirilmiştir (9). 1963 yılında Williams ve Sweatman tarafından bu suşun morfolojisi, biyolojisi, fizyolojisi, biyokimyası, metabolizması, moleküler biyolojisi, konak spesifitesi ve epidemiyolojisi kapsamlı bir şekilde incelenmiş ve diğer suşlardan morfolojik ve biyolojik farklılıkları ortaya konulmuştur (148). Günümüzde at suşunun Avrupa, Ortadoğu, Güney Afrika, Yeni Zelanda ve Amerika'da bulunduğu bilinmektedir. Son konağı köpekler olup kızıl tilkilerin biyolojik çemberde rollerinin olup olmadığı tartışma konusudur. Ara konak spektrumunun oldukça dar olup yalnızca tek tırnaklılar ile sınırlı olduğu bildirilmiştir. Atlarda metasetodların en çok lokalize olduğu organın karaciğer olduğu, nadiren akciğer ve diğer organlara da yerleşebildiği, insan enfektivitesinin ise çok nadir olduğu bildirilmiştir (7, 9, 149).

2.9.3. *Echinococcus ortleppi* (G5)

İlk kez 1934 yılında Ortlepp tarafından Güney Afrika'da köpeklere ait izolatların tanımlanması ile bulunduğu bildirilmiştir. Sonraki yıllarda da bu suşla ilgili moleküler çalışmalar yapılmış, 1965 yılında Verster bu parazite *E. granulosus ortleppi* ismini vermiştir (10). Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucu epidemiyolojik ve morfolojik farklılıkların yanısıra mt-DNA sekans analizlerinden elde edilen bulgulara göre G5 suşu *E. ortleppi* adıyla farklı bir tür olarak değerlendirilmiştir (10, 149). Sığır suşunun son konağının köpekler, ara konağının ise sığırlar ve nadiren insan olduğu bildirilmiştir. Son konakta oldukça hızlı gelişim gösteren suşun sebep olduğu enfeksiyonlarda prepatent süre ortalama 35 gün olup diğer izolatlarda bu süre ortalama 40-48 gün olarak

bildirilmektedir (150). İsviçre'deki deneysel çalışmada, bu suşun morfolojik, biyolojik ve biyokimyasal açıdan da diğer suşlardan belirgin farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Bu suşun sebep olduğu larvaların fertil kist karakterinde olup, daha çok akciğere yerleştiği ile ilgili yayınlar mevcuttur. Geniş bir coğrafik yayılıma sahip olan *E. ortleppi* (G5), Nepal, İsviçre, Hollanda, Brezilya ve Hindistan'da bildirilmiştir (10, 149).

2.9.4. *Echinococcus canadensis* (G6-G10)

G6-G10 arasında bulunan suşların çeşitli varyantları ve farklı ara konakları bulunmasına rağmen yapılan filogenetik ve moleküler çalışmalara ait veriler bu suşların, birbirinden net olarak ayırt edilemediklerini göstermektedir. Farklı gelişim evrelerine ve morfolojik yapıya sahip olan G6 ve G7 suşlarının mt-CO1 bölgelerinin sekans analizleri sonucunda yüksek oranda benzerlik gösterdikleri bildirilmiştir. Bazı çalışmalarda spesifik genotiplere ayırtılamayan örneklerin G6/G7 suşu olarak adlandırıldığı bildirilmiştir (10). Bununla birlikte Arjantin'de G6 genotipi ile enfekte keçilerden elde edilen izolatların mt-CO1 gen dizi analizlerinin hepsinde G6 genotipi, yine aynı suşla enfekte edilen domuzlardan elde edilen izolatlarda ise G7 genotipi tespit edilmiştir. Orta ve Doğu Avrupa'da domuzlar G7 suşu için ara konak olarak bildirilmiştir (147). G8 genotipi ABD'de geyiklerde, G10 genotipi ise Finlandiya ve İsviçre'de geyiklerde görülmüş olup iki genotipin birbirine benzese de ayrı suşlar olarak tanımlandıkları bildirilmiştir (10). Farklı konaklardaki yerleşime ve coğrafik dağılıma bakıldığında G6 ve G7 genotiplerinin farklı bir tür olarak ayrılması ve *E.intermedius* adını alması önerilmiştir (151). Fakat mitokondriyal gen dizi analizlerine göre, G10 genotipi G6/7 genotipine G8'den daha fazla benzerlik göstermektedir. G8'in G6/7/10 suşundan farklı bir suş olarak düşünülebileceği de bildirilmiştir (10). Yapılan filogenetik çalışmalar sonucunda geyik suşu (G8), Fennoscandian geyik suşu (G10), deve suşu (G6) ve domuz suşunun (G7) oldukça yakın bir ilişkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Bundan ötürü G9 genotipi ile birlikte bu beş genotipin (G6-G10) bir grup olarak düşünülmesinin uygun olacağı bildirilmiş ve bu suşlar sınıflandırmada *E. canadensis* olarak yer almıştır (10-1).

2.9.5. *Echinonoccus felidis* (Aslan suşu)

Afrika'da av köpeği, sırtlan, çakal ve aslanlarda görülmüş olan bu suş için ara konağın bazı vahşi çift tırnaklılar olduğu belirtilmiştir. Kedigillerin genellikle *E. granulosus*'a duyarlı olmadığı bildirilmiş, bununla birlikte Güney Afrika'da vahşi kedilerde de bu suşa rastlanılmıştır (9). İnsanda ve çiftlik hayvanlarında hastalık

oluşturduğuna dair bir bildirim yoktur. *E. granulosus sensu stricto* suşu ile oldukça benzer yapıda mitokondriyal genoma sahip olması sebebiyle G1-G3 suşuna ait olabileceği de bildirilmiştir (10).



3. MATERYAL VE METOT

Araştırmada alışma grubunu İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi'nde Kasım 2013-Aralık 2015 tarihleri arasında serolojik laboratuvar tetkikleri ve görüntüleme yöntemleri ile KE ön tanısı konulmuş toplam 53 hasta oluşturmuştur. Hasta bilgileri ve ön tanı amacıyla uygulanmış tetkikler, Turgut Özal Tıp Merkezi otomasyon sisteminden elde edilen verilerle oluşturulmuştur.

Çalışma için İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alınmıştır (2014/61 protokol kodu). Hastaları bilgilendirmek amacıyla hazırlanan asgari bilgilendirilmiş gönüllü olur formları çalışma kapsamına alınan hastalara imzalatılmıştır.

3.1. Örneklerin Toplanması

İNönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi'nde KE ön tanısı ile opere edilen 53 hastadan elde edilen hidatik kist materyalleri mikroskopik muayenelerinin yapılması amacıyla İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'na getirilmiştir.

3.2. Direkt Mikroskopik Bakı

Mikroskopik inceleme için alınan kist sıvıları 1600 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstte kalan sıvı dökülerek dipte kalan tortudan lam-lamel arası preparat hazırlanmış, protoskoleks yada engel varlığı bakımından ışık mikroskopunda incelenmiştir. Germinatif membranların ise iç kısımlarından bistüri yardımıyla alınan kazıntı, 1 damla serum fizyolojik ile sulandırıldıktan sonra lam-lamel arası preparat yapılarak ışık mikroskopunda $\times 10$ 'luk büyütmede incelenmiştir. Protoskoleks ya da engel bulunduran numuneler fertil olarak değerlendirilmiştir. Numuneler %70'lik etil alkol içeren tüplere konulup kullanılıncaya kadar $-20^{\circ} C$ 'de muhafaza edilmiştir.

3.3. Genomik DNA İzolasyonu

Laboratuvarda %70'lik alkolde muhafaza edilen kistlerden 1-2 gr germinal membran bir lam üzerine alınarak steril bistüri yardımıyla daha küçük parçalara ayrılmış, 1.5 ml'lik ependorf tüplerine aktarılmıştır. Bu tüplerin üzerine örneklerdeki alkolü gidermek için 1X PBS solüsyonundan 600 μl eklenip, kısa bir vorteks yapıldıktan sonra maksimum hızda en az 1 dakika santrifüj edilmiş ve üstteki sıvı

atılmıştır. Bu uygulama en az 5 kez tekrar edilmiştir. Son yıkamanın ardından ependorf tüpler içerisindeki germinal membranların üzerine RTA genomik DNA izolasyon kiti (RTA Lab. Türkiye) içeriğinde bulunan solüsyon DL'den 200 µl ve Proteinase K'dan (Thermo Scientific, 20 mg/ml) 20 µl ilave edilip, vortekslelendikten sonra 1 gece 56 °C'de inkübe edilmiştir. Ertesi gün germinal membranlar benmariden çıkarılarak kit protokolüne göre aşağıdaki basamaklar uygulanmıştır:

*Ependorf tüplere Solüsyon B'den 200 µl eklenip 20 saniye kısa-vorteks yapılmıştır.

*Kısa santrifüjden sonra her 3 dakikada bir karıştırılarak 65 °C'de 15 dakika inkübe edilmiştir.

*260 µl saf etanol eklenip, 20 saniye kısa-vorteks yapılmıştır.

*Kısa santrifüj yapıp, toplama tüpünün içine yerleştirilip spin kolon tüplerine aktarılmıştır.

*7000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapıp, sıvı içeren alttaki tüp atılmış ve kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir.

*Solüsyon W1'den 700 µl eklenip, 7000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapıp ve sıvı içeren alttaki tüp atıldıktan sonra kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir.

*Solüsyon W2'den 700 µl eklenip 16000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır. Takiben sıvı içeren alttaki tüp atılmış ve kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir.

*16.000 rpm'de 3 dakika santrifüj yapılmıştır.

*Spin kolon, steril 1.5 ml'lik bir ependorf tüpe transfer edilmiştir.

*Solüsyon E'den 100 µl alınıp (70 °C'ye ısıtılmış) eklenmiş, kolonun kapağı kapatılmış ve oda sıcaklığında (15-25 °C) 3 dakika inkübe edilmiştir.

*7.000 rpm'de 1 dakika ve takiben 16.000 rpm'de 30 saniye daha santrifüj yapılmıştır.

*Spin kolon atılmıştır. Ependorf tüpünün içindeki elüsyon tamponunda genomik DNA (gDNA) bulunmaktadır.

*Elde edilen gDNA'lar kullanıma kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Örneklerdeki total genomik DNA miktarı spektrofotometrik ölçümle belirlenerek yetersiz miktar gDNA içeren örneklerden tekrar izolasyon yapılmıştır.

