

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**KARACİĞER HİDATİK KİSTLERİNDE POLİMERİZE ZİNCİR
REAKSİYONU (PCR) YÖNTEMİ İLE EKİNOKOK DNA'SININ
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Mehmet Tolga KIRIŞ

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. Ertuğrul GÖKSOY

İSTANBUL, 2017

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**KARACİĞER HİDATİK KİSTLERİNDE POLİMERİZE ZİNCİR
REAKSİYONU (PCR) YÖNTEMİ İLE EKİNOKOK DNA'SININ
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Mehmet Tolga KIRIŞ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. Ertuğrul GÖKSOY**

İSTANBUL, 2017

ÖNSÖZ

Hidatik kist tüm Akdeniz bölgesi ülkelerinde en önemli parazit hastalığı olarak halk sağlığını ve ulusal ekonomiyi etkileyerek ciddi problemler oluşturur. Gerek erişkin şekilleri, gerekse larva şekillerinin hem evcil hem de yabani hayvanlarda bulunmaları sebebi ile hastalıkla mücadele zorlaşmaktadır. Hem hastalığın tanısında önemli bir yer tutan serolojik testlerde kullanıldığından, hem aşının bileşimine girdiklerinden, hem de ajanın doğasını anlamak açısından parazitin genetik yapısının bilinmesi önemlidir.

Bu çalışma birimimize yönlendirilen karaciğer hidatik kistine sahip hastalarda *Echinococcus granulosus* suşlarının genotipik karakterizasyonunu belirlemek, klinik ve patolojik açıdan sonuçları irdelemek amacıyla yapılmıştır.

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren, başta Anabilim Dalı Başkanımız ve tez danışmanım Prof. Dr. Ertuğrul Göksoy olmak üzere tezimin hazırlanmasında mikrobiyolojik çalışmaları için Doç. Dr. Sevgi Ergin'e ve eğitimimde emeği geçen tüm öğretim üyelerine teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Mehmet Tolga Kırış

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLO DİZİNİ	iii
ŞEKİL VE RESİM DİZİNİ.....	iv
KISALTMALAR VE SİMGELER.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT	vii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
1. GENEL BİLGİLER.....	2
1.1 Kistik ekinokozis (Hydatidosis)	2
1.2 Sınıflandırma	3
1.2.1 Echinococcus granulosus	5
1.2.2 Echinococcus alveolaris	8
1.2.3 Echinococcus multilocularis.....	8
1.3 Patogenez.....	8
1.4 İmmun Yanıt.....	9
2. KLİNİK SEMPTOMLAR VE BULGULAR.....	11
2.1 Klinik Semptomlar	11
2.2 Klinik Bulgular	11
2.3 Tanı.....	12
2.3.1 Mikrobiyolojik laboratuvar yöntemleri	12
2.3.2 Görüntüleme Yöntemleri.....	18
2.4 Tedavi	21
2.4.1 Cerrahi tedavi	22
2.4.2 Medikal tedavi.....	24
2.4.3 PAIR tedavi yöntemi	25
2.5 Korunma ve kontrol.....	27
2.5.1 Kistik ekinokozis aşısı ve aşı geliştirme çalışmaları	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1 Çalışmanın tipi.....	29
3.2 Hasta seçimi.....	29
4. BULGULAR	33
5. TARTIŞMA	37
6. SONUÇ	42
7. KAYNAKLAR.....	43

TABLO DİZİNİ

Tablo 1: Çalışmada kullanılan primer setleri

Tablo 2: PCR için gereken reaktif karışım

Tablo 3: Hastalara ait demografik veriler ve klinik özellikler

ŞEKİL VE RESİM DİZİNİ

Şekil 1: Erişkin tip *Echinococcus granulosus*

Şekil 2: *Echinococcus granulosus*'un yaşam çemberi

Şekil 3: Kistik ekinokokkozun laboratuvar tanısında vakanın özelliğine göre örnek tipleri, testlerin seçimi ve olası sonuçlar için akış

Resim 1: *Echinococcus granulosus*'un dünyadaki dağılımı

Resim 2: Karaciğerde Hidatik Kist'in USG görüntüleri

Resim 3: Karaciğerde Hidatik Kist, 7 numaralı olgunun BT görünümü

Resim 4: Karaciğer Hidatik Kist, 11 numaralı olgunun MR görüntüsü

Resim 5: Perop karaciğer kist hidatik, drenaj öncesi

Resim 6: Perop karaciğer kist hidatik, drenaj sonrası

Resim 7: Karaciğer kist hidatik maretyali (*E. granulosos*, kız veziküller)

Resim 8: Girişimsel radyoloji tarafından yapılan PAIR işlemi

Resim 9: Bazı pozitif olguların PCR ürünleri

Resim 10: Çalışmaya dahil olan hastalardan bazılarının PCR sonuçları

KISALTMALAR VE SİMGELER

ADBG: Ayakta direkt batın grafisi

US: Ultrasonografi

BT: Bilgisayarlı Tomografi

MR: Magnetik Rezonans

IHA: Immün Hemaglutinasyon

CRP: C-reaktif Protein

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu

IV: İntraven

ELISA: Enzyme linked immunosorbent assay

IFA: Indirect fluorescence antibody

IE: Immunelektroforez

PAIR: Percutaneous puncture, Aspiration, Injection of protoscolicidal substances, Re-aspiration

CO1: Sitokrom c oksidaz subunit 1

ERCP: Endoskopik Retrograd Kolanjio Pankreatografi

ÖZET

Amaç: Bu çalışma insandan izole edilen karaciğer hidatik kistlerinde *Echinococcus granulosus* DNA'sı ve *Echinococcus granulosus* genotiplerinin belirlenmesi amacıyla yapıldı.

Gereç ve yöntem: Bu çalışma ileriye dönük randomize bir çalışma olup, 2015/2016 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda karaciğer hidatik kisti tanısı ile ameliyatı yapılan 30 hasta üzerinde gerçekleştirildi. Ameliyat sırasında elde edilen kist örneklerinde (protoskoleks ve/veya germinatif membran) PCR ile *E. granulosus* DNA'sı araştırıldı ve pozitif bulunan örneklerde dizi analizi yöntemiyle genotip tayini yapıldı. Aynı zamanda ameliyat öncesinde hastaların kanlarında IHA testi ile antikor tayini yapıldı.

Bulgular: İncelenen 30 karaciğerde hidatik kist örneğinin 29 tanesinde *E. granulosus* DNA'sı saptandı. 29 hidatik kist örneğinin tamamının G1(koyun) suşu olduğu saptandı. 30 örneğin 22 hastanın IHA'sı pozitif 8 hastanın IHA'sı negatif olduğu görüldü. Bu hastaların 6'sı nüks etmesi nedeni ile opere edildi. 1 hastanın patolojik cevabında *E. granulosus* saptanmadı. 3 hastaya preoperatif ve 1 hastaya postoperatif dönemde ERCP endikasyonu konuldu.

Sonuç: İnsan ve hayvanlarda hastalığa yol açan *E. granulosus* (kistik ekinokokozis) ciddi mortalite ve morbiditeye neden olmasından dolayı, önemli bir halk sağlığı problemidir. Aynı zamanda ülke ekonomisinde ciddi kayıplara neden olmaktadır. Özellikle göç alan ülkelerde mevcut insidans ve prevalans artabileceğinden dolayı bu hastalığın önlenebilirliğinde koruyucu hekimliğe ve resmi otoritelere önemli görev düşmektedir.

Anahtar kelimeler: Karaciğer hidatik kisti, *Echinococcus granulosus*, genotip, DNA, PCR, Western-Blot

ABSTRACT

Objective: This study was conducted to determine the genotype of liver hydatid cysts isolated from human.

Materials and Methods: This prospective randomized study was performed on 30 patients who underwent surgery with the diagnosis of liver hydatid cyst in Istanbul University Cerrahpaşa School of Medicine Department of General Surgery between 2015 and 2016. Prior to surgery, the anticore type was determined by IHA method in the blood of the patients. In the cyst samples obtained during the operation (protoskoleks and/or germinative membrane), genotyping was done by PCR and sequence analysis.

Results: 30 samples from liver which is infected by *E. granulosus* found 29 DNA. All the samples were G1 (sheep) type.

Conclusion: *Echinococcus granulosus* is the causative agent of hydatid cyst disease (echinococcosis), a zoonosis that affects the public health and economy in many areas worldwide. Incidence and prevalence would be increases specially immigration from different countries. Preventing is the most important duty for Health Ministry and authority.

Key words: *Echinococcus granulosus*, Hepatic cyst hydatid, genotype, DNA, PCR, Western-Blot, Sequencing

GİRİŞ VE AMAÇ

Kistik ekinokokozis, *Echinococcus granulosus*, *E. multilocularis*, *E. vogeli* ve *E. oligarthrus*'un sebep olduğu, daha çok hayvancılığın yaygın olduğu bölgelerde olmak üzere tüm dünyada görülen, sıklıkla karaciğer, akciğer, dalakta ve nüks olgularda farklı lokalizasyonlarda da yerleşim gösteren zoonotik bir hastalıktır. Ekinokoklar arasında insanda en sık hastalığa neden olan *Echinococcus granulosus* olup 10 farklı genotipi belirlenmiştir. Genetik çeşitlilik fenotipik özelliklerin, konak özgüllüğünün, yayılım etkinliğinin, patolojinin ortaya çıkışında, antijenitenin, antibiyotik etkinliğinin ve aşı stratejisinin belirlenmesinde önemli olmaktadır.

Bu çalışma; polikliniğimize başvurmuş karaciğer hidatik kist tanısı alan ve ameliyat endikasyonu konulan hastalarda *Echinococcus granulosus* DNA'sının PCR yöntemi ile araştırılması ve klinik ve patolojik açıdan sonuçları irdelenmesi amacıyla yapılmıştır.

1. GENEL BİLGİLER

1.1 Kistik ekinokokozis (Hydatidosis)

Kistik ekinokokozis insan ve hayvanlarda hastalığa yol açan önemli bir parazittir. Kistik ekinokokozis, *Echinococcus granulosus*, *E. multilocularis*, *E. vogeli* ve *E. oligarthrus*'un sebep olduğu, daha çok hayvancılığın yaygın olduğu bölgelerde olmak üzere tüm dünyada görülen, sıklıkla karaciğer, akciğer, dalak ve nüks olgularda farklı, atipik lokalizasyonlarda da yerleşim gösterebilen zoonozdur.^{1,2} Dünya çapında çeşitli ülkelerde insanların koyun, köpek gibi hayvanlarla yakın temasları parazitin hayat döngüsünün kalıcı olmasını sağlar. Hidatik kist, tüm Akdeniz ülkelerinde en önemli parazit hastalığı olarak halk sağlığı ve ulusal ekonomiyi etkileyerek ciddi problemler oluşturur.³ Çoğunlukla köpeklerin bazen kurt, çakal gibi etobur hayvanların ince bağırsağında yaşayan *Echinococcus granulosus*'un yumurtaları, bu hayvanların dışkıları ile çevreye bulaştırıldığında; koyun, sığır, deve, geyik ve insanın da dahil olduğu canlılar tarafından kontamine besinlerle oral yoldan alınarak, embriyon yumurtadan ayrılmakta ve kan dolaşımına geçerek başta karaciğer olmak üzere akciğer, dalak, böbrek, beyin, pankreas gibi organlarda hidatik kist hastalığını oluşturmaktadır.^{4,5} *Echinococcus granulosus*'un larva (metasestod) formunun insanlarda karaciğer ve akciğer başta olmak üzere birçok organa yerleşmesiyle oluşan hastalığa kistik ekinokokozis adı verilmektedir. Kistik ekinokokozis tüm dünyada olduğu gibi, büyük bir kesimin hayvan yetiştiriciliği ile uğraştığı ülkemizde de yaygın görülen bir zoonotik hastalıktır. Koyun, sığır vb. hayvanların kistli organlarının köpek, kurt, tilki gibi canlılar tarafından yenmesi sonucunda enfekte olan köpeklerde parazit erişkin forma dönüşür ve yumurtalarının köpek dışkısıyla etrafa yayılması sonucu insanlar yumurtalar ile kontamine yiyecek ve içeceklerle veya köpek ile direkt teması sonucunda gastrointestinal yoluyla alarak enfekte olurlar.⁶⁻⁸ *Echinococcus granulosus*'un son konağı köpek, kurt, tilki gibi etobur hayvanlardır. Koyun, sığır ve insanlar ise parazitin yaşam döngüsünde ara konak olarak yer almaktadır. Esas konak hayvanlarının dışkısı ile saçılan yumurtalar dış ortam şartlarına oldukça dayanıklıdır. Bu parazitin yumurtaları ile kontamine olmuş gıdalarla ara konağa bulaşır.⁹ Daha sonra embriyonlar barsaktan portal kan dolaşımına geçer ve sırası ile karaciğer (%50-70), akciğer (%10-30), dalak, böbrek, santral sinir sistemi, kemik ve kas dokusuna yerleşerek larval dönem olan kist formunu oluşturmaktadır.^{7,10} Hidatik kist, *Echinococcus granulosus*'un ara konağın dokularında oluşan bir metasestod (larva) evresidir. Gerek erişkin formları, gerekse larva formlarının hem evcil hem de yabani hayvanlarda bulunmaları sebebi ile hastalıkla mücadele zorlaşmaktadır. Hem hastalığın tanısında önemli bir yer tutan serolojik testlerde

kullanıldığından, hem aşının bileşimine girdiklerinden, hem de etkenin doğasını anlamak açısından parazitin antijenlerinin bilinmesi önemlidir.¹¹ Yumurtaların suda bir hafta, oda sıcaklığında bir yıl, nemli ve gölge ortamlarda 3-4 hafta canlılığını sürdürebildikleri görülmüştür.¹²

Hidatik kist bulaşmasında, köpekle yakın teması olan veteriner hekimler, hayvanseverler, avcı, kasap, çiftçi ve çobanlar daha yüksek risk altındadır. Ayrıca çevreye yayılan yumurtaların sindirim veya solunum yolu ile bulaşması da söz konusudur.¹² Tüm dünyada önemli bir halk sağlığı problemi olan kistik ekinokokozis hastalığında karaciğerde yerleşen kistler hızlı gelişir. Akciğere yerleşen kistler çok daha yavaş geliştiğinden yıllarca hiçbir klinik belirti vermeyebilir.^{13,14} Kistik ekinokokozis, dünyada sokak köpeklerinin olduğu ve hayvancılık yapılan her iklim bölgesinde geniş bir alanda varlığını gösterir. Bölgelere örnek olarak Yugoslavya, Yunanistan, Bulgaristan, Asya'nın hemen her yerleşim bölgesi, Avustralya, Yeni Zelanda, Güney Afrika, Orta ve Güney Amerika verilebilir.^{15,16}

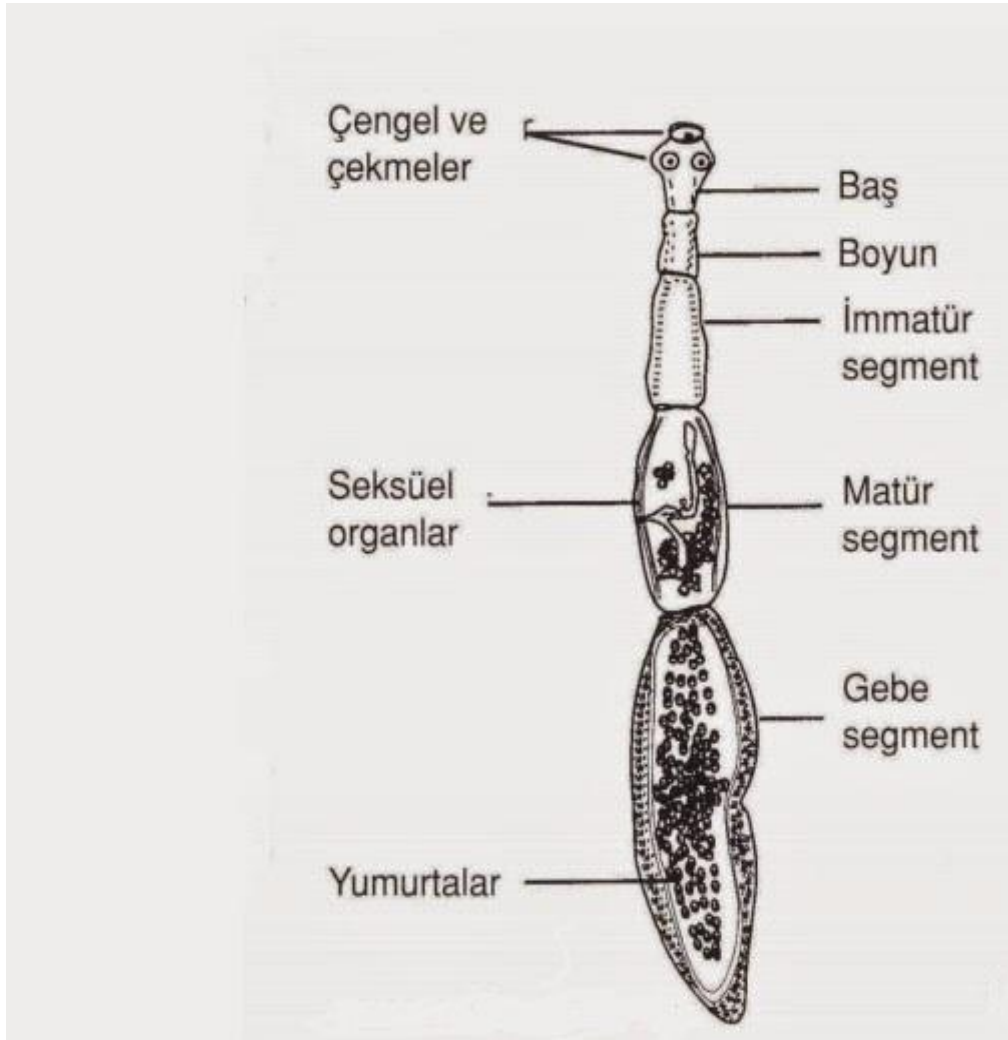


Resim 1: *Echinococcus granulosus*'un dünyadaki dağılımı

1.2 Sınıflandırma

Plathelminthes (yassı helmintler) bölümünün Cestoidea sınıfına ait Cestoda alt sınıfında bulunan vücutları yassı, şerit şeklindeki helmintlerdir. Sestodların boyutları farklıdır

ve renkleri krem rengi veya beyaz renktedir. Helmintlerin strobila adı verilen vücutları yassı, şerit şeklindedir ve elastik, dirençli bir kütikula tabakası ile kaplıdır. Vücut; baş (skoleks), boyun ve halkalar (proglottis, proglottid, segment) olmak üzere üç kısımdan oluşur.⁴



