

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PARAZİTOLOJİ (VETERİNER)
ANABİLİM DALI

**SAMSUN YÖRESİ MANDALARDA KİSTİK
EKİNOKOKOZİSİN YAYGINLIĞI, SUŞLARIN PZR ve
DNA DİZİ ANALİZİ İLE TESBİTİ**

DOKTORA TEZİ

Veteriner Hekim Yunus Emre BEYHAN

**Samsun
Mayıs – 2011**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PARAZİTOLOJİ (VETERİNER)
ANABİLİM DALI

**SAMSUN YÖRESİ MANDALARDA KİSTİK
EKİNOKOKOZİSİN YAYGINLIĞI, SUŞLARIN PZR ve
DNA DİZİ ANALİZİ İLE TESBİTİ**

DOKTORA TEZİ

Veteriner Hekim Yunus Emre BEYHAN

Danışman: Prof. Dr. Şinasi UMUR

**Samsun
Mayıs – 2011**

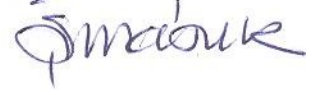
T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma jürimiz tarafından **Parazitoloji (Veteriner)** Programında
Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof.Dr. Ahmet DOĞANAY (Ankara Üniversitesi)



Üye : Prof.Dr. Şinasi UMUR (Ondokuz Mayıs Üniversitesi)



Üye : Prof.Dr. Tolga GÜVENÇ (Ondokuz Mayıs Üniversitesi)



Üye : Doç.Dr. Mustafa AÇICI (Ondokuz Mayıs Üniversitesi)



Üye : Yrd.Doç.Dr. Cenk Soner BÖLÜKBAŞ (Ondokuz Mayıs Üniversitesi)



Tezin Adı: Samsun Yöresi Mandalarda Kistik Ekinokozisin Yaygınlığı,
Suşların PZR ve DNA Dizi Analizi ile Tesbiti.

Tezi Teslim Eden: Yunus Emre BEYHAN

Tez Savunma Sınav Tarihi: 13/05/2011

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Şinasi UMUR

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurul'unca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri
tarafından uygun görülmüştür.

Prof.Dr.Süleyman KAPLAN
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım esnasında öneri ve yardımlarıyla yanımda olan doktora tez danışman hocam Prof. Dr. Şinasi UMUR'a, doktora öğrenimim boyunca aldığım derslerle bilgi ve deneyimlerini aktaran hocam Doç. Dr. Mustafa AÇICI'ya, moleküler parazitoloji konusundaki bilgilerinden faydalandığım ve çalışmalarına yardımcı olan Doç. Dr. Sami ŞİMŞEK'e, ihtiyacım olan çalışma ortamını hazırlayan ve deneyimlerini paylaşan Yrd. Doç. Dr. Harun ALBAYRAK ve Veteriner Hekim Emre ÖZAN'a, istatistiksel değerlendirmelerime katkıda bulunan Zootekni Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Filiz AKDAĞ'a, numune toplamamda yardımcı olan Veteriner Hekim Ahmet PALA, Veteriner Hekim Çetin KILINÇ, Veteriner Hekim Abdülkadir ŞİMŞEK ve Veteriner Hekim Ogün ÜSTÜN'e, her alanda desteklerini yanımda hissettiğim sevgili aileme;

Vet-068 no'lu proje ile doktora tez çalışmamızı destekleyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı'na;

En içten duygularla çok teşekkür ederim.

ÖZET

SAMSUN YÖRESİ MANDALARDA KİSTİK EKİNOKOKOZİS'İN YAYGINLIĞI, SUŞLARIN PZR ve DNA DİZİ ANALİZİ TESBİTİ

Yunus Emre BEYHAN, Doktora Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Samsun, Mayıs - 2011

Echinococcus granulosus larvalarının neden olduğu kistik ekinokokozis hem insanları hem de hayvanları etkileyen dünyadaki en önemli zoonozlardan birisidir. Parazitin ergin şekilleri köpek, kurt, çakal ve diğer kanidelerin ince bağırsaklarında, larva formu ise koyun, keçi, sığır, domuz, insan ve birçok memeli hayvanın iç organlarında bulunmaktadır. *E.granulosus* türü içerisinde bugüne kadar 10 suş (G1-G10) tanımlanmıştır. *Echinococcus* cinsi içerisindeki varyasyonlar, parazitin yaşam çemberi, konak özgüllüğü, gelişim hızı, patojenitesi, antijenite ve kemoteropatik ajanlara duyarlılığı, bulaşma dinamikleri, hastalığın epidemiyolojisi ve kontrol yöntemleri üzerinde önemli derecede rol oynamaktadırlar. Bu bakımdan bir bölgedeki baskın suşun ya da suşların belirlenmesi parazitin kontrolü ve eradikasyonu, *Echinococcus*'a karşı tanı yöntemleri ve aşıların üretilmesi ve ilaçların etkinliği açısından çok önemlidir.

Bu çalışma ile Samsun yöresinde mandalarda kistik ekinokokozisin yaygınlığının belirlenmesi, mandalarda bulunan mevcut suşların moleküler tekniklerle varlığının ortaya konması amaçlanmıştır.

Mart 2006 ile Haziran 2010 tarihleri arasında Samsun (Merkez, Çarşamba, Terme, Bafra, Ondokuzmayıs) ve Amasya (Suluova)'daki mezbahalara gidilerek kesimi yapılan 60 dişi ve 106 erkek olmak üzere toplam 166 manda incelenmiştir. Kesim sonrası kistik ekinokokozis yönünden muayene edilen mandaların 17 (%10,24)'sinde kist tespit edilmiştir. Bunların sekizinin (%47,06) akciğer, beşinin (%29,41) karaciğer ve dördünün (%23,53) her iki organı enfekte bulunmuştur. Dişilerin 13'ü (%21,66), erkeklerin de dördü (%3,77) enfekte bulunmuştur. Enfeksiyon yaşa göre artmıştır. Gençlerde bu oran %4,38 olarak bulunurken, yaşlılarda ise %37,93 olarak tespit edilmiştir.

Enfekte hayvanlardaki *E. granulosus* suşunu belirlemek amacıyla kistlerden çıkarılan parazite ait parçalardan (protoskoleks ve germinal membran) DNA elde edildikten sonra, *cox1* gen bölgeleri ileri JB3 (TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT) ve geri JB4.5 (TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG) primerleri kullanılarak PZR ile çoğaltılmıştır. Daha sonra bu DNA'lar %1'lik agaroz jel elektroforezde yürütülerek bantlar görüntülenmiştir. Bu örneklerle ait PZR ürünleri özel bir firmaya (İontek) gönderilerek çift yönlü DNA dizi analizi yaptırılmış, elde edilen sonuçlar Blast'a girilerek (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) GenBank'taki sonuçlarla karşılaştırılmıştır.

Bu çalışmada incelenen mandalardan elde edilen izolatların tümünde evcil koyun suşu olarak bilinen G1 suşu ve varyantlarının bulunduğu görülmüştür.

Sonuç olarak; mandalarda G1 suşunun tespit edilmesi, bu hayvanların da insan enfeksiyonları için kaynak oluşturabileceğini göstermektedir. Bu nedenle hastalığın kontrolünde daha etkili stratejilerin geliştirilmesi, bölgesel ve ulusal düzeyde yapılması gerekli olan eradikasyon, aşı ve ilaç geliştirme çalışmaları ve halk sağlığı açısından bu noktanın göz önüne alınmasında yarar bulunmaktadır.

ABSTRACT

**CYSTIC ECHINOCOCCOSIS PREVALENCE IN SAMSUN REGION
BUFFALOES, DETECTION of GENOTYPES WITH PCR and
DNA SEQUENCE ANALYSIS**

Yunus Emre BEYHAN, Ph.D. Thesis

University of Ondokuz Mayıs Samsun, May - 2011

Cystic echinococcosis caused by larvae of the *Echinococcus granulosus* is affecting both people and animals and it is one of the world's most important zoonosis. The adult forms of parasite are found dogs, wolves, jackals and other canids small intestine and the larvae forms are found sheep, goats, cattle, pigs, humans and many other mammals internal organs. In total 10 distinct strains (genotypes) of *E. granulosus* have been described. Variation within the genus *Echinococcus* plays significant role in life cycle, host specificity, development rate, pathogenity, antigenicity and sensitivity to chemotherapeutic agents, transmission dynamics, epidemiology and control methods. In this respect, in a region to determine the dominant strain or strains is much important for control and eradication of parasites, production diagnostic methods and vaccines against *Echinococcus* and effectiveness of drugs.

In this study, we aim to determine the prevalence of cystic echinococcosis, presence of current strains of buffaloe isolates and contributing to molecular epidemiology.

Between March 2006 and June 2010, 166 slaughtering water buffaloes (60 female and 106 male) were examined in Samsun (Centre, Çarşamba, Terme, Bafra, Ondokuzmayıs) and Amasya (Suluova) abattoirs and 17 (%10.24) of them infected with cystic echinococcosis. 8 of buffaloes lungs (47.06%), 5 of them liver (29.41%) and 4 of them (23.53%) both lung and livers were found infected. 13 of females (21.66%) and 4 of males (3.77%) were found infected. Infection rate increased by age. This rate was found 4.38% in youngs and 37.93% in olds.

After the DNA obtained from parasitic components (protoscolex and germinal layer) which extracted from cysts, *cox1* gene regions were amplified with PCR by using forward JB3 (TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT) and reverse JB4.5 (TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG) primers. Then, bands were visualied with conducting these DNA's on the %1 agarose electrophresis. PCR product of these samples were done bidirectional DNA sequencing by sending privative company (İontek), our results compared with Genbank results by entering the Blast (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/).

All isolates obtained from in this study buffaloes were found to have G1 strain and its variants.

Consequently, to be determined G1 strain in water buffaloes shows that these animals can be source for human infections. Therefore, this point is taking into consideration in terms of development more effective strategies for control of the disease, eradication, vaccine and drug development studies need to be made in regional and national levels and public health benefits.

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	Adenin
Ag	Antijen
AGID	Agar Gel Immunodiffusion
AGPT	Agar Gel Precipitation
AP	Arbitrary Primed
BFT	Bentonit Flocculation Test
bp	Base pair
C	Sitozin
CCIEP	Counter Current Immunoelectrophoresis
CI	Confidence Interval
CID	Casoni Intradermal Test
CIEP	Counter Immunoelectrophoresis
CFT	Complement Fixation Test
<i>cox1</i>	Cytochrome c Oxidase 1
DD	Double Diffusion
dH₂O	Distile su
ddH₂O	Çift distile su
ddF	Dideoxy Fingerprinting
dk	Dakika
dNTP	Deoksinükleotid
ddNTP	Dideoksinükleotid
DNA	Deoksiribonükleik asit
<i>efla</i>	Elongation factor 1 alpha
EITB	Enzyme Linked Immunoelectrotransfer Blot

ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
<i>elp</i>	Ezrin-radixin-moesin (ERM)-like protein
G	Guanin
IFAT	Indirect Fluorescent Antibody Test
IHAT	Indirect Hemagglutination Test
IEP	Immuno-electrophoresis
kg	Kilogram
LAT	Latex Agglutination Test
M	Molar
mg	Miligram
MgCl₂	Magnezyum klorür
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
mtDNA	Mitokondriyal DNA
NaCl	Sodyum klorür
OH	Hidroksil
PBS	Phosphate buffer saline
pmol	Pikomol
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RE	Restriksiyon enzimi
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA	Ribonükleik asit
SDS-PAGE	Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamid Gel Electrophoresis

SSCP	Single Stranded Conformation Polymorphism
T	Timin
TAE	Tris Asetat EDTA
U	Ünite
WB	Western blot
°C	Santigrat derece
%	Yüzde
>	Büyük
<	Küçük
≤	Küçük-eşit

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	xi
TABLolar.....	xv
ŞEKİLLER.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. TARİHÇE.....	3
2.2. TAKSONOMİ.....	5
2.2.1. <i>Echinococcus</i> Türleri.....	5
2.2.2. <i>Echinococcus granulosus</i> Suşları.....	6
2.2.2.1. Evcil Koyun Suşu (G1)	8
2.2.2.2. Tazmanya Suşu (G2)	9
2.2.2.3. Manda Suşu (G3)	10
2.2.2.4. At Suşu (G4).....	11
2.2.2.5. Sığır Suşu (G5)	11
2.2.2.6. Deve Suşu (G6)	12
2.2.2.7. Domuz Suşu (G7)	13
2.2.2.8. Geyik Suşu (G8) ve Fennoscandian Geyik Suşu (G10).....	13
2.2.2.9. İnsan Suşu (G9)	15
2.2.2.10. Arslan Suşu.....	15

2.2.2.11. Tavşan Suşu.....	16
2.3. MORFOLOJİ.....	16
2.3.1. Erişkin Ekinokoklar.....	16
2.3.1.1. <i>Echinococcus granulosus</i>	18
2.3.1.2. <i>Echinococcus multilocularis</i>	19
2.3.1.3. <i>Echinococcus vogeli</i>	20
2.3.1.4. <i>Echinococcus oligarthrus</i>	20
2.3.1.5. <i>Echinococcus shiquicus</i>	21
2.3.2. Yumurta.....	21
2.3.3. Larval Form (Metasestod)	22
2.3.3.1. <i>E.granulosus</i> Metasestodu.....	23
2.3.3.2. <i>E.multilocularis</i> Metasestodu.....	27
2.3.3.3. <i>E.vogeli</i> ve <i>E.oligarthrus</i> Metasestodu.....	28
2.3.3.4. <i>Echinococcus shiquicus</i> Metasestodu.....	28
2.4. BİYOLOJİ.....	28
2.5. TÜRKİYE’DEKİ YAYGINLIK.....	33
2.6. EPİDEMİYOLOJİ.....	35
2.7. TANI YÖNTEMLERİ.....	36
2.8. KULLANILAN MOLEKÜLER TEKNİKLER.....	41
2.8.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu, PZR (Polymerase Chain Reaction)	41
2.8.2. Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi, RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)	43
2.8.3. PZR-RFLP.....	44