3.4. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz Subunit 1 (mt-CO1) Geninin PZR İle Çoğaltılması

Çalışmada mt-CO1 genini çoğaltmak için JB3 3'-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTT TAT-5' ve JB4.5 3'-TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG-5' adlı primerler kullanılmıştır (146). PZR koşulları, 95 °C'de 5 dk ön denatürasyon aşamasını takiben, 94°C'de 50 sn denatürasyon, 45 °C'de 50 sn hibridizasyon, 72 °C'de 50 sn sentez (35 siklus) olarak gerçekleştirilmiştir. Son siklusu müteakip 72 °C'de 10 dk ekstra sentez işlemi yapılmıştır. PZR ürünleri %1.4'lük agaroz jelde elektroforeze tabi tutulup ethidium bromide ile boyandıktan sonra görüntülenmiştir. Pozitif kontrol olarak daha önce mt-CO1 geninin dizi analizi yaptırılan ve Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'nda mevcut olan *E.granulosus s.s.* gDNA'sı, negatif kontrol olarak steril distile su kullanılmıştır.

3.5. DNA Dizi Analizi

Mitokondrial-CO1 bölgesinin PZR ile amplifikasyonu neticesinde iyi kalitede band veren 33 PZR ürünü sekans analizi için MACROGEN (Ankara, Türkiye) firmasına gönderilerek tek yönlü DNA dizi analizi yaptırılmıştır.

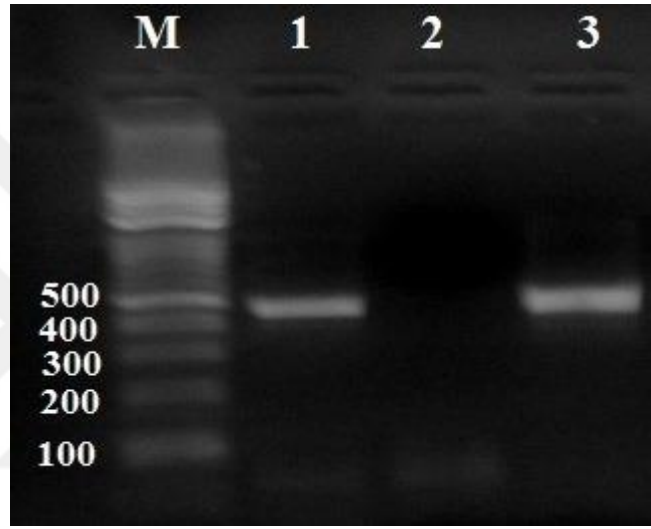
3.6. Filogenetik Ağaç Oluşturulması

Dizi analizi sonuçları BLAST analizi (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) yapılarak GenBank'taki referans dizi analizleri ile karşılaştırılmıştır. CLC Main Workbench 8 programı (152) kullanılarak alignment yapılmış ve bu işlemde referans sekans olarak MH010310 (*E. granulosus sensu stricto*), HF947559 (*E. granulosus sensu stricto*), KC953029 (*E. equinus*), FJ744757 (*E. ortleppi*), MG808395 (*E. canadensis-G6/7*) ve EU151431 (*E. canadensis-G8/10*) kullanılmıştır (Şekil 4.2). Yine aynı program yardımıyla Neighbor-Joining metodu (153) kullanılarak bootstrap testi (100 tekrar) ile filogenetik ağaç oluşturulmuştur.

4. BULGULAR

Çalışmada incelenen 53 numunenin direkt mikroskopik bakışı sonucunda tüm örneklerin fertil olduğu görülmüştür.

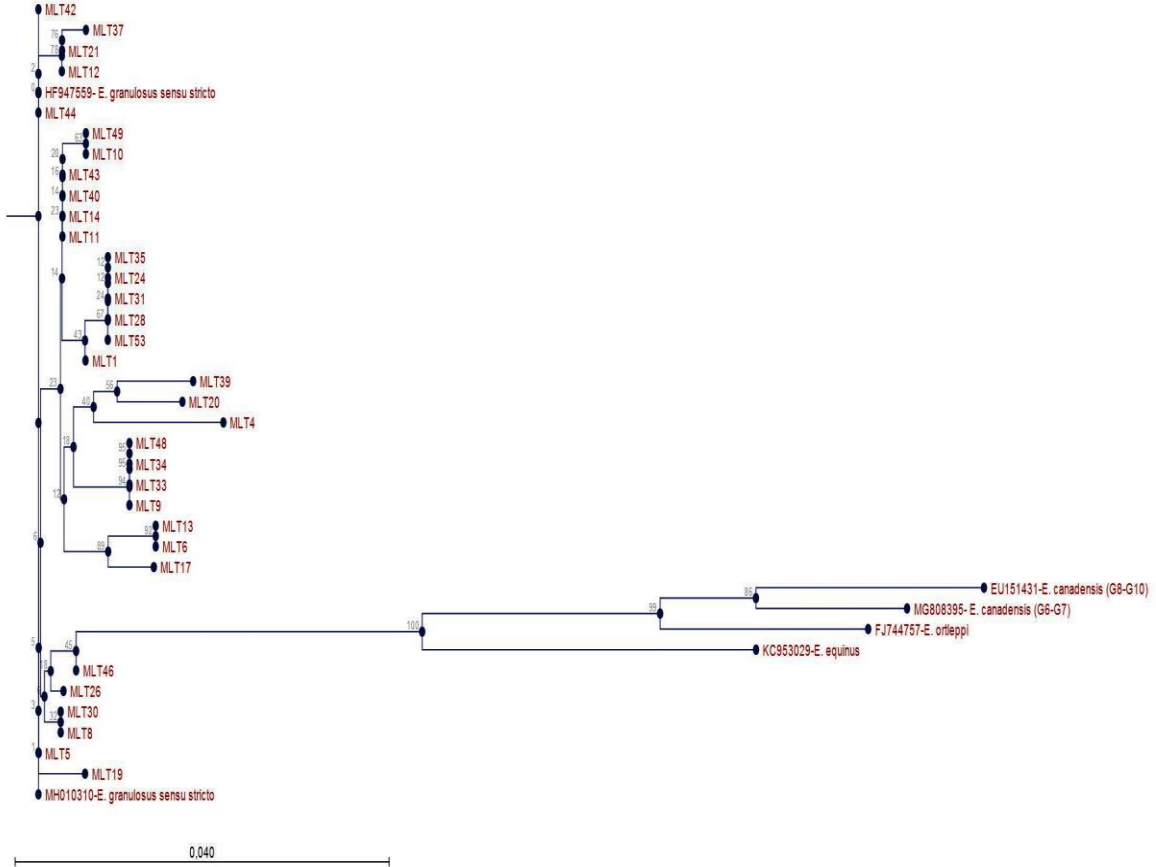
Bütün örneklerden genomik DNA izolasyonu yapılmış ve takiben PZR uygulanmıştır. PZR neticesinde sadece 33 örnekte 446 bp'lik band görüntüsü elde edilmiştir (Şekil 4.1). Tekrarlanan PZR uygulamalarına rağmen kalan 20 örnekte ya çok zayıf band oluşumu gözlenmiş ya da band görüntüsü alınamamıştır.



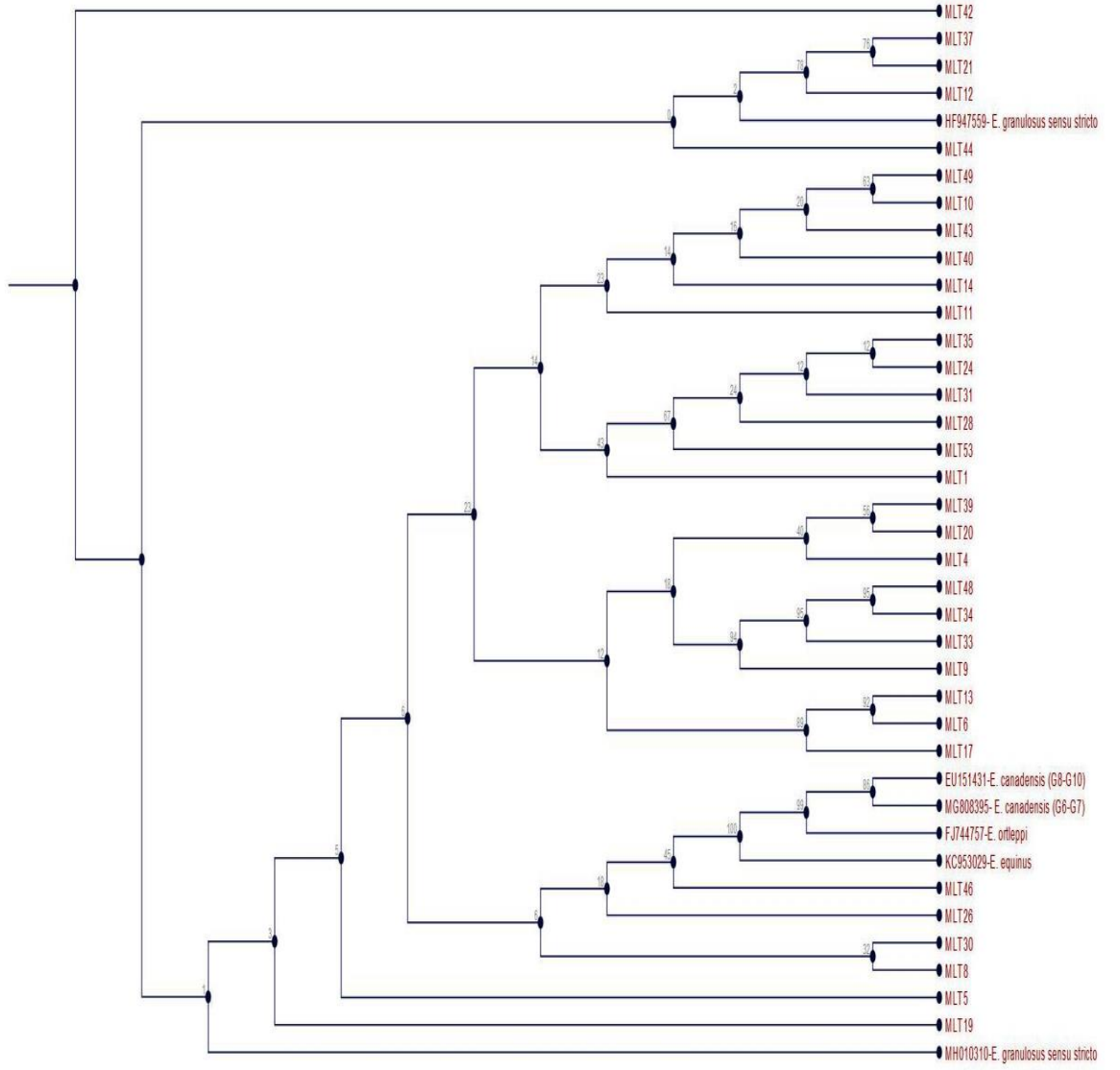
Şekil 4.1: *Echinococcus granulosus*'un insan izolatlarının mt-CO1 gen bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonucunda oluşan bandların görünümü M: DNA marker (100 bp), 1: Pozitif kontrol (446 bp), 2: Negatif kontrol, 3: İnsan izolatı (446 bp).