Şekil 1: Erişkin tip *Echinococcus granulosus*

Skoleks helmintin konak bağırsağının çeperine tutunmasına yarayan birtakım organlar taşıyan bir şişkinlikten oluşur. Skoleks'deki organlardan emme çekmenleri veya vantuzlar yuvarlak şekilde ve sayıları 2 veya 4 adettir. Bazen çekmenlerin yerine emme çukurları bulunmaktadır. Bunlar yarık şeklinde görülürler. Emme organlarının üzerinde, skoleksin tam ön ucundaki bölgede de çengeller bulunabilir. Boyun, skoleksi halkalara bağlayan bölümdür, bu bölgeden tomurcuklanmayla yeni halkalar doğurur.¹⁷ Ekinokokların dört farklı türü vardır. En sık görülen türler kistik ekinokozise neden olan *Echinococcus granulosus* ile alveoler ekinokozise neden olan *Echinococcus multilocularis*dir. Diğer iki tipi *Echinococcus vogeli*

ve *Echinococcus oligarthrus* polikistik ekinokokoza neden olmakla birlikte, insanlarda nadiren hastalığa yol açar. En yaygın görüleni *E. granulosus*'tur.^{2,18,19}

1.2.1 Echinococcus granulosus

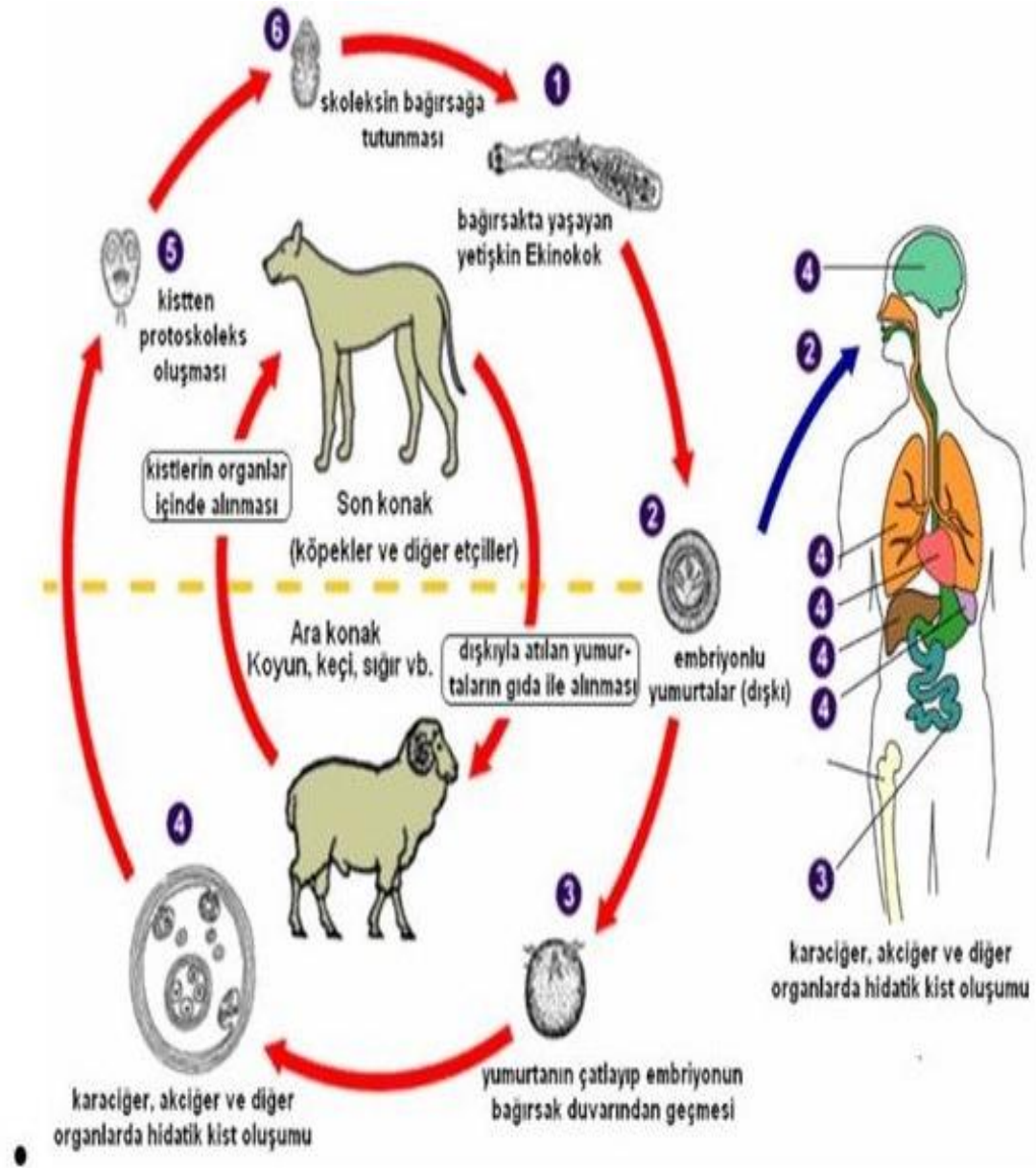
1.2.1.1 Morfoloji

Echinococcus granulosus, 2-6 mm uzunluğunda küçük bir parazit olup, boyu 2 mm ile 9 mm arası, eni ise 0.5 mm'dir(Şekil 1). Vücudu, çengelleri bulunan bir skoleks, boyun ve 3-4 halkadan oluşur. 0.3 mm çapındaki küçük skoleksinde dört çekmen ve rostellum üzerinde iki sıra halinde 30, bazen daha fazla sayıda çengel vardır. Dar, uzunca bir boyun kısmından sonra genellikle üç veya dört adet halka yer alır. En büyük halka son halkadır, hayvanın boyunun yarısı boyutundadır. Bu halkanın döl yatağının dalları yuvarlak ve kısadır, içinde 400-800 adet yumurta bulunmaktadır.¹⁷ Bunlar gebe halkanın dağılmasıyla son konağın dışkısına geçer ve serbest olarak atılır.⁴

1.2.1.2 Evrim

Hidatik kist içeren koyun, sığır gibi arakonakların organlarının (karaciğer, akciğer gibi) son konakçılar tarafından yenilmesi sonucu skoleksler bu etobur hayvanların bağırsağında erişkin forma dönüşerek yaşam çemberini tamamlar.²⁰ Parazitin erişkin formu köpek, kurt, çakal gibi etobur memelilerin ince bağırsaklarında bulunmaktadır ve hastalığa neden olmadan 3-5 ay kadar yaşar. Vücuttan kopan gebe halkalar veya serbest kalan yumurtalar, ana konak dışkısıyla çevreye saçılır. Çevreye saçılan bu yumurtalar ara konaklar için enfektiftir. *E. granulosus* yumurtaları dış etkenlere karşı çok dayanıklıdır ve uzun süre canlılığını koruyabilir. Ara konak olarak koyun, keçi, sığır, manda, domuz, fil gibi birçok hayvan sayılabilir. İnsanlar da ara konak olabilir. Ara konaklar tarafından kontamine olan yiyecek ve içeceklerle alınan *E.granulosus* yumurtası, bağırsakta açılır. Bu yumurtalardan embriyolar çıkar ve bağırsak duvarından geçip portal dolaşıma doğru yol alır. Lenf yolu ve kan dolaşımı ile karaciğere ulaşır. Buradan bütün organlara yayılabilir. İlk durak yerleri olan karaciğer en sık hastalık oluşturdukları organdır. Zamanla gelişir, büyür, içi su dolu kese halini alır bu yapıya sulu kist veya uniloküler hidatik kist denilmektedir. Ara konak ölür ve karaciğeri tekrar bir etobur memeli tarafından yenirse parazitin yaşam çemberi tamamlanmış olur. Ara konak tarafından oluşturulan sulu keseler, son konak olan köpekgiller tarafından yenmesi sonucu kese açılır. Her biri bağırsak çeperine çengelleriyle tutunur, beslenip büyür

ve yaklaşık 10 haftada erişkin parazit halini alırlar. Böylece konak döngüsü; köpek-geviş getirenler-köpek şeklinde olduğu görülür. Zaman zaman bu döngüye insan girse de parazitin yaşam döngüsünde esas rolü köpekler ve geviş getiren diğer hayvanlar oluşturmaktadır. İnsan vücuduna larva formu yerleşir. Başta karaciğer olmak üzere çeşitli organlarda gelişip çoğalır.^{21,22}



Şekil 2: *Echinococcus granulosus*'un (koyun tipi) yaşam çemberi(18).

Etken yumurtalarla ve kontamine gıdaların yenmesi yolu ile alınabileceği gibi, solunum ve cilt yoluyla da bulaşabilir. Bağırsakta yumurtadan çıkan embriyo (onkosfer), mukozaya

tutunarak dolaşım sistemine geçebilir. Gastrointestinal sistemin venöz dolaşımı ve portal sistem yoluyla karaciğere geçip hidatik kiste sebep olabilir. Onkosfer burada tutunamazsa pulmoner arter yoluyla akciğerlere geçebilir ve akciğer hidatik kistine sebep olabilir veya sistemik dolaşım yolu ile diğer organlara (dalak, periton, böbrek, kemik, orbita boşluğu, beyin, kalp ve üreme organları) yayılabilir. Parazit ulaştığı noktalarda ya fagosite edilir ya da primer enfeksiyona neden olabilir.¹

1.2.1.3 Hidatik kistin gelişimi

Kontaminasyondan yaklaşık 3 saat sonra onkosfer karaciğere ulaşır. Yaklaşık 60 saat sonra kapillerde nodül, 4. günde kofullaşma, 7. günde belirgin veziküler hidatik kist kabarcığı oluşur. Çimlenme Zarı (Germinatif membran)'nın çekirdeklerinin oluşumu 10 gün sonradır. 30. güne doğru ise çeperi karaciğere ait bir reaksiyon dokusu ile kaplanarak kist gelişimi tamamlanır. Bu yapıda en iç katmanda germinatif katman (endojen ve ekzojen kapsüllerin geliştiği çimlenme zarı), bu katın dışında çimlenme zarının ürünü olan kütikül tabakası ve en dış katmanda ise konak organizmanın oluşturduğu fibröz bağ dokudan oluşan adventisya tabakası bulunmaktadır. Mukopolisakkarit yapısındaki kütikül tabakası bakteriler için filtrasyon görevi görür. Bu filtreden protein molekülleri kristalloidler, kolloidler, lipidler ve lesitin geçebilir. Kütikül tabakasının altındaki çimlenme zarı ince bir zardır. Tomurcuklanma yeteneğine sahip olan bu zardan çimlenme kapsülleri gelişmektedir. Bu gelişim kist sıvısının bulunduğu içe doğru olabileceği gibi kütikül tabakaları arasından dışa doğru da gelişebilir. (eksojen kapsüller). Bu yolla çoğalan kistin karaciğerde birden fazla kist gelişiminin nedenidir. Kistin içinde kaya suyu adı verilen renksiz, saydam ve steril bir sıvı bulunmaktadır. Kistin endojen salgı ürünü olan antijenik özellikteki bu sıvının asit ve ısıyla yoğunluğu değişmez. Çimlenme kapsülleri çeperleri dışında çimlenme zarından oluşan ince bir boğumla çimlenme zarına bağlı yapılardır. İçlerinde yaklaşık 10-30 kadar protoskoleks gelişmektedir. Çimlenme kapsüllerinin ince germinatif tabakadan oluşan cidarının bütünlüğünün bozulması ile protoskoleksler kist sıvısı içine dökülebilir. Bu yapılara hidatik kumu denilmektedir. Ayrıca germinatif tabakadan gelişen kız veziküller içe ve dışarı doğru büyüme eğilimi gösterirler. İçe doğru oluşan keseler çimlenme kapsüllerinden protoskolekslerden ya da çimlenme zarından gelişmekte olduğundan kütikül dışında konağa ait bir adventisiya tabakası yoktur. Çimlenme zarı adacıklarından gelişen kütikül tabakaları arasından dışa doğru oluşum gösteren keseler insanda ender görülmekle birlikte çift tırnaklılarda sıkça görülmektedir. Bu

keseler kütikül tabakasına ek olarak ana kese gibi konağın oluşturduğu adventisiya tabakası ile de kaplanmıştır.²³

1.2.1.4 *Echinococcus granulosus*'un Suşları

E.granulosus'un evcil koyun suşu (G1), Tazmanya koyun suşu (G2), Manda suşu (G3), At suşu (G4), Sığır suşu (G5), Deve suşu (G6), Domuz suşu (G7) olmak üzere farklı genotipte suşları mevcuttur.²⁴

1.2.2 *Echinococcus alveolaris*

Alveoler kist hastalığının etkenidir. En sık (%90) karaciğer olmak üzere, birçok organda yerleşebilir. Son konağın özellikle tilki olduğu görülmüştür.^{25,26}

1.2.3 *Echinococcus multilocularis*

Erişkin *Echinococcus multilocularis*, *Echinococcus granulosus* ile morfolojik olarak benzerlikler gösterir. En büyük farkı *Echinococcus multilocularis*'in biraz daha kısa olmasıdır (1.5-4 mm). Her iki türde de gebe halka bağırsak lümeni içinde parçalanır ve enfektif yumurtalar bağırsak lümeni içine dağılır.²⁷ Akciğerde bulunan kistler çok daha yavaş geliştiğinden uzun yıllar hiçbir belirti vermeyebilir. Genel semptomları göğüs ağrısı, kronik öksürük, hemoptizi, uzun süren alerjik ürtiker, ödem ve dispne nöbetleri şeklinde iken, kistin belli boyutlara ulaşması veya bronşlara açılması ile bronş obstrüksiyonu, atelektazi ve pnömoni gibi komplikasyonlarla karşılaşılabilir.²⁸

1.3 Patogenez

Kistik ekinokozis insanda yerleştiği organa bağlı olarak çok yavaş gelişim gösterebilir. Bu gelişme 10 ile 20 yıl kadar da sürebilir, fakat çift tırnaklı canlılarda gelişimi için 3 ile 6 aylık bir süre yeterlidir. Hidatik kistin insanda et tüketiminin fazla olduğu ülkelerde %70 karaciğerde, %20 akciğerde ve %10 ise diğer organlarda yerleştiği görülsede, daha çok bitkisel ağırlıklı ürünlerle beslenen toplumlarda %55 karaciğerde, %35 akciğerde ve %10 diğer organlara yerleştiği görülmüştür.²³ *Echinococcus granulosus*'un kurtçuk şekli olan *Echinococcus hydatidosus* insanda yerleşmiş olduğu dokularda enflamasyon, iltihabi reaksiyon oluşmasına sebep olur. Kesesinin etrafında endotel hücre oluşumu görülür. Bu fibroblast, yeni gelişen kan damarları ve lifli bir dokudan oluşan bir tabaka ile çevrelenmiştir.

Sıklıkla yumurtanın alınmasıyla vücutta bir tek kist oluşur. Bu kiste birincil kist denir. Birincil kistin parçalanması sonrasında, içindeki küçük kistler değişik yollardan periton, plevra, dalak, karaciğer, akciğer gibi çeşitli organ ve dokulara ulaşabilirler, sayıları birden fazla olan bu kistlere de ikincil kistler denir.^{4,17} Hidatik kistin et tüketimi ile ilişkisi; etle beslenenlerde aminoasitlerin karaciğerde metabolize edilmesi sürecinde kapiller kan dolaşımının yavaşlaması ve embriyonun bu organa tutunabilme şansının daha yüksek olması şeklinde açıklanmaktadır. Kistik ekinokozis patojenitesi, kistten sızan sıvının bazı allerjik reaksiyonlara neden olması, hacim büyümesi sonucu bası etkisi ve diğer komplikasyonlara bağlı olarak karşımıza çıkmaktadır. Hacim büyümesi ile bası etkisi sonucu bulunduğu organın fonksiyonlarını ve kanlanmasını engellediği gibi aynı etki basınç yaptığı komşu organ ve dokularda da görülebilir.

Komplikasyonları 3 şekilde olarak ortaya çıkar:

1- Kist çeperinin bütünlüğü bozulduğunda kist vezikül ve protoskoleksler çevre dokulara dağılabilir. Örnek olarak; karaciğer kisti rüptürü sonucu batın içi periton boşluğuna, akciğerde yerleşen kist rüptürü sonrası çevre alveollere ve plevra boşluğuna dağılabilir. Hatta kistin bronşlara açılması sonucunda solunum yollarından dışarı atılabilir.

2- Kistin rüptürü ve vasküler yapılara açılması sonucu skoleksler değişik organlara dağılarak metastazlara yol açtığı gibi, vasküler tıkanıklıklara da neden olabilir(tromboz ve/veya emboli).