2.8.4. Rastgele oğaltılmış Polimorfik DNA, RAPD-PZR (Random Amplified Polymorphic DNA)	45
2.8.5. Tek Zincir Yapı Polimorfizmi, PZR-SSCP (PCR-Single Stranded Conformation Polymorphism)	46
2.8.6. Dideoxy Fingerprinting, ddF.....	47
2.8.7. DNA Baz Dizi Analizi (Sekanslama)	47
2.9. TEDAVİ.....	51
2.10. KORUNMA VE KONTROL.....	52
3. MATERYAL VE METOT.....	56
3.1. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	56
3.2. Mezbaha alışmaları ve örneklerin Toplanması.....	58
3.3. DNA Ekstraksiyonu.....	58
3.4. <i>cox1</i> Gen Bölgesinin PZR ile oğaltılması.....	60
3.5. Yatay Agaroz Elektroforez.....	62
3.6. <i>cox1</i> Gen Bölgesinin DNA Dizi Analizi.....	63
4.BULGULAR.....	64
4.1. Mezbaha Bulguları.....	65
4.2. DNA Ekstraksiyon Bulguları.....	67
4.3. <i>cox1</i> PZR ve Agaroz Jel Elektroforez Bulguları.....	67
4.4. <i>cox1</i> Gen Bölgesinin DNA Dizi Analizi Bulguları.....	68
5. TARTIşMA.....	70
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	81
KAYNAKLAR.....	82
EKLER.....	99

Ek 1. <i>E.granulosus</i> 'un TRWB01 İzolatının <i>cox1</i> Gen Dizisi.....	99
Ek 2. <i>E.granulosus</i> 'un TRWB02 İzolatının <i>cox1</i> Gen Dizisi.....	100
Ek 3. <i>E.granulosus</i> 'un TRWB03 İzolatının <i>cox1</i> Gen Dizisi.....	101
Ek 4. <i>E.granulosus</i> 'un TRWB04 İzolatının <i>cox1</i> Gen Dizisi.....	102
Ek 5. <i>E.granulosus</i> 'un TRWB05 İzolatının <i>cox1</i> Gen Dizisi.....	103
Ek 6. <i>E.granulosus</i> 'un TRWB06 İzolatının <i>cox1</i> Gen Dizisi.....	104
Ek 7. <i>E.granulosus</i> 'un TRWB07 İzolatının <i>cox1</i> Gen Dizisi.....	105
Ek 8. <i>E.granulosus</i> 'un TRWB08 İzolatının <i>cox1</i> Gen Dizisi.....	106
Ek 9. <i>E.granulosus</i> 'un TRWB09 İzolatının <i>cox1</i> Gen Dizisi.....	107
ÖZGEÇMİŞ	108

TABLolar

Tablo 1. *Echinococcus granulosus* suşları

Tablo 2. *Echinococcus* türlerinin karşılaştırmalı özellikleri

Tablo 3. Ekinokok türlerine ait konak farklılıkları

Tablo 4. Ülkemizde arakonaklarda kistik ekinokokozisin yaygınlığı

Tablo 5. Ülkemizde son konaklarda *Echinococcus granulosus*'un yaygınlığı

Tablo 6. PZR için ana karışımın hazırlanması

Tablo 7. PZR protokolü

Tablo 8. İncelenen mandaların yaş ve cinsiyet durumu

Tablo 9. Enfekte mandaların yaş ve cinsiyet dağılımı

Tablo 10. Enfekte manda sayıları ve kistlerin organlara göre dağılımı

Tablo 11. Kistlerin organlara göre dağılımı

Tablo 12. Manda izolatlarının Genbank numaraları

Tablo 13. Çalışmadaki ve Genbank'taki dizi analizi sonuçlarının nükleotid farklılıkları

ŞEKİLLER

Şekil 1. G5-G10 suşlarının yakınlıklarının besian ağacı (A) ve filogenetik network analizi (B) ile gösterilmesi

Şekil 2. Erişkin *Echinococcus granulosus*

Şekil 3. *Echinococcus granulosus* gebe halka

Şekil 4. Erişkin *Echinococcus multilocularis*

Şekil 5. Erişkin *Echinococcus vogeli*'ler

Şekil 6. *Echinococcus granulosus* yumurtası

Şekil 7. Akciğerde Kist Hidatid

Şekil 8. Hidatid kistin şematik yapısı

Şekil 9. Karaciğerde hidatid kistin kesiti

Şekil 10. Protoskoleks

Şekil 11. Alveoler kistin yapısı

Şekil 12. *Echinococcus granulosus*'un yaşam çemberi

Şekil 13. *Echinococcus granulosus*'un kesin konaktaki gelişim evreleri

Şekil 14. PZR siklusunun aşamaları

Şekil 15. PZR siklusları ile DNA'nın çoğalması

Şekil 16. DNA'nın *EcoRI* enzimi ile kesimi

Şekil 17. dNTP ve ddNTP'lerin yapısı

Şekil 18. Sanger dizi sonlandırma yöntemi

Şekil 19. *cox1* gen bölgesi

Şekil 20. Bölgedeki mandalar

Şekil 21. Fertil kistte protoskoleksler

Şekil 22. Akciğere yerleşmiş kalsifiye kist

Şekil 23. Germinal membran ve kız keseler

Şekil 24. *Echinococcus granulosus*'un manda izolatlarının mitokondrial *cox1* gen bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonucunda oluşan bandlar

1. GİRİŞ

Echinococcus granulosus larvalarının neden olduğu kistik ekinokozis insan ve hayvanları birlikte etkileyen dünyadaki en önemli zoonozlardan birisidir. Parazitin ergin şekilleri köpek, kurt, çakal ve diğer kanidelerin ince bağırsaklarında, larva formu ise koyun, keçi, sığır, domuz, insan ve kedi dahil birçok memeli hayvanın iç organlarında bulunmaktadır.

Hastalık daha çok geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerde yaygın olarak görülmektedir. Hijyen kuralları, halkın kültür düzeyi, kasaplık hayvan kesimlerinin kontrolsüz ve kaçak olması, başıboş gezen köpek sayısının fazlalığı, enfekte iç organların imha edilmeden çevreye atılması gibi faktörler parazitin yayılmasını kolaylaştırmaktadır.

Türkiye’de insan ve hayvan sağlığını olumsuz yönde etkileyerek büyük ekonomik kayıplara (et, süt, yapağı, iş gücü ve verimlilik, tanı, ilaç ve ameliyat masrafları, vb.) neden olmaktadır (Güralp, 1981; Merdivenci ve Aydınlioğlu, 1982; Tiğın ve ark., 1991; Umur, 2003; Ayaz ve Tınar, 2006, Budke ve ark., 2006; Sarıözkan ve Yalçın, 2009). Bu sebeplerden dolayı yıllardır hastalık üzerinde mezbaha kayıtlarına dayalı prevalans ve serolojik çalışmalar yapılmaktadır. Bölgemizde yapılan çalışmalarda prevalansla ilgili bazı sonuçlara ulaşılmış (Zeybek, 1973; Celep ve ark. 1990), ancak çalışmalar bölge genelini kapsamadığı gibi birçoğu da sistematik olarak planlanmamıştır. Bunun yanında yöre ekonomisinde önemli rolü olan mandalarla ilgili fazla çalışmaya rastlanılamamıştır.

Echinococcus granulosus türü içerisinde bugüne kadar 10 suş (G1-G10) tanımlanmıştır. Bunlar; evcil koyun suşu (G1), Tazmanya koyun suşu (G2), manda suşu (G3), at suşu (G4), sığır suşu (G5), deve suşu (G6), domuz suşu (G7), geyik suşu (G8), insan suşu (G9), Fennoscandian geyik suşu (G10)’dur.

Yapılan son moleküler çalışmalarla genetik farklılıklarından dolayı *E. granulosus* sensu stricto (G1-G3), *E.canadensis* (G6-G10), *E.equinus* (G4) ve *E.ortleppi* (G5) ayrı birer tür olarak kabul edilmektedirler (Eckert ve Thompson, 1997; Scott ve ark., 1997; Thompson ve McManus, 2002; Lavikainen ve ark., 2003; Naidich

ve ark., 2006; Nakao ve ark., 2007). Fakat halen *E.granulosus*'un sınıflandırması tartışma konusu olmakta ve değişiklik göstermektedir (Busi ve ark., 2007).

Echinococcus türlerindeki varyasyonlar, parazitin yaşam çemberi, konak özgüllüğü, gelişim hızı, patojenite, antijenite ve kemoterapotik ajanlara duyarlılık, bulaşma dinamikleri, hastalığın epidemiyolojisi ve kontrol yöntemleri üzerinde çok önemli rol oynamaktadırlar. Bu bakımdan bir bölgedeki baskın suş ya da suşların belirlenmesi, parazitin kontrolü ve eradikasyonu, parazit için tanı yöntemleri ve aşıların geliştirilmesi, üretilmesi ve ilaçların etkinliği açısından önemlidir (Thompson ve Lymbery, 1988; Eckert ve Thompson, 1997; Thompson ve McManus, 2001).

Ülkemizde bazı bölgelerde *E. granulosus*'un sığır, deve, koyun, keçi, insan ve köpek izolatlarının moleküler ayrımı ile ilgili birkaç araştırma yapılmış, fakat mandalarda bu konuda hiç çalışma olmadığı gibi, Karadeniz Bölgesi'nde konuyla ilgili hiçbir araştırmaya rastlanmamıştır.

Yıllardır varlığını devam ettiren bu hastalık, ilaçla kesin tedavisi olmadığı için hala önemini korumaktadır. En büyük eksikliklerimizden birisi bugüne kadar ülke genelini kapsayan bir eradikasyon veya kontrol mekanizması kurulamamış olmasıdır.

Bu çalışma, mandalarda kistik ekinokozisin yöredeki yaygınlığının belirlenmesi ve mevcut suşların moleküler yöntemler ile ortaya konulması amacıyla yapılmıştır. Böylece hastalığın kontrolünde daha etkili stratejiler geliştirilebilecek, bölgesel ve ulusal düzeyde yapılması gerekli olan eradikasyon, aşı ve ilaç geliştirme çalışmalarına temel oluşturacak bilgi sağlanacak veya üretilecek ya da ithal edilecek aşının doğru seçilmesi mümkün olacaktır.

Dünyada birçok ülkede kistik ekinokozise karşı geliştirilen, ancak saha kullanımı ve etkinliği ile ilgili sorunlar bulunan, dolayısıyla henüz ticari ürün olamamış tek aşı, EG95 olup, bu da sadece koyun suşuna etki etmekte, diğer suşlara etkisiz kalmaktadır. Türkiye'deki suşlar belirlenmeden başlatılacak bir aşı ve eradikasyon çalışması gereksiz emek, zaman ve para kaybına yol açacaktır. Bu nedenle mevcut suşların belirlenmesi ve bunlara uygun aşı geliştirilmesi veya ithal edilmesi daha doğru ve ekonomik olacaktır. Tüm bunların yanında, hayvanlarda hidatidosisin eradikasyonu ve kontrolüne yönelik çalışmalar ve bu alanda sağlanacak başarılar, insan

enfeksiyonlarında da azalmaya neden olacak, sonuçta ulusal ekonomi ve veteriner halk sağlığına katkı sağlanmış olacaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

Echinococcus granulosus'un larva evresi olan kist hidatid tarihin çok eski zamanlarından beri bilinmektedir. Hipokrat (İ.Ö. 460-377) domuz ve sığırlarda kist hidatiğin varlığını bildirmiş, ayrıca insan karaciğerinde gördüğü hidatid kisti “su dolu kese” olarak tarif etmiştir. Kapadokyalı Arataeus (İ.S. 9-79) ve Bergamalı Galen (İ.S. 129-200) de insan ve hayvanlarda su dolu keselerin varlığını bildirmişlerdir. Fakat bu keselerin yıllarca ne olduğu anlaşılamamış, bunların tümör veya dokuların kistleşmiş formları olduğu düşünülmüştür (Unat, 1991; Tınar, 2004).