İyi kalitede band görüntüsü elde edilen 33 örnek ile çalışmaya devam edilmiş olup bu örneklerin dizi analizi sonuçları BLAST analizi yapılarak GenBank'taki referans dizi analizleri ile karşılaştırılmış ve hepsinin *E. granulosus sensu stricto* olduğu belirlenmiştir. CLC Main Workbench 8 programı kullanılarak alignment sonucunda dizi analizi yapılan 33 örnekte değişik derecelerde nükleotid değişiklikleri olmasına rağmen bütün örnekler *E. granulosus sensu stricto* olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte fazla miktarda farklı haplotiplerin olduğu da dikkat çekmiştir.

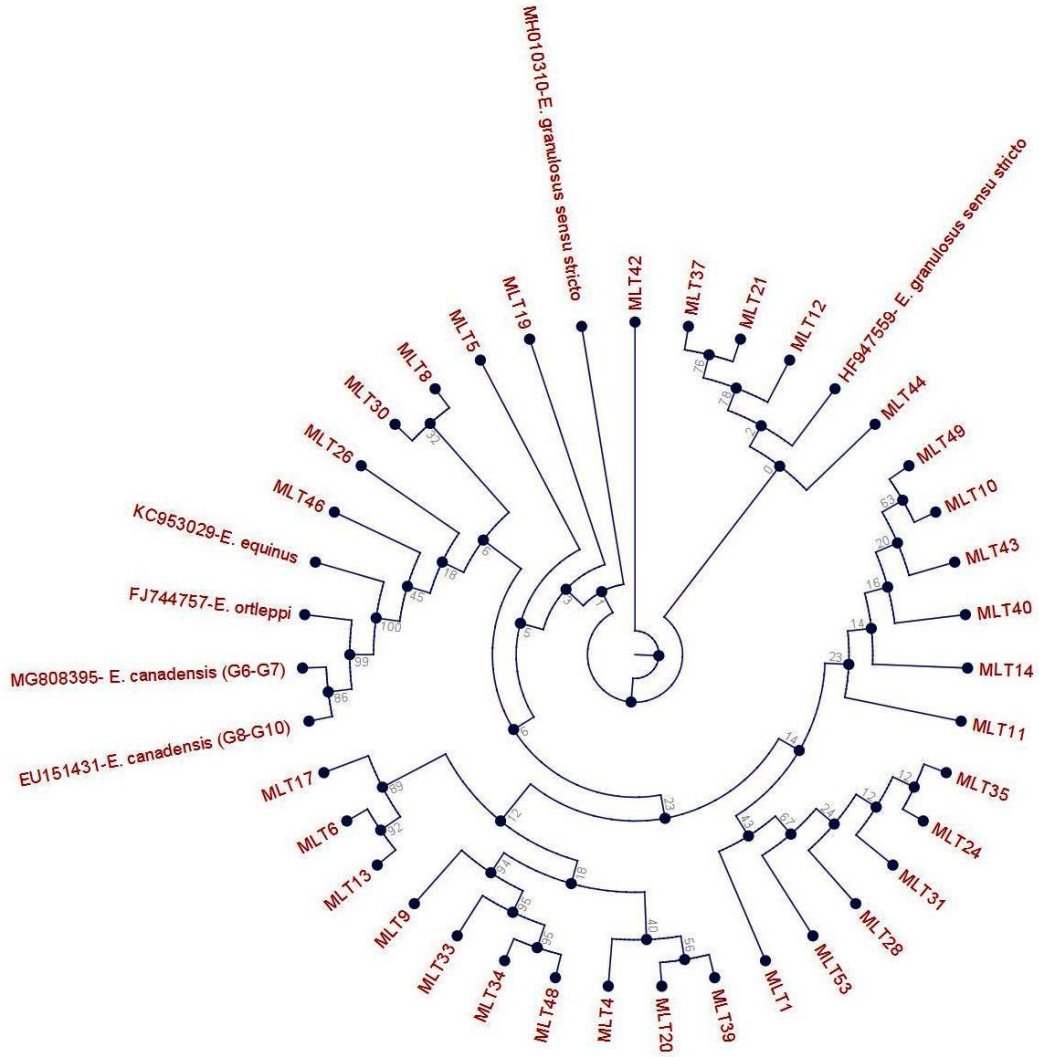
CLC Main Workbench 8 programı yardımıyla Neighbor-Joining metodu kullanılarak bootstrap testi (100 tekrar) ile oluşturulan filogenetik ağacın farklı görünüşleri Şekil 4.3 (Phylogram), Şekil 4.4 (Cladogram) ve Şekil 4.5 (Circular Cladogram)'de gösterilmiştir.



Şekil 4.3: İnsan izolatlarına ait mt-CO1 gen sekansları ile referans sekanslar kullanılarak oluşturulan filogenetik ağacın phylogram görünümü.



Şekil 4.4: İnsan izolatlarına ait mt-CO1 gen sekansları ile referans sekanslar kullanılarak oluşturulan filogenetik ağacın cladogram görünümü.



Şekil 4.5: İnsan izolatlarına ait mt-CO1 gen sekansları ile referans sekanslar kullanılarak oluşturulan filogenetik ağacın circular cladogram görünümü.

5.TARTIŞMA

Echinococcus granulosus larvalarının sebep olduğu KE'in hayvancılığın yaygın olarak yapıldığı birçok ülkede önemli bir halk sağlığı problemi olduğu bildirilmiştir (2).

Echinococcus granulosus'un farklı suşlarının sebep olduğu metasesetodların, farklı coğrafi bölgelerde sığır, koyun, keçi, geyik, deve, manda, tavşan, kanguru, domuz, at, eşek gibi çok sayıda memeli ara konağı ve insanları enfekte edebildiği belirtilmiştir (149). Bu suş farklılıklarına bağlı olarak parazitin biyolojik döngüsü, konak özgüllüğü, gelişim hızı, patojenite ve antijenitesi, kemoteropotiklere duyarlılığı, bulaşma dinamikleri, hastalığın epidemiyoloji ve kontrol teknikleri değişiklik gösterebilmektedir. Bu bakımdan endemik bölgelerde kontrol ve eradikasyon programlarının başarılı bir şekilde uygulanabilmesi için bu bölgelerde baskın suş veya suşların belirlenmesi gerektiği belirtilmiştir.

Echinococcus cinsi içerisinde bulunan farklı suşların ayrımı için morfolojik, biyolojik, biyokimyasal, epidemiyolojik ve moleküler kriterler gibi çok sayıda parametre birlikte değerlendirilmektedir. Konak ve çevreye bağlı faktörlerden etkilenebileceği için morfolojik ve biyolojik parametrelerin genetik düzeydeki farklılığı detaylı olarak yansıtamadığı, bununla birlikte direkt olarak parazit genomunu inceleyen Deoksiribonükleik asit (DNA) tabanlı yöntemlerin konak ve çevreye bağlı faktörlerden etkilenmediği için hem tanıda hem de parazitin tür ve suş ayrımında güvenle kullanılacağı belirtilmiştir (6, 9, 21, 125, 149).

Echinococcus cinsi içerisindeki genetik varyasyonun belirlenmesi amacıyla günümüzde PZR, RFLP, PZR-RFLP, RAPD-PZR, SSCP, DNA sekanslama gibi moleküler teknikler kullanılmaktadır. Başka hiçbir yöntemle genotipik farklılıkların direkt ölçümü yapılamadığı için DNA sekanslama yönteminin moleküler teknikler arasında en güvenilir yöntem olduğu ve referans yöntem haline geldiği bildirilmiştir. DNA'nın her iki zincirinin dizi analizinin yapılması sonucunda artefakt ve diğer faktörlere bağlı hataların minimum seviyeye indirildiği bilinmektedir. Yöntemin stabilitesinin, tekrarlanabilirliğinin iyi, ayırım gücünün yüksek, tiplendirilebilirliğinin mükemmel olduğu, bununla beraber zor uygulandığı ve yüksek maliyetli olduğu belirtilmiştir. (126, 130).

Bu çalışmada elde edilen 53 hidatik kist izolatının 33'ünde iyi kalite band elde edilmiş ve bu örnekler DNA sekans analizi yaptırılmıştır. Kalan 20 örnekte ya hiç band elde edilememiş ya da çok zayıf kaliteli band elde edilmiş ve bu zayıf kaliteli bandlardan güvenilir sonuçlar alınamayacağı için sekans analizi yaptırılmamıştır. Bu örneklerde yeterince iyi kalitede band elde edilememesinin sebeplerini şu şekilde açıklayabiliriz; örneklerin alkolde uzun süre saklanması ya da hastalara preoperatif olarak uygulanan Albendazol türevi ilaçların kistlerin germinal membranlarına zarar vermesi, bununla birlikte operasyon esnasında kist içeriğine baticon benzeri kimyasalların girerek kist içerisindeki yapılara zarar vermesi.

Echinococcus türlerinin filogenetik analizi amacıyla mitokondriyal CO1, NAD1 ve adenosin trifosfat 6 (ATP6) ve nükleer rDNA ITS1 genlerinin kullanıldığı bildirilmiştir (154). Bowles ve arkadaşları *Echinococcus* türlerini tanımlamaya yönelik yaptıkları bir çalışmada, haploid özellik göstermesi bakımından mt-DNA'nın daha net bir şekilde tanımlanabildiğini, nükleer DNA'ya göre 10-20 kat fazla evrim hızına sahip olduğunu, homoplazmik olduğunu ve rekombinasyon özellik göstermediğini, bu bakımdan çalışmalarında en uygun seçimin mt-CO1 gen bölgesini incelemek olduğunu bildirmişlerdir (146). Bu nedenle mevcut çalışmada elde edilen hidatik kist izolatları arasındaki genetik çeşitliliğin belirlenmesi amacıyla *E. granulosus sensu lato*'nun mitokondriyal CO1 gen bölgesinin dizi analizi yaptırılmış ve sonuçta bütün örnekler *E. granulosus sensu stricto* olarak belirlenmiştir.