3- Ameliyat sırasında kistin açılması esnasında çevre dokulara yayılımı ile hidatik kistin ciddi komplikasyonu olabilir. Kuvvetli antijenik özellikteki, kaya suyu adı verilen kist sıvısı vücutta şiddetli bir allerjik reaksiyona yol açarak hastanın ölümüne sebep olabilir (anaflaktik şok-Tip 1 anaflaksi). Ayrıca protoskoleksler de diğer çevre dokulara bulaş yolu ile yayılır.²³

1.4 İmmun Yanıt

Hidatik kiste karşı humoral ve hücrel immün yanıt birlikte olmakla, parazitin immünolojik kontrolünde esas görevde T lenfositleri rol almaktadır. T lenfositleri, makrofaj ve nötrofiller metasestodları yok etmek için programlanmaktadır.^{11,29} T lenfositleri bu koordinatör rolü dışında ekinokok metasestodlarına direkt toksik etki de gösterebilmektedir.^{11,30} Kist hidatik aynı zamanda konakta poliklonal B hücre aktivasyonuna yol açarak değişik sınıflarda (IgG, IgM, IgA ve IgE) antikorların oluşumuna sebep olmaktadır.^{31,32} Bu antikor sınıflarından hangisinin enfeksiyondan sonra ilk geliştiği

bilinmemekle birlikte IgG antikor yanıtının, IgM ve IgA yanıtlarına göre daha sık ve baskın olduğu görülmektedir.^{32,33} *Echinococcus granulosus* antijenlerine karşı verilen IgG antikor yanıtı özellikle IgG1 ve IgG4 ile ilişkilidir. IgG1 ve IgE antiparaziter immün yanıtta önemli antikorlardır.^{34,35}

Echinococcus granulosus'un erişkin ve larva şekilleri arasında antijenik açıdan önemli farklılıklar bulunmaktadır. Sestodun larva şeklinin antijenleri üzerinde birçok çalışma vardır. Hidatik kist sıvısı, protoskoleksler ve kütikülde birçok antijen olduğu görülmüştür. Bu antijenlerden biri olan antijen 5 oldukça iyi bağışıklık sağlayıcıdır. Antijen 5, çimlenme zarında, protoskolekslerin parankiminde ve boşaltım sisteminde bulunur. Diğer antijen ise bir tür lipoprotein yapısında olan B antijendir. Bu antijen 100°C de 15 dakika ısıtılmaya dayanıklıdır. Ayrıca kist sıvısında bulunan ABO antijeni, Forsman antijeni gibi konakla ortak olabilen antijen faktörleri de içerebilir. Onkosferin sindirim sıvılarının, dokuların ve serumun öldürücü etkisinden kendini koruyabilmesi gerekir. Normal serumla protoskolekslerin eritilmesinde konağın kompleman sisteminin etkisi görülür. Kompleman, sıvı içerisindeki bazı maddeler ile aktif hale gelir ve kistin içinde çimlenme zarına etkilidir. Komplement, kistten dışarı sızan sıvıyla ortaya çıkan anafilaktik reaksiyonda da görev alır. Hidatik kistin etrafında oluşan fibröz tabaka konağın immün cevabı sonucunda ortaya çıkar. Hidatidoz sırasında yeni ya da süper enfeksiyona karşı koyan bir bağışık yanıt gelişmektedir.^{11,17} Yapılan çalışmalarda *E. multilocularis* için 27 ve *E. granulosus* için 23 farklı tipte antijenik yapının olduğu görülmüştür.^{11,36,37} Serolojik testlerde kullanılan antijenler, evcil hayvanlardaki fertil kist hidatik sıvısından izole edilmektedir. Bununla birlikte kist sıvısı sadece parazit kökenli materyal değildir, aynı zamanda konakçının serum komponentlerini de içermektedir. Konak kaynaklı protein ve antikorlar ise yanlış negatiflik ve pozitifliğin bir başka sebebidir. P1 antijeni hem kist sıvısında hem de kanserli hastaların serumunda görülen bir antijenik yapıdır. Yapılan bir araştırmada 200 sağlıklı bireyin birinde ve 270 kanserli hastanın ise 17 'sinde (% 6.3) kist hidatik serolojisinin yalancı pozitif olduğu görülmüştür. Hodgkin hastalığı, lenfoma, lösemi, multipl myelom gibi proliferatif hastalıklarda, akciğer kanseri ve hepatosellüler karsinom gibi parankimal kanser hastalıklarında da yalancı pozitifliğin bildirildiği kanser tiplerindedir. Bununla birlikte tüberküloz, siroz ve kollagen doku hastalıklarının seyrinde de yalancı pozitiflik görülebilmektedir.¹¹

2. KLİNİK SEMPTOMLAR VE BULGULAR

2.1 Klinik Semptomlar

Hastalık klinik olarak çok farklı semptomlar ile belirti verebilir. Bu farklı semptomların tutulan organa, kistin boyutuna ve organdaki yerleştiği yere, zamanla büyüme eğilimi gösteren kist ile komşu organ yapıları arasındaki ilişkiye (karaciğerde safra yolları ve damarlara bası etkisi), kistin rüptüre olması sonrasında gelişebilecek komplikasyonlara (batın içi serbest yayılım), kist kavitesinin bakteriyel kontaminasyon sonrası süperenfeksiyonuna, bronş ya da plevraya açılması sonrası astım ve öksürük ataklarına, Tip 1 allerjik reaksiyona (anaflaksi), membranöz nefropati gibi immünolojik reaksiyonlara bağlı olduğu görülmüştür.³⁸ Primer enfeksiyonun ilk safhası hemen her zaman asemptomatik seyretmektedir.³⁹ Kuluçka devri 15-20 yıl kadar sürebilir.⁴ Kistik ekinokozis enfeksiyonu bazen hiç belirti vermeyebilir. Kist kavitesi küçük, kapsül bütünlüğü bozulmamış veya kalsifiye olan kistler organda patoloji oluşturabilecek lokalizasyonda bulunmuyor ise asemptomatik kalabilirler. İnkübasyon döneminden sonra zamanla kistin boyutundaki artış, komşu dokulara ya da organlara bası etkisi ve komplikasyonlarına bağlı olarak kistler semptomatik olabilirler. Kistler ancak belli bir büyüklüğe ulaştıklarında semptom verirler. Hızlı büyüme sonrası semptomlar rüptüre bağlı olabilir. En sık en rastlanan semptom sağ üst kadranda ve epigastriumda şişkinlik ve ağrı hissidir. Halsizlik, ateş, bulantı veya dispepsi gibi non-spesifik semptomlar olarak da tarif edilebilir.³⁹

2.2 Klinik Bulgular

Kistin bası etkisine bağlı görülen bulgular ve kistin komplikasyonlarına bağlı görülen bulgular olmak üzere iki sınıfa ayrılabilir.⁴⁰

Kitle etkisi sonucunda; hepatomegali, kolestaz, sarılık, bilier kolik, sekonder bilier siroza kadar, kolanjit, karaciğer absesi, karaciğer ve dalakta kalsifikasyon, portal hipertansiyon, asit, vena kava inferior basısı veya trombozu sonrası Budd Chiari Sendromu gibi birçok farklı klinik ile bulgu verebilir.^{19,40}

Kist komplikasyonları sonucunda; kistin safra yollarına rüptürü sonrasında safra kesesi veya safra kanalında taş, papillada fibrozis, eksternal biliyer safra fistülü, bakteriyel enfeksiyon, serbest rüptür sonrası subdiafragmatik yada peritoneal yayılım ve plevral, intraperitoneal multipl kist gelişimi, Tip 1 allerjik reaksiyon (anaflaktik şok), akciğer tutulumu, perikistobronşial fistül, plevral aralığa rüptür görülebilir.²⁰

2.3 Tanı

Klinik olarak tanı yöntemleri arasında mikrobiyolojik laboratuvar yöntemleri, radyolojik görüntüleme ve tanı yöntemleri, cerrahi sonrası patolojik tanı yöntemleri sayılabilir.

2.3.1 Mikrobiyolojik laboratuvar yöntemleri

İmmünolojik tetkikler için hidatik kist ve sıvısı kullanılmaktadır. Bununla birlikte mevcut testlerle ilgili olarak duyarlılık ve özgüllüklerindeki yetersizlik, standardizasyon sorunundan kaynaklanmaktadır. Ayrıca diğer sestodların ve diğer paraziter hastalıkların antijenlerine karşı çapraz reaksiyon gelişmesi durumu, hidatik kist immünolojik tanısında esas sorundur.^{16,19} Kistik ekinokozis hastalığında parazitolojik tanı; ameliyat esnasında alınan örneklerin incelenmesi, ultrasonografi eşliğinde ince iğne aspirasyon biyopsisi gibi yollarla elde edilen kist sıvılarında skolekslerin mikroskop altında görülmesi, kist membranlarının histolojik yapısının makroskobik ve mikroskobik incelenmesi ile konulmaktadır.⁴¹ Bununla birlikte kist hidatik içinde her zaman kız veziküller gibi özgün histolojik materyaller bulunmayabilir. Bu gibi durumlarda steril kistin duvarı histolojik olarak incelenmesiyle, hidatik kiste spesifik olan endokist-egzokist ve perikist tabakaları görülebilmektedir. Diğer yandan bazı olgularda (örneğin safra yoluna açılan) kist duvarının da dejenere olduğu unutulmamalıdır.⁴²

2.3.1.1 Casoni cilt testi

İlk kez 1912 yılında Casoni tarafından kullanılan Casoni cilt testinde, derinin içine insan veya hayvan orijinli steril kist sıvısı enjekte edilmektedir. Casoni test sonuçlarının spesifitesi oldukça düşüktür. Çünkü testte kullanılan antijenin yüksek azot ve protein konsantrasyonu ve kan grubu maddelerinden zenginliği sebebiyle %30-40' a kadar yalancı pozitiflikler olduğu görülmüştür.¹⁸ Bu sebeplerden dolayı artık kullanılmamaktadır.

2.3.1.2 Serolojik tanı yöntemleri

Hastalığın etkene yönelik tanısı için kiste ponksiyon yapılarak tanı konulabilir. Fakat hasta uyumsuzluğu (örneğin kanama ve pıhtılaşma zamanını bozan durumlarda, geçirilmiş operasyonlar, aspirasyon yapılacak bölgeye perkütan olarak ulaşımındaki güçlükler gibi) ve bu işlemden sonra sızıntı sonucu kist sıvısının anaflaktik şok-Tip 1 anaflaksi veya kist dışına çıkabilecek protoskolekslerin sekonder kistleri oluşturma riskleri göz önünde tutulmalıdır. Etkene yönelik tanıdaki zorluklar, hidatik kist için serolojik tanının önemli olduğunu

göstermiştir.⁴³ Belirgin bir klinik tablonun olmaması ve yukarıdaki nedenlerden dolayı klinisyenler kist hidatik tanısında serolojik testlere daha çok önem vermiştir. Serolojik testler sadece hastalar için değil; asemptomatik kist taşıyıcılarının belirlenmesinde, hastalığın toplumdaki sıklığını ve varsa bir kontrol programının etkinliğini göstermek amacıyla da yapılabilir.⁴⁴ Kistik ekinokokoz tanısı günümüzde radyolojik tanı yöntemleriyle (ultrason, magnetik rezonans, bilgisayarlı tomografi gibi) konulmaya çalışılsa da, bu kistlerin tümör, abse, basit kist, vasküler patolojiler gibi diğer yer kaplayan lezyonlarla ayırıcı tanısının yapılabilmesi ve operasyon sonrası nükslerin daha sağlıklı bir şekilde takibi için ön tanının serolojik tanı yöntemleriyle desteklenmesi gerekmektedir.⁶ Buna ek olarak serolojik testler, olguların tedaviye verdikleri yanıtın takibinde pahalı ve zor radyolojik tetkiklerin yerine de kullanılabilir. Cerrahi girişimde drenajı zor olan bir kiste müdahalede yetersizlikler olabilir veya cerrahi sonrasında sekonder enfeksiyon gelişme riskleri mevcuttur.⁴⁵

2.3.1.3 Kompleman fiksasyon reaksiyonu

Spesifik antikorla antijenin birleşmesi sonucu serbest komplemanı absorbe etme özelliği bilinmektedir. Reaksiyon sonucunun tespit edilebilmesi için özel indikatör sisteminden (%3 koyun eritrosit süspansiyonu ve hemolitik amboseptör) kullanılmaktadır. Böylece kistik ekinokokozis tanısında yararlanılan bir yöntem olarak, antijenik hidatik sıvı, skoleks veya membran dokuları kullanılabilir. Ancak içinde skoleks olan kist sıvısının antijen olarak daha duyarlı olduğu, buna karşın yalancı pozitif sonuçların da çıkabileceği bilinmelidir. Bu yalancı pozitif sonuçların yüksek serum gamma globulin düzeyi ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir. Günümüzde hassaslığı daha yüksek tanı yöntemleri olduğundan kompleman fiksasyon reaksiyonu terk edilmiştir.⁴⁶

2.3.1.4 IHA yöntemi (İmmün Hemaglutinasyon)

Bu testte tannik asitle duyarlılaştırılmış eritrositlerin yüzey gerilimlerinin değişmesi sonucu antijen tutma özelliklerinden faydalanılmaktadır. Antijen ile kaplı koyun eritrositleri hasta serumuyla karşılaşınca çökelme gerçekleşmektedir. Testin duyarlılığı genellikle %80-94 arasında değişiklik göstermektedir. Kistin lokalizasyonuna göre antikor yanıtının değişiklik gösterdiği saptanmıştır. Bir çalışmada karaciğer kisti olan hastalarda, IHA %75 pozitif çıkmış ve %12'sinde immün kompleks bulunmuşken, akciğer kistlerinin %42 'sinde IHA pozitif çıkmış ve %50 'sinde immün kompleksler olduğu görülmüştür.¹⁸ Buna karşın bu yöntemle kist hidatik olmayan hasta serumlarında ve sağlıklı insan serumlarında da çok yüksek oranda çapraz reaksiyon verdiği bildirilmektedir. Tannik asit kullanılan IHA testinin, kistik ekinokokoz tanısında en hassas ve uygulanma kolaylığı olan test olduğu görüşü yaygındır.⁴⁷

2.3.1.5 IFA yöntemi (indirect fluorescence antibody)

Etken veya etkene karşı oluşan antikor, Floresan izosiyanat, veya Rodamin B200 gibi floresan verici maddelerle işaretlenmiş antikor veya antijen ile bağlanınca fluoresan mikroskop altında görülebilmektedir. Pozitif örnekler sarı-yeşil olarak görülmektedir. Testin sensitivitesi %90-98, spesifitesi %95-98 arasındadır. Duyarlılığın akciğer yerleşimli kistlerde %81, karaciğer kistlerinde ise %90 olduğu görülmüştür.¹⁸ Cerrahi girişim sonrası 4-6 hafta boyunca antikor seviyesinde başlangıca göre 4-5 kat artış olduğu ve bu artışın nedeninin henüz bulunamadığı bildirilmektedir. Fakat perikistektomi yapılan olgularda bu artışın olmadığı görülmüştür.⁴³

2.3.1.6 ELISA yöntemi (Enzyme linked immunosorbent assay)

ELISA, paraziter hastalık etkenlerinin direkt olarak görülemediği veya görülmesinin zor olduğu durumlarda, bu hastalıkların tanısının konulabilmesi için uygulanmakta olan serolojik tanı yöntemlerinden biridir. Antijen-antikor kompleksine enzim ile işaretli antiglobulinin eklenmesi, daha sonra da substratın eklenmesi ile eğer antijen veya antikor var ise renk oluşumunun tespit edilmesi prensibine dayanmaktadır. Enzimatik aktivite ile kimyasal reaksiyon sonucunda renk değişimi olduğu görülür. Oluşan renk, optik dansite değerleri ile karşılaştırılır. Optik dansite değerleri pratikte antikor konsantrasyonunun tayininde de kullanılabilir. Enzimle-substrat etkileşiminin spektrofotometrik ölçümü, yöntemde araştırılması gereken antijen ya da antikor miktarı ile orantılıdır. Yöntemin avantajları; çok duyarlı ve güvenilir olması, kolay uygulanabilmesi, işaretli immun ayıracıların uzun süre etkinliğinin bozulmadan korunabilmesi, radyoizotopların kullanımı sonrası atıkların yok edilmesi önleminin gerekmemesi ve enzim işaretleri ile kromojenik substrat kullanılarak görülebilir ve okunabilir sonuçlar vermesidir. Buna karşın, özel bazı cihazlara gereksinim duyulması, deneyimli personelin gerekmesi ve maliyetinin yüksek olması da bu yöntemin dezavantajlarıdır.⁴⁸

2.3.1.7 İmmüdifüzyon ve immünelektroforez(IE) metodu

Kistik ekinokokozis vakalarında IE yöntemiyle her zaman aynı bölgede ve karakterde çok belirgin presipitasyon hattının kist sıvısı içindeki belli bir antijen yapısı tarafından oluşturulduğu ve bu antijene arc 5 adının verildiği birçok araştırmacı tarafından yayınlanmıştır. Arc 5 antijeni presipitasyon hattının kist hidatik tanısındaki önemi üzerinde çalışan araştırmacılar, saflaştırılmış ve yoğunlaştırılmış kist sıvısı antijeniyle kist hidatik tanısında %90 oranına kadar pozitif sonuçlar çıkabileceğini belirtmektedirler.⁴⁹