Kistlerin hayvan kökenli olduğunu ortaya koyan Francesco Redi, 1684 yılında bu kistler için “Veziküllü Solucanlar” terimini kullanmıştır. Erişkin parazitin 1695 yılında ilk kez Philip Jacop Hartmann tarafından köpek bağırsağında görüldüğü kabul edilmektedir. 1684'te Redi, 1685'te Hartmann, 1691'de de Tyson yaptıkları çalışmalarla kistik ekinokozisin zoonotik karakterde olduğunu öne sürmüşlerdir. Peter Simon Palas hidatid kistlerdeki skoleksler ile erişkin parazitin skoleksleri arasındaki benzerliğe dikkat çekmiş, 1766 yılında da kist hidatidlere *hydatigena* denilmesini önermiştir (Altıntaş, 1991). Goeze, 1780'de hidatid kistteki skoleksleri ve bunların çengellerini tanımlamıştır. İlk kez 1786'da Bathsch köpeğin ince bağırsağında parazitlenen “ufak şerit” türü ile evcil hayvanlar ve insanların değişik organlarında oluşan hidatid kistlerin aynı parazit türünün ayrı birer gelişim safhası olduğunu bildirmiş ve *Hidatigena granulosa* olarak adlandırmıştır. Daha sonra 1790 yılında Gmelin bu ismi *Taenia granulosa* olarak değiştirmiştir. 1801'de İsveçli bilim adamı Rudolphi köpeklerin ince bağırsağında bulunan küçük şeritin larva evresi olan hidatid kiste *Echinococcus* ismini vermiş ve bu cinsin özelliklerini ilk kez tarif etmiştir. Yine aynı araştırmacı 1808'de köpek ince bağırsağında bulduğu şeritin yapısal özelliklerini inceleyerek ayrı bir tür olduğuna karar vermiş ve *Taenia cateniformis* olarak adlandırmıştır. Carl Theodor von Siebold parazitin yumurtalarında 6 çengelli embrioyu gördüğünü bildirmiştir. Araştırmacı 1852 yılında koyun ve sığırdan aldığı kistleri köpeklere yedirmiş, enfekte olan köpeklerin bağırsaklarından ergin parazitleri elde ederek bunlara *Taenia echinococcus* adını vermiştir. Bu deney ile parazitin kasaplık

hayvanlardaki kist formu ile köpeklerdeki şerit formu arasındaki biyolojik ilişki ispatlanmıştır. Daha sonraları Küchenmeister, Beneden ve Leuckart domuz ve at kistleriyle yaptıkları deneysel çalışmalarla, Siebold'un bulgularını doğrulamışlardır. 1863'de Naunyn, Krabbe ve Fissen değişik ülkelerde yaptıkları çalışmalarda insan orjinli kistlerden elde ettikleri protoskoleksleri köpeklere vererek parazitin ergin formunu elde etmişlerdir. Virchow 1855'de karaciğerde rastladığı alveollü oluşumları çok boşluklu ekinokok urları olarak tarif etmiş, Leucart da 1863'de petek benzeri yapı gösteren ve *Echinococcus granulosus*'un varyetesi olduğunu düşündüğü bu yapıya *Taenia echinococcosis multilocularis* adını vermiştir. Yine bu paraziti Kleman 1883 yılında *Echinococcus alveolaris* olarak adlandırılmıştır. Nikiforov 1938'de *E.multilocularis*'in gelişmesinde kemiricilerin arakonak olarak rol oynadığını belirtmiştir. Vogel 1955'de *E.multilocularis* ile *E.granulosus* arasındaki farkları ortaya koyarak bunları *E.multilocularis* olarak kabul etmiştir. Aynı araştırmacı enfekte kırmızı tilkilerin ince bağırsağından elde ettiği parazit yumurtalarını farelere vererek kist geliştirmiş, bu kistleri köpeğe verdikten 5 gün sonra oluşan ergin parazitleri incelemiştir. Bu deney sonucunda *E.multilocularis* ile *E.sibiricensis*'in aynı parazit olduğunu bildirmiştir. Smyth kistlerden elde ettiği skolekslerin erişkin skolekslerinden farklı olduğunu belirtmiş ve bunlara "protoskoleks" adını vermiştir. Williams ve Sweatman, 1962-1963 yıllarında yaptıkları çalışmalarında *E.granulosus*'u morfolojik ve konak özelliklerine göre 4 alt türe ayırmışlardır. Bu alt türleri *E.granulosus granulosus*, *E.g.borealis*, *E.g.canadensis* ve *E.g.equinus* olarak isimlendirmişlerdir. *E.vogeli* olarak adlandırılan tür 1972 yılında Rausch ve Bernstein tarafından bir çalı köpeğinde bulunmuştur. Bugün ise geçerliliği kabul edilen tek alt tür *E.granulosus granulosus*'tur (Merdivenci, 1976; Merdivenci ve Aydınlioğlu, 1982; Unat, 1991; Altıntaş, 1991; Tiğın ve ark., 1991; Tınar, 2004).

Çok eski çağlardan beri bilinen bu hastalık ile ilgili bazı bilgiler Anadolu hekimleri tarafından da bildirilmiştir. Osmanlı dönemine ait ilk bilgi 1872 yılında Doktor C.R.Kiatibian tarafından "*Kyste hydatique multiloculare*" olgusu ile bildirilmiştir. İlk Türkçe kitap ise Dr. Abdullah Bey tarafından yazılmış, ölümünden sonra 1876 yılında Miralay Raşit Bey tarafından bastırılmıştır. Dr. Ali Rıza Bey 1903'de karaciğer kist hidatid sıvısından kimyasal analiz yapmıştır. Kendisi Veteriner Hekim olan Prof.Dr. İsmail Hakkı Çelebi ilk modern parazitoloji kitabını yazmış ve

1928 yılında İstanbul'da sokak köpeklerinde *Echinococcus granulosus*'un varlığını bildirmiştir. 1940'lı yıllarda Veteriner Hekim parazitologlar Hasan Şükrü Oytun, Ahmet Nevzat Tüzdil ve Hasip Kurtpınar tarafından ekinokokozis ile ilgili bazı çalışmalar yapılmıştır. 1936 yılında Nevzat Tüzdil "Mezbahalarda Parazitoloji Tatbikatı", 1945'de ise Hasan Şükrü Oytun "Genel Parazitoloji ve Helminoloji" adlı kitaplarını yazmışlardır. 1950 yılında Prof.Dr. Ekrem Kadri Unat hidatid çengellerini Ziehl-Nielsen ile boyayarak göstermiş, daha sonraki yıllarda serolojik tanıda indirekt hemaglütinasyon testini kullanmıştır. 1976 yılında Prof.Dr. Ahmet Merdivenci "Türkiye'de Hidatidoz" kitabını yazmıştır (Merdivenci, 1976; Unat, 1991; Altıntaş, 2003; Tınar, 2004).

Sonraki yıllarda gerek erginlerin gerekse larvaların yaygınlığı, ekonomik etkileri ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve son yıllarda moleküler çalışmalara başlanmıştır (Bowles ve ark., 1992a; Bowles ve McManus, 1993a; Umur ve Aslantaş, 1993; Umur ve Arslan, 1998; Umur, 2003; Ütük ve ark., 2008).

2.2. TAKSONOMİ

2.2.1. *Echinococcus* Türleri

Echinococcus cinsinin taksonomisinde hem tür, hem de suş bazında tartışmalar halen devam etmektedir. Bu konuda moleküler çalışmalar tüm hızıyla devam ederken, yeni tür ve suşlar bulunmakta ve farklı görüşler öne sürülmektedir. *Echinococcus* cinsi içerisinde tanımlanmış birçok tür olmasına rağmen, bugün klasik sınıflandırmada geçerliliği kabul edilen dört tür bulunmaktadır. Bunlar; *E. granulosus* (Batsch, 1786), *E. multilocularis* (Leuckart, 1863), *E. vogeli* (Rausch ve Bernstein, 1972) ve *E. oligarthrus* (Diesing, 1863) türleridir. Bu türlerden en yaygın görüleni ve en önemli olanı *E. granulosus*'tur (Soulsby, 1986; Thompson, 1995). Bununla birlikte Xiao ve arkadaşları tarafından Çin'de *E. shiquicus* adında yeni bir tür daha tanımlanmış, ancak henüz klasik türler arasında yer almamıştır (Xiao ve ark., 2005).

Echinococcus türlerinin sınıflandırmadaki yeri aşağıdaki gibidir: (Soulsby, 1986; Tiğın ve ark., 1991; Thompson, 1995)

Altevren : Metazoa

Kök: Platyhelminthes

Sınıf: Cestoda

Sınıfaltı: Eucestoda

Takım: Cyclophyllidea

Takımalı: Cyclophyllidina

Familyaüstü: Taenioidea

Familya: Taeniidae

Cins: *Echinococcus* (Rudolphi, 1801)

Türler: *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786)

Echinococcus multilocularis (Leuckart, 1863)

Echinococcus oligarthrus (Diesing, 1863)

Echinococcus vogeli (Rausch ve Bernstein, 1972)

2.2.2. *Echinococcus granulosus* Suşları

Echinococcus türleri için suş “aynı tür içinde gen frekansları yönünden ve ekinokokozisin kontrolünde aktüel veya potansiyel biyolojik önemi bulunan bir veya daha fazla karakter yönünden istatistiksel olarak farklılık gösteren gruplar” şeklinde tanımlanmaktadır. *Echinococcus* cinsi içerisindeki varyasyon, nükleik asit sekanslarındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Bu farklılıklar, parazitin yaşam çemberi, konak özgülüğü, gelişim hızı, patojenitesi, antijenite ve kemoteropatik ajanlara duyarlılığı, bulaşma dinamikleri, hastalığın epidemiyolojisi ve kontrol yöntemleri üzerinde önemli derecede rol oynamaktadırlar. Bu bakımdan endemik bir bölgedeki baskın suş ya da suşların belirlenmesi parazitin kontrolü ve eradikasyonu açısından çok önemlidir (Thompson ve Lymbery, 1988; Thompson ve Lymbery, 1990; Eckert ve Thompson, 1997; Thompson ve McManus, 2001).

Yapılan son moleküler çalışmalar neticesinde *E.granulosus* cinsi içerisinde bugüne kadar 10 suş (G1-G10) tanımlanmıştır. Bunlar; evcil koyun suşu (G1),

Tazmanya koyun suşu (G2), manda suşu (G3), at suşu (G4), sığır suşu (G5), deve suşu (G6), domuz suşu (G7), geyik suşu (G8), insan suşu (G9), Fennoscandian geyik suşu (G10)'dur (Tablo 1).

Echinococcus cinsi içerisindeki varyasyonun derecesi halen tartışma konusudur. Bazı suşlar içerisinde bile genetik varyasyonlar bulunmaktadır (G1^A, G1^B, G1^C, G1^D, G1^E) (Kamenetzky ve ark., 2002). Fakat yapılan son moleküler çalışmalarla genetik farklılıklarından dolayı *E.granulosus* sensu stricto (G1-G3), *E.equinus* (G4), *E.ortleppi* (G5) ve *E.canadensis* (G6-G10) ayrı birer tür olarak kabul edilmekte, *E.ortleppi* ve *E.canadensis* ise kardeş türler olarak tanımlanmaktadır. Yeni filogenetik çalışmalarla bu beş suşun (G5-G10) yakınlıklarından dolayı bir grup olarak ele alınmasındaki düşünce ağırlık kazanmaktadır. Bununla birlikte *E.granulosus*'un sınıflandırması devamlı olarak değişiklik göstermektedir. *E.oligarthus* ve *E.vogeli* türlerine bağlı suş ise bulunmamaktadır (Scott ve ark., 1997; Thompson ve McManus, 2002; Lavikainen ve ark., 2003; 2006; Naidich ve ark.,2006; Nakao ve ark., 2007; Moks ve ark., 2008).

Türkiye'de yapılan çalışmalar sonucunda, çok farklı arakonak ve coğrafi bölgelerden elde edilen *E.granulosus* suşlarının kendi içlerinde çok sınırlı bir genetik varyasyon bulunduğu, ancak suşlar arasında çok daha fazla varyasyonun olduğu gösterilmiştir (Yolasiğmaz ve Altıntaş, 2004).

Tablo 1. *Echinococcus granulosus* suşları (Thompson, 1995; Eckert ve Thompson, 1997; McManus, 2006)

Genotip	Son konak	Arakonak	Coğrafi dağılım
G1, Evcil Koyun Suşu	Köpek, tilki, dingo, çakal, sırtlan	Koyun, insan, kanguru, sığır, deve, domuz, keçi	Avustralya, Avrupa, Amerika, Yeni Zelanda, Afrika, Çin, Orta Doğu
G2, Tazmania Suşu	Köpek, tilki	Koyun, sığır	Tazmania, Arjantin, Romanya, Hindistan
G3, Manda Suşu	Köpek, tilki	Manda, sığır	Asya, Avrupa
G4 (<i>E. equinus</i>) At Suşu	Köpek	At, eşek ve diğer tektırnaklılar	Avrupa, Orta Doğu, Güney Afrika, Yeni Zelanda, Amerika
G5 (<i>E. ortleppi</i>) Sığır Suşu	Köpek	Sığır	Avrupa, Güney Afrika, Asya, Rusya, Güney Amerika
G6, Deve Suşu	Köpek	Deve, keçi, sığır, koyun	Orta Doğu, Afrika, Asya, Arjantin
G7, Domuz Suşu	Köpek	Domuz	Avrupa, Rusya, Güney Amerika
G8, Geyik Suşu	Kurt, köpek	Geyikler	Kuzey Amerika, Avrasya
G9, İnsan Suşu	Kanideler	İnsan	Polonya
G10, Fennoscandian Geyik Suşu	Kanideler	Geyikler	Finlandiya
Arslan	Arslan	Manda, yaban domuzu, zürafa, antiloplar, zebra, su aygırı	Afrika
Tavşan	Gri tilki	Yabani tavşanlar	Güney Amerika

2.2.2.1. Evcil koyun Suşu (G1)

Echinococcus granulosus'un en önemli arakonağı koyunlardır ve evcil koyun suşu dünyada en yaygın bulunan suştur. Güney Amerika, Türkiye dahil Avrupa'nın güney ve doğu bölgeleri, Afrika'nın kuzey ve doğu bölgeleri, Asya'nın bir kısmı ve Avustralya, suşun yaygın bulunduğu ve önemli olduğu yerlerdir. Başlangıçta karşılaştırmalı çalışmaların büyük çoğunluğu Avustralya, Yeni Zelanda ve İngiltere'de yapılmış ve buralardaki suşların aynı olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bununla beraber başta İngiltere olmak üzere Avrupa'nın farklı ülkelerinde, koyun kökenli parazitlerin morfolojik, biyokimyasal ve moleküler tekniklerle incelenmesi sonucu koyun suşunun bir örneklik gösterdiği ortaya konmuştur. Evcil koyun suşunun farklı morfoloji ve

biyolojiye sahip olduğu birçok çalışma tarafından gösterilmiştir. Suşun konak özgüllüğü sadece koyunlarla sınırlı olmayıp keçi, sığır, manda, deve, domuz ve kanguru gibi diğer memeli hayvanlarda da görülmektedir. Sığırlarda gelişen kistler çoğunlukla steril olmaktadır (Thompson ve Lymbery, 1988; Bowles ve McManus, 1993a; Eckert ve Thompson, 1997).