Geçmiş yıllara ait moleküler çalışmalarda *E. granulosus*'un mitokondriyal DNA sekansları incelenmiş ve içerisinde on farklı genotipin (G1-G10) bulunduğu belirtilmiştir. Bunlar; G1 (koyun suşu), G2 (Tazmanya koyun suşu), G3 (manda suşu), G4 (at suşu), G5 (sığır suşu), G6 (deve suşu), G7 (domuz suşu), G8 (geyik suşu), G9 (insan suşu), G10 (Fennoscandian geyik suşu) suşlarıdır (7). DNA'nın mitokondriyal gen bölgelerinin incelendiği güncel detaylı taksonomik çalışmalarda ise suş içi genetik farklılaşmadan dolayı *E. granulosus sensu lato* içerisinde dört farklı türün bulunduğu bildirilmiştir. G1-G3 arasında bulunan suşların *E. granulosus sensu stricto* ismi altında birleştiği, at suşu olarak bilinen G4 suşunun *E. equinus*, sığır suşu olarak bilinen G5 suşunun *E. ortleppi*, G6-G10 aralığında bulunan suşların ise *E. canadensis* ismiyle tek bir tür adı altında birleştirildiği rapor edilmiştir (10-12). *Echinococcus felidis*'in ise (aslan suşu), *E. granulosus*'un kardeş sınıfı olduğu ancak yine de yeni genetik

çalışmalar yapılncaya kadar tür düzeyinde değerlendirilmesi gerektiği bildirilmiştir (13).

Bu çalışmada *Echinococcus* cinsi içerisindeki genetik varyasyonu belirlemek amacıyla kullanılan direkt PZR ve DNA dizileme teknikleri Türkiye’de ve dünyanın çeşitli bölgelerinde çok sayıda çalışmada kullanılmıştır. Bununla birlikte Türkiye’de insanlarda enfeksiyona sebep olan *E. granulosus* suşlarını belirlemeye yönelik moleküler çalışmalar oldukça sınırlıdır.

Ütük ve arkadaşları 179 koyun, 19 sığır, 7 keçi, 1 deve, 1 insan izolatı ile bir köpekten elde ettikleri erişkin *E. granulosus* örneğine PZR-RFLP analizi uygulayarak ribozomal ITS-1 gen bölgesini çoğaltmış, sonrasında mt-CO1 sekans analizi ile sadece yaygın koyun suşu (G1) bulduklarını belirtmişlerdir (83).

Snabel ve arkadaşları 12 koyun ve 10 insan izolatına ait mt-CO1, atp6, nad1, rrrnS gen bölgelerine sekans analizi uygulamış, Türkiye’de ilk kez domuz suşu (G7) bulduklarını bildirmişlerdir (85).

Şimşek ve arkadaşları 70 hastaya ait parafinli bloklardan yapılan kesitlerden DNA izolasyonu yapıp elde ettikleri örneklerin 12S rRNA bölgesini PZR ile çoğaltmış, takibinde mt-CO1 geninin dizi analiziyle genotiplendirme yapmışlardır. PZR sonucu 70 örneğin 26’sında *E. granulosus sensu stricto* (G1-G3) belirlemişlerdir. Kalan 44 örneğin mt-CO1 gen bölgesinin DNA dizi analizi neticesinde bir örnekte G3 ve iki örnekte de G6 suşunu bildirmişlerdir (89).

Ergin ve arkadaşları hidatik kistli 46 insan izolatının genotipik karakterizasyonu amacıyla yaptıkları çalışmada mt-CO1 gen bölgesinin sekans analizi sonucu tüm izolatların yaygın koyun suşu (G1) olduğunu bildirmişlerdir (93).

Eryıldız ve arkadaşları PZR-RFLP ve PZR-SSCP yöntemlerini kullanarak 42 insan, 13 sığır ve 3 koyun izolatının ITS-1 ve NAD1 gen bölgelerinin dizi analizini yapmış, koyun ve sığır izolatlarının tümünde yaygın koyun suşu (G1), insan izolatlarında ise G1 ve G7 suşları belirlemişlerdir (95).

Görüldüğü üzere Türkiye’de *E. granulosus*’un insan izolatlarında yapılan çalışmaların çoğunda yaygın suş *E. granulosus s.s.* olarak belirlenmiştir. Bu nedenle bizim çalışmamızda dizi analizi yapılan bütün örneklerin *E. granulosus s.s.* olarak belirlenmesi şaşırtıcı değildir. Daha fazla örnek kullanılarak yapılacak geniş kapsamlı çalışmalar ile farklı genotip/türlerin bulunabileceği düşünülmektedir.

Hollanda'da dalak yerleşimli bir hidatik kist materyalinden DNA izolasyonu yapılmış, sonrasında PZR-RFLP ile incelenmiş ve DNA sekanslama işlemi yapılarak etkenin G5 suşu olduğu ve sığırların insan enfeksiyonlarına rezervuarlık yapabileceği belirtilmiştir (150).

Maravilla ve arkadaşları bir hastadan elde ettikleri kist materyalini RAPD, PCR - RFLP ve mitokondriyal CO1 gen bölgesinin analizi sonucunda sığır suşu (G5) olduğunu belirlemişlerdir (155).

Santivanez ve arkadaşları Peru'da 20 insan izolatının mitokondriyal CO1 gen bölgesini çoğaltıp dizi analizi yapmışlar, sonuçta 19 izolatın G1, 1 izolatın G6 suşu olduğunu bildirmişlerdir (156).

Latif ve arkadaşları Pakistan'da insan ve çiftlik hayvanlarından elde ettikleri kist materyallerinin CO1 gen bölgesini dizileyerek filogenetik analizini yapmışlardır. Çiftlik hayvanlarında G1 ve G3, iki insan örneğinde ise G1 suşu tespit etmişlerdir (157).

Bart ve arkadaşları yaptıkları çalışmada mitokondriyal CO1 bölgesinin dizi analizi sonucunda Çin'de ilk kez G6 genotipini saptamışlardır (158).

Jabbar ve arkadaşları Moğolistan'da yaptıkları bir çalışmada insanlardan elde ettikleri hidatik kist materyallerinin mitokondriyal CO1 ve NAD1 gen bölgelerini PCR-SSCP yöntemiyle incelemiş ve dizi analizi yapmışlar, sonuçta izolatların %68'inin *E. granulosus*'un G1-G3 kompleksine; %32'sinin G6-G10 kompleksine ait olduğunu bildirmişlerdir (159).

Arjantin'de çeşitli izolatlara PZR-RFLP uygulanan ve sonrasında CO1 ve NAD1 genlerinin birlikte kullanıldığı DNA sekanslama işleminin yapıldığı çalışma sonucunda *E. granulosus*'un 4 farklı suşu (G1, G2, G6, G7) belirlenmiş ve bu çalışma ile Arjantin'de ilk kez insanlarda G2 ve G7 suşlarının bulunduğu bildirilmiştir (57) .

Zhang ve arkadaşları İran'da 4 insan, 2 sığır, 3 koyun, 5 keçi ve 2 adet deve olmak üzere toplam 16 izolatı, PZR-RFLP ve DNA dizileme teknikleri ile incelemiş; insan sığır, koyun ve keçi izolatlarının G1 suşu, 2 adet deve izolatının ise G6 suşu olduğunu belirlemişlerdir (160).

İran'da yapılan başka bir çalışmada 50 insan, 166 sığır, 153 koyun ve 3 deve izolatına ait ITS1 bölgesi PZR-RFLP tekniği ile incelenmiştir. 37 izolatın CO1 geninin

dizilenmesi ile tüm insan, sığır ve koyun izolatlarının G1 suşu olduğu, 3 deve izolatının G6 suşu olduğu belirlenmiştir (125).

Yine İran'da 34 koyun, 26 deve, 14 sığır, 10 keçi ve 31 insana ait olan izolatların ITS1 gen bölgesi PCR-RFLP yöntemiyle incelenmiş, CO1 ve ND1 genlerine sekans analizi yapılmıştır. PCR-RFLP sonucunda tüm koyun ve keçiler ile 9 sığır ve 25 insan izolatı G1 suşu iken 5 sığır, 6 insan ve 17 deve izolatı G6 suşu olarak belirlenmiştir. CO1 ve ND1 sekans analiz sonuçlarına göre 5 sığır, 6 insan ve 17 deve izolatının G6 suşu olduğu bildirilmiştir (161).

İran'da yapılan başka bir çalışmada köpeklerden elde edilen erişkin *E. granulosus*'ların CO1 ve ND1 genlerine sekans analizi uygulanmış, G1, G2 ve G3 suşları bildirilmiştir. Çalışmada köpeklerde baskın genotipin G1 olduğu belirtilmiştir. G2 dizilerinin hem CO1 hem de ND1 genlerinin referans dizileri ile %100 homoloji gösterdiği görülmüştür. G3 dizileri ise ND1 referans dizisi ile %100 homoloji gösterirken CO1 referans dizisi ile %99 homoloji göstermiştir (162).

Çin'in kuzeybatısında insanların da dahil olduğu birçok ara konaktan elde edilen 117 izolat incelenmiş ve bu izolatların tamamının G1 suşu olduğu ortaya konmuştur (52).

Libya'da 10 koyun, 5 deve, 12 sığır ve 3 insana ait toplam 30 izolatın incelendiği bir çalışmada mt-CO1 gen bölgesinin dizi analizi yapılmış ve tüm örneklerin yaygın koyun suşu (G1) olduğu bildirilmiştir (61).

Çin'de 47 insandan elde edilen 67 hidatik kist materyalinin mt-CO1 gen bölgesinin sekans analizi sonucunda 45 hastanın G1, 2 hastanın ise G6 suşu ile enfekte olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada 13 köpekten elde edilen 45 parazit materyali incelenmiş, 42 tanesinin G1 suşu olduğu belirlenmiştir. Ayrıca G1 suşu ile enfekte bir köpekte bulunan 3 adet erişkin parazitin G6 suşuna ait olduğu, son konaklarda *E. granulosus*'un farklı suşlarının neden olduğu miks enfeksiyonlara rastlanabileceği ifade edilmiştir (158).

Kenya'nın Turkana bölgesinde insanlardan elde edilen izolatların mt-CO1 ve NADH1 gen bölgelerine dizi analizi yapılmış, izolatların G1 ve G6 suşlarına ait olduğu bildirilmiştir (163).

Sudan'da çiftlik hayvanlarına ait izolatlar ve 5 insandan elde edilen fertil kistler incelenmiş, G6 ve G7 suşları bildirilmiştir (164).

Brezilya'da 6 insan ve 12 köpeğe ait izolatlar 12S rRNA ve mt-CO1 sekans analizi ile incelenmiştir. 4 insan izolatının G1, 1 izolatın G5, diğerinin ise G3 suşu olduğu bildirilmiştir. Köpeklerle ait 10 izolatın G1, 1 izolatın G5, diğerinin ise G3 olduğu belirtilmiştir (165).