2.3.1.8 Western Blot (Immunoblotting)

Ayrıştırılan proteinlerin jellerden membranlara transfer yöntemleri üzerine yapılan çalışmaların, proteinlerin elektroforetik analizi için yeni bir yöntem geliştirilmesi için imkan sunmuştur. Immunoblotting ya da Western blot adı verilen bu immunokimyasal yöntemler bir membran üzerine sabitleştirilmiş proteinleri tanımlamaya yaramaktadır. Immunoblotting yönteminin iki aşaması vardır: proteinin jelden nitroselüloz membrana transferi ve epitop ile spesifik antikorun bağlanmasıdır. Proteinin transferi en başarılı şekilde elektroforez yöntemi ile gerçekleştirilebilmektedir. Genelde iki transfer yöntemi kullanılmaktadır. Birincisi yarı-kurutma yöntemi ile blotting (Semi-dry blotting) yöntemi olup jel ve immobilize edilmiş membran, buffer ile ıslatılmış filtre kağıtları içinde tutularak 10-30 dakika elektrik akımı geçirilmesi yöntemidir. İkincisi ise ıslak blotting (Tank-Wet blotting) yöntemi olup jelmembran sandwich sisteminin elektrotransfer için transfer buffer içine eklenerek en az 45 dakika ya da tüm gece boyunca transfer işleminin devamı esasına dayanır.⁵⁰

2.3.1.9 Proteinlerin analizi ve sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE)

Protein karışımlarının ya da proteinlerin genellikle agaroz veya poliakrilamid jel içinde analizleri için birçok yöntem kullanılmaktadır. Elektroforetik yöntemler oldukça hızlı ve mikrogramla ifade edilebilecek hassasiyete sahip oldukları gibi boyama ya da otoradyografi ile jeldeki proteinlerin tanısında da son derece elverişli ve hassastırlar. Elektroforetik yöntemlerin bir diğer önemli özelliği de tek bir elektroforez ile çok sayıda örneğin tanınmasında yardımcı olmasıdır. Proteinlerin analizi için çok sık kullanılan bir yöntem SDS-PAGE'dir. SDS-PAGE proteinlerin karakterizasyonunda, karşılaştırılmasında ve sayısal olarak elde edilmesinde sıklıkla kullanılan ucuz, hızlı ve tekrarlanabilir bir yöntemdir. Elektrik yüklü bir ortamda iyonların göçüne elektroforez denilir. Proteinlerin göçünde, proteinin şekli, moleküler ağırlığı, ortamın pH'ı ve bu pH'da proteinin anyon veya katyon olması gibi özellikleri sebebi ile farklı proteinler farklı göç hızı gösterir ve birbirlerinden farklı bölgelere doğru hareket eder. SDS-PAGE, protein dağılımının yanında, protein ağırlıkları bilinen standart proteinlerle bağlantılı olarak elektroforetik değişkenliklerin karşılaştırılması ile bilinmeyen proteinlerin molekül ağırlıklarının tespitinde oldukça geniş bir şekilde kullanılan etkili bir yöntemdir.^{51,52}

2.3.1.10 Kültür

Echinococcus granulosus'un laboratuvar ortamında besiyerinde onkosfer formundan kist şeklindeki larva evresine kadar üretilebildiği gibi, protoskoleksten halkalı şekle kadar da

üretilebilmektedir.¹⁷ Ülkemizde yapılan bir çalışmada protoskolekslerden kist gelişimi hem hayvan modellerinde hemde *in vitro* kültürde üretilmiştir. Söz konusu çalışmada; koyundan elde edilen *E. granulosus* protoskolekslerinden kültür ortamında 90 günlük sürede kist geliştiği görülmüştür.⁵³

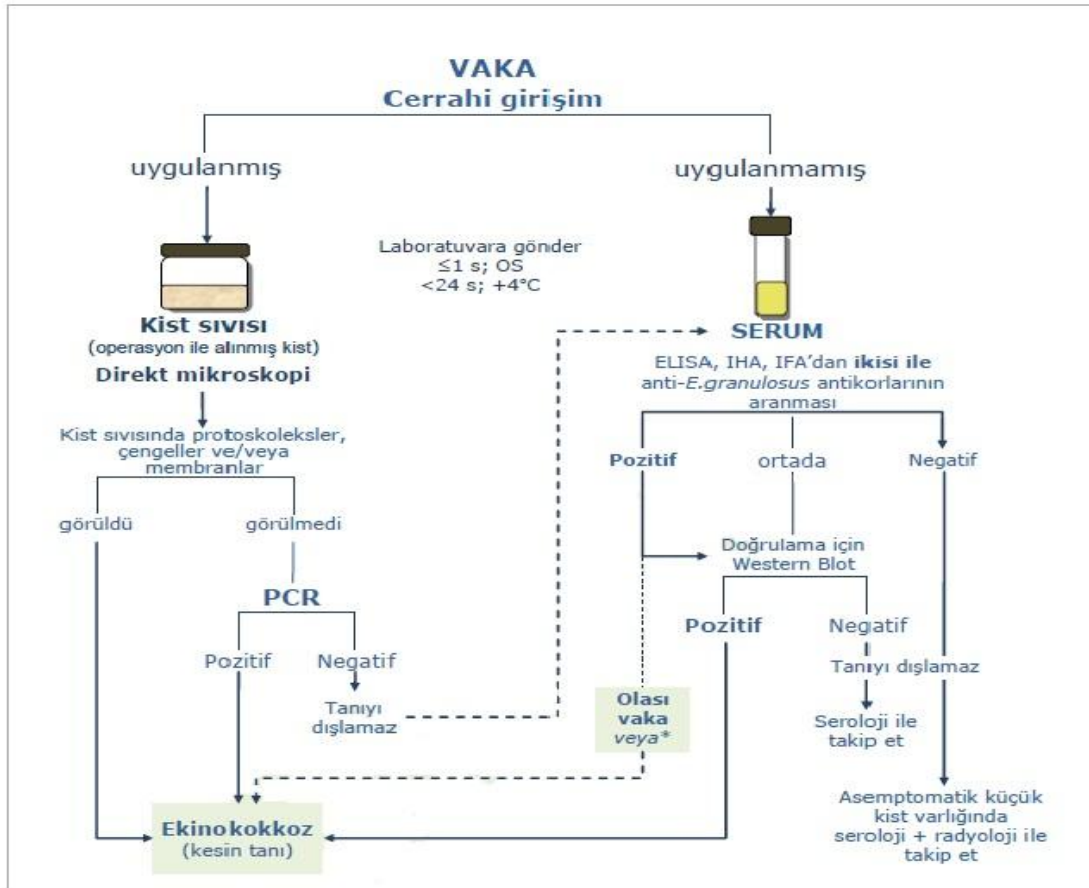
2.3.1.11 Polimerize Zincir Reaksiyon yöntemi (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu, iki oligonükleotid primer arasında bulunan bir DNA fragmentinin enzimatik olarak çoğaltılması işlemidir. Primerlerden biri hedef dizinin bir tarafındaki DNA molekülünün bir zincirine komplementer, ikinci primer ise hedef dizinin diğer tarafındaki DNA molekülünün diğer zincirine komplementerdir. Primerler, DNA polimeraz yardımı ile aralarında kalan diziyi sentez ederler.⁵⁴ PCR temelli teknikler ekinokokkozisin tanısında kullanılan duyarlı yöntemlerdir.⁵⁵ Dinkel ve ark. PCR yöntemini kullanarak *E. granulosus*'un G1, G5 ve G6/G7 suş ayırımını gerçekleştirmiştir.⁵⁶

PCR tekniğinin bulunmasından günümüze kadar pek çok yeni metotlar geliştirilmiştir. Multipleks PCR, nested PCR, arbitrary-primed PCR (AP-PCR), gerçek zamanlı (real-time) PCR (qPCR), polimeraz zincir reaksiyonu-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP).⁵⁷

2.3.1.12 Deoksiribonükleik Asit(DNA) Dizi Analizi

DNA fragmanının nükleotid baz diziliminin ortaya konulmasıdır ve en yaygın olarak kullanılanı Sanger dizi analizidir. Sanger dizi analizinde; başlangıçtaki orijinal kalıp için komplementer zinciri sentezleyen DNA polimerazı inhibe etmek amacıyla nükleotidlerin kimyasal analogları kullanılır. DNA sentezi başlatılır ve DNA polimeraz kalıp iplik boyunca hareket eder, floresan işaretli nükleotidleri yeni sentezlenen zincir içerisine ekler. Dört sekans reaksiyonunun her birine dört normal nükleotidin her biri ve yalnızca bir inhibitör analogunun eklenmesi ile bir sekans bilgisi sağlanır. Günümüzde, DNA dizi analizine ait işlemleri otomatik olarak gerçekleştiren cihazlar geliştirilmiştir ve hem normal hem mutant genlerin analizi için rutin olarak kullanılmaktadır.⁵⁴



Şekil 3 : Kistik ekinokokkozun laboratuvar tanısında vakanın özelliğine göre örnek tipleri, testlerin seçimi ve olası sonuçlar için akış şeması (OS: oda sıcaklığı); İki serolojik test (ör., IHA+ELISA çifti) pozitif bulunduğunda, eğer görüntüleme yöntemlerinden biri de (bilgisayarlı tomografi, ultrasonografi vb.) pozitif ise vaka “ekinokokkozis” kabul edilir.⁵⁸

2.3.1.13 Üzerinde çalışmaları devam eden diğer laboratuvar tanı yöntemleri

Son yıllarda geliştirilmekte olan dipstick testleri de kistik ekinokokkozun serolojik olarak tanısında önemli bir gelişme olarak görülmektedir. Özel ekipman gerektirmeyen, uygulaması kolay ve 15 dakika içinde görsel olarak değerlendirilebilen, üstelik yüksek duyarlılığı ve özgüllüğü (duyarlılık %100 ve özgüllük %91.4) olan bu testler, kistik ekinokokkozisin tanısında klinik laboratuvarlarda kullanım için kabul edilebilir bir alternatif olmaya adaydır.⁵⁹

Benzer şekilde, hidatik kist sıvısı ekstratlarından ham ve kısmen saflaştırılmış dört nativ antijen kullanılarak, insan ekinokoklarının serolojik tanısında yeni ve hızlı sonuçlanan “Dot Immunogold Filtration Assay” (DIGFA) yöntemi üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Testin esas 3 dakika gibi bir sürede gelişen renk değişikliğinin değerlendirilmesine dayanmaktadır. *E. granulosus* tanısında duyarlılığının %80.7, *E. alveolaris* tanısında ise

duyarlılığının %92.9 olduğu yapılan çalışmalarda saptanmıştır.⁵⁹ Bu hızlı testlerin endemik bölgelerde sağlık taramalarında da ultrason ile birlikte kullanışlı olabileceği öngörülmektedir.⁵⁸

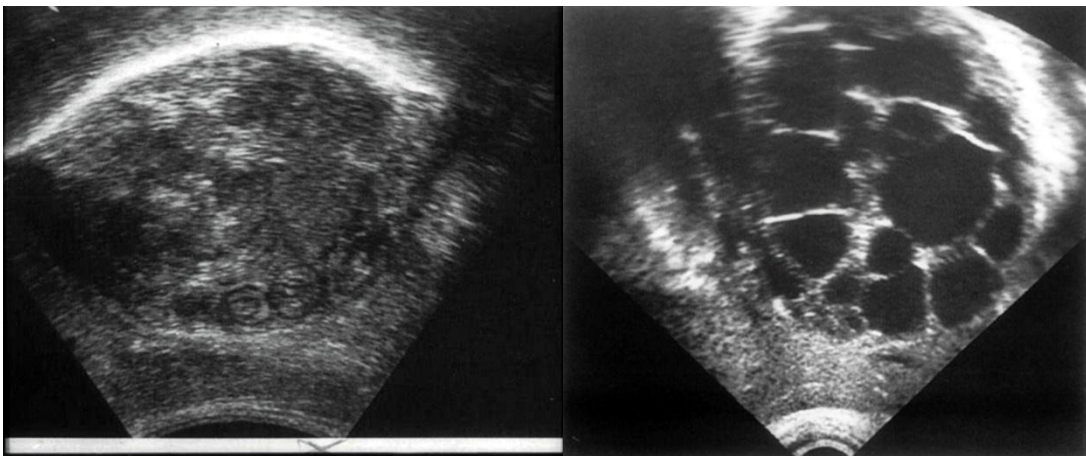
2.3.2 Görüntüleme Yöntemleri

2.3.2.1 Ayakta direkt batin grafisi (ADBG)

Bu görüntüleme tekniğinde, sağ hemidiaframda elevasyon, perikistik veya kız veziküllerde kalsifikasyonlar (%20-30), pleural effüzyon veya perikistobronşial fistül, kist kavitesi içinde enfeksiyon gelişmesi durumunda hava veya hava-sıvı seviyesi görülebilir.⁶⁰

2.3.2.2 Ultrasonografi (USG)

İnvazif olmayan, kolay uygulanabilen, düşük maliyetli en önemli görüntüleme tanı yöntemidir. Deneyimli bir bakışla spesifitesi %90, sensitivitesi %97,7'ye kadar ulaşır. Kistin etrafında küresel, gölge veren eko (egg shell bulgusu) genelde inaktif ve sıklıkla kalsifiye kistlerin belirtilerindedir. Kistlerin yaklaşık % 10'unda duvarda değişik derecelerde kalsifikasyonlar görülebilir.⁶¹ Kistlerin ultrasonografik özellikleri açısından farklı tanımlamaları yapılmıştır. Bu tanımlamalardan en çok kullanılanı 1981 yılında Gharbi tarafından geliştirilmiştir. Bu sınıflandırma ile kistler 5 gruba ayırmaktadır.⁶²



Resim 2: Karaciğerde Hidatik Kist'in USG görüntüleri (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Girişimsel Radyoloji Anabilim Dalı arşivinden alınmıştır).

Gharbi Sınıflaması

Tip 1: Saf sıvı koleksiyonu: Bu tipteki kist görüntülemesinde anekoik bir boşluk olarak görülür ve arka duvar ekosu belirginleşmiştir. Sıvı koleksiyonu dairesel ve sınırları belirgin olarak nettir. Duvar kalınlığı sıklıkla değişkenlik gösterir. Kist içerisindeki sıvı berrak olup, yeni gelişen, monoveziküller, henüz komplike olmamış kistin varlığını gösterir.

Tip 2: Duvarı ayrılmış sıvı koleksiyonu: Laminar membranın perikist tabakasından ayrılması sonucu oluşan görüntüdür. Kist duvarındaki ayrılma sonucunda kistin içinde yüzen membran görünümü verebilir (nilüfer çiçeği belirtisi de denilir). Duvardaki ayrılma hidatik kist için patognomonik özelliklerdendir.

Tip 3: Septasyonlu sıvı koleksiyonu: Yapılan görüntülemelerde multiseptalı kistler var ise kız veziküllerden bahsedilir. Tipik olarak vakalarda bal peteği görünümü mevcuttur.

Tip 4: Kaba eko veren heterojen lezyon: Kist kaba, yuvarlak, sınırları ve ekosu irregüler bir kistik lezyon olarak görüntülenir. Bu tipte bir görünüm varlığında farklı evrelerde 3 alt tipte görülebilir:

- a) Multipl irregüler eko içeren hipoekoik görünüm; sıklıkla enfekte multiloküler kistlere bağlı,
- b) Arka duvar gölgesi olmayan hiperekoik solid görünüm,
- c) Hipo ve hiperekoik nodüler alanlar içeren görünüm.

Tip 5: Kalın duvarlı kalsifik-kistik lezyon: Sınırları hiperekoik görünümlü, koni şekilli akustik gölgesi olan bir lezyon şeklindedir.

2003 yılında Dünya Sağlık Örgütü tarafından Gharbi sınıflamasından yararlanarak bir ultrasonografik sınıflama kabul edilmiştir. Bu sınıflama Gharbi sınıflamasındaki Evre 1 ve 2'yi aktif, Evre 3'ü transisyonel ve Evre 4 ve 5'i inaktif kist olarak sınıflandırmaktadır.