Son zamanlarda yapılan izoenzim ve moleküler çalışmalar, insan enfeksiyonlarından çoğunun kaynağının evcil koyun suşu olduğunu göstermiş ve Türkiye’de etkin suşun G1 olduğu; koyun, keçi, sığır, deve, köpek gibi birçok konaktan alınan izolatlarının incelenmesiyle ortaya konmuştur (Bowles ve ark., 1992a; Bowles ve McManus, 1993b; Snabel ve ark., 2009; tk ve ark., 2008; Vural ve ark. 2008).

2.2.2.2. Tazmanya Suşu (G2)

Bu suş Avustralya’nın Tazmanya adasında bulunmuştur. Yapılan morfolojik, biyolojik ve moleküler çalışmalar neticesinde Avustralya’nın Tazmanya adasındaki koyun izolatlarının, Avustralya ve başka bölgelerdeki koyun izolatlarından farklı olduğu görülmüştür. Buradaki enfeksiyonların Avustralya’dakinden farklı bir kökene sahip olduğu veya genetik bir değişim sonucunda oluştuğu belirtilmektedir. Bu genetik değişimin son konaklara arekolin uygulanması ile oluşabileceği düşünülmüştür. Moleküler olarak G1 ve G2 suşları arasında 3 nükleotidlik fark bulunmakta ve bu varyantlardan ikisi farklı amino asit sentezine neden olmaktadır. Koyun suşunda (G1) yumurta çıkışı enfeksiyonu takip eden 45. günde olurken, bu suş ile yapılan deneysel enfeksiyonlarda 39. günde olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte G2’nin farklı bir suş olmadığı, sadece G3’n küçük bir varyantı olduğu da ne sürülmektedir (Kumaratilake ve ark., 1983; Thompson ve ark., 1984; Thompson ve Lymbery, 1988; Bowles ve ark., 1992a; Vural ve ark., 2008).

Yapılan son çalışmalar ile G2 suşunun Tazmanya adası dışında Arjantin, İtalya, Romanya ve Hindistan gibi farklı ülkelerde de bulunduğu bildirilmiştir (Busi ve ark., 2007; Kamenetzky ve ark., 2002; Bart ve ark., 2006; Bhattacharya ve ark., 2007).

Bu suş insanlarda ilk kez Arjantin’de tespit edilmiş ve insan enfeksiyonlarında da etkin ve önemli olduğu anlaşılmıştır (Rosenzvit ve ark., 1999).

2.2.2.3. Manda Suşu (G3)

Özellikle Asya'da *E.granulosus*'un yaygın arakonağı mandalardır. Kistler genellikle akciğerlere yerleşmekte ve yüksek fertilité göstermektedirler. Yapılan ilk çalışmalarla parazitin morfolojisi ve gelişiminin daha önce tanımlanan alt türlerden farklı olduğu görülmüştür. Bu çalışmalar sonucunda *E.granulosus canadensis* suşuna yakın olduğu düşünülmüştür. Geyikgillerde bulunan bu formun (*E.g.canadensis*) morfolojik olarak diğer suşlara nazaran sığır suşuna çok daha fazla benzediği belirtilmiştir. Daha sonra yapılan moleküler çalışmalarda mandalarda koyun ve sığır suşlarının da var olduğu gösterilmiş, ayrıca domuzlarda da fertil G3 kistlerine rastlanmıştır. Parazitin en önemli morfolojik özelliği, biri gebe, diğeri de genç ya da olgun olmak üzere toplam iki halkaya sahip olmasıdır (Gill ve Rao, 1967; Thompson ve Lymbery, 1988; Bowles ve McManus, 1993b; Pednekar ve ark., 2009).

Yapılan deneysel çalışmalarda manda kaynaklı kistler köpeklere yedirilmiş ve belli aralıklarla köpeklere otopsi yapılmıştır. Strobilar formların büyüme hızının en fazla enfeksiyondan sonra 10 ile 20. günler arasında olduğu gözlenmiştir. 20. günde üreme organları iyi gelişmiş ve iki halkalı ergin parazitlere rastlanmıştır. Parazitin toplam uzunluğu 10. günde 0,80 mm, 20. günde 1,69 mm ve 64. günde 5,16 mm olarak ölçülmüştür. Erişkin parazitlerin en uzununun boyu 5,16 mm ölçülmesine karşın ortalama 2,8 mm (1,4-5,16 mm) uzunluğunda bulunmuşlardır. 20. günde birinci halka 0,89 mm, ikinci halka 0,50 mm iken, 30. günde sırasıyla 1,14 mm ve 0,90 mm olarak ölçülmüştür. Enfekte edilen iki köpeğin dışkısında yumurtaya enfeksiyondan sonra sırasıyla 57. ve 59. günlerde rastlanmıştır (Gill ve Rao, 1967).

G1-G2-G3 suşları, aralarında çok küçük nükleotid farklılıkları bulunan çok yakın gruplardır. İlk önceleri G2 gibi G3 suşunun da G1'in varyantı ya da G1'e çok yakın başka bir grup olduğu düşünülmüştür (Bowles ve ark., 1992a). G2 suşu ile G3 suşu arasında sadece bir nükleotidlik fark vardır. *cox1* (Cytochrome c Oxidase 1) gen bölgesi ile yapılan çalışmalarda G2-G3 suşları arasındaki bu nükleotid farklılığı görülebilirken, *nad1* (NADH Dehydrogenase 1) gen bölgesi çalışmaları bu suşların ayrımını sağlayamamaktadır (Bowles ve ark., 1992a; Bowles ve McManus, 1993c; Busi ve ark., 2007).

Son yapılan morfolojik ve moleküler çalışmalar sonucu G1-G2-G3 suşlarının bir küme şeklinde *E.granulosus* sensu stricto olarak adlandırılması yönündeki görüşler ağırlık kazanmaktadır.

2.2.2.4. At Suşu (G4)

Williams ve Sweatman tarafından 1963 yılında at ve koyun kökenli parazitler üzerinde oldukça kapsamlı ve karşılaştırmalı morfolojik çalışmalar yapılmıştır (Gill ve Rao, 1967). Yapılan bu çalışmalarda at kökenli parazitlerin, koyun kökenli parazitlerden oldukça önemli morfolojik farklılıkları olduğu gösterilmiştir. Yine bu araştırmacılar koyun ve atlarda bazı çapraz enfeksiyon denemeleri yapmışlar ve koyun kökenli enfeksiyonlara karşı atların daha dayanıklı olduğunu gözlemlemişlerdir. Açıkça görünen morfolojik farklılıklar ve konak özgülüğünden dolayı, atların arakonak olduğu *Echinococcus* formunun bu hayvanlara adapte olduğu düşünülmüştür. İngiltere’de atlarda rastlanan bu form alt tür olarak tanımlanılmış ve *E.granulosus equinus* olarak adlandırılmıştır.

Bu suş Avrupa, Orta Doğu, Güney Afrika, Yeni Zelanda ve Amerika’da görülmektedir. Farklı coğrafik bölgelerde yapılan çalışmalarla at suşunun morfolojik olarak bir örnek olduğu görülmüştür. Son konak olarak sadece köpekler rol oynamakta, fakat kırmızı tilkilerin biyolojik çemberdeki rolleri kesin olarak bilinmemektedir. Arakonak çeşitliliği sınırlı olup sadece at ve diğer tek tırnaklılarda görülmektedir. Kistler daha çok karaciğere yerleşmekle birlikte akciğer ve diğer iç organlarda da görülebilmektedir. İnsan enfektivitesi ise yok veya çok azdır.

Geçen 40 yıl içerisinde elde edilen bilgiler ışığında bugün at suşunun tür statüsünde ve *E.equinus* adıyla sınıflandırmadaki yerini alması yönündeki görüşler ağırlık kazanmıştır (Thompson ve Lymbery, 1988; Bowles ve Mcmanus, 1993b; Eckert ve Thompson, 1997).

2.2.2.5. Sığır Suşu (G5)

Echinococcus granulosus’un bu formu ilk kez İsviçre’de sığırlarda tespit edilmiştir. Sadece morfolojik olarak değil, biyolojik ve biyokimyasal olarak da diğer

suşlardan farklıdır. Parazit son konak olan köpeklerde hızlı gelişim sürecine sahiptir ve prepatent süresi 33-35 gündür. Bu süre, diğer suşlarda ortalama 40-48 gün olan erginleşme zamanına göre oldukça kısadır. Köpeklerde 29 günde 2,6 mm boyutlarına ulaşırken, 35. günde 4,1-4,3 mm uzunluğa erişmektedir. Avrupa, Güney Afrika, Hindistan, Sri Lanka, Nepal ve Güney Amerika'yı da içine alan geniş bir coğrafik dağılıma sahiptir. Daha çok arakonakların akciğerine yerleşmekte, kistlerin %90'dan fazlası fertil olabilmekte ve insanları enfekte edebilmektedir. (Thompson ve ark., 1984; Eckert ve Thompson, 1988; Thompson ve Lymbery, 1988; Bowles ve ark., 1992b).

G5, *E.granulosus*'un bir suşu olsa da son yıllarda *E.ortleppi* adıyla farklı bir tür olarak kabul edilmesi yönündeki görüşler ağırlık kazanmaktadır (Thompson ve McManus, 2002).

2.2.2.6. Deve Suşu (G6)

Develerin Afrika ve Orta Doğu'da *E.granulosus*'un önemli arakonağı olması sebebiyle G6 bu bölgelerde oldukça yaygındır. Biyolojilerinde son konak olarak köpekler rol oynamaktadır. Deve kökenli izolatların morfolojisi ve köpeklerdeki gelişimi üzerine yapılan çalışmada, deve izolatlarının at ve koyun kökenli izolatlardan kolay bir şekilde ayrılabilirdiği ve çok farklı özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Bunun yanında develerden elde edilen parazitlerin çengellerinin sayısı ve büyüklüğü, koyun kökenlilere göre önemli farklılık göstermekte, büyük çengellerin uzunluğunun 35.4 µm, kısa çengellerin uzunluğunun da 28.8 µm olduğu belirtilmektedir. Parazit köpeklerde hızlı gelişmekte, protoskolekslerin alınmasından 35 gün sonra ortalama 2,2 mm boyutlarına ulaşmaktadır. Prepatent süresi yaklaşık olarak 40 gündür. Develerden başka keçi ve sığırların da arakonaklık yaptığı bildirilmiştir. Kistler daha çok akciğerlere yerleşmekte ve genellikle yüksek fertiliteye (>%90) sahip olmaktadır (Thompson ve Lymbery, 1988; Eckert ve ark., 1989; Wachira ve ark., 1993).

Bu suşun insan enfektivitesi çok azdır ve insanlarda ilk kez Arjantin'de tespit edilmiştir. Kenya'da 42 insan izolatu PZR-RFLP ile incelenmiş ve hiçbir örnekte deve suşuna rastlanmamıştır. Bundan dolayı, deve suşunun insan enfektivitesinde etkili olmadığı ya da çok az etkili olduğu düşünülmektedir. Fakat daha sonraki yıllarda Arjantin, İran ve Nepal gibi ülkelerde insanlarda G6 suşunun varlığı bildirilmiştir

(Wachira ve ark., 1993; Rosenzvit ve ark., 1999; Zhang ve ark., 2000; Harandi ve ark., 2002). G6 suşu genetik olarak G5 suşu ile benzerlik göstermekte ve G7 suşuyla da oldukça yakın genetik benzerlik göstermektedir (Bowles ve ark., 1992a; Bowles ve McManus, 1993a).