Meksika'da PCR-RFLP, RAPD-PCR ve DNA dizileme teknikleri ile G5 suşunun insan enfeksiyonlarına sebep olduğu bildirilmiştir (155).

Görüldüğü gibi Dünyanın birçok ülkesinde yapılan çalışmalarda da çoğunlukla *E. granulosus s.s* baskın tür olarak belirlenmiştir. Ancak özellikle Asya ve Afrika'daki ülkelerde ikinci en yaygın türün *E. canadensis* (önceden G6 deve suşu) olduğu gözlenirken Güney Amerika ve bazı Avrupa ülkelerinde bunun yerini *E. canadensis* (önceden G7 domuz suşu) almıştır. Bunun sebebinin kırsaldaki yaşam şartları ve ara konak hayvan popülasyonu ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Nitekim ülkemizde daha çok koyun yetiştiriciliği yapıldığı için ve bu hayvanların meralara çıkması nedeniyle en yaygın türün *E. granulosus s.s.* olduğu görülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

-Çalışmada insan kökenli 53 adet hidatik kist materyali moleküler tekniklerle incelenerek *E. granulosus*'un Malatya'daki genotip çeşitliliği araştırılmıştır.

-Direkt PZR ile amplifiye edilen izolatların sadece 33 tanesinde 446 bp'lik band görüntüsü elde edilmiştir. Tekrarlanan PZR uygulamalarına rağmen kalan 20 örnekte ya çok zayıf band oluşumu gözlenmiş, ya da band görüntüsü alınmamıştır. İyi kalite band görüntüsü elde edilen 33 örneğin dizi analizi sonuçları BLAST analizi yapılarak GenBank'taki referans dizi analizleri ile karşılaştırılmış ve hepsinin *E. granulosus sensu stricto* olduğu belirlenmiştir. 20 örnekte band görüntüsü alınmamasının nedenlerinin; örneklerin alkolde uzun süre bekletilmesi, hastalara preoperatif skolosidal ajanların kullanılması ya da operasyon esnasında uygulanan yanlış teknikler (kist içeriğine batıcon vs. maddelerin girmesi) olabileceği düşünülmektedir..

-Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve DNA sekanslama işlemleri *E. granulosus sensu lato* türü içerisindeki farklı suşları belirlemek amacıyla en sık kullanılan yöntemlerdendir.

-Tür içi mutasyonların belirlenmesinde DNA sekanslama en güvenilir methodur.

-Çalışmadan elde edilen veriler doğrultusunda Malatya ilinde insanlarda en yaygın türün *E. granulosus s.s* olduğu belirlenmiştir. Bu bakımdan bölgede kontrol ve eradikasyon çalışmalarının başarılı şekilde yürütülebilmesi için bu türün biyolojik özellikleri dikkate alınmalıdır. Bununla birlikte bölgede olası farklı suşların belirlenmesi amacıyla daha çok izolatu kapsayan detaylı moleküler çalışmaların yapılması uygun olacaktır. Enfeksiyonun kontrol altına alınabilmesi bakımından bölgede koyun/sığır-köpek döngüsü kırılmalıdır.

-*Echinococcus granulosus*'un sınıflandırılması ve teşhisi amacıyla referans alınan morfolojik kriterler sınırlı ve az belirleyici olduğu için, moleküler çalışmaların parazitin teşhisi ve sistematığına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Yıldırım FA, Yıldız K, Çakır Ş, Gazyağcı AN. Kırıkkale bölgesinde koyun kökenli *Echinococcus granulosus* izolatlarının moleküler karakteri, *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg* 2010, 16 (2): 245-50.
2. Kilimcioğlu AA. Kistik echinococcosis, In: Özcel MA (ed), *Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları*'nda. Türkiye Parazitoloji Derneği, İzmir. 2007: 541-66.
3. King CH. Cestodes (Tapeworms). In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds). *Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practise of Infectious Diseases*. Elsevier Churchill Livingstone, Philadelphia, 2005: 3285-93.
4. Plorde JJ. Cestodes (4th ed), In: Ryan KJ, Ray CG (eds.), *Sherris Medical Microbiology an Introduction to Infectious Diseases*, New York, Mc Graw Hill Co, 2004: 791-802.
5. Thompson RCA. Biology and systematics of *Echinococcus*. In: Thompson RCA, Lymbery AJ (eds). *Echinococcus and Hydatid Disease*. Wallingford, CAB International, 1995: 1-50.
6. Vural G, Baca AU, Gauci CG, et al. Variability in the *Echinococcus granulosus* cytochrome c oxidase 1 mitochondrial gene sequence from livestock in Turkey and a re-appraisal of the G1-3 genotype cluster. *Vet Parasitol* 2008, 154: 347-50.
7. Bowles J, McManus DP. Rapid discrimination of *Echinococcus* species and strains of the genus *Echinococcus*. *Int. J. Parasitol* 1993, 57: 231-9.
8. Ütük AE, Şimşek S. *Echinococcus* ve suş kavramı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2008, 32 (1): 35-41.

9. Eckert J, Thompson RCA. Intraspecific variation of *Echinococcus granulosus* and related species with emphises on their infectivity to humans. *Acta Tropica* 1997, 64: 19-34.
10. Nakao M, Lavikainen A, Yanagida T, Ito A. Phylogenetic systematics of the genus *Echinococcus* (cestoda: Taeniidae) *Int J Parasitol* 2013, 43: 1017-29.
11. Moks E, Jogisalu I, Valdmann H, Saarma U. First report of *Echinococcus granulosus* G8 in Eurasia and a reappraisal of the phylogenetic relationships of 'genotypes' G5-G10. *Parasitology* 2008, 135: 647-54.
12. Nakao M, Mcmanus DP, Schantz PM, Craig PS, Ito A. A Molecular phylogeny of the genus *Echinococcus* inferred from complete mitochondrial genomes. *Parasitology* 2007, 134: 713-22.
13. Xiao N, Qiu J, Nakao M, et al. *Echinococcus shiquicus* sp. A taeniid cestode from Tibetan fox and plateau pika in China. *Int J Parasitol* 2005, 35: 693-701.
14. Eckert J, Thompson RCA, Lymbery AJ, Pawlowski ZS, Gottstein B, Morgan UM. Further evidence for the occurrence of a distinct strain of *Echinococcus granulosus* in European pigs. *Parasitol Res* 1993, 79: 42-8.
15. Soulsby E JL. *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*, Baillier and Tindall. 1986, London.
16. Tuerhongjiang T.
<http://www.echinoworld.org/Echinoinfo/ShowArticle.asp?ArticleID=30>. Erişim: 27 Haziran 2016.
17. Tınar R, Coşkun řZ. Hayvanlarda kist hidatik (*Echinococcoses*). İçinde: Unat EK, Üner A, Özcel MA, Altıntaş N, Burak S, Daldal N, Özdedeli E, Tiğın Y, Tınar R, Rurgu A, Doğanay A, Coşkun ř (editörler). *İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist*

- Hidatik (Echinococcosis)*, 10. Baskı. İzmir, Türkiye Parazitoloj Derneği, 1991: 157-196.
18. Şenlik B, Diker A. Echinococ'ların Taksonomisi ve Morfolojisi. İçinde: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A (editörler). *Echinococcosis*, 1. Baskı. İzmir, Hidatidoloji Derneği, 2004: 13-30.
19. Merdivenci A, Aydınlioğlu K. *Hidatidoz (Hidatik Kist Hastalığı)*. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fak Yayınları, İstanbul, 1982: Sayı: 2972/97.
20. Altıntaş N. Past to present: Echinococcosis in Turkey. *Acta Tropica* 2003, 85: 105-12.
21. Thompson RCA, McManus DP. Towards a taxonomic revision of the genus *Echinococcus*. *Trends in Parasitol* 2002, 18(10): 452-7.
22. Smyth D. Introduction to Animal Parasitology, 3rd ed Cambrdige University pres, 1994.
23. Sakamoto T. Electron microscopical observations on the egg of *Echinococcus multilocularis*. *Mem. Fac. Agr. Kagoshima. Univ* 1981, 17: 165-74.
24. Eckert J, Gemmel MA, Matyas Z, Soulsby EJJ. Guidelines for surveillance, prevention and control of Echinococcosis/Hydatidosis. *WHO. VPH/81,28*, Geneva 1984, p. 5-35.
25. Doğan A, Kara M. Hayvan sağlığı yönünden ekinokkozun Türkiye'de ve dünyadaki epidemiyolojisi ve profilaksisi. *T Klin J Surgery* 1998, 3(3) :171-81.
26. Üner A. Ekinokokların sistematiği ve biyolojisi. İnsanlarda ve hayvanlarda Kist Hidatik (Echinococcosis). *Türkiye Parazitoloji Derneği yayını* 1991, No:10, 13-28.
27. Eryıldız C. *Echinococcus granulosus* izolatlarının genotiplendirilmesi. Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi, Edirne: Trakya Üniversitesi, 2010.

28. Thompson RCA, Echinococcosis. In: Gillespie SH, Pearson RD (eds). *Principles and Practice of Clinical Parasitology*, Wiley, Sussex, 2001: 595-612.
29. Thompson RCA, Lymbery AJ, Constantine CC. Variation in *Echinococcus* towards a taxonomic revision of the genus. *Adv Parasitol* 1995, 35: 145-76.
30. Marchiondo AA, Andersen FL. Fine structure and freeze-etch study of protoscolex tegument of *Echinococcus multilocularis* (Cestoda). *The Journal of Parasitology* 1983, 69: 709-18.
31. Unat EK. Tıp Parazitolojisi. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fak Yayınları, İstanbul. No: 3044/113, 1982, 430-99.
32. Patrice Bourée MD. Hydatidosis: Dynamics of Transmission. *World J Surg*. 2001, 25: 4-9.
33. Markell EK, Voge M, Jhan DT, Ozmat S (Eds). *Medical Parasitology*. Seventh Edition. Philadelphia: WB. Saunders Company 1992, p. 226-450.
34. Gottstein B, Reichen J. Echinococcosis/Hydatidosis. In: Cook GC (Ed). *Marson's Tropical Diseases*, 20th ed. London, WB Saunders Co, 1996: 1486-1508.
35. Budak S. Kist hidatik'in epidemiyolojisi. İçinde: Unat EK, Üner A, Özcel MA (editörler). *İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik (Echinococcosis)*, İzmir, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, no: 10, Ege Üniversitesi Ofset Basımevi. 1991: 55-64.
36. Merdivenci A. *Türkiye'de Hidatik Kist Hastalığı*. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fak Yayınları, İstanbul. Sayı: 2145/36, 1976.
37. Deplazes P, Rinaldi L, Alvarez Rojas C.A. et al. Global Distribution of Alveolar and Cystic Echinococcosis. *Adv Parasitol* 2017, 65-109.
38. Economides P, Christofi G. Evaluation of control programmes for echinococcosis/hydatidosis in Cyprus. *Rev Sci Tech Dec* 2000, 19(3): 784-92.