2.3.2.3 Bilgisayarli tomografi (BT)

Bulunduğu organda kistin yerleşimi, büyüklüğü, derinliği, yapısı hakkında USG'ye oranla daha fazla bilgiler verir.⁶³ Sensitivitesi %100'dür. Medikal tedavi altında izlenen hastaların lezyonlarının takibi, kalsifikasyonun gösterilmesi ve postoperatif nükslerin belirlenmesinde daha faydalıdır.³⁹



Resim 3: Karaciğerde Hidatik Kist BT görüntüsü, (7 numaralı olgu)

2.3.2.4 Magnetik rezonans görüntüleme (MR)

Bilgisayarlı tomografiye kıyasla üstünlüğü yoktur. Sadece karaciğer parankim içini, safra yolları ile ilişkisini ve venöz sistemi değerlendirmede daha aydınlatıcı olabilir.³⁹



Resim 4: Karaciğerde Hidatik Kist MR görüntüsü, (11 numaralı olgu)

2.4 Tedavi

Karaciğerde kist hidatik tanısı alan hastalarda tedavi için asıl amaç enfeksiyon, komşu doku, batın içi boşluğa ya da diğer organlara kistin rüptürü sonrası yayılması veya anafeksi gibi komplikasyonları önlemeye yönelik olmalıdır. Tedavisi; cerrahi tedavi, medikal tedavi ve perkütan aspirasyon injeksiyon reaspirasyon (PAIR) olmak üzere üç farklı yolla yapılmaktadır.³⁹

2.4.1 Cerrahi tedavi

Cerrahi endikasyon, genel olarak kistin yapısı, bulunduğu dokudaki yerleşimi ve hastanın genel sağlık durumuna göre konulur. Bu koşullara uygun karaciğer hidatik kist tanısı alan hastalarda karaciğerin periferinde bulunan komplike olmayan kistin cerrahi yöntem ile tedavisi uygundur. Dört santimetreden küçük olan kistler, karaciğer parankiminde derin yerleşimli kistler, multipl kistler, komplike olmamış kistler ise klinik olarak takip edilebilirler.^{64,65}

2.4.1.1 Cerrahi Endikasyonları

Multiple kız veziküller saptanan büyük karaciğer kistleri, karaciğerde yüzeysel yerleşimli olan spontan ve/veya travma ile rüptür riski yüksek olan tek karaciğer kistleri, enfekte kistler, safra yolları ile ilişkili kistler, çevre organlara dıştan bası yaparak semptomatik olan kistlerdir.³⁹

2.4.1.2 Cerrahi kontraendikasyonları

Hastanın cerrahi tedaviye onamı yoksa, genel anestezi almasındaki kontraendikasyonlar, ileri yaş hastalar, gebeler, multipl kistleri olan hastalar, karaciğer parankimi içerisinde ulaşılması zor lokalizasyondaki kistler, radyolojik olarak homojen olarak kalsifiye olan ve inaktif kistler, klinik olarak takip edilmesi gereken çok küçük boyutlu kistler kontraendikasyonlardandır.³⁹

Cerrahi yöntemler ile kist kavitesi boşaltılır, kist içeriğinin yayılımı önlenir (Resim 4,5). Skolekslerin inaktive edilmesi için cerrahi olarak kavite içine %3-30 hipertonic salin, formalin, %0,5'lik cetrimide, hidrojen peroksit, polivinilpirrolidone-iyodin, %0,5'lik gümüş nitrat ve etil alkol (%75-90) gibi farklı ajanlar uygulanabilir. %100 etkili ve güvenilir ideal bir ajan bulunmamaktadır. Safra yolları ile ilişkili kist hidatiklerde bu tip ajanların kullanımı sonrası sklerozan kolanjit gelişme riski bulunmaktadır. Bu maddeleri kullanmadan önce kist sıvısının aspire edilip kavite içi basıncı azaltıldıktan sonra kullanılacak olan ajan kavite içine enjekte edilip belli bir süre (yaklaşık 3 dakika) beklemek gerekir. Kist içeriğinin dağılmasını önlemek için kistin etrafındaki alan hipertonic solusyonlarla ıslatılmış kompresler ile etraf dokulardan izolasyon sağlanarak işlem esnasında dağılması önlenir. Cerrahi yöntemler için; perikist tabakasının kaldığı kistektomi, perikistektomi veya karaciğer rezeksiyonu gibi radikal rezeksiyon yöntemleri sayılabilir. Konservatif cerrahi için; kistin eksternal veya internal drenajı, omentoplasti, kapitonaj, introfleksiyon ve kapsülorafı gibi yöntemler sayılabilir.³⁹



Resim 5: Perop karaciğer kist hidatik, drenaj öncesi, 15 numaralı hastanın fotoğrafı



Resim 6 : Perop karaciğer kist hidatik, drenaj sonrası, 15 numaralı hastanın fotoğrafı



Resim 7: Karaciğer kist hidatik maretyali (*E.granulosos*, kız veziküller), 15 numaralı hastadan alınan kız veziküllerin fotoğrafı

2.4.2 Medikal tedavi

Medikal tedavi şu nedenlerden dolayı önemlidir:

- a. Küratif cerrahi her zaman mümkün olmayabilir ve diğer metodlar ile hiperendemik alanlarda %2- 5 relaps görülür.⁶⁶
- b. Kist spontan olarak rüptüre olabileceği gibi cerrahi esnasında yayılabilir. Cerrahi esnasında kist tam olarak çıkartılmadığında rekürrens görülür. Çalışmalarda ilk cerrahiden sonra beş yıl içinde % 11- 30 rekürrens bildirilmiştir.⁶⁷
- c. İdeal şartlarda bile ilk operasyonun mortalitesi %0,9 ile %3,6 arasında değişir. Risk ikinci operasyonda %20'ye çıkar. Medikal tedavi operasyonunun riskini azaltırken ikinci operasyon ihtiyacını azaltır.⁶⁶
- d. Bazı hastalarda cerrahi için geçici veya kalıcı kontraendikasyonlar vardır (lezyona ulaşmakta zorluk, hastanın kliniği, hastanın cerrahi istememesi).

Medikal tedavide kullanılan benzimidazol bileşikleri kistleri yumuşatarak kist içi basıncı azaltır ve kistin çıkartılmasını kolaylaştırır. Protoskoleks ve kist canlılığını azaltarak sekonder ekinokokkozis ve rekürrens riskini azaltır. Preoperatif tedavi cerrahiden 4 gün önce

başlanıp 1 ay sürmelidir. Cerrahiden sonra medikal tedavi sadece cerrahi esnasında yayılma varsa, kist kısmi olarak çıkartılmışsa veya safra yollarına rüptür varsa uygundur. Randomize çalışmalarda PAIR+Albendazol tedavisi sadece PAIR tedavisine göre kist boyutlarını küçültmekte daha etkili bulunmuştur. Tedaviye PAIR'den 4 gün önce başlanıp 1 ay devam edilir.⁶⁵

Mebendazol, intestinal nematodlara karşı etkili geniş spektrumlu antihelmintiktir. Emilimi azdır. Albendazolün emilim ve doku dağılımı diğer benzimidazol bileşiklerinden daha iyidir. Mebendazolün karaciğer metabolizması ilacı inaktive ederken, albendazol karaciğerde metabolize olarak etkili skolisid olan albendazol sulfoksida dönüşür. Albendazol sulfoksidin plazma konsantrasyonu mebendazolden 10-40 kat fazladır. Albendazolün kist konsantrasyonu mebendazolden fazladır.⁶⁸

Benzimidazol bileşiklerinin en sık görülen yan etkisi karaciğer fonksiyon testlerindeki transaminaz değerlerinin yükselmesidir. Medikal tedavinin kesilmesi ile transaminaz değerlerinin normal değerlere dönmesi görülür.⁶⁵

2.4.2.1 Medikal tedavi endikasyonları

Opere edilemeyen (hastanın durumu nedeni ile, peritonda kistler veya çok sayıda kistler varsa) primer karaciğer veya akciğer kist hidatiğinde, iki veya daha fazla organda multiple kisti olan hastalarda, cerrahi sonrası rekürensi azaltmak ve işlemi kolaylaştırmak amacıyla, PAIR ile birlikte uygulanabilir.⁶⁵

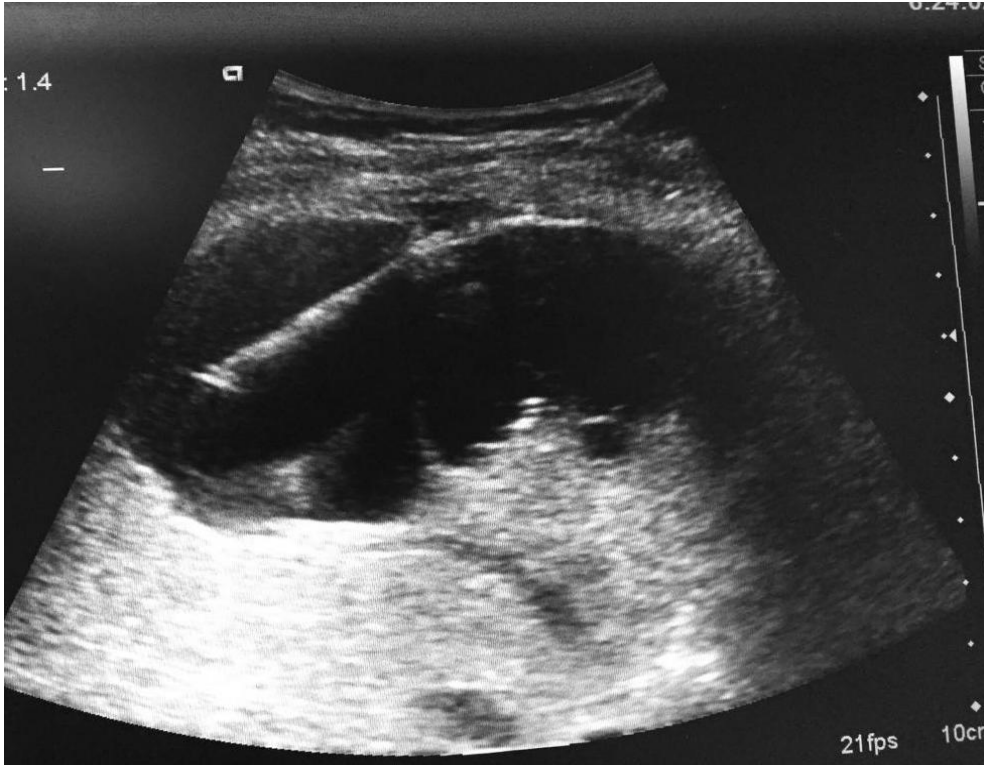
2.4.2.2 Medikal tedavi kontraendikasyonları

Rüptür riski yüksek olan büyük boyutlardaki kistlerde (yüzeyel yerleşim, enfekte), inaktif veya kalsifiye olan kistlerde, kronik karaciğer hastalıkları/yetmezliği veya kemik iliği süpresyonu olan hastalarda, gebeliğin ilk trimestrinde kontrendikedir.⁶⁵

2.4.3 PAIR tedavi yöntemi

Percutaneous puncture, aspiration, injection of protoscolicidal substances ve re-aspiration (PAIR) kist içerisine perkütan yolla girilerek, aspirasyon sonrası hipertonic salin, etanol, taurolin gibi maddelerin verilmesini takiben tekrar aspire edilmesi esasına dayanmaktadır. Aspire edilen kist sıvısının rengi safra ile kontamine görünümlü ise kistin safra yollarına açıldığını düşünülmelidir. Safra yollarına fistülize olmuş kavite içine verilecek

skolisidal ajanlar kimyasal kolanjite neden olabilir. Bu durumda sklerozan ajan verilmemelidir.^{69,70} Komplikasyonları arasında kanama, diğer dokulara girişime sekonder hasar, enfeksiyon, kist sıvısının yayılmasına bağlı allerjik reaksiyon ve anafilaksi, yayılma sonrası sekonder ekinokokkozis, kist içi basınçta ani düşüğe bağlı bilier fistül gelişme gibi riskleri mevcuttur.³⁹



Resim 8: Girişimsel radyoloji tarafından yapılan PAIR işlemi (İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Girişimsel Radyoloji A.D. arşivinden alınmıştır)

2.4.3.1 PAIR tedavisi endikasyonları

5 cm'den büyük çaplı anekoik kistler, Gharbi tip I-II kistler, 5 cm'den büyük çaplı multipl septalı Gharbi tip III kistler (bal peteği görünümü hariç), karaciğerin farklı segmentlerinde bulunan ve 5 cm'den büyük çaplı multiple kistler, cerrahi sonrası nüks olan kistler, cerrahi olarak ulaşımının zor olduğu kistler endikasyonları arasındadır.⁶⁵

2.4.3.2 PAIR tedavisi kontraendikasyonları

Perkütan yolla ulaşılması güç ve yüzeysel yerleşimli kistlerde, bal peteği görünümlü multipl septalı kistlerde, inaktif görünümlü veya kalsifiye olmuş kistlerde, safra yollarına fistülize olmuş kistlerde, akciğer kistlerinde PAIR tedavisi kontraendikedir.^{38,71}

2.5 Korunma ve kontrol

E.granulosus yumurtaları nemli ortamlarda, yaklaşık 1 yıl kadar canlılığını koruyabilmektedir. Yumurtalar ara konakta gelişimini tamamladığında, kist sayısı ve kistlerdeki protoskoleks miktarı fazladır. Bu durum son konakta parazit sayısının fazla olmasına sebep olur. Belirli bölgelerden ya da ülkeler arasında insan göçü ve kontrolsüz olarak hayvan taşınması, enfeksiyonun yayılmasında önemli rol oynamaktadır. Hastalığın görülme sıklığı ülkemizdeki bölgelere göre değişiklik gösterir. En yaygın olduğu bölgeler arasında Doğu Anadolu, Güneydoğu Anadolu ve İç Anadolu Bölgesi olduğu görülmüştür.^{3,15,18} Günümüzde Suriye'den ülkemize yaklaşık 2,5 milyon kişinin göç ettiği bilinmektedir ve kişilerin ülkemizde hemen hemen her bölgeye yerleştikleri görülmüştür. Bu durumun *E.granulosus* coğrafi dağılımını, farklı genotip kazanımının olacağını, insidans ve prevelans değerlerini değiştirebileceği düşünülmelidir. Halk sağlığı üzerine etkilerinin ne olduğu konusunda çalışmalar yapılmaktadır. En etkin koruma yönteminin el yıkama alışkanlığının tüm topluma kazandırılması, yiyecek ve içeceklerin temiz su ile yıkandıktan sonra tüketilmesi, açıkta bırakılmaması, sokak ve evcil hayvanların aşularının ve ilaçlarının yerel yönetimler tarafından sağlanması, uygulanması, mezbahalarda hayvan kesimlerinin uygun koşullarda ve veteriner hekim kontrolünde yapılması ve sakatların uygun koşullarda imha edilerek sokak hayvanlarına verilmemesi önerilmektedir.³

2.5.1 Kistik ekinokokozis aşısı ve aşı geliştirme çalışmaları

Karaciğer hidatik kistlerinden elde edilen antijenlere karşı geliştirilen bağışıklık sadece kist oluşumundan sonraki dönemde etkilidir. Kistlerin boyutunun küçük kalmasını veya kistin kalsifikasyonuna neden olmasını sağlar fakat kist gelişimini önleyememektedir. Deneysel çalışmalar, ekinokokoziste aşılama için onkosferlerden elde edilen antijenlerin en uygun antijenler olduğunu göstermiştir. Bu antijenlerden geliştirilen özellikle EG95 aşısı koyunlarda %96 koruyucu olduğu görülmüştür. EG95 aşısı, bir ay arayla iki kez intramuskuler enjeksiyonla en az bir yıl koruma sağlar. Gelişen IgG antikoru kompleman varlığında onkosferi lizise uğratarak metasestoda dönüşmesini önlemektedir. Dezavantaj olarak uzun

süre yüksek antikor titreleri için aşının adjuvan ile birlikte kullanılması gerekir. Koruma oranının adjuvansız %18 iken adjuvan ile birlikte anlamlı olarak %96-98'e çıktığı görülmüştür.¹¹



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Çalışmanın tipi

Bu çalışma prospektif, randomize temelli bir çalışmadır.

3.2 Hasta seçimi

Çalışma 2015/2016 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda klinik, radyolojik ve serolojik olarak karaciğer hidatik kisti tanısı ile ameliyatı yapılan 30 hasta üzerinde gerçekleştirildi. Küçük, kalsifiye olmuş, canlı olmayan kiste sahip hastalar çalışmaya alınmadı. Laboratuvar çalışmaları İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji Laboratuvar'ında yapıldı. Hastaların demografik ve klinik özellikleri yaş, cinsiyet, ek hastalık ya da ameliyat öyküsü, ilaç öyküsü, soy geçmişinde hastalık öyküsü, mesleği, doğum yeri, kist hidatik hastalığı öyküsü, kist hidatik hastalığı varsa aldığı tedaviler, yakınlarında kist hidatik öyküsü, kistin yerleşim yeri, radyolojik bulgular, laboratuvar sonuçları incelendi.

- **Örneklerin toplanması**

Ameliyat sırasında elde edilen kist örnekleri (protoskoleks, germinatif membran ve laminer membran) çalışılınca kadar kadar %70 alkol içerisinde -80 °C'de saklandı.

- **DNA izolasyonu**

Alkolden arındırmak amacıyla Kist örnekleri birkaç kez steril distile su ile yıkandı. Hidatik kist örneklerinden 25-50 mg'lık miktar kuru buz üzerinde, steril bistüri ile küçük parçalara ayrıldı. Ticari bir doku ekstraksiyon kiti (High Pure PCR Template Preparation Kit, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) üretici firmanın önerileri doğrultusunda kullanıldı. Sırası ile takip eden işlemler uygulandı;

1. 25-50 mg arasında olan parçalanmış doku örneklerine: 200 µL Tissue Lysis Buffer ve 40 µL Proteinaz K eklendi. Karışımlar tüm gece boyunca 60°C 'de inkübe edildi.
2. Ertesi gün 200 µL Binding Buffer eklenerek vortekslendi. Karışım 70°C'de 10 dakika inkübe edildi.
3. Üzerine 100 µL isopropanol ilave edilerek iyice karıştırıldı.

4. Örneklerin sıvı kısımları, koleksiyon tüplerinin üzerine konulan Spin kolonlara steril filtrelili uçlar ile otomatik pipet yardımıyla aktarıldı. 1 dakika süresince 8.000 x g'de santrifüj edildi.
5. Santrifüj sonrası spin kolon temiz bir koleksiyon tüpe aktarıldı. 500 µL Inhibitor Removal Buffer ilave edildi. 1 dakika süre ile 8.000 x g'de santrifüj edildi.
6. Spin kolonlar temiz koleksiyon tüplerine alındı 500 µL Wash Buffer ilave edildi. 1 dakika süre ile 8.000 x g'de santrifüj edildi.
7. Spin Kolonlar temiz koleksiyon tüplerine aktarıldı. 500 µL Wash Buffer ilave edildi. 1dk süre ile 8.000 x g'de santrifüj edildi.
8. Spin kolonlar boş olarak 10 saniye süre ile maksimum hızda (13 000 x g) tekrar santrifüj edildi. Koleksiyon tüpleri atıldı.
9. DNA'yı toplamak amacıyla spin kolonlar temiz, steril 1.5 mL'lik mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı. Önceden 70 °C'de ısıtılmış 200 µL Elution Buffer, spin kolonlara ilave edildi. 1 dakika süre ile 8.000 x g'de santrifüj edildi.
10. Ekstraksiyon örnekleri PCR işlemi yapıncaya kadar -80°C'de saklandı.