2.2.2.7. Domuz Suşu (G7)

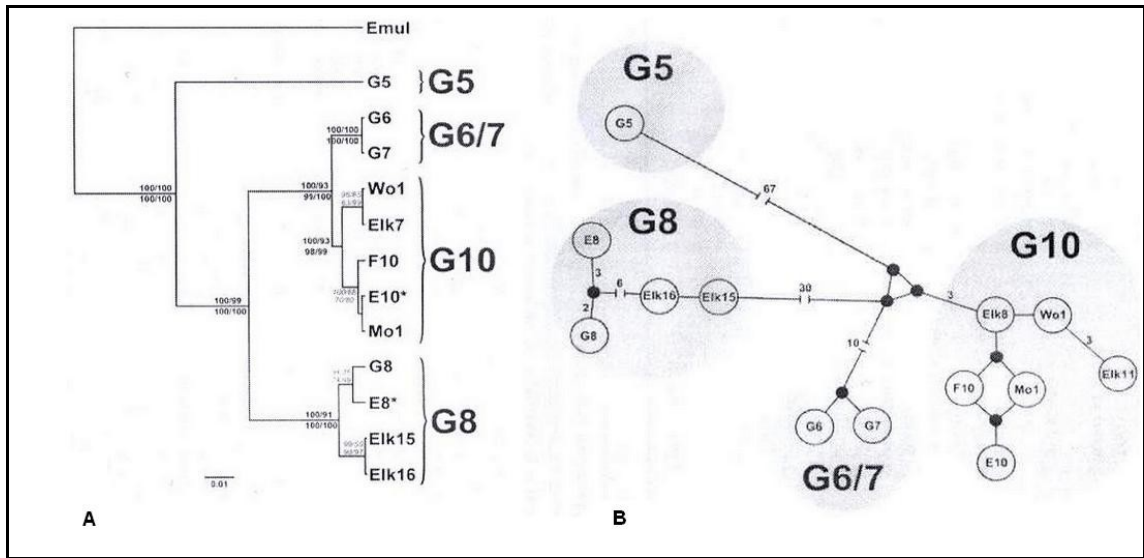
Polonya, Rusya ve diğer Doğu Avrupa ülkelerinde yapılan çalışmalar, domuz orjinli erişkin parazitlerin diğer izolatlardan morfolojik, biyolojik ve genetik olarak farklı olduğunu göstermiştir. Olgun halkalar, özellikle sığır ve at kökenli parazitlerle önemli farklılıklar gösterirken, koyun kökenli parazitlerle birçok benzerlikleri bulunmaktadır. Son konak köpeklerdeki gelişim süreçleri hızlıdır ve enfeksiyonu takiben 34. günlerde yumurta çıkışı olmaktadır. Bu süre G7 suşu ile enfekte köpeklere antiparaziter ilaçların daha kısa dönemlerle verilmesi gerektiğini göstermektedir. Kistlere daha çok domuzların karaciğerinde rastlanmaktadır. Doğal son konakları köpekler olmasına karşın, yabani karnivorlar da çembere dahil olabilmektedirler. İnsan enfektiviteleri ise düşüktür (Eckert ve ark., 1993; Eckert ve Thompson, 1997). Yapılan bir çalışmada Polonya'da insanlarda çok az sayıda da olsa G7 suşuna rastlanmıştır (Scott ve ark., 1997).

2.2.2.8. Geyik Suşu (G8) ve Fennoscandian Geyik Suşu (G10)

Geyikler, yabani hayvanlarda parazitin yaşam döngüsü açısından çok önemli arakonaklardır. Geyik suşu kuzey bölgelerde geniş bir yayılım göstermekte ve uygun koşullarda Kuzey Amerika ve Avrasya'nın bazı bölgelerinde görülebilmektedir. Daha önceleri G8 ayrı bir alt tür olarak kabul edilmiş ve *E.granulosus canadensis* olarak adlandırılmıştır. Suşun doğal çemberi avcı-av ilişkisi çerçevesinde, kurtlar ve Kanada geyiği, ren geyiği, alageyik gibi büyük geyik türleri arasında geçmektedir. Fakat Kanada, Alaska, Norveç, Sibirya ve İsviçre gibi bölgelerde evcil geyik ve köpekler de yaşam döngüsüne dahil olabilmektedirler. Domuz, koyun, sığır ve birçok kemirici türü bu suş için uygun olmayan arakonaklardır. İnsanları enfekte edebilmekte, daha çok akciğerlere yerleşmekle ve düşük patojenite göstermektedir (Eckert ve Thompson, 1988; Thompson ve Lymbery, 1988; Eckert ve Thompson, 1997).

Finlandiya’da beş geyikten elde edilen izolatların moleküler analizleri sonucunda, Finlandiya’daki geyik suşunun Amerikan geyik suşuna benzediği, fakat tüm suşlardan farklı olduğu belirtilerek buna Fennoscandian Geyik Suşu (G10) adı verilmiştir (Lavikainen ve ark., 2003).

Filogenetik çalışmalarla G8 ve G10 suşlarının, G6 ve G7 suşlarıyla oldukça yakın olduğu gösterilmiştir. Yaygın olan görüş, bu suşların *E.canadensis* (G6-G10) olarak sınıflandırılmasıdır. Bununla birlikte son yapılan filogenetik çalışmalarla G5 suşuyla da yakınlıkları nedeniyle bu beş suşun bir grup (G5-G10) olarak ele alınması yönündeki düşünce ağırlık kazanmaktadır (Şekil 1) (Lavikainen ve ark., 2003; 2006; Thompson ve ark., 2006; Moks ve ark., 2008).



Şekil 1. G5-G10 suşlarının yakınlıklarının besian ağacı (A) ve filogenetik network analizi (B) ile gösterilmesi (Moks ve ark., 2008).

2.2.2.9. İnsan Suşu (G9)

Polonyalı hastalardan aspirasyon tekniği ile elde edilen parazit materyalinin PZR-RFLP ve DNA dizileme teknikleri ile incelenmesi neticesinde hastaların tüm dünyada yaygın olan koyun suşu ile enfekte olmadıkları görülmüştür. Enfeksiyona neden olan etkenin daha önce belirlenen G7 suşuna büyük benzerlik gösterdiği, ancak ondan farklı bir suş olduğu anlaşılmış ve bu etkene G9 suşu adı verilmiştir (Scott ve ark., 1997).

2.2.2.10. Arslan Suşu

Echinococcus granulosus'un arslanlarda bulunması oldukça ilginçtir. Günümüze kadar evcil kediler üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda kedigillerin *E.granulosus*'a konaklık yapamayacağı düşünülmüşken, birçok Afrika ülkesinde av köpeği, sırtlan, çakal ve arslanda *E.granulosus*'a rastlanmıştır. Güney Afrika'da 15 vahşi kedi türünden birinin de *E. granulosus*'a konaklık yaptığı ortaya konmuştur. Afrika'daki bu durum vahşi kedilerde parazitlenen farklı bir suşun varlığını ortaya koymakta, ancak bu suşun evcil kedilerde enfeksiyona neden olup olmadığı bilinmemektedir. Ayrıca morfolojik farklılıklar yanında bu suşun arslan ve yaban domuzu arasında silvatic döngüye sahip olduğu ve köpekler için enfektif olmadığı bildirilmiştir. Bu özelliklerinden dolayı bu suşun taksonomik statüsünün gözden geçirilerek, tür düzeyinde *Echinococcus felidis* (Ortlepp, 1937) olarak adlandırılabilmesi belirtilmiştir (Thompson, 1979; Thompson ve Lymbery, 1988; Rausch, 1995; Eckert ve Thompson, 1997).

Uganda'da arslan dışkılarından elde edilen tenya tip yumurtaların mitokondrial ve nükleer DNA bölgelerinin dizi analizleri yapılmış, elde edilen DNA'ların *Echinococcus* türleri ile benzerlik gösterdiği, fakat mitokondrial genlerdeki büyük farklılığın ayrı bir türün varlığına işaret ettiği anlaşılmıştır. İkinci aşamada, yaklaşık 40 yıl önce Güney Afrika'da kedigillerden elde edilen erişkin *E.granulosus* türleri ile bu örnekler karşılaştırılmış, erişkin parazitlerden elde edilen tüm DNA parçaları (<200 bp) Uganda örnekleri ile %100 benzerlik göstermiştir. *Echinococcus*'un filogenetik sınıflandırılmasında *E.felidis*, *E.granulosus* sensu stricto'nun kardeşi olarak yerini almıştır (Hüttner ve ark., 2008).

2.2.2.11. Tavşan Suşu

Arjantin’de parazitin erişkin formları *Dusicyon* cinsine bağlı tilki benzeri kanidelerde ve metasestod formları ise Avrupa yaban tavşanlarında görülmüştür. 1972 yılına kadar tavşanların *E.granulosus* için uygun arakonak olmadıkları düşünülmekte, fakat bunun aksine diğer taenid sestodlara da arakonaklık yaptıkları bilinmekteydi. Arjantin’de yapılan bir çalışmada (Schantz ve Lord, 1972) 71 Avrupa tavşanı (*Lepus europaeus*)’ndan dördü enfekte bulunmuş ve bu döngünün zoonotik önemi üzerinde durulmuştur. Bu bölgedeki tilkiler ile tavşanlar arasında gerçek bir silvatik suşun bulunup bulunmadığı ve enfeksiyonun parazitin koyun suşunu taşıyan evcil köpeklerden kaynaklanıp kaynaklanmadığının açıklığa kavuşturulması gerekmektedir. Tüm bunlarla birlikte parazitin tavşanları enfekte edebilme kabiliyeti önemlidir ve bu konuda ilave çalışmalara gereksinim duyulmaktadır (Thompson ve Lymbery, 1988; Eckert ve Thompson, 1997).

2.3. MORFOLOJİ

Morfolojik olarak *Echinococcus* cinsi *Taenia* ailesindeki diğer cinslere göre farklı özellikler göstermektedir. Erişkin bir *Echinococcus*, birkaç milimetre uzunluğunda olup altıdan fazla halkaya sahip olmazken; diğer *Taenia* türleri birkaç metre uzunluğa ulaşabilir ve birkaç bin halkaya sahip olabilirler (Thompson ve McManus, 2001).

2.3.1. Erişkin Ekinokoklar

Echinococcus türlerinin morfolojik özellikleri farklı olduğundan tür ayırımında bu özelliklerden yararlanılmaktadır. Bu türlere ait genel morfolojik özellikler Tablo 2’de gösterilmiştir.

<i>E. granulosus</i>	<i>E. multilocularis</i>	<i>E. oligarthus</i>	<i>E. vogeli</i>	<i>E. shiquicus</i>
2-11	1,2-4,5	2,2-2,9	3,9-5,5	1,3-7
Kozmopolit	Amerika Orta ve Kuzey Avrasya, Kuzey	Orta ve Güney Amerika	Orta ve Güney Amerika	Çin-Tibet Bölgesi
Köpek ve köpekçiller	Tilkiler, köpekçiller ve kedigiller	Vahşi kedigiller	Vahşi köpek	Tibet tilkisi
Birçok memeli hayvan r ve insan	Kemirgenler, insan	Sıçan	Sıçan, insan	Islıklı tavşan
Uniloküler (kist)	Multiveziküler (kist)	Polikistik	Polikistik	Uniloküler (kist)
Viseral (karaciğer, akciğer)	Viseral (karaciğer)	Periferik, kas ve viseral	Viseral (karaciğer)	Viseral (karaciğer, akciğer)
30-60	14-34	26-40	28-36	18-34
32,0-42,0 (25,0-49,0)	31,0 (24,9-34,0)	52,0 (43,0-60,0)	53,0 (49,0-57,0)	20,0-23,0
22,6-27,8 (17,0-31,0)	27,0 (20,4-31,0)	39,0 (28,0-45,0)	42,6 (30,0-47,0)	16,0-17,0
3 (2-7)	5 (2-6)	3	3	2-3
2,0-11,0	1,2-4,5	2,2-2,9	3,9-5,5	1,0-1,42
Ortaya yakın	Ortanın önünde	Ortanın önünde	Ortanın arkasında	Üst kenara yakın
Ortanın arkasında	Ortanın önünde	Ortada	Ortanın arkasında	Ortanın önünde
32-68 (25-80)	18-26 (16-35)	29 (15-46)	56 (50-67)	12-20
Genital deliğin çoğunlukla arkasında	Çoğunlukla arkada	Çoğunlukla arkada	Çoğunlukla arkada	Çoğunlukla arkada
Sondan bir önceki	Sondan iki önceki	Sondan iki önceki	Sondan bir önceki	Sondan bir önceki
Yanlara dallanmış	Kese şeklinde	Kese şeklinde	Uzun, tubüler ve kese	Kese şeklinde
1:0,86-1,30	1:0,31-0,8	1:0,96-1,10	1:1,90-3,00	-

2006) **Tablo 2.** *Echinococcus* türlerinin karşılaştırmalı özellikleri (Thompson 1995; Thompson ve McManus 2001; Xiao ve ark., 2005; Xiao ve ark.,

Strobila uzunluğu (mm)
Coğrafik dağılım
Son konak
Arakonak
Metasestod tipi
Metasestod lokalizasyonu
Çengel sayısı
Büyük çengellerin ortalama uzunluğu (µm)
Küçük çengellerin ortalama uzunluğu (µm)
Ortalama segment sayısı
Halkaların toplam uzunluğu
Genital deliğin yeri
Olgun halka
Gebe halka
Ortalama testis sayısı
Testislerin dağılımı
Erişkin segmentin pozisyonu
Uterus yapısı
Strobilanın ön kısmının gebe halkaya oranı

2.3.1.1. *Echinococcus granulosus*

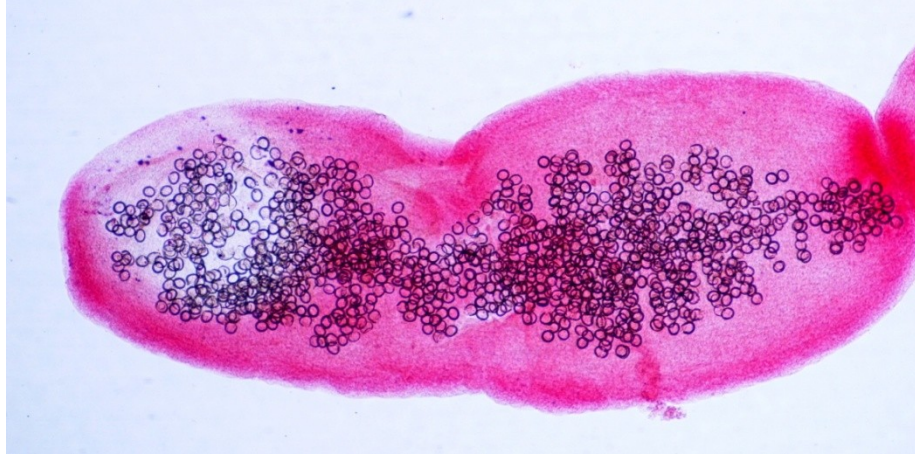
Erişkin *E.granulosus*'un uzunluğu 2-7 mm olup nadiren 11 mm'yi bulabilmektedir. Vücudu genç, olgun ve gebe olmak üzere 3 (2-7) halkadan

oluşmaktadır (Şekil 2). Skoleksin çapı 0,26-0,36 mm'dir ve 0,10-0,13 mm çapında 4 kaslı çekmene sahiptir. Rostellumda iki sıra halinde dizilmiş 30-60 çengel bulunmaktadır. Ön sıradaki çengeller büyük ve 25-49 µm, arka sıradaki çengeller ise daha küçük ve 17-31 µm uzunluğundadır. Olgun halkanın boyu, eninin iki katı kadar olup genital organları gelişmiş durumdadır.