39. El Idrissi AL, Mahjour J, Ayoujil M, Borkia A. Retrospective survey for surgical cases of cystic echinococcosis in Morocco (1980-1992). In: Andersen FL, Ouhelli H, Kachani M (eds). *Compendium on cystic echinococcosis in Africa and in Middle Eastern Countries with special reference to Morocco Brigham Young University*, Print Services, Provo, Utah, 1997: 194-222.
40. Macpherson CNL, Wachira TWM. Cystic echinococcosis in Africa South of the Sahara. In: Andersen FL, Ouhelli H, Kachani M (eds). *Compendium on cystic echinococcosis in Africa and in Middle Eastern Countries with special reference to Morocco Brigham Young University*, Print Services, Provo, Utah, 1997: 245-77.
41. Kenny JV, Maccabe RJ. Sero-epidemiology of hydatid disease in the non-intervention area of north-east Turkana. *Ann Trop Med Parasitol* 1993, 451-7.
42. Todorov T, Boeva V. Echinococcosis in children and adolescents in Bulgaria: a comparative study. *Ann Trop Med Parasitol* 2000, 94 (2): 135-44.
43. Matsoniotis N, Karpatios T, Koutoyzis J et al. Hydatid disease in Greek children. *Am J Trop Med Hyg* 1983, 32, 5, 1025-78.
44. Shaikenov BS, Vaganov TF, Torgerson PR. Cystic Echinococcosis in Kazakhstan: an emerging disease since independence from the sovietunion. *Parasitol Today* 1999, 15: 172-4.
45. Wen H, Yang WG. Public health importance of cystic echinococcosis in China. *Acta Trop* 1997, 67: 133-45.
46. Varela-Diaz VM, Coltorti EA, de Zavaletta O et al. Immunodiagnosis of human hydatid disease: applications and contributions to a control program in Argentina. *Am J Trop Med Hyg* 1983, 32, 5, 1079-87.
47. Amr SS, Amr ZS, Jitawi S, Annab H. Hydatidosis in Jordan: an epidemiological study of 360 cases. *Ann Trop Med Parasitol* 1994, 88 (6): 623-7.

48. Scantz PM. Echinococcosis Chief Ed JH Steele in 'Handbook Series in Zoonoses'
CRC Pres Inc Boca Raton, 1982, Florida.
49. Nasseh GA, Khadivi B. Epidemiological and clinical aspects of Echinococcosis in
East Iran. *J Trop Med Hyg* 1975, 78 (6): 120-2.
50. Larrieu E, Mercapide C, Del Carpio M, et al. Evaluation of the losses produced by
hydatidosis and cost-benefit analysis of different strategic interventions of control
in the province of Rio Negro, Argentina. *Arch Int Hidatid* 1999, 33: 122-8.
51. Akyol ÇV. *Echinococcus* Türlerinin Epidemiyolojisi. İçinde: Altıntaş N, Tınar R ve
Çoker A (editörler). "*Echinococcosis*". Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova, İzmir.
2004: 259-83.
52. McManus DP, Ding Z, Bowles J. A molecular genetic survey indicates the presence
of a single, homogeneous strain of *Echinococcus granulosus* in north-western
China. *Acta Trop* 1994, 56: 7-14.
53. Zhang LH, Chai JJ, Jiao W, Osman Y, Mc Manus DP. Mitochondrial genomic
markers confirm the presence of the camel strain (G6 genotype) of *Echinococcus
granulosus* in north-western China. *Parasitology* 1998, 116: 29-33.
54. Wachira TM, Bowles J, Zeyhle E, Mc Manus DP. Molecular examination of the
sympatric existence and distribution of sheep and camel strains of *Echinococcus
granulosus* in Kenya. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 1993, 48: 473-9.
55. Fasihi Harandi M, Hobbs RP, Adams PJ, Mobedi I. Molecular and morphological
characterisation of *Echinococcus granulosus* of human and animal origin in Iran.
Parasitology 2003, 125(4): 367-73.
56. Schantz PM. Epidemiology and control of hydatid disease. In: Thompson R.C.A
and Lymbery A.J. (eds). *The Biology of Echinococcus and Hydatid Disease*, CAB
International, 1995: 233-354.

57. Rosenzvit MC, Zhang LH, Kamenetzky L, Canova SG, Guarnera EA, McManus DP. Genetic variation and epidemiology of *Echinococcus granulosus* in Argentina. *Parasitology* 1999, 118(5) :523-30.
58. Zhang LH, Joshi JJ, Mc Manus DP. Three genotypes of *Echinococcus granulosus* identified in Nepal using mitochondrial DNA markers. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg* 2000, 94: 258–60.
59. Hobbs RP, Lymbery AJ, Thompson RCA. Rostellar hook morphology of *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) from natural and experimental Australian hosts and its implications for strain recognition. *Parasitology* 1990, 101: 273-81.
60. Hope M, Bowles J, Prociv P, Mc Manus DP. A genetic comparison of human and wildlife *Echinococcus granulosus* in Queensland. *Med. J. Aust* 1992, 156: 27–30.
61. Tashani OA, Zhang LH, Boufana B, Jegi A, Mcmanus DP. Epidemiology and strain characteristics of *Echinococcus granulosus* in the Benghazi area of eastern Libya. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 2002, 96: 369-81.
62. Saygı G. Hydatidosis in Turkey-within the Last Fourteen Years (1979-1993). *Cumhuriyet University Press* 1996, Sivas, Turkey.
63. Başak O, Turgut M, Aydın N, Gürel M. Aydın bölgesinde uniloküler kistik ekinokokkozis (110) olgu. *Türkiye Parazitol Derg* 1998, 22(3): 262-7.
64. İnceboz T, Altıntaş N, Kahya M, Haskaraca F. Manisa bölgesinde uniloküler kistik ekinokokkozis. *Türkiye Parazitol Derg* 2001, 25(1): 45-8.
65. Gürsel MM. 2. Cerrahi kliniğinde görülen kist hidatik vakaları hakkında. *Türk Hidatidoloji Dergisi* 1968, 11, 20-1.
66. Gürsel MM. Tiroid kist hidatikleri. *Türk Hidatidoloji Dergisi* 1968, 11-12.
67. Tuğrul M, Özkan E. Hidatidozun Trakya'daki epidemiyolojisi. Birinci Ulusal Hidatidoloji Kongresi. 8 Haziran 2001. Özet Kitabı, 2001: Sayfa 21-2.

68. Oran E, Ersanlı O. Akciğer kist hidatikleri ve lokalizasyonları hakkında. *Türk Hidatidoloji Dergisi* 1969, 12, 7-16.
69. Daldal N. Malatya'da ekinokokkozis. Birinci Ulusal Hidatidoloji Kongresi, 8 Haziran 2001. Özet Kitabı. Sayfa 29, 2001.
70. Aslan G, Aslan B. Şanlıurfa bölgesinde echinococcosis. *Türkiye Parazitol Derg* 2001, 25(2): 145-7.
71. Gödekmerdan A. 1998-2001 yılları arasında Elazığ ilinde saptanan uniloküler kistik ekinokokkoz olguları. 1. Ulusal Hidatidoloji Kongresi Özet Kitabı. S.28, 2001.
72. Karaman Ü, Aycan MÖ, Atambay M, Miman Ö, Daldal N. Malatya temizlik işçilerinde Anti-Echinococ antikorlarının araştırılması. *T Parazitol Derg* 2005, 29(4): 244-6.
73. Karaman Ü, Miman Ö, Kara M, Gıcık Y, Aycan ÖM, Atambay M. Kars bölgesinde hidatik kist prevalansı. *T Parazitol Derg* 2005, 29(4): 238-40.
74. Hökelek M. Birinci Ulusal Hidatidoloji Kongresi. 8 Haziran. Özet Kitabı Sayfa 20, 2001.
75. Özçelik S. Sivas'ta kistik ekinokokkoz ve Echinococcus granulosus'un yaygınlığı. Birinci Ulusal Hidatidoloji Kongresi. 8 Haziran 2001. Özet Kitabı Sayfa 23-4, 2001.
76. Yılmaz H, Çiçek M. Van yöresinde hidatidoz. Birinci Ulusal Hidatidoloji Kongresi. 8 Haziran 2001. Özet Kitabı. Sayfa 26-7, 2001.
77. Özcan K. Adana ve Mersin yöresinde kistik ekinokokkoz. Birinci Ulusal Hidatidoloji Kongresi, 8 Haziran 2001. Özet Kitabı. Sayfa 30-1, 2001.
78. Alkan MZ, Özcel MA. Kist hidatik'te sero-epidemiolojik araştırmalar. *T Parazitol Derg* 1994, 18 (3): 302-7.

79. Taşan E. Elazığ kırsal yöre köpeklerinde helmintlerin yayılışı ve insan sağlığı yönünden önemi. *Doğa Bilim Derg* 1984, 8: 160-7.
80. Acıöz M. Muş ve Yöresinde *Echinococcus granulosus* Yaygınlığının PCR Yöntemi ile Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Sivas: Cumhuriyet Üniversitesi, 2008.
81. Doğanay A. Ankara köpeklerinde görülen helmint türleri, bunların yayılışı ve halk sağlığı yönünden önemi. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg* 1983, 39(12): 336-48.
82. Öter K, Bilgin Z, Tınar R, Tüzer E. Tapeworm infections in stray dogs and cats in İstanbul, Turkey. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2011, 17(4): 595-9.
83. Ütük AE, Şimşek S, Koroglu E, Mc Manus DP. Molecular genetic characterization of different isolates of *Echinococcus granulosus* in East and Southeast regions of Turkey. *Acta Trop* 2008, 107: 192-4.
84. Şimşek S, Eroksuz Y. Occurrence and molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in Turkish mouflon (*Ovis gmelinii anatolica*). *Acta Trop* 2009, 109: 167-9.
85. Snabel V, Altintas N, D'Amelio S, et al. Cystic echinococcosis in Turkey: Genetic variability and first record of the pig strain (G7) in the country. *Parasitol Res* 2009, 105: 145-54.
86. Şimşek S, Balkaya İ, Köroğlu E. Epidemiological survey and molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in cattle in an endemic area eastern Turkey. *Vet Parasitol* 2009, 172: 347-9.
87. Arikoglu H, Arslan A, Hepdogru MA, Turhan AB. Expression profile and polymorphisms of actin genes in protoscoleces of *Echinococcus granulosus* from sheep in central Turkey. *Vet Parasitol* 2009, 166: 80-5.