- **Polimeraz Zincir Reaksiyonu**

Ekstraksiyonu yapılan doku örneklerine *E.granulosus* DNA'sını araştırmak amacıyla *E.granulosus*'un mitokondriyal sitokrom c oksidaz subunit 1 (CO1) gen bölgesine ait primer dizileri kullanılarak daha önceden Bowles ve ark.⁷² tarafından tarif edilen şekilde PCR yöntemi uygulandı (Tablo 1).

Primer adı	Bölge	Sekans (5'-3')	Ürün boyutu bp*
F - JB 3	Sense CO1	5' ttt ttt ggg cat cct gag gtt tat 3'	446 bp.*
R - JB 4.5	Anti-sense CO1	5' taa aga aag aac ata atg aaa atg 3'	
Beta-globin	Sense	5' aca caa ctg tgt tca cta gc 3'	251 bp.*
	Anti-sense	5' gga aaa tag acc aat agg ctg 3'	

Tablo 1: Çalışmada kullanılan primer setleri

*bp: base pair (baz çifti)

PCR'de JB 3 ve JB 4.5 primerleri kullanıldı. Bu amaçla 1 µL forward primer (50 pmol/µL), 1µl revers primer (50 pmol/µL), 5 µL 10 x reaction buffer, 3 µL 25 mM MgCl₂, 1

μL dNTP, (200 mM herbiri için deoksinükleozid trifosfat) (Fermentase®, Lithuania), 0,25 μL Taq DNA polymerase (Fermentase®, Lithuania) ve 28,75 μL DNaz-RNaz içermeyen su içeren miks hazırlandı (Tablo 2). 10 μL ekstraksiyon ürünü 40 μL mikse eklendi.

PCR karışımı	Miktar	Son konsantrasyon
DNaz- RNaz içermeyen su	28,75 μL	-
10X Reaksiyon Buffer	5 μL	1X
MgCl ₂ (25 mM)	3 μL	1,5 mM
dATP	1 μL	200 mM
dCTP		200 mM
dGTP		200 mM
dTTP		200 mM
Primer forward	1 μL	0,25 μM
Primer reverse	1 μL	0,25 μM
Taq DNA polimeraz	0,25 μL	0,625 U
Toplam	40 μL	
Hedef DNA	10 μL	
Toplam reaksiyon hacmi	50 μL	

Tablo 2: PCR için gereken reaktif karışımı

Amplifikasyon thermal cycler (MJ Research, Inc., MA, USA)'da aşağıda belirtilen şartlarda yapıldı: Başlangıçta 2 dakika 95°C'de denatüre edildikten sonra; 94°C'de 30 saniye, 55°C'de 30 saniye, 72°C'de 30 saniye olacak şekilde 30 siklus uygulandı. Final uzatma 8 dakika 72°C'de uygulandı. Amplifikasyon ürünleri 10 $\mu\text{L}/\text{ml}$ etidium bromür ilave edilmiş, %1.5 agaroz jelde yürütülerek UV-ışığı altında transilüminatörde (Mighty Bright, Hoefer Scientific Instruments, San Francisco) görüntülendi. Bütün örnekler beta-globulin primerleri kullanılarak inhibitör varlığı açısından araştırıldı.

Genotipik tayini yapabilmek için ticari bir pürifikasyon kiti(High Pure PCR Product Purification kit, Roche Diagnostic, GmbH, Germany) kullanılarak pozitif PCR ürünleri pürifiye edildi ve big-dye terminator kit (ABI®, USA) kullanılarak cycle- sequencing yapıldı. Daha sonra cycle sequencing ürünleri, sephadex G-50 fine kolon metodu kullanılarak temizlendi ve otomatik bir DNA dizileme cihazında (ABI®, 310) analiz edildi. Elde edilen diziler Bioedit software (Hall, 1999) kullanılarak edit edilerek, hizalandı ve GenBank™' daki mevcut diziler ile karşılaştırıldı.

- **Çalışmada Kullanılan Çözelti ve Tamponlar**

Elektroforez Tamponu- 10X TBE-(Jel ve tanklar için tampon)

Tris base.....	108 g	}	1 itreye DEPC ile tamamlandı.
Borik Asit.....	55 g		
EDTA 0.5 M, pH 8.0.....	40 mL		

Etidyum bromür (EB)

10 mg/mL olarak hazırlandı. Distile suda manyetik karıştırıcı ile uzun sürede çözünmesi sağlandı. +4⁰C’de ışıktan uzak muhafaza edildi.

Yükleme Tamponu (Loading Buffer)

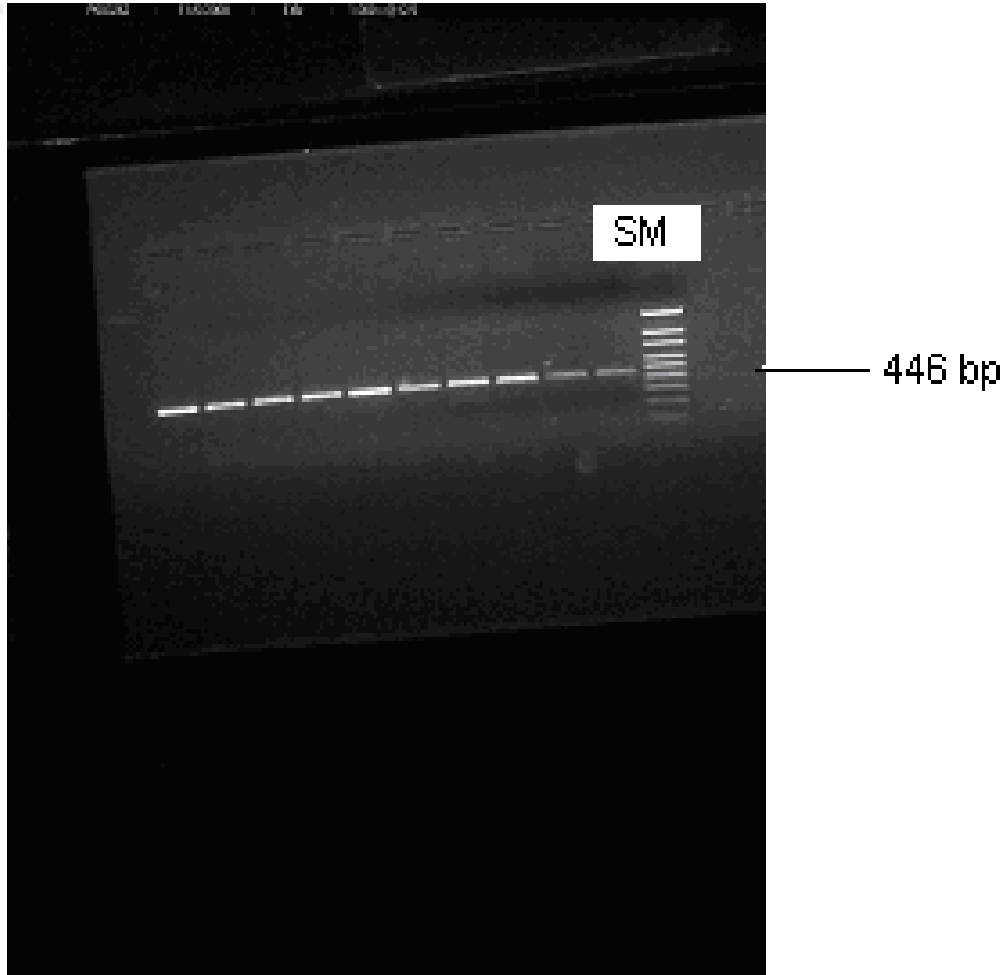
Bromfenol mavisi	}	Hazırlanan tampon +4 ⁰ C’de saklandı.
Griserol		

- **Jelin hazırlanması ve PCR ürünlerinin görüntülenmesi**

Çoğaltılan PCR ürünleri yatay agaroz jel elektroforezi ile incelendi. Elektroforez tamponu 10 kat sulandırıldı ve içerisine %1,5 oranında agaroz karıştırılıp tampon eritildi. Agar 40-50 ⁰C’ye soğutulduktan sonra içine 1 µL etidium bromür ilave edildi. Jelin yüksekliği 6,5 mm olacak şekilde gerekli hacimler ayarlandı. Taraklar yerleştirildikten sonra jel döküldü. Jel donduktan sonra taraklar çıkarılıp tampon ilave edildi ve 10 µL µl örnek, 10 µL yükleme tamponuna karıştırılarak jele yüklendi. Ürünler moleküler ağırlık belirteci (DNA 100 bp ladder, Promega, A.B.D) ile beraber jele yüklendikten sonra 100-150V’da 20 dakika yürütüldü(Minnie the Gel Cicle HE33, Hoefer Scientific Instruments, San Francisco). Araştırılan DNA’ya özgü büyüklükteki bantlar moleküler ağırlık belirteciyle karşılaştırılarak UV transilluminatörde (Model Tuv 20 Owl Scientific, A.B.D) değerlendirilerek pozitif örneklerin fotoğrafları çekildi (Kodak 1D 3.5). Çalışma öncesinde hastaların bilgilendirilmiş onamları ve İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulu’nun onayı alındı.

4. BULGULAR

Çalışmamızdaki 30 örneğin 29'unda *E. granulosus* DNA'sı pozitif olarak saptandı. Çoğaltılan ve saflaştırılan izolatlar DNA dizi analizi yöntemi uygulandı. Dizi analizi sonuçlarının referans dizilerle (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/BLASTdatabases.html>) karşılaştırılması sonucunda 29 izolatında G1 (koyun) suşuna ait olduğu belirlendi. *E. granulosus*'un mitokondriyal sitokrom c oksidaz subunit 1 (CO1) gen bölgesine ait primer dizileri kullanılarak PCR yöntemi ile çoğaltılmaları sonucunda yaklaşık 446 bp'lik bant elde edildi. Resim 9'da pozitif kontrol ve örneklere ait mitokondriyal sitokrom c oksidaz subunit 1 (CO1) gen bölgesinin elektroforez sonrası elde edilen bant profilleri görülmektedir.



Resim 9: Bazı pozitif olguların PCR ürünleri

İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarı Jel Analiz Formu					
Tarih		Yürüten			
03.08.2015 /01		Muhammet Aydın			
Sıra No	Örnek	Sonuç	Sıra No	Örnek	Sonuç
Küç. Kuyu	100'lük Sm		Küç. Kuyu	100'lük Sm	
1	T G 09		1	T G 01	
2	T G 10		2	T G 02	
3	T G 11		3	T G 03	
4	Negatif		4	T G 04	
5	Pozitif		5	T G 05	
6			6	T G 06	
7			7	T G 07	
8			8	T G 08	

Resim 10: Çalışmaya dahil olan birkaç hastanın PCR sonuçları

Çalışmaya dahil edilen 30 hidatik kistin tamamı karaciğer yerleşimliydi. 11'i erkek (%36.6), 19'u kadın (%63.3), median yaş değeri 43.7 olduğu görüldü. Karaciğer sağ lobda yerleşen kistler 24 hastada (%80), karaciğer sol loba yerleşen kistler 6 hastada (%20) görülmüştür.

Preop IHA değeri negatif olduğu görülen 8 hasta (%26.6) saptanmıştır. IHA değeri negatif olan bu 8 hastanın 7'sinin (%23.3) görüntüleme yöntemleri ve postop patolojik olarak hidatik kist olduğu görülmüştür.

IHA'sı negatif saptanan bir hastanın özgeçmişinde 1 yıl önce meme kanseri nedeni ile mastektomi operasyon öyküsü olan ve kemoterapi tedavisi alan IHA değeri negatif saptanan karaciğer hidatik kisti nedeni ile tarafımızca opere edilmiştir. Patolojisinde hidatik kist olduğu görülen bu hastanın postop erken dönemde yapılan görüntülemelerinde sağ uyluk bölgesinde

kistik lezyon tespit edilmiştir. Bu nedenle Ortopedi Anabilim Dalı'nda operasyona alınmış, çıkarılan kistik lezyonun patolojisinin de hidatik kist yönünde olduğu görülmüştür. Karaciğerinde 2 veya daha fazla kist kavitesi olan 12 hasta (%40) görülmüştür. 6 hastanın (%20) daha önce hidatik kist tanısı ile PAIR veya cerrahi girişim geçirdiği ve nüks tanısı alması nedeni ile tarafımızca tekrar opere edilmiştir. Hastaların 3'ünde (%10) postop patolojik incelemelerde hidatik kiste ait yapısal elemanlarına rastlanmadığı saptanmıştır.

IHA'sı negatif olan, görüntülemelerinde 56x37x51 mm çaplı, içerisinde 8-19 mm'lik birkaç adet kız vezikül içeren Gharbi Tip 3 hidatik kist ve 31x21x19 mm'lik sıvı komponenti olmayan psödötümör görüntüsü oluşturan Gharbi Tip 4 hidatik kist ile uyumlu olarak raporlanmıştır. Tarafımızca endikasyon konulan ve opere edilen hastanın örneklerinden PCR ile *E. Granulosus* DNA'sı elde edilemedi. Patolojik incelemesinde hidatik kist elemanlarına rastlanmadığı yönünde raporlanmıştır.

1 hastanın (%3.3) PAIR işlemi sonrasındaki patolojik yanıtta hidatik kist materyallerine rastlanmadığı görülmüş olmasına rağmen gerek klinik gerekse radyolojik olarak tarafımızca endikasyon konulmuş, opere edilmiş ve bu hastanın patolojik yanıtının aktif hidatik kist yönünde olduğu görülmüştür. Buna karşın daha önce opere olan 1 hastanın (%3.3) takiplerinde laboratuvar ve radyolojik olarak nüks yönünde yorumlanması nedeniyle tarafımızca tekrar opere edilmiş ve bu hastanın patolojik yanıtında da hidatik kist materyallerine rastlanmadığı yönünde raporlanmıştır.

2 hastanın (%6.6) akciğerden de operasyon anamnezi olduğu görüldü. Bu hastaların özgeçmişi incelendiğinde 1 hastanın primer karaciğer hidatik kist nedeni ile dış merkezde 2009 yılında opere edildiği, takiplerinde akciğerinde hidatik kist saptandığı ve iki kez Göğüs Cerrahi Anabilim Dalı tarafından opere edildiği ve son olarak da karaciğerde nüks olması sebebi ile tarafımıza başvurduğu görülmüştür. Diğer hastanın ise 1989 yılında primer akciğer hidatik kist tanısı ile opere olduğu, 2015 yılında karaciğerde nüks olması sebebi ile tarafımızca opere edilmiştir. Her iki hastanın da patolojik olarak nüks hidatik kist olduğu görülmüştür.

Çalışmamız kapsamındaki hastalardan birinde toplam 4 kez nüks karaciğer hidatik kist nedeni ile operasyon öyküsü mevcuttu. Hastaya cerrahi nedenlerden dolayı kolostomi açılmış ve insizyonel herni tanısı ile mesh uygulanmıştı. Karaciğerde nüks, insizyonel herni, mesh reaksiyonu tanısı ile tarafımızca opere edildi. Perop cerrahi yapışıklıklar olduğu izlendi. Mesh reaksiyonu nedeni ile kısmi ince barsak rezeksiyonu da yapılan hasta postopertatif dönemde yoğun bakım ünitesinde takip edildi. Patolojik olarak nüks hidatik kist olduğu görülmüştür.

3 hastanın (%10) ameliyat öncesi rutin biyokimyasal değerlerinde direkt ve indirekt bilirubin görüntülemelerinde koledokta dilatasyon ve koledok içinde kistik yapıda lezyonlar izlenmesi sebebi ile bu hastalara operasyon öncesi endoskopik retrograd kolanjiografi (ERCP) ile sfinkterotomi yapıldı. Operasyon sonrası patolojik incelemesinde hidatik kist olduğu görülmüştür. 1 hastanın(%3.3) da operasyon sonrası dreninden safralı içerik geldiği görülmüş ve safra fistülü geliştiği düşünülmüştür. Postop 5. günde ERCP, sfinkterotomi yapılmıştır.

Karaciğer hidatik kist nedeni ile opere edilen 8 hastaya(%26,6) ameliyatına ek olarak kolesistektomi ameliyatı da yapıldı. Kolesistektomi endikasyonları arasında safra yoluna açılan hidatik kist, safra kesesinde taş, safra kesesinde polip olduğu görülmüştür.