Şekil 2. Erişkin *Echinococcus granulosus* (orjinal)

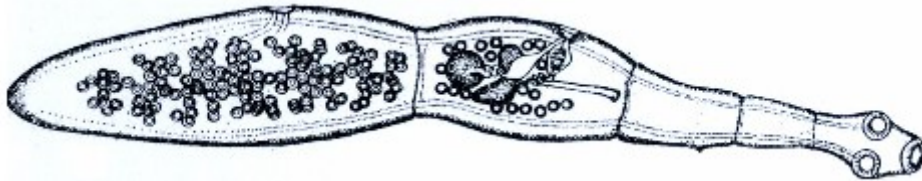
Dişi dölerme organları halkanın arka üçte birinde bulunmaktadır. Böbrek şeklindeki ovaryum halkanın ortasında yer almaktadır. Genital delik halkanın bir tarafında olup, halkanın daha çok arka yarısında, seyrek olarak da ortasına yakın dışarı açılmaktadır. Sayısı genellikle 25-80 arasında değişen testisler ise genital deliğin ön ve arka kısmında bulunmaktadır. Gebe halka olarak adlandırılan son halka 1,02-3,2 mm uzunluğunda olup, parazitin toplam uzunluğunun yarısı kadar veya daha büyüktür. Uterus halkanın içinde boylu boyunca uzanmakta, yanlara değişik sayıda kısa ve kör dallar vermektedir. İçerisinde yaklaşık 200-800 yumurta bulunmaktadır (Şekil 3) (Dunn, 1978; Güralp, 1981; Merdivenci ve Aydınlioğlu, 1982; Tiğın ve ark., 1991; Şenlik ve Diker, 2004).



Şekil 3. *Echinococcus granulosus* gebe halka (orjinal)

2.3.1.2. *Echinococcus multilocularis*

Echinococcus multilocularis, *E.granulosus*'a büyük benzerlik göstermesine karşın aralarında küçük farklılıklar vardır. Erişkin formu 1,2-4,5 mm arasında olup genellikle 4-5 halkaya sahiptir. Skoleksin çapı 0,24-0,29 mm kadardır. Skoleks çengelleri *E.granulosus*'un çengellerinden daha az sayıda ve daha küçüktür. İki sıra halinde dizili olan çengellerin sayısı 14-34 arasında değişmektedir. Önde bulunan büyük çengeller 24,9-34 µm, arkada bulunan küçük çengeller ise 20,4-31 µm boyutlarındadır. Skolekste üzerleri düz olan 0,105-0,125 mm çapında dört yuvarlak çekmen bulunmaktadır. 2-6 halkadan oluşan vücutta, son halka gebe, önceki halkalar olgun ve genç halkalardır (Şekil 4). Ovaryum, vitellus bezi, uterus ve testisler iki yana paralel uzanmış olarak boşaltım borucuklarının arasında bulunmaktadır. Genital delik tek taraflı olarak dışarı açılmakta ve halkanın ön yarısında yer almaktadır. Genellikle genital deliğin arka kısmında 16-35 testis bulunur. Üzüm salkımı şeklinde olan ovaryum iki büyük loptan oluşmaktadır. Vagina genital deliğin alt kısmına açılmaktadır. Gebe halkanın uzunluğu 0,44-1,11 mm'dir. Torba biçimindeki uterusda 250-400 adet yumurta bulunmaktadır (Soulsby, 1986; Tiğın ve ark, 1991; Thompson, 1995).



Şekil 4. Erişkin *Echinococcus multilocularis* (Merdivenci ve Aydınlioğlu, 1982)

2.3.1.3. *Echinococcus vogeli*

Parazitin uzunluğu 3,9-5,5 mm ve skoleksde 28-36 adet engel bulunmaktadı. Büyük çengeller 49-57 μm , küçük çengeller 30-47 μm uzunluğundadır. İlk halka küçük olup genişliği uzunluğundan fazladır ve vct toplam 3 halkadan oluşmaktadı (şekil 5). Olgun halka dikdörtgen şeklinde olup kenarları birbirine paralel seyretmektedir. İlk halkadan farklı olarak olgun halkanın boyu eninden daha fazladır. Testis sayısı 50-67 arasında değişmekte ve çoğunluğu genital deliğin arkasında yer almaktadır. Genital delik de halkanın arka yarısında bulunmaktadı. Uterus boru şeklinde, yanlara dallanma ve genişleme yapmamaktadır. İnce ve uzun olan gebe halka 2,94-4,2 mm uzunluğunda ve yaklaşık 400-500 yumurta içermektedir (Soulsby, 1986; Tiğin ve ark, 1991; Thompson, 1995; şenlik, 2004a).



şekil 5. Erişkin *Echinococcus vogeli*'ler (Anon.2008b)

2.3.1.4. *Echinococcus oligarthrus*

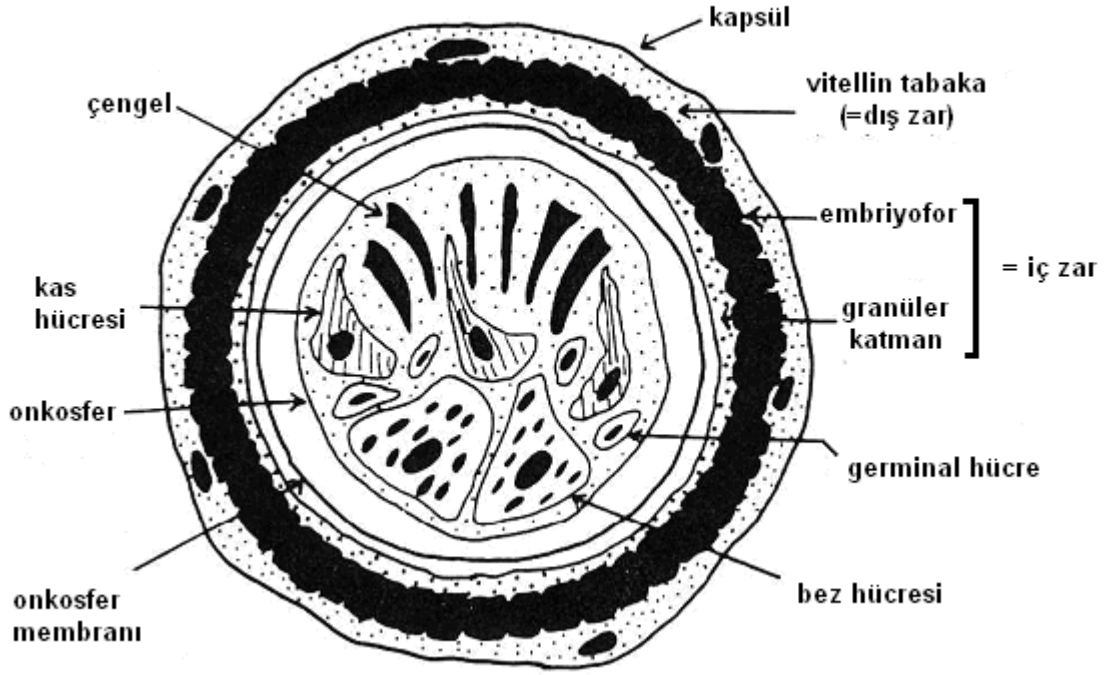
Erişkin parazit 3 halkalı ve 2,2-2,9 mm uzunluğundadır. Skoleksinde 26-40 adet engel taşımaktadır. engeller genel olarak *E.vogeli*'ye göre küçük, *E.granulosus* ve *E.multilocularis*'e göre ise büyüktür. Büyük çengeller 43-60 μm , küçük çengeller 28-45 μm uzunluğundadır. Genital delik olgun ve gebe halkanın ortasında ya da n yarısında yer almaktadır. Testisler 15-46 adet ve çoğunlukla genital deliğin arka kısmında bulunmaktadı. Uterus kese şeklinde olup, yanlara dallanma yapmamaktadır (Soulsby, 1986; Thompson, 1995; şenlik ve Diker, 2004).

2.3.1.5. *Echinococcus shiquicus*

Çin'in Tibet bölgesinde 2005 yılında moleküler ve morfolojik olarak tanımlanmış olan bu yeni tür 1,3-1,7 mm uzunluğundadır. Erişkin parazite iki farklı formda rastlanmış olup, biri 2 diğeri ise 3 halkalıdır. Skolekstekki büyük çengeller 20-23 µm, küçük çengeller ise 16-17 µm uzunluktadır. Genital delik olgun ve gebe halkanın ön kısmında dışarı açılmaktadır. Testisler 12-20 adet ve 25-45 µm çapındadırlar. Testislerin çoğu vitellojen bezlerin arkasında yer almasına karşın bir kısmı da genital deliğin ön tarafında bulunmaktadır. Uterus dallanma yapmaz, kese şeklinde ve gebe halkanın son 1/3'üne kadar uzanmaktadır. Gebe halkadaki yumurta sayısı 3-94 adet olup, 34-40 µm çapındadırlar (Xiao ve ark., 2005; Xiao ve ark., 2006).

2.3.2. Yumurta

Ekinokok cinsine ait yumurtalar Taeniidae ailesine bağlı diğer türlerin yumurtalarına benzemekte ve normal ışık mikroskopunda ayırım yapılamamaktadır. Yumurtalar yuvarlak veya hafif oval, 22-36 X 25-50 µm ölçülerindedir (Şekil 6). Yumurtalarda 3 çift çengelli onkosfer mevcuttur. Radial çizgili ve kalın bir embriyofor onkosferi çevrelemektedir. Bu tabaka embriyonun dış etkilerden korunmasında oldukça etkilidir. En dışta ise ince yapılı ve kolay parçalanabilen kapsül bulunmaktadır. Bu nedenle dışkıda bulunan Ekinokok yumurtalarında genellikle kapsül görülmemektedir (Güralp, 1981; Soulsby, 1986; Thompson, 1995; Şenlik ve Diker, 2004).



Şekil 6. *Echinococcus granulosus* yumurtası (Thompson ve McManus, 2001)

Yumurtalar dışkıyla atıldığında içinde onkosfer gelişmiştir ve dış ortama oldukça dayanıklıdır. Güneş ışınlarına ve kuraklığa ise çok hassastırlar. *E.granulosus* yumurtaları 2°C’de 1,5-2 yıl canlı kalabilmekte ve enfektivitelerini koruyabilmektedir. *E.multilocularis* yumurtaları ise çevre koşullarına *E. granulosus* yumurtalarından daha dayanıklı olup donma derecesinin altındaki sıcaklıklarda dahi canlılıklarını uzun süre koruyabilmektedir. Bu yüzden *E.multilocularis*’e soğuk iklimlerde daha çok rastlanmaktadır (Merdivenci ve Aydınlioğlu, 1982; Thompson, 1995; Kassai, 1999).

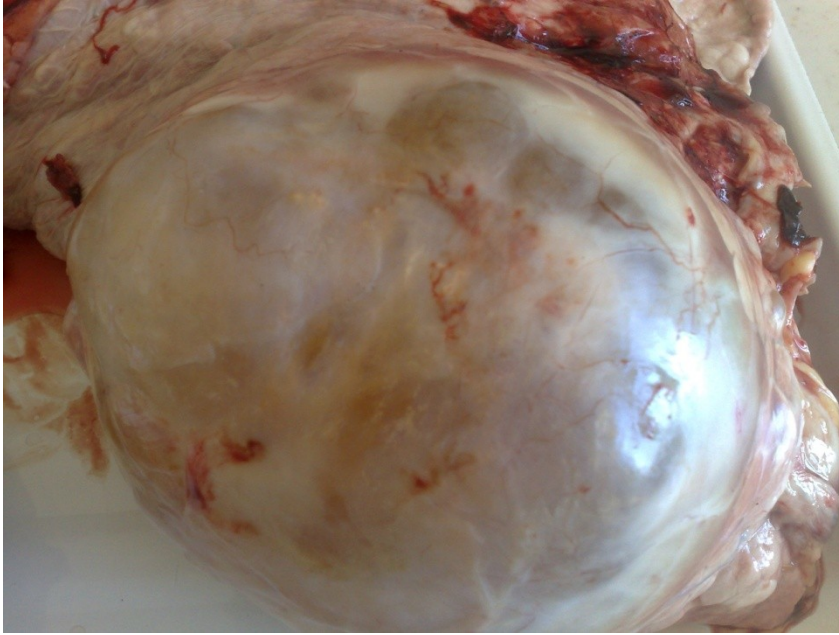
2.3.3. Larval Form (Metasestod)

Ekinokokların larval formları (metasestod) türlere göre farklılıklar göstermekte olup bu formlar hidatid kist, alveolar kist ve polikistik kist şeklindedir. Arakonaklarda *E.granulosus* metasestodlarının yaptığı hastalığa kistik ekinokozis, *E.multilocularis* metasestodlarının yaptığı hastalığa alveolar ekinokozis, *E.oligarthrus* ve *E.vogeli*

metasestodlarının yaptığı hastalığa ise polikistik ekinokozis adı verilmektedir (Soulsby, 1986; Şenlik ve Diker, 2004).