88. Şimşek S, Balkaya İ, Çiftçi AT, Ütük AE. Molecular discrimination of sheep and cattle isolates of *Echinococcus granulosus* by SSCP and conventional PCR in Turkey. *Vet Parasitol* 2011, 178: 367-9.
89. Şimşek S, Kaplan M, Özercan IH. Comprehensive molecular survey of *Echinococcus granulosus* in formaline fixed paraffin embedded tissues in human isolates in Turkey. *Vet Parasitol* 2011, 109: 411-6.
90. Ütük AE, Şimşek S. Molecular characterization of the horse isolate of *Echinococcus granulosus* in Turkey. *J Helminthol* 2013, 87: 305-8.
91. Ütük AE, Pişkin FÇ. Melez bir dağ keçisinde hydatidosis ve moleküler karakterizasyonu. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2010, 16: 671-3.
92. Gökpınar S, Değirmenci R, Yıldız K. Kırıkkale’de kesilen sığırlarda *Echinococcus granulosus*’un moleküler olarak genotiplendirilmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2017, 64: 51-4.
93. Ergin S, Saribas S, Yuksel P. et al. Genotypic characterisation of *Echinococcus granulosus* isolated from human in Turkey. *Afr J Microbiol Res* 2010, 4: 551-5.
94. Beyhan YE, Umur Ş. Molecular Characterization and Prevalence of Cystic Echinococcosis in Slaughtered Water Buffaloes in Turkey. *Vet Parasitol* 2011, 181: 174-9.
95. Eryildiz C, Sakru N. Molecular characterization of human and animal isolates of *Echinococcus granulosus* in the Thrace Region, Turkey. *Balkan Med J*, 2012, 29: 261-7.
96. Ütük AE, Pişkin FC, Dalkiliç B. Molecular characterization of sheep isolates of *Echinococcus granulosus* in Kilis Province. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2012, 18: 35-8.

97. Altintas N, Oztatlici M, Altintas N. et al. Molecular analysis of cattle isolates of *Echinococcus granulosus* in Manisa Province of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2013, 19: 455-9.
98. Simsek S, Cevik A. First detection and molecular characterization of *Echinococcus equinus* in a mule in Turkey. *Acta Parasitol* 2014, 59: 773-7.
99. Eckert J, Deplazes P, Craig PS. et al. Echinococcosis in animals: clinical aspects, diagnosis and treatment. In: Eckert J, Gemmel MA, Meslin F-X, Pawlowski ZS (eds). *WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern*. Paris, World Organisation for Animal Health. 2001: 72-99.
100. Eckert J, Gemmel M.A, Meslin F.-X, Pawlowski Z. (Eds.), *WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: A Public Health Problem of Global Concern*. World Health Organisation for Animal Health, Paris, 2001; ISBN 92-9044-522-X.
101. Jenkins DJ, Fraser A, Bradshaw H, Craig PS. Detection of *Echinococcus granulosus* coproantigens in Australian canids with natural or experimental infection. *Journal Parasitology* 2000, 86(1): 140-5.
102. Gasser RB, Jenkins DJ, Heat DD, Lawrence SB. Use of *Echinococcus granulosus* worm antigens for immunodiagnosis of *Echinococcus granulosus* infection in dogs. *Vet Parasitol* 1992, 45: 89-100.
103. Craig PS, Gasser RB, Parada L. et al. Diagnosis of canine echinococcosis: comparison of coproantigen and serum antibody tests with arecoline purgation in Uruguay. *Vet Parasitol* 1995, 56(4): 293-301.

104. González LM, Daniel-Mwambete K, Montero E, Rosenzvit MC, McManus DP, Gárate T, Cuesta-Bandera C. Further molecular discrimination of Spanish strains of *Echinococcus granulosus*. *Exp Parasitol* 2002, 102: 46-56.
105. Çakan A, Çağırıcı U, Veral A, Bilkay Ö. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde akciğer kist hidatid hastalığının cerrahi sağaltım sonuçları. *Türkiye Ekopatoloji Dergisi* 2001, 7: 7-10.
106. Pawlowski ZS. Critical points in the clinical management of cystic echinococcosis. In: Anderson FL, Chai J, Liu F (eds). *Compendium on Cystic Echinococcosis*. Brigham Young University Print Services. USA. 1993: 119-31.
107. Pawlowski ZS, Eckert J, Vuitton DA, et al. Echinococcosis in humans: Clinical aspects, diagnosis and treatment. In: Eckert J, Gemmell MA, Melsin FX, Pawlowski ZS (eds). *WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern*. World organization for Animal Health, Paris, France 2011: 20-68.
108. Amman RW, Eckert J. Clinical Diagnosis and Treatment of Echinococcosis in Humans. In: Thompson RCA, Lymbery AJ (Eds). "*Echinococcus and Hydatid Disease*" Cab International, Wallingford, Oxon. 1995: 411-63.
109. Altıntaş N, Şakru N, Yazar S ve diğ. Kist hidatik tanısında serolojik ve radyolojik tanı yöntemlerinin karşılaştırılması. 10. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 1997, Ankara.
110. Dottoroni S, Tassi C. *E. granulosus*: Comparison between antigens in scolices and hydatid fluid. *Int J Parasitol* 1978, 8: 259-65.
111. Lightowleis MW, Jensen O, Fernandez E, Iriarte JA, Woollard DJ, Gauci CG, Jenkins DJ, Heath DD. Vaccination trials in Australia and Argentina confirm the effectiveness of the EG95 hydatid vaccine in sheep. *Int J Parasitol* 1999, 29: 531-4.

- 112.Garabedian GA, Matossian RM, Djanian AY. An indirekt hemaglutination test for hydatid disease. *J. Immunol* 1957, 78: 269-72.
- 113.Şenlik B. Echinococcosisde hayvanlarda tanı. İçinde: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A (editörler). *Echinococcosis*. Ege Üniversitesi Matbaası. 2004: 295-316.
- 114.Özcel MA, Üner A, Ertuğ S. Immunofloresans Yöntemi. İçinde: Özcel MA, Altıntaş N (editörler). *Parazit Hastalıklarında Tanı*. Türkiye Parazitoloji Derneği 1997. No: 15, 261-91.
- 115.Doğanay A, Burgu A, Sarımehmetoğlu O, Tanyüksel M, Gönenç B, Kozan E, Yıldırım A. Diagnosis of hydatidosis in human beings and sheep by indirect fluorescence antibody technique. *Indian Vet.* 2003, 80: 1230-3.
- 116.Kilimcioğlu AA. Kistik Echinococcosisin Serolojik Tanısında B Antijeninin Etkinliğinin Değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Manisa: Celal Bayar Üniversitesi, 2002.
- 117.Doiz O, Benito R, Sbihi Y, Osuna A, Clavel A, Gomez-Luis R. Western blot applied to the diagnosis and post-treatment monitoring of human hydatidosis. *Diagn Microbiol. Infect. Dis* 2001, 41(3): 139-42.
- 118.Yazar S. Cystic Echinococcosisin Tanısında SDS-PAGE ve Western Blot Yönteminin Diğer Serolojik Tanı Yöntemleri ile Karşılaştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, İzmir: Ege Üniversitesi, 1998.
- 119.Ütük AE. *Echinococcus granulosus*'un Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi izolatlarının moleküler ayrımı. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, 2008.

120. Dinkel A, Njoroge EM, Zimmermann A, Walz M, Zeyhle E, Elhamdi IE, Mackenstedt U, Romig T. A PCR system for detection of species and genotypes of the *Echinococcus granulosus*-complex, with reference to the epidemiological situation in Eastern Africa. *Int J for Parasitol* 2004, 34: 645-53.
121. Ütük AE, Şimşek S, Köroğlu E. Echinococcus cinsinin moleküler genetik karakterizasyonu. *T Parazitol Derg* 2005, 29: 171-6.
122. Arda M. *Biyoteknoloji: Bazı Temel İlkeler*. Kükem Derneği Bilimsel Yayınları, No: 2 İkinci Baskı, Ankara, 1994.
123. Yağcı A. Restriction Fragment Length Polymorphism ve Polimeraz Zincir Reaksiyon Bazlı Tiplendirme Yöntemleri. İçinde: R Durmaz (Editör). "*Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji*" 2. Baskı, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Malatya. Sayfa 149-60.
124. Xue HC, Qiu LS, Zhu CW. RFLP analysis of DNA from *Echinococcus granulosus* collected from four provinces/autonomous region in China. *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi*. 1993, 11(3): 201-3.
125. M'rad S, Fiisetti D, Qudni M, Mekki M, Belguith M, Nouri A, Sayadi T, Lahmar's, Candolfi E, Azarez R, Mezhoud H, Baba H. Molecular evidence of ovine (G1) and camel (G6) strains of *Echinococcus granulosus* in Tunisia and putative role of cattle in human contamination. *Veterinary Parasitology* 2005; 129; 267-72.
126. Gasser RB. PCR-based technology in veterinary parasitology. *Vet Parasitol* 1999; 84: 229-58.
127. Reddy YA, Rao JR, Butchaiah G, Sharma B. Random amplified polymorphic DNA for the specific detection of the bubaline *Echinococcus granulosus* by hybridization assay. *Veterinary Parasitology* 1998, 79; 315-23.

128. Orita M, Suzuki Y, Sekiya T, Hayashi K. Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. *Genomics*. 1989, 5: 874-9.
129. Sunnucks P, Wilson ACC, Beheregaray LB. et al. SSCP is not so difficult: The application and utility of single-stranded conformation polymorphism in evolutionary biology and molecular ecology. *Mol Ecol* 2000, 9: 1699-710.
130. Olive M, Bean P. Principles and applications of methods for DNA based typing of microbial organisms. *J Clin Microbiol* 1999, 37: 1661-9.
131. WHO Informal Working Group on Echinococcosis. Guidelines for treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Bull WHO* 1996, 74(3): 231-42.
132. Akhan O, Özmen MN. Percutaneous treatment of liver hydatid cysts. *Euro J Radiol* 1999, 32: 76-85.
133. Aktan AÖ, Yalın R. Preoperative albendazole treatment for liver hydatid disease decreases the viability of the cyst. *Euro J Gastrol Hepatol* 1996, 8: 877-9.
134. Pelaez V, Kugler C, Correa D, Del Carpio M, Guanginoli M, Molina J, Marcos B, Lopez E. Pair as percutaneous treatment of hydatid liver cysts. *Acta Trop* 2000, 75: 197-202.
135. Parada L, Cabrera P, Burges C. et al. *Echinococcus granulosus* infections of dogs in the Durazno region of Uruguay. *Vet Record* 1995, 136: 389-91.
136. Craig TM. Parasite of Sheep and Goats. In: Backer DG (ed). *Flynn's Parasite of Laboratory Animals*. 2nd Edition. Blackwell Publishing. 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014, USA. 2007; 642-91.
137. WHO/OIE. Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. In: Eckert J, Gemmell MA, Meslin FX, Pawłowski ZS (eds). Paris, 2001.