Hasta no	Yaş	Cins	KC'de Yerleşim	IHA	Kist Sayısı	Nüks	ERCP endikasyonu	Akciğer tutulumu	Patoloji	Kolesistektomi
1	37	K	SAĞ	NEGATİF	TEK	Yok	Yok	Yok	Pozitif	-
2	29	K	SAĞ	POZİTİF	2+	Yok	Po:5.günde Yapıldı	Yok	Pozitif	yapıldı
3	42	K	SAĞ	POZİTİF	TEK	Yok	Yok	Yok	Pozitif	-
4	70	E	SOL	POZİTİF	TEK	Yok	Yok	Yok	Pozitif	-
5	54	K	SAĞ	POZİTİF	TEK	Yok	Yok	Yok	Pozitif	-
6	33	K	SAĞ	POZİTİF	2+	Yok	Yok	Yok	Pozitif	yapıldı
7	27	E	SOL	POZİTİF	TEK	Yok	Preop ERCP Yapıldı	Yok	Pozitif	-
8	47	K	SAĞ	NEGATİF	2+	Yok	Yok	Yok	Pozitif	-
9	50	K	SAĞ	NEGATİF	2+	AC'den	Yok	Var	Pozitif	-
10	36	K	SAĞ	POZİTİF	TEK	PAIR sonrası	Yok	Yok	Pozitif	yapıldı
11	34	K	SAĞ	POZİTİF	TEK	Yok	Yok	Yok	Pozitif	-
12	25	K	SOL	POZİTİF	TEK	Yok	Yok	Yok	Pozitif	-
13	41	E	SAĞ	POZİTİF	2+	KC nüks	Preop ERCP Yapıldı	Yok	Pozitif	önceden opere
14	18	K	SAĞ	POZİTİF	2+	Yok	Yok	Yok	Pozitif	yapıldı
15	32	K	SAĞ	POZİTİF	TEK	Yok	Yok	Yok	Pozitif	yapıldı
16	65	E	SAĞ	POZİTİF	2+	KC nüks	Yok	Yok	Pozitif	önceden opere
17	30	E	SAĞ	NEGATİF	TEK	Yok	Preop ERCP Yapıldı	Yok	Pozitif	yapıldı
18	69	K	SOL	NEGATİF	TEK	Yok	Yok	Yok	Pozitif	-
19	46	K	SAĞ	POZİTİF	TEK	Yok	Yok	Yok	Pozitif	-
20	25	K	SOL	POZİTİF	TEK	Yok	Yok	Yok	Pozitif	-
21	22	K	SAĞ	NEGATİF	2+	Yok	Yok	Yok	Negatif	-
22	65	E	SAĞ	POZİTİF	TEK	Yok	Yok	Yok	Pozitif	-
23	23	E	SAĞ	POZİTİF	TEK	KC ,AC, KC	Yok	Var	Pozitif	-
24	26	K	SAĞ	POZİTİF	2+	Yok	Yok	Yok	Pozitif	-
25	67	K	SOL	NEGATİF	TEK	Yok	Yok	Yok	Pozitif	yapıldı
26	26	E	SAĞ	POZİTİF	2+	Yok	Yok	Yok	Pozitif	-
27	54	E	SAĞ	POZİTİF	TEK	Yok	Yok	Yok	Negatif	yapıldı
28	80	K	SAĞ	POZİTİF	2+	KC nüks	Yok	Yok	Negatif	-
29	71	E	SAĞ	POZİTİF	2+	Yok	Yok	Yok	Pozitif	-
30	69	E	SAĞ	NEGATİF	TEK	Yok	Yok	Yok	Pozitif	-

Tablo 3: Hastalara ait demografik veriler ve klinik özellikler

5. TARTIŞMA

Echinococcus granulosus tüm dünyada oldukça yaygın olup, ciddi zoonotik enfeksiyonlara yol açması nedeniyle tıbbi olarak ve halk sağlığı açısından çok önemli sestoqlardır. *Echinococcus granulosus*'un larval formunun oluşturduğu kist hidatik, dünyanın birçok bölgesinde halen önemli bir halk sağlığı problemi olmaya devam etmektedir. Hayvanların da çeşitli doku ve organlarında oluşturduğu yapısal ve fonksiyonel bozukluklar ile ekonomik alanda kayıplara neden olmaktadır. Son konağı köpekgiller olmasına rağmen, farklı suşlar farklı coğrafik bölgelerde sığır, koyun, keçi, geyik, deve, manda, tavşan, kanguru, domuz, at, eşek gibi farklı memeli gruplarında görülmektedir.²⁴

Bu farklı suşlar parazitin yaşam siklusu, konak seçiciliği, gelişim hızı, patojenitesi, antijenitesi, kemoteropotiklere olan duyarlılığı, bulaşma özelliği, hastalığın epidemiyoloji ve kontrol edilebilme özelliklerinde öneme sahiptir. Bu nedenle hastalığın endemik olduğu coğrafyalarda genotip dağılımının belirlenmesi ve dolayısıyla bu bölgelerdeki kontrol ve eradikasyon programlarının başarılı bir şekilde uygulanmasında son derece önemlidir.

Echinococcus cinsi içerisindeki suşların belirlenmesinde parazitin genomunu ortaya koyan moleküler yöntemler kullanılmaktadır.²⁴ Moleküler çalışmalar ile *E.granulosus* türü içerisinde 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), vahşi yaşam suşları (aslan suşu, lagomorph suşu), domuz suşuna çok benzeyen ancak ondan genetik olarak ayrılan insan (G9) suşu ve Fennoscandian geyik suşu (G10) olmak üzere çok sayıda suşun varlığı ortaya konulmuştur.⁷³

Echinococcus cinsinin genetik çeşitliliğinin ortaya konulmasında en sık kullanılan moleküler teknikler PZR, RFLP, PZR-RFLP, RAPD-PZR, SSCP ve DNA dizi analizi yöntemleridir. DNA dizi analizi; sonuçlarının yorumu zor, uzmanlık gerektiren bir moleküler teknik olmasına rağmen, tüm moleküler teknikler içerisinde altın standart bir yöntem olarak kabul görmektedir.

İnsanlarda yapılan birçok çalışmada ilk sırada karaciğer lokalizasyonun olduğu gözlenmektedir.⁷⁴ İkinci sıklıkta ise akciğer tutulumu olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamız 30 karaciğerde hidatik kist tanısı almış hastada randomize prospektif olarak yapılmıştır. Fakat bu hastalar içinde de gerek nüks karaciğer, gerek akciğer gerekse uyluk gibi atipik lokalizasyonda hidatik kistlerin bulunabileceğini göstermiştir.^{74,75}

IHA'sı negatif saptanan 8 numaralı hastanın özgeçmişinde 1 yıl önce meme kanseri nedeni ile mastektomi operasyonu, kemoterapi tedavisi alan karaciğer hidatik kisti tanısı ile tarafımızca opere edilmiştir. Patolojisinde hidatik kist ile uyumlu olduğu görülmüştür. Postoperatif erken dönemde klinik şüphe üzerine çekilen sağ uyluk MR raporunda; sağ uylukta femur shaftı lateral komşuluğunda, vastus intermedius adelesi içerisinde boyutları 17x10x7,5 cm'lik birbirinden septasyonlar ile ayrılan çok sayıda kistik komponentten oluşan kitle lezyonu hidatik kist ile uyumludur olarak yorumlanmıştır. Bu nedenle Ortopedi Anabilim Dalı'nda operasyona alınmış, çıkarılan kistik lezyonun patolojisinin de hidatik kist yönünde olduğu görülmüştür. Bu sonuç hastanın operasyon öncesinde de uyluk bölgesinde hidatik kistin olduğu fakat asemptomatik olması sebebi ile araştırılmadığını düşündürmektedir. Ayrıca kemoterapi tedavisi altında olan ve/veya immünsüpresyonu olan hastaların IHA değerleri negatif olması hastalığın olmadığını ekarte etmez. Hatta aktif hidatik kist hastalığı görülebilir. Bu hastada olduğu gibi yerleşim olarak atipik lokalizasyonlarda karşımıza çıkabilir. Hastanın klinik olarak anamnez, fizik muayene, laboratuvar testleri, görüntüleme yöntemleri ve endikasyonu var ise gerek girişimsel radyoloji ile gerekse cerrahi yöntemlerle patolojik örnekleme yapılarak takip ve tedavi edilmelidir.^{74,75}

IHA'sı negatif, radyolojik görüntülemelerinde aktif hidatik kist yönünde raporlanan, tarafımızca opere edilen hastanın PCR ile *E. granulosus* DNA sentezlenemedi. Muhtemel inhibitör varlığı düşünüldü. Örnek distile su ile yıkandı, ekstraksiyon yeniden oluşturuldu. PCR aşamasına en baştan tekrar başlanarak denendi. Sonuç yine negatif çıktı. Bu süreçten sonra patolojik incelemesi tamamlandı ve hidatik kist elemanlarına rastlanılmadığı yönünde raporlanınca inhibitör varlığı ekarte edildi. Bu sonuçla da hastanın karaciğerde hidatik kistin yalancı pozitif olduğu, hidatik kist hastalığının olmaması sebebi ile PCR yöntemi ile DNA sentezlenemesinin nedeni olduğu görüldü.

Bu nedenlerden dolayı görüntüleme ve laboratuvar yöntemlerinin yanısıra gerek cerrahi girişim gerekse PAIR tedavisi yapılan hastalarda yalancı pozitif ve yalancı negatif sonuçlar olduğu görülmüştür. Bu nedenle girişim yapılan hastaların takibinin mümkünse tek merkezden ve daha sık aralıklarla yapılması, görüntüleme yöntemlerinden USG, BT, MR'ın hastanın eski görüntülemeleri ile karşılaştırmalı olarak yapılması daha uygun olacaktır.

3 hastanın ameliyat öncesi rutin biyokimyalarında direkt ve indirekt bilirubin yüksekliği, görüntülemelerinde koledokta dilatasyon ve koledok içinde kistik yapıda lezyonlar izlenmesi ve 1 hastanın da postop dreninden safralı içerik gelmesi nedeni ile postop 5. günde sebebi ile endoskopik retrograd kolanjiopanreatografi (ERCP) endikasyonu konuldu. ERCP yöntemi ile papillaya yapılan sfinkterotomi sonrası koledoktan kız veziküller boşaltıldı.

Koledoktan duodenuma safra akımı kolaylaştırmak ve basıncı azaltmak, olası operasyon sonrası olası safra fistül riskini azaltmak amaçlanmıştır. Bu sonuç da bize karaciğerde hidatik kistin safra yollarına açılabileceğini, iştirakli olduğu görülen hidatik kist veziküllerinin koledokta bulunabileceğini, mekanik iktere bağlı bilirubin değerlerinde artışa sebep olabileceğini gösterir.^{38,76,77}

Karaciğer hidatik kist nedeni ile opere edilen 8 hastaya(%26,6) ameliyatına ek olarak kolesistektomi ameliyatı da yapıldı. Endikasyonları arasında 4 hastanın (%13.3) safra kesesinde taş olması, 1 hastanın mekanik ikter tablosunda olması, 1 hastanın karaciğerdeki hidatik kiste çok yakın komşuluk göstermesi,1 hastanın safra kesesinde polip olması ve 1 hastanın da kronik kolesistit tanısı nedeni ile kolesistektomi yapılmıştır. Karaciğere yapılacak olan cerrahi sonrası kolesistektomi planlanması hem operasyonu güçleştirecek, hem hastanın tekrar genel anestezi altında tekrar opere olması gerekecektir. Mortalite, morbidite ve maliyet hesabı yapıldığı zaman kolesistektomi endikasyonu olan hastalara kolesitektomi asıl ameliyata ek olarak yapılmalıdır.

Nüks hidatik kist tanısı olan hastaların 1'i toplam 4 kez farklı hastanelerde opere edilmiş. Drenaj dışında hastaya kolesistektomi, insizyonel herni nedeni ile mesh ile primer tamir operasyonu da yapılmış. Hastanın muhtemel mesh reaksiyonuna bağlı incebarsak seviyesinden enterokütan fistülü ve karaciğerde 3 adet birbirinden bağımsız kistler saptanması sebebi ile operasyon endikasyonu konuldu. Operasyonunda batın ön duvarına ve kendi üzerine incebarsak anslarının yapışık olması sebebi ile bridektomi işlemini takiben karaciğerdeki 3 farklı kistin drenajı, enterokütan fistül nedeni ile de meshin çıkarılması kısmi incebarsak rezeksiyonu ve anastomoz işlemi yapılmıştır. Postoperatif dönemi diğer opere edilen hastalara göre hastanede yatış süresi uzamış, daha geç taburcu edilmiştir. Patolojik incelemesinde hidatik kist ile uyumlu olduğu ayrıca mesh materyalinin çevresinde yabancı cisim reaksiyonu olduğu görülmüştür. Bu hastanın toplam 5 kez genel anestezi altında operasyona alınması, operasyon sayısındaki artışın gerek operasyonu zorlaştırması gerekse incebarsak rezeksiyonu gibi operasyon sırasında ek işlemlere gerek duyulması hastanın mortalite ve morbidite riskini artırmaktadır.^{78,79}

Karaciğerinde 2 veya daha fazla kist kavitesi olan 12 hasta (%40) görülmüştür. 6 hastanın (%20) daha önce hidatik kist tanısı ile PAIR veya cerrahi girişim geçirdiği ve nüks tanısı alması nedeni ile tarafımızca tekrar opere edilmiştir. Hastaların 3'ünde (%10) postop patolojik incelemelerde hidatik kiste ait yapısal elemanlarına rastlanmadığı saptanmıştır.

Dünyada ve ülkemizde yaygın genotipin moleküler teknikler kullanılarak yapılan genoepidemiolojik çalışmalar sonucunda insan ve hayvanlarda G1 (koyun) suşu olduğu yönündedir.⁸⁰⁻⁸²

Özellikle aynı coğrafyada bulunduğumuz Akdeniz ülkelerinde insan ve hayvanlarda G1 genotipi en sık görülen genotip olarak bildirilmiştir.⁸³⁻⁸⁶

Ülkemizde hayvan kökenli çalışmaların yanısıra insanlarda hidatik kist çalışmalarının sayısı oldukça azdır. Vural ve ark.⁸⁷ yaptıkları bir çalışmada; Afyon, Ardahan, Erzurum, Siirt, Tekirdağ, Yozgat ve Kars illerinden koyun ve sığırlardan elde edilen *E. granulosus* izolatlarının CO1 gen bölgesinin dizi analizi sonucunda G1(koyun) ve G3(sığır) genotipleri saptanmışlardır. Simsek ve Eroksuz⁸⁸ Anadolu yaban koyunundan (*Ovis gmelinii anatolica*) elde edilen kist örneğini mitokondriyal CO1 gen bölgesini kullanarak etkeni çoğaltmışlar ve dizi analizi ile G1 suşu olduğunu tespit etmişlerdir. Utuk ve ark.⁸⁹ ise insan, köpek, deve, koyun, keçi ve sığırlarda yaptıkları çalışmada geniş serili çalışmada *E. granulosus* izolatlarının tamamının G1 genotipinde olduğu belirlemişlerdir. Ergin ve ark.⁹⁰ Türkiye'nin farklı bölgelerinden hastalara ait kist örneklerinde mitokondriyal CO1 gen bölgesine ait primerler kullanılarak yaptıkları çalışmada insan izolatlarının tümünde G1 suşu saptanmışlardır. Snabel ve ark.⁹¹ ise Ege bölgesinde bulunan çeşitli illerden topladıkları koyun ve insan izolatlarında Türkiye'de ilk kez G7 (domuz) suşunun varlığına işaret etmişlerdir. Eryıldız⁹² Edirne yöresinde, mitokondriyal sitokrom oksidaz c subunit 1 ve NADH dehidrogenaz subunit 1 gen bölgelerinin dizi analizini kullanarak yaptıkları moleküler çalışmada G1 ve G7 olmak üzere iki farklı genotip bulunduğunu göstermiştir.

Bizim çalışmamızda 30 karaciğer lokalizasyonlu kist hidatik örneğinde *E. granulosus*'un mitokondriyal CO1gen bölgesinin dizi analizi sonucunda 30 örnekte de G1 (koyun) suşunun varlığını saptadık. Elde ettiğimiz bu bulgu dünyada ve ülkemizde yaygın genotip olarak işaret edile G1 (koyun) suşunun saptandığı çalışmalar ile uyum göstermektedir.

Çalışmamız sonucunda ülkemizde halen yaygın genotipin G1 olduğu görülmektedir. Hidatik kist açısından endemik bölgelerden biri olan ülkemizde hastalık halen önemli bir halk sağlığı sorunudur. Ayrıca son zamanlarda ülkemiz, hastalığın endemik olduğu insidans ve prevalansının yüksek olduğu komşu ülkelerden özellikle de Suriye'den aldığı göç nedeniyle, göç eden kişilerin rapid testler ile saha çalışmaları yapılarak taranması ve gerekli görülen durumlarda suşları belirlemek açısından daha ileri moleküler tetkiklerin yapılması gerekmektedir. Dolayısıyla konunun halk sağlığı uzmanları, moleküler epidemiyologlar açısından işbirliği yapılarak irdelenmesi ve ülkemizde bölgelere ait risk analizlerinin yapılarak risk haritalarının oluşturulması gerektiği düşüncesindeyiz. Hastalığın kontrolü için;

suş özelliğine göre alınacak önlemlerin kapsamı ve yöntemi değişebilir. Ülkemizde hidatik kistin kontrol altına alınabilmesi için; belirli aralıklarla veya olağanüstü göç olayları artışı olduğundan geniş serili genoepidemiolojik çalışmaların yapılması, kontrol ve eradikasyon programlarının uygulanması yerinde olacaktır.



6. SONUÇ

Hidatik kist önemli bir halk sağlığı sorunudur. Hastalıktan korunma, hastalık oluştuktan sonraki sũreç kadar önemlidir. Tedavi sũresinin uzun, ilaç etkileşimleri, operasyonların riskleri, nũks riski, maliyetinin yũksek olması gibi birçok etkeni gũz ȓnũnde bulundurulmalıdır. Çalışmamızdaki G1 suşunun baskın olarak bulunması genetik yapısı hakkında tecrũbelerimize katkıda bulunacak ve bu genotip ȓzerinden geliştirilecek olan aşı halk sağlığının korumasında fayda sağlayacaktır.