2.3.3.1. *Echinococcus granulosus* Metasestodu

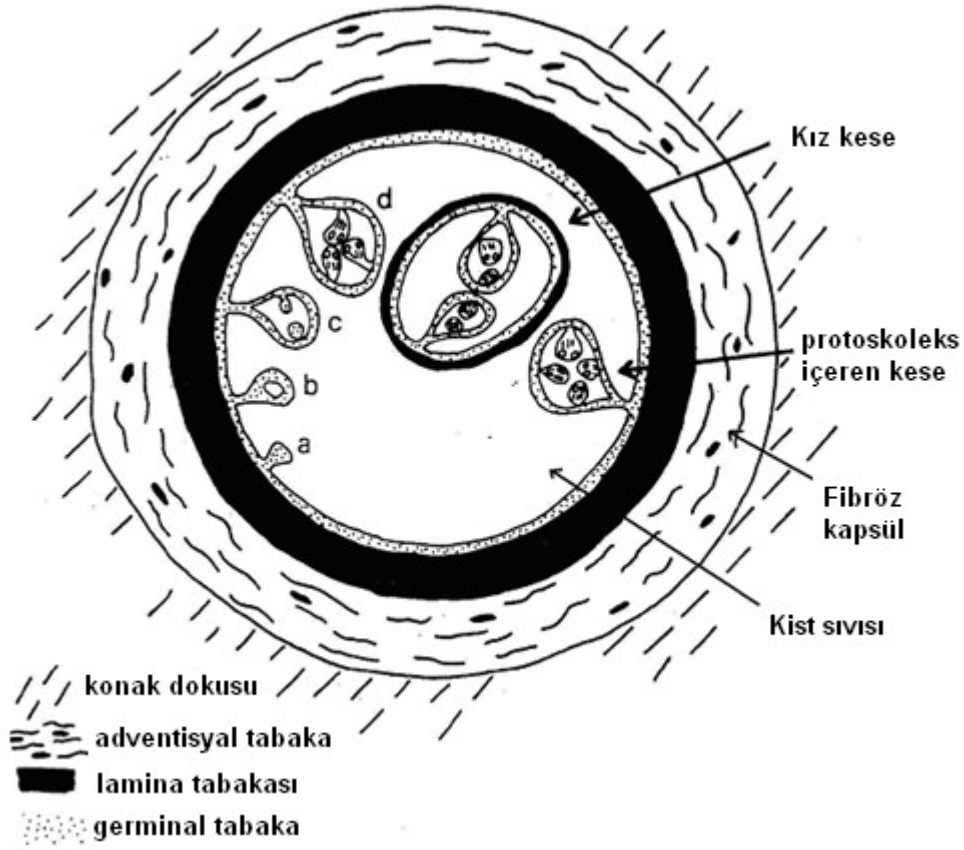
Hidatid kist Ekinokok türleri içerisinde en basit yapıları larva şeklindedir. Bu kistler makroskopik olarak uniloküler (univeziküler) ve multikistik (multiveziküler) olmak üzere iki şekilde görülmektedirler. Uniloküler kistler, içerisinde çok sayıda kız kese bulunabilen ve tek tek yerleşim gösteren keseler biçimindedir. Multikistik formlar ise bir kistin dışarı doğru birbirine yapışık ve bağımsız çok sayıda kız keseler oluşturduğu bir yapıdır. Kistler yerleştikleri organa göre farklı büyüklüklerde olabilmektedirler (Şekil 7).



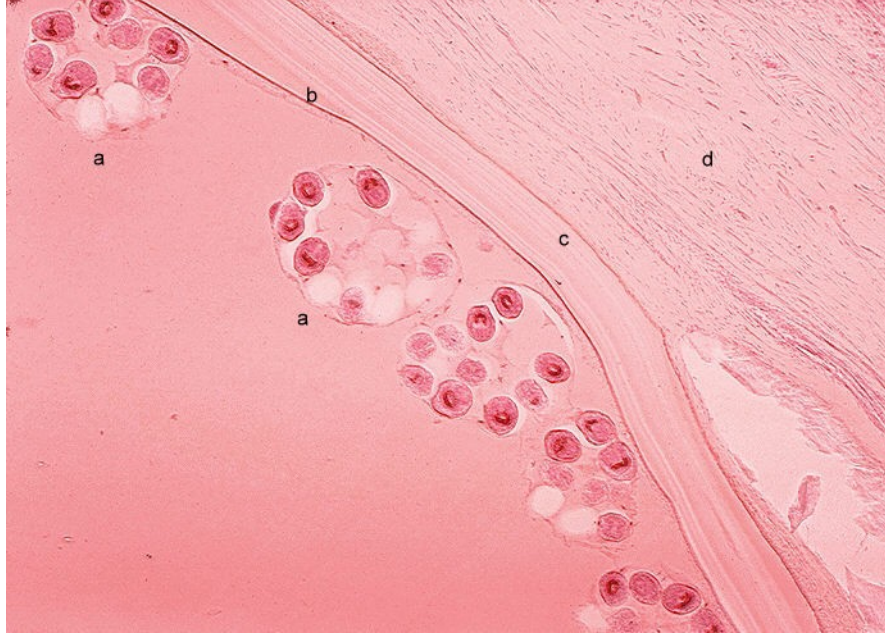
Şekil 7. Akciğerde Kist Hidatid (orjinal)

Uniloküler kistler genellikle insan ve koyunda, multiveziküler kistler ise daha çok sığırlarda görülmektedir. Kist içerisinde bulunan sıvı akıcı, berrak ve açık sarı renktedir.

Bu larva tipi; a) Vücudun kiste karşı gösterdiği reaksiyon sonucu konak tarafından oluşturulan ve kisti çevreleyen fibröz tabaka, b) Altında lamina tabakası, c) İçte germinal tabaka, d) Germinal membranla bağlantılı skoleksler, e) Germinal tabakadan kopmuş serbest yüzen protoskoleksler, f) Germinal tabakaya bağlantılı üreyici kapsüller, g) Germinal tabakadan kopmuş serbest yüzen üreyici kapsüller, h) Serbest üreyici kapsüllerin gelişmesi sonucu meydana gelen keseler, i) Kist sıvısından oluşmaktadır (Şekil 8-9) (Güralp, 1981; Merdivenci ve Aydınlioğlu, 1982; Soulsby, 1986; Symth, 1994; Thompson, 1995; Kassai, 1999).



Şekil 8. Hidatid kistin şematik yapısı (Thompson, 1995)

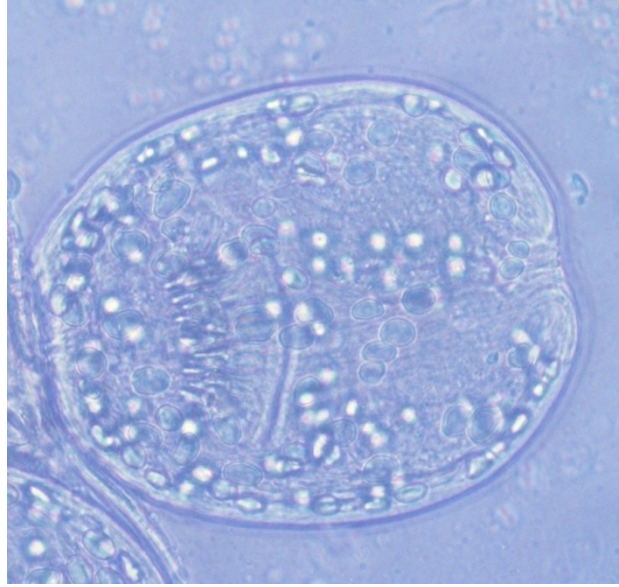


Şekil 9. Karaciğerde hidatid kistin kesiti (Anon.2010)
a: Protoskoleks, **b:** Germinal tabaka, **c:** Lamina tabakası, **d:** Karaciğer dokusu

Germinal membran (çimlenme zarı), erişkin parazitin tegümenti ile aynı yapısal özellikleri gösterir. Tegüment kas, glikojen depolayıcı ve farklılaşmış hücrelerden oluşur ve kistin iç yüzeyini örter. 10-25 µm kalınlığında, süt beyazı veya sarımsı beyaz renktedir. Germinal tabakanın aseksüel proliferasyonu ve kapsül oluşumu çoğunlukla içe doğru gelişir. Bazen kist duvarının delinmesi sonucu, dışa doğru büyüyerek de dış keseleri oluşturabilirler. Kistin içini dolduran hidatid sıvı antijenik özelliği yüksek ve berrak bir sıvıdır. Kız keseler, protoskoleksler ve üreme kapsülleri hidatid sıvıda çökerek birikebilir ve bu yapıya “hidatid kumu” adı verilmektedir. Kist içerisinde protoskolekslerin çekmen, rostellum ve çengellerin bulunduğu ön kısmı invagine durumda olup uygun ortamda evaginasyona kadar dış etkilerden korunmaktadır. İçinde üreme kapsülleri, protoskoleks ve kız kese görülmeyen kistlere steril, protoskoleks taşıyanlara ise fertil kist denmektedir. Yaşlı hayvanlarda daha çok steril kistler bulunmaktadır. Genel olarak koyunlarda bulunan kistler fertil iken, sığırlardakiler ise çoğunlukla sterildir (Üner, 1991; Symth, 1994; Thompson, 1995; Kassai, 1999).

Protoskoleksler oval biçimdedir (Şekil 10). Boyu 0.14-0.16 mm, eni 0.10-0.12 mm'dir. İnvagine biçimde olup amip benzeri hareket ederler. Ortasında 4 çekmen ve iki

sıra dizilmiş 34-38 çengel vardır. Çeperi ince ve saydamdır. Bir cm^3 'lük hidatid sıvısında yaklaşık 400.000 protoskoleks bulunabilmektedir (Merdivenci, 1976).



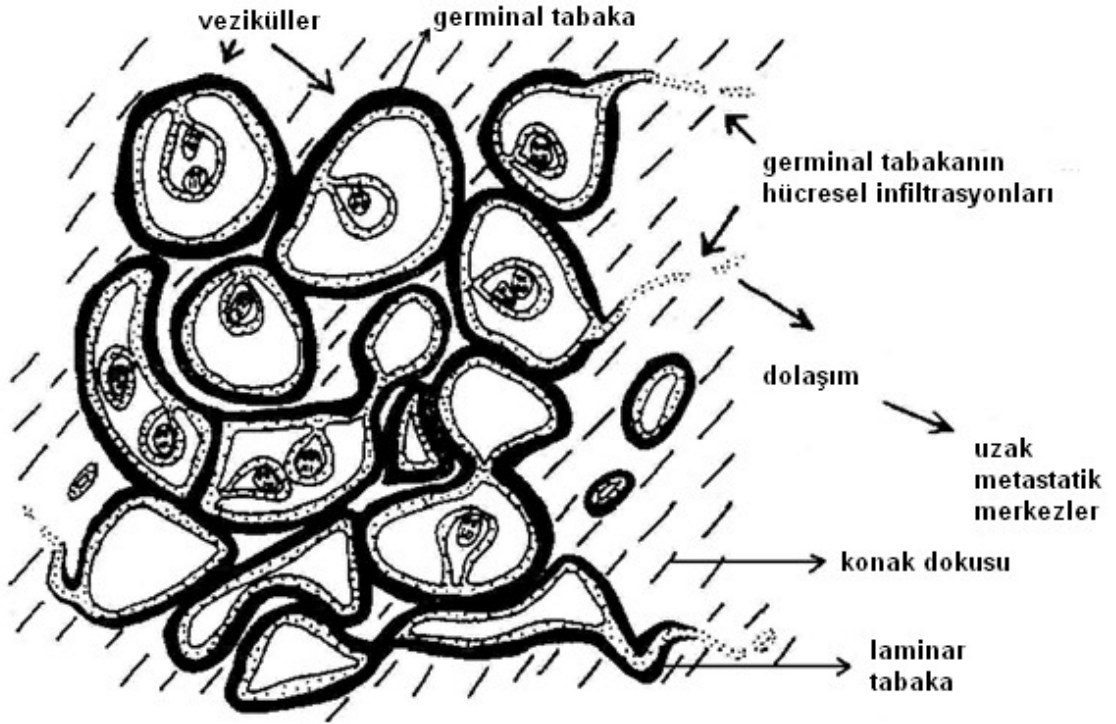
Şekil 10. Protoskoleks (orjinal)

Lamina tabakası germinal tabakadan oluşmaktadır. Çok sayıda kütikül katlarına sahip, esnek, dayanıklı, hücresiz (aselüler) bir tabakadır. Parazit ve konağın hem bağışıklık hücreleri, hem de doku hücreleri ile etkileşimde bulunmakta ve konak-parazit immun yanıtında etkili olmaktadır. Lamina tabakası ayrıca, kistin etrafını sıkıca sararak iç basınç oluşmasına neden olmakta ve bakteriler için filtre görevi görürken, immunoglobulinlerin de geçişine izin vermektedir (Merdivenci ve Aydınlioğlu, 1982; Thompson, 1995; Şenlik ve Diker, 2004).