- 138.Manger BR, Brewer MD. Epsiprantel, a new tapeworm remedy. Preliminary efficacy in dogs and cats. *Br Vet J* 1989, 145: 384-8.
- 139.Budak S. Kist Hidatik'te korunma. İnsanlarda ve hayvanlarda kist hidatik. *Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını* 1991, Sayı:10, 125-8.
- 140.Gemmell M, Roberts M, Beard T, Campano-Diaz S, Lawson J, Nonnemaker J. Control of echinococcosis. In: Eckert J, Gemmell M, Meslin F-X, Pawlowski Z, (eds). *WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern*. Paris: World Organisation for Animal Health, 2001: 195–204.
- 141.Torgerson PR, Budke CM. Echinococcosis—an international public health challenge. *Res Vet Sci* 2003, 74: 191–202.
- 142.Johnson, KS, Harrison MW, Lightowers KL. et al. Vaccination against ovine cysticercosis using a defined recombinant antigen. *Nature*. 1989, 338: 585–7.
- 143.Lightowers MW. Vaccines for control of cysticercosis and hydatidosis. In: P. Craig and Z. Pawlowski (ed). *Cestode zoonoses: echinococcosis and cysticercosis, an emergent and global problem*. IOS Press, Amsterdam, The Netherlands, 2002, 381-91.
- 144.Heath DD, Jensen O, Lightowers MW. Progress in control of hydatidosis using vaccination-a review of formulation and delivery of the vaccine and recommendations for practical use in control programmes. *Acta Trop*. 2003, 85: 133-43.
- 145.Heath DD, Lightowers MW. Vaccination on hydatidology-state of the art. *Arch. Int. Hidatid*. 1997, 33: 14-6.

146. Bowles J, Blair D, McManus DP. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1992, 54(2): 165-74.
147. Cardona GA, Carmena D. A review of the global prevalence, molecular epidemiology and economics of cystic echinococcosis in production animals. *Vet Parasitol.* 2013, 192: 10–32.
148. Williams RJ, Sweatman GK. On the transmission, biology and morphology of *Echinococcus granulosus equinus*, a new subspecies of hydatid tapeworm in horses in Great Britain. *Parasitology* 1963, 53: 391–407.
149. Thompson RCA, Lymbery AJ: The nature, extent and significance of variation within the genus *Echinococcus*. *Adv Parasitol* 1988, 27: 209-58.
150. Bowles J, Knapen FU, Mc Manus DP. Cattle strain of *Echinococcus granulosus* and human infection. *The Lancet* 1992, 339: 1358.
151. Pezeshki A, Akhlaghi L, Sharbatkhori M. et al. Genotyping of *Echinococcus granulosus* from domestic animals and humans from Ardabil Province, northwest Iran. *J. Helminthol* 2013, 87: 387-91.
152. Knudsen B, Knudsen T, Flensburg M. et al. CLC Main Workbench. Version 5.5. Aarhus, Denmark, CLC bio. 2007.
153. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Bio and Evol.* 1987, 4: 406-25.
154. Thompson RCA. The taxonomy, phylogeny and transmission of *Echinococcus*. *Exp Parasitol* 2008, 119(4): 439-46.

155. Maravilla P, Thompson RCA, Palacios-Ruiz JA, Estcourt A, Ramirez-Solis E, Mondragon-de-la-Pena C. et al. *Echinococcus granulosus* cattle strain identification in an autochthonous case of cystic echinococcosis in central Mexico. *Acta Trop* 2004, 92(3): 231-6.
156. Santivanez SJ, Gutierrez AM, Rosenzvit MC, Muzulin PM, Rodriguez ML, Vasquez JC et al. Human hydatid diseases in Peru is basically restricted to *Echinococcus granulosus* genotype 1. *Am J Trop Med Hyg* 2008, 79(1): 89-92.
157. Latif AA, Tanver A, Maqbool A, Siddiqi N, Kyaw-Tanner M, Traub RJ. Morphological and molecular characterisation of *Echinococcus granulosus* in livestock and humans in Punjab, Pakistan. *Vet Parasitol* 2010; 170(1-2): 44-9.
158. Bart JM, Abdulkader M, Zhang YL, Lin RY, Wang YH, Nakao M, Ito A, Craig PS, Pierraoux R, Vuitton DA, Wen H. Genotyping of human cystic echinococcosis in Xinjiang, PR China. *Parasitol* 2006, 133: 571-9.
159. Jabbar A, Narankhajid M, Nolan MJ, Jex AR, Campbell BE, Gasser RB. A first insight into the genotypes of *Echinococcus granulosus* from humans in Mongolia. *Mol Cell Probes*. Epub ahead of print 2010.
160. Zhang L, Eslami A, Hosseini SH, McManus DP. Indication of the presence of two distinct strains of *Echinococcus granulosus* in Iran by mitochondrial DNA markers. *Am J Trop Med Hyg* 1998, 59(1): 171-4.
161. Shahnazi M, Hejazi H, Salehi M, Andalip A.R. Molecular Characterization of Human and Animal *Echinococcus granulosus* Isolates in Isfahan, Iran. *Acta Tropica* 2011, 117: 47-50.
162. Parsa F, Harandi MF, Rostami S, Sharbatkhori M. Genotyping *Echinococcus granulosus* from Dog from Western Iran. *Experimental Parasitology* 2012, 132: 308-12.

163. Casulli A, Zeyhle E, Brunetti E, Pozio E, Meroni V, Genco F, Filice C. Molecular Evidence of the Camel Strain (G6 Genotype) of *Echinococcus granulosus* in humans from Turkana, Kenya. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2010, 104: 29-32.
164. Omar RA, Dinkel A, Romig T, Mackenstedt U, Elnahas AA, Aradaib IE, Ahmed ME, Elmalik KH, Adam A. A Molecular Survey of Cystic Echinococcosis in Sudan. *Veterinary Parasitology* 2010, 169: 340-6.
165. De La Rue ML, Takano K, Brochado JF, Costa CV, Soares AG, Yamano K, Yagi K, Katoh Y, Takahashi K. Infection of Humans and Animals with *Echinococcus granulosus* (G1 and G3 strains) and *E. ortleppi* in Southern Brazil. *Veterinary Parasitology* 2011, 177: 97-103.

EKLER

Ek 1. Özgeçmiş

Adı Soyadı : Özge Özyalın
Doğum Yeri ve Tarihi : Malatya, 03.12.1986
İletişim : ozge_ersan@hotmail.com
+90 549 292 7989

Eğitim Bilgileri

Malatya Gazi İlkokulu: 1992-1997
Malatya Kolkısa Anadolu Lisesi: 1997-2004
Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi: 2005-2010
İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü: 2011-2019
Bildiği Diller: İyi seviyede İngilizce, orta seviyede Almanca

Ek 2. Etik Kurul Onay Formu

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kist hidatikli vakalarda operasyonla elde edilmiş protoskolekslerden Echinococcus granulosus'ların moleküler genetik karakterizasyonunun belirlenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	2014/61

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	MALATYA KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	İnönü Üniversitesi Merkez Kampüsü, 44280, Malatya, Türkiye
	TELEFON	+90 422 341 06 60 / 1219
	FAKS	+90 422 341 00 36
	E-POSTA	inu.dhek@inonu.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADU/SOYADI	Prof.Dr.Metin ATAMRAY			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	MALATYA			
	DESTEKLEYİCİ				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 4	<input type="checkbox"/>		
		Güzelimsel ilaç çalışması	<input type="checkbox"/>		
İlaç dışı klinik araştırma		<input type="checkbox"/>			
	Diğer ise belirtiniz				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Rifat KARLIDAĞ
İmza:

Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kist hidatikli vakalarda operasyonla elde edilmiş protoskolekslerden Echinococcus granulosus'ların moleküler genetik karakterizasyonunun belirlenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	2014/61

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili			
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama					
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>					
	BIYÜLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>					
	İLAN	<input type="checkbox"/>					
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>					
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>					
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>					
	DİĞER:	<input type="checkbox"/>					
KARAR BELGELERİ	Karar No:2014/61	Tarih: 16.04.2014					
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırma/çalışmanın gerekeceği amaç, yaklaşımları ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırma/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin ortak görüşüyle karar verilmiştir. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.						

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyileştirici Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Rifat KARLIDAĞ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilgili		Katılım *		İmza
			E	K	E	H	E	H	
Prof. Dr. Rifat KARLIDAĞ	Psikiyatri	İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Metin GENÇ	Halk Sağlığı	İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Selim YOLOĞLU	Biyostatistik	İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Tarkan TOĞAL	Anesteziyoloji ve Res.	İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ahmet KARADAĞ	Çocuk Sağlığı ve Hast.	İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Aladdin POLAT	Fizyoloji	İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Hilmi CUMURCU	Psikiyatri	İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Yusuf YAKUPOĞULLARI	Tıbbi Mikrobiyoloji	İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Seda TAŞDEMİR	Tıbbi Farmakoloji	İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Rifat KARLIDAĞ
İmza:

Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Kist hidatikli vakalarda operasyonla elde edilmiş protoskoleklerden Echinococcus granulosus'ların moleküler genetik karakterizasyonunun belirlenmesi							
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU		2014/61							
Yrd. Doç. Dr. Mehmet KARATAŞ	Toplantı ve Etik	İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	Katılmadı
Yrd. Doç. Dr. Nezihan ŞİMŞEK	Diğer Hekimliği	İzmir Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	Katılmadı
Uzm. Dr. Ömer Murat AYDIN	Nükleer Tıp Uzmanı	Malatya Devlet Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	Katılmadı
Metin TAY	Eczacı	Serbest Eczacı	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	Katılmadı
Zafer ERGÜZEL	Hakem	İzmir Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	Katılmadı
Hakan KONAN	Sivil Üye	Zaferle Ltd. Şti.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	Katılmadı

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Rifat KARLIDAG
İmza:

Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.