7. KAYNAKLAR

1. Demirel F, Dökmen Yavuz A, Söğüt A, Tomaç N. Aydın Olgusu. Türk Pediatri Arşivi. 2002;232-233.
2. Kurt Y, Sücüllü Q, Filiz AQ, Urhan M, AkRn ML. Case report pulmonary echinococcosis mimicking multipl lung metastasis of breast cancer: The role of fluoro-deoxy-glucose positron emission Tomography. World J Surg. 2008;6-7.
3. Kaypmaz A. Hidatik kist: Epidemiyoloji, bulaşma ve korunma yolları. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Hepato- Bilier Sistem ve Pankreas Hastalıkları Sempozyum Dizisi No 28. 2002;285-299.
4. Çetin ET, Anğ Ö, Töreci K. Tıbbi Parazitoloji. Protozoonlar, helmintler, artropotlar. 5.baskı. İstanbul: İ.Ü.Basımevi. 1995:237-258.
5. Garcia HH., Jimenez JA, Escalante H, Cestodes. Ed: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Manual of clinical microbiology, 9th. Edition. Washington DC: ASM Press. 2007:2166-2174.
6. Şener S, Yazar S, Şahin İ. Cystic echinococcosis'in indirekt fluoresan antikor testi ile tanısında kullanılan antijenlerin tanı değerlerinin araştırılması. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2004;13(1):1-6.
7. Kılıç S, Babür C, Taylan Özkan A. Kist hidatik ön tanılı olgularda indirek hemaglütinasyon ve elisa yöntemleri ile alınan sonuçların karşılaştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni. 2007;41:571-577.
8. Mamuti W, Yamasaki H, Sako Y, Nakaya K, Nakao M, Lightowers MW, et al. Usefulness of hydatid cyst fluid of Echinococcus granulosus developed in mice with secondary infection for serodiagnosis of cystic Echinococcosis in humans. Clin Diagn Lab Immunol. 2002;9(3):573-576.
9. Saygı G. Hidatidosis in Turkey within the last fourteen years (1979-1993). Cumhuriyet Üniversitesi Yayını. 1996;5-8.
10. Saidi F, Sayek İ. Karaciğer kist hidatiği. Ed: Sayek İ. Temel Cerrahi, 2. baskı. Ankara: Güneş Kitabevi. 1996:1239-1245.
11. Gönlügür U, Gönlügür TE, Akkurt İ. Ekinokok antijenleri. Türkiye Klinikleri Akciğer Arşivi. 2004;5(3):162-164.
12. Karaman Ü, Aycan MÖ, Atambay M, Miman Ö, Daldal. N. Malatya temizlik işçilerinde anti-ekinokok antikorlarının araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi.

- 2005;29(4):244-246.
13. Ito A, Ma L, Schantz PM, Gottstein B, Liu YH, Chai JJ, et al. Differential serodiagnosis for cystic and alveolar echinococcosis using fractions of *Echinococcus granulosus* cyst fluid (antigen B) and *E. multilocularis* protoscolex (EM18). *Am J Trop Med Hyg.* 1999;60(2):188-192.
 14. Reuter S, Jensen B, Buttenschoen K, Kratzer W, Kern P. Benzimidazoles in the treatment of alveolar echinococcosis: a comparative study and review of the literature. *J Antimicrob Chemother.* 2000;46:451-456.
 15. Karaman Ü, Miman Ö, Kara M, Gıcık Y, Aycan ÖM, Atambay M. Kars bölgesinde hidatik kist prevalansı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi.* 2005;29(4):238-240.
 16. Li J, Zhang WB, Mcmanus DP. Recombinant antigens for immunodiagnosis of cystic echinococcosis. *Biol Proced.* 2004;6(1):67-77.
 17. Unat EK, Yücel A, Altaş K, Samastı M. *Tıp Parazitolojisi - İnsanın Ökaryonlu Parazitleri ve Bunlarla Oluşan Hastalıkları*, 5. baskı. İstanbul: Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Vakfı Yayınları. 1995:411-453.
 18. Erkan HD. Akciğer kist hidatiğinde serolojik testlerin (spesifik IgE, spesifik IgG ve indirekt hemaglutinasyon testi) tanısal değeri. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi. İstanbul. 2004.
 19. Zhang W, Li J, Mcmanus DP. Concepts in immunology and diagnosis of hydatid disease. *Clin Microbiol Rev.* 2003;16:18-36.
 20. Ammann RW, Eckert J. Cestodes. *Echinococcus.* *Gastroenterol Clin North Am.* 1996;25:655-689.
 21. <http://med.ege.edu.tr/Image/enfeksiyon/PDF/karacigerinparaziterenfestasyonlar i.pdf>.
 22. Köktürk O. Akciğer hidatik kist hastalığı. Ed: Ekim N, Uçan ES. *Solunum Sistemi İnfeksiyonları*. Ankara: Toraks Derneği Yayın Organı. 2001:557-604.
 23. Altınbaş K. *Tıbbi Parazitoloji*, 2.baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 2002:250-258.
 24. Nakao M, Mc Manus DP, Schantz PM, Craig PS, Ito A. A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus* inferred from complete mitochondrial genomes. *Parasitology.* 2007;134:713-722.
 25. Talu U, Bozan ME, Temelli Y. *Echinococcus alveolaris* osteomyeliti: olgu sunumu. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 2000;34:198-203.
 26. Dinkel A, Nickisch-Rosenegk MV, Bilger B, Merli M, Lucius R, Romig T. Detection of *Echinococcus multilocularis* in the definitive host: coprodiagnosis by PCR as an

- alternative to necropsy. *J Clin Microbiol.* 1998;1871-1876.
27. Gökırmak F, Kılıçturgay K, Gökırmak F, Töre O, Göral G, Helvacı S. Ed: Kılıçturgay K. *Temel Mikrobiyoloji ve Parazitoloji*, 1.baskı. Bursa: Onur Yayıncılık. 1992:313-316.
 28. Bayram Delibaş S, Özkoç S, Şahin S, Aksoy Ü, Akısü Ç. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarı'na kistik ekinokokkozis şüphesiyle başvuran hastaların değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi.* 2006;30(4): 279-281.
 29. Gottstein B. Molecular and immunological diagnosis of Echinococcosis. *Clin Microbiol Rev.* 1992;5:248-261.
 30. Wangoo A, Ganguly NK, Mahajan RC. Specific T cell cytotoxicity in experimental Echinococcus granulosus infected mice. *Indian J Med Res.* 1987;86:588-590.
 31. Ali Khan Z, Rausch RL. Demonstration of amyloid and immune complex deposits in renal and hepatic parenchyma of Alaskan alveolar hydatid disease patients. *Ann Trop Med Parasitol.* 1987;81:381-392.
 32. Rickard MD. Serological diagnosis and post-operative surveillance of human hydatid disease. Latex agglutination and immunoelectrophoresis using crude cyst fluid antigen. *Pathology.* 1984;16:207-210.
 33. Sahip N, Uysal H, Öztoprak A. 1993-2000 yılları arasında İstanbul Tıp Fakültesi'nde incelenen kist hidatik ön tanılı olguların serolojik sonuçları. *Türkiye Parazitoloji Dergisi.* 2001;25:236-238.
 34. Shambesh MK, Craig PS, Wen H, Rogan MT, Paolillo E. IgG1 and IgG4 serum antibody responses in asymptomatic and clinically expressed cystic echinococcosis patients. *Acta Trop.* 1997;64:53-63.
 35. Evengard B, Hammarstrom L, Smith CI, Johansson SG, Linder E. Subclass distribution and IgE responses after treatment in human schistosomiasis. *Clin Exp Immunol.* 1988;73:383-388.
 36. Karaman Ü, Atambay M, Aycan ÖM, Daldal N. İndirekt hemagglütinasyon tekniğinde (IHA) insan, inek ve koyun antijenlerinin karşılaştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi.* 2002;26:251-253.
 37. Gökçen A. Kist hidatik ve aşı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi.* 2000;24:419-425.
 38. Paksoy M, Karahasanoglu T, Carkman S, et al. Rupture of the hydatid disease of the liver into the biliary tracts. *Dig Surg.* 1998;15-25.
 39. Köksal AŞ, Arhan M, Oğuz D. Kist Hidatik. *Güncel Gastroenteroloji.* 2004;61-67.

40. Barros JL. Hydatid disease of the liver. *Am J Surg.* 1978;135(4):597-600.
41. Köksal F, Serin MS, Kekeç Y, Sadr YE. İnsan ve hayvan kökenli kist hidatik sıvılarının SDS-PAGE metoduyla analizi ve Westernblot metodunun klinik önemi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi.* 1995;19:221-229.
42. Chandrakesan SD, Parija SC. Latex agglutination test for antigen detection in the cystic fluid for the diagnosis of cystic echinococcosis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2003;45:123-126.
43. Özcel MA, Üner A, Ertuğ S. Immunofloresans yöntemi. Ed: Özcel MA, Altıntaş N. *Parazit Hastalıklarında Tanı.* İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları. 1997;215-240.
44. Parija SC. A review of some simple immunoassays in the serodiagnosis of cystic hydatid disease. *Acta Tropica.* 1998;70:17-24.
45. Ravinder PT, Parija SC, Ra KS. Evaluation of human hydatid disease before and after surgery and chemotherapy by demonstration of hydatid antigens and antibodies in serum. *J Med Microbiol.* 1997;47:59-64.
46. Kuman HA. Kompleman fiksasyon reaksiyonu. Ed: Özcel MA, Altıntaş N. *Parazit Hastalıklarında Tanı.* İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları. 1997:183-192.
47. Kuman HA. İndirekt Hemagglütinasyon. Ed: Özcel MA, Altıntaş N. *Parazit Hastalıklarında Tanı.* İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları. 1997;193-214.
48. Ak M. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Ed: Özcel MA, Altıntaş N. *Parazit Hastalıklarında Tanı.* İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları. 1997:241-260.
49. Altıntaş N, Korkmaz M. İmmundiffüzyon ve immunelektroforez. Ed: Özcel MA, Altıntaş N. *Parazit Hastalıklarında Tanı.* İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları. 1997:261-292.
50. Altıntaş N, Yazar S. Western blot (immunoblotting). Ed: Özcel MA, Altıntaş N. *Parazit Hastalıklarında Tanı.* İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları. 1997:343-372.
51. Bulut H, Doymaz MZ. Blotlama teknikleri ve mikrobiyolojide kullanımları. Ed: Durmaz R. *Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji.* Malatya: Nobel Tıp Kitabevi. 2001:123-137.
52. Altıntaş N, Yolasığmaz A. Proteinlerin analizi ve SDS-PAGE. Ed: Özcel MA, Altıntaş N. *Parazit Hastalıklarında Tanı.* İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları. 1997:321-342.
53. Ertabaklar H, Altıntaş N. Observation of in vitro larval development of *E. granulosus*

- protoscolecis. Türkiye Parazitoloji Dergisi. 2002;26(2):183-185.
54. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. İnsan moleküler genetiği için araçlar. Thompson and Thompson Tıbbi Genetik. Ankara: Güneş Kitabevi. 2005:33-50.
 55. Torgerson PR, Budke CM. Echinococcosis – an international public health challenge. Res Vet Sci. 2003;74(3):191-202.
 56. Dinkel A, Njoroge EM, Zimmermann A, Wälz M, Zeyhle E, Elmahdi İE, et al. 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 Parasitol. 2004;34(5):645-653.
 57. Sevindik E, Abacı TZ. Nested PCR and Applications Area. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi. 2013;6(2):22-26.
 58. T.C Sağlık Bakanlığı. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları. Ekinokokkozun (Echinococcus granulosus ve Echinococcus multilocularis) Mikrobiyolojik Tanısı. (Parazitoloji/Mikrobiyolojik Tanımlama/P-MT-07/Sürüm:1.1) 01.01.2015;9-13.
 59. Zhang W, Wen H, Li J, Lin R, McManus DP. Immunology and immunodiagnosis of cystic echinococcosis: An update. Clin Develop Immunol Volume. 2012;1-10.
 60. Beggs I. The radiology of hydatid disease. Am J Roentgenol. 1985;145:639-648.
 61. Caratozollo M, Scardella L, Grossi G, et al. Diagnostic approach of abdominal hydatidosis by ultrasonography. Arch Hidatid. 1991;30:531-537.
 62. Gharbi HA, Hassine W, Brauner MW, Dupuch K. Ultrasound examination of hydatid liver. Radiology. 1981;139:459-463.
 63. Pedroza I, Saiz A, Arrazola J, et al. Hydatid disease: radiologic and pathologic features and complications. Radiographics. 2000;20:795-817.
 64. Sayek İ, Onat D. Diagnosis and treatment of uncomplicated hydatid cyst of the liver. World J Surg. 2001;25:21-27.
 65. Guidelines for treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. WHO Informal Working Group on Echinococcosis. Bull World Health Organ. 1996;74(3):231-342.
 66. Amir-Jahed AK, Farhia R, Farzad A, Bakshandeh K. Clinical echinococcosis. Ann Surg. 1975;182(5):541-546.
 67. Mottaghian H, Saidi F. Post-operative recurrence of hydatid disease. Br J Surg. 1978;65:237-242.
 68. Saimot AG. Medical treatment of liver hydatidosis. World J Surg. 2001;25:15-20.
 69. Bastid C, Azar C, Doyer M, Sahel C. Percutaneous treatment of hydatid cysts under

- sonographic guidance. *Dig Dis Sci.* 1994;39(7):1576-1580.
70. Örmeci N, Soykan İ, Bektaş A, Sarioğlu M, Palabıyıkoglu M, Yaşa MH, Dökmeci A, Uzunalımoğlu Ö. A new percutaneous approach for the treatment of hydatid cysts of the liver. *Am J Gastroenterol.* 2001;96(7):2225-2230.
 71. Akhan O, Özmen MN, Dinçer A, Sayek İ, Göçmen A. Liver hydatid disease: Long-term results of percutaneous treatment. *Radiology.* 1996;198:259-264.
 72. Bowles J, Blair D, Mc Manus DP. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Mol Biochem Parasitol.* 1992;54(2):165-173.
 73. Erdem Ütük A., Şimsek S. *Echinococcus* ve suş kavramı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi.* 2008;32(1):35-41.
 74. Guraya Y, Alzobydi AH, Guraya SS. Primary extrahepatic hydatid cyst of the soft tissue: a case repor. *Journal of Medical Case Reports.* 2012;6:404.
 75. Aksakal N, Kement M, Okkabaz N, Altuntaş YE, Öncel M. Unusually located primary hydatid cysts. *Ulusal Cerrahi Dergisi.* 2016;32(2):130-133.
 76. Şimşek H, Özaslan E, Sayek İ, Savaş C, Abbasoğlu O, Soyly AL, Balaban Y, Tatar G. Diagnostic and therapeutic ERCP in hepatic hydatid disease. *Gastrointest Endosc.* 2003;58(3):384-389.
 77. Dolay K, Akbulut S. Role of endoscopic retrograde cholangiopancreatography in the management of hepatic hydatid disease. *World J Gastroenterol.* 2014;20(41):15253-15261.
 78. Daradkeh S, El-Muhtaseb H, Farah G, SRoujeh AS, Abu-Khalaf M. Predictors of morbidity and mortality in the surgical management of hydatid cyst of the liver. *Langenbecks Arch Surg.* 2007;392(1):35-39.
 79. Bedioui H, Bouslama K, Maghrebi H, Farah J, Ayari H, Hsairi H, Kacem M, Jouini M, BenSafta Z. Predictive factors of morbidity after surgical treatment of hepatic hydatid cyst. *Pan Afr Med J.* 2012;13:29.
 80. Thompson RCA, Mc Manus DP. Aetiology: parasites and life cycles. In: Eckert J, Gemmell MA, Meslin FX, Pawlowski ZS (eds). *WHO/OIE Manual on Echinococcosis in human and animals: A public health problem of global concern*, Paris. 2001.
 81. Ahmadi N, Dalimi A. Characterization of *Echinococcus granulosus* isolates from human, sheep and camel in Iran. *Infect Genet Evol.* 2006;6(2):85-90.
 82. Varcasia A, Canu S, Lightowlers MW, Scala A, Garippa G. Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* strains in Sardinia. *Parasitol Res.* 2006;98:273-277.

83. Mwambete KD, Ponce-Gordo F, Cuesta-Bandera C. Genetic identification and host range of the Spanish strains of *Echinococcus granulosus*. *Acta Trop.* 2004;91(2):87-93.
84. M'rad S, Filisetti D, Oudni M, Mekki M, Belguith M, Nouri A, Sayadi T, Lahmar S, Candolfi E, Azaiez R, Mezhoud H, Babba H. Molecular evidence of ovine (G1) and camel (G6) strains of *Echinococcus granulosus* in Tunisia and putative role of cattle in human contamination. *Vet Parasitol.* 2005;129:267-272.
85. Bart JM, Morariu S, Knapp J, Ilie MS, Pitulescu M, Anghel A, Cosoroaba I, Piarroux R (2006a). Genetic typing of *Echinococcus granulosus* in Romania. *Parasitol Res.* 2006;98:130-137.
86. Schneider R, Gollackner B, Edel B, Schmid K, Wrba F, Tucek G, Walochnik J, Auer H. Development of a new PCR protocol for the detection of species and genotypes (strains) of *Echinococcus* in formalin-fixed, parafin-embedded tissues. *Int J Parasitol.* 2008;38:1065-1071.
87. Vural G, Baca AU, Gauci CG, Bagci O, Gicik Y, Lightowlers MW. 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;154:347-350.
88. Simsek S, Eroksuz Y. Occurrence and molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in Turkish mouflon (*Ovis gmelinii anatolica*). *Acta Trop.* 2009;109(2):167-169.
89. Utuk AE, Simsek S, Koroglu E, McManus DP. Molecular genetic characterization of different isolates of *Echinococcus granulosus* in east and southeast regions of Turkey. *Acta Trop.* 2008;107(2):192-194.
90. Ergin S, Saribas S, Yuksel P, Zengin K, Midilli K, Adas G et al. Genotypic characterisation of *Echinococcus granulosus* isolated from human in Turkey. *Afr J Microbiol Res.* 2010;4(7):551-555.
91. Snabel V, Altintas N, D'Amelio S, Nakao M, Romig T, Yolasigmaz A, et al. Cystic echinococcosis in Turkey: genetic variability and first record of the pig strain (G7) in the country. *Parasitol Res.* 2009;105(1):145-154.
92. Eryıldız C. *Echinococcus granulosus* izolatlarının genotiplendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Edirne. 2010.