Adventisyal tabaka (fibröz kapsül) post-onkosferal gelişmenin ilk dönemlerinde oluşmaya başlar. Beyaz renkte ve mukopolisakkarit yapıdadır. Koruyucu fonksiyonunun yanında besin geçişi ve metabolizma artıklarının atılımında da görev yapmaktadır (Merdivenci ve Aydınlioğlu, 1982).

2.3.3.2. *Echinococcus multilocularis* Metasestodu

Echinococcus granulosus metasestoduna göre oldukça farklı ve karmaşık bir yapıya sahiptir. Multiloküler veya alveoler kist olarak adlandırılır. Multiveziküler ve infiltratif bir yapıda olup, çok sayıda küçük veziküllerden ve yoğun bağ dokudan oluşmuştur (Şekil 11). Lamina tabakası iyi gelişmemiş olup çok incedir. Kistler birbiriyle bağlantılı boşluklara sahiptir. Bu nedenle bir sünger manzarasıdır. Kistin içerisinde kist sıvısı yerine jelimsi bir madde bulunmaktadır. Kistlerin etrafını saran fibröz (adventisyal) tabaka yoktur. Bu nedenle organ ve doku boşluklarının içine kolayca yayılır ve diğer organlara metastazlar yapabilir (Üner, 1991; Thompson, 1995; Kassai, 1999; Toparlak ve Tüzer, 1999; Thompson ve McManus, 2001).



Şekil 11. Alveoler kistin yapısı (Thompson, 1995)

Alveoler kistler, insanda genelde karaciğerde görülür, ancak kistlerin gelişimi oldukça yavaştır. Kist kitle olarak büyüdükçe merkezde kalan kısım ölür ve zamanla dejenere olur (Kassai, 1999).

2.3.3.3. *Echinococcus vogeli* ve *E.oligarthrus* Metasestodu

Bu parazitlere ait metasestodlar polikistik yapıda olup sıvı dolu kistlerin bölünmesiyle oluşurlar. *E.granulosus* ve *E.multilocularis*'in gelişimsel ve yapısal özelliklerini göstermektedirler. *E.vogeli*, çapı 2-80 mm arasında değişen kistler oluşturur. Bu kistler tek tek veya küçük gruplar halinde olabileceği gibi ayrı ayrı ve büyük gruplar halinde de olabilir. *E.oligarthrus* kistleri ise daha az boşluktan oluşur ve lamina tabakası daha incedir (Üner, 1991; Thompson, 1995).

2.3.3.4. *Echinococcus shiquicus* Metasestodu

Bu türün larva formları yaklaşık 10 mm çapında ve uniloküler yapıdadır. Sadece bir olguda oligoveziküler forma rastlanmıştır. Genellikle karaciğere yerleşmekle birlikte akciğerde de bulunabilmektedir. Erişkin formu *E.multilocularis*'e benzemesine rağmen larva formu oldukça farklı yapıya sahiptir. Kistler içerisinde kız kese bulunmamaktadır (Xiao ve ark., 2005).

2.4. BİYOLOJİ

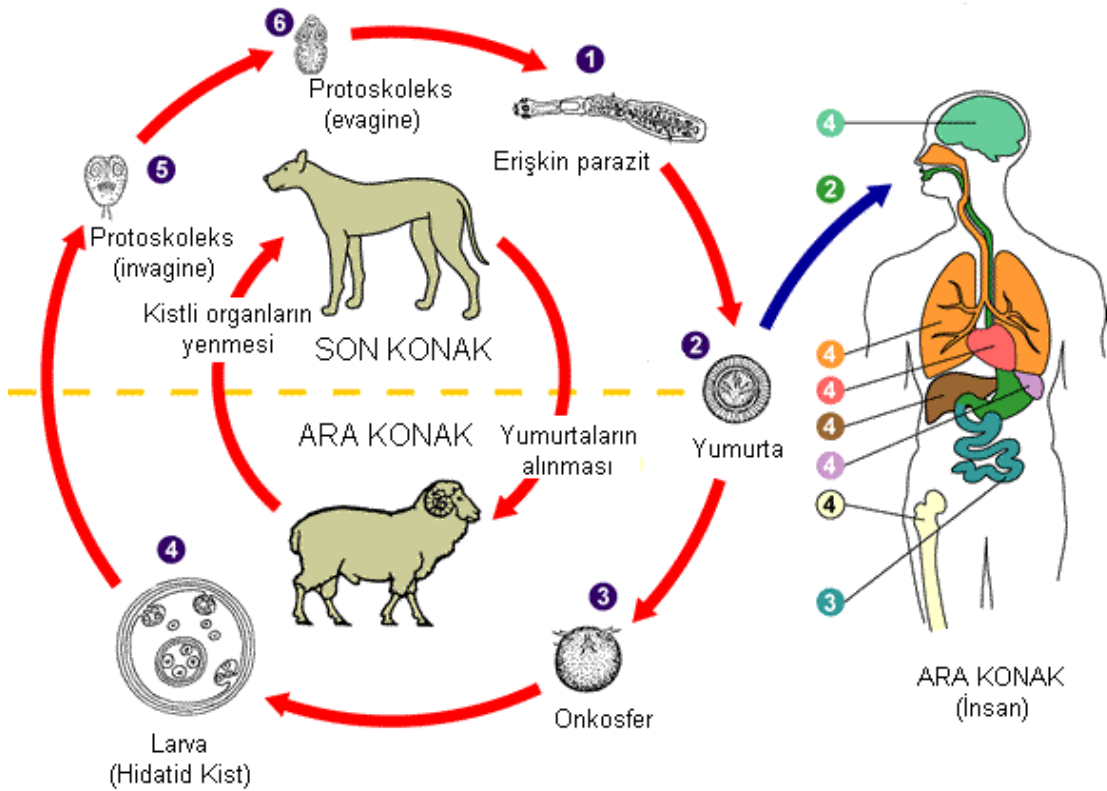
Biyolojik çemberde iki memeli konağa ihtiyaç duyulur ve türlerin genel yaşam döngüleri birbirlerine oldukça benzemektedir. Parazitin erişkin formu kesin konak olan karnivorların ince bağırsaklarında, metasestodlar ise arakonakların iç organlarında bulunmaktadır. Türlerle ait konak farklılıkları Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Ekinokok türlerine ait konak farklılıkları (Xiao ve ark., 2005; Ayaz ve Tınar, 2006)

Parazit	Son konak	Arakonak
<i>E.granulosus</i>	Köpek, kurt, çakal ve diğer karnivorlar	Koyun, keçi, sığır, domuz, insan ve birçok memeli hayvan
<i>E.multilocularis</i>	Tilki nadiren köpek ve kedi	Başta tarla fareleri olmak üzere kemiriciler ve insan
<i>E.vogeli</i>	Yabani ve evcil köpek	Kemirici ve nadiren insan
<i>E.oligarthrus</i>	Kedigiller (Jaguar, puma ve yabani kedigiller)	Kemiriciler
<i>E.shiquicus</i>	Tilki	Islıklı tavşan (<i>Ochotona curzoniae</i>)

Echinococcus granulosus'un erginleri köpek, kurt ve çakal başta olmak üzere karnivorlarda bulunmaktadır. Son konaklar dışkılarıyla günde bir gebe halkayı dışarıya atarlar. Halkanın parçalanması veya erimesiyle etrafa dağılan yumurtalar arakonaklar tarafından yem ve suyla alınarak ince bağırsaklara gelir. Az da olsa yumurtanın yapıştığı tozların solunmasıyla enfeksiyona yakalanma ihtimali vardır. Onkosferler pepsin, pankreas, safra ve bağırsak salgılarının etkisiyle serbest kalır (heksakant embriyo), ince bağırsak çeperini delerek kan dolaşımına girer ve vücudun değişik organlarına geçerler. Arakonakları insan, evcil memeliler ve birçok yabani hayvanlardır. Bu hayvanların iç organlarına yerleşen onkosferler gelişerek kist formunu oluştururlar (Şekil 12). Bu yapıya “kist hidatid” veya “hidatik kist” denmektedir. Onkosfer vena porta ile karaciğere gelir. İlk karşılaştığı büyük kılcal damar ağına sahip organ olmasından dolayı, hastalık karaciğerde daha çok görülmektedir. Buraları aşabilen onkosferler vena cava inferior ile sağ kalbe, oradan da akciğere giderler. Burada tutunamayanlar ise sol kalbe dönerek sistemik dolaşıma ulaşmakta ve merkezi sinir sistemi, göz, kemik iliği boşlukları, böbrek ve pankreas gibi birçok doku ve organa yerleşebilmektedirler. Parazit tutunduğu organda bir vezikül oluşturur. Bu vezikül dördüncü günde 40-50 µm'ye, 20. günde 250 µm'ye ulaşır ve etrafında adventisyal bir tabaka meydana gelir. Beşinci ayda kistin çapı bir cm'ye ulaşır ve etrafında ikinci bir

zar olarak germinatif membran şekillenir. Bundan sonra büyüme hızlanır ve bir yıl sonunda kistlerin çapı 2 cm'yi geçer. İçlerinde protoskoleks ve üreme kapsülleri oluşması beş ayı bulmaktadır. 10 yıl boyunca gelişimini yavaş yavaş sürdürür ve litrelerce sıvı ihtiva edebilmektedir. Kistler yerleştikleri doku ve organlara göre şekil ve büyüklük alırlar. Karaciğerde oluşan kistler belli boyutlarda sınırlı kalabilirken, periton boşluğu gibi yumuşak dokulardaki kistler daha büyük çaplara ulaşabilmektedir (Merdivenci, 1976; Güralp, 1981; Tiğin ve ark., 1991;Thompson ve McManus, 2001; Ayaz ve Tınar, 2006; Şenlik, 2004a).

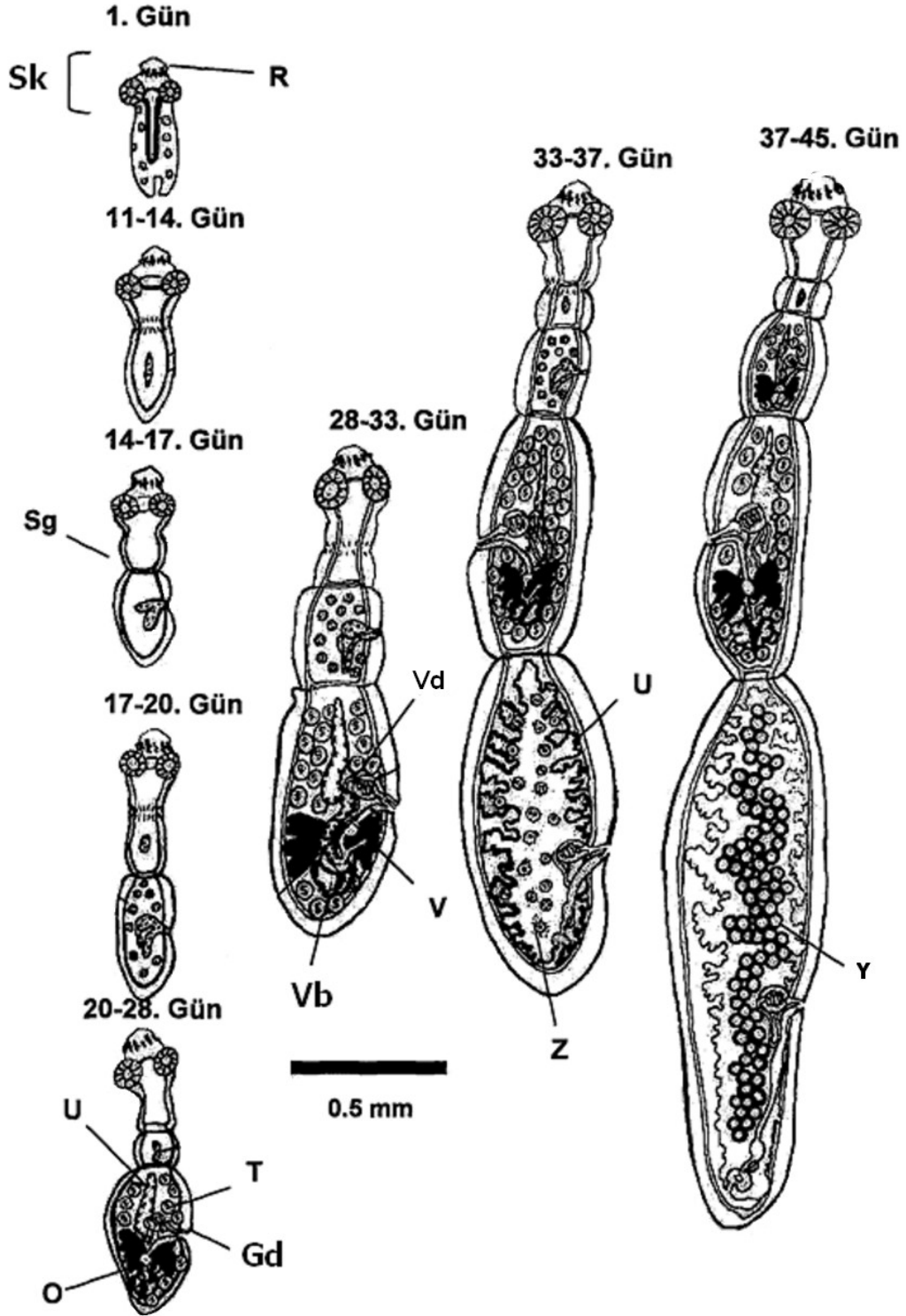


Şekil 12. *Echinococcus granulosus*'un yaşam çemberi. 1-Ergin parazit (ince bağırsakta), 2-Yumurta, 3-Onkosfer, 4-Larva, 5-İnvagine protoskoleks, 6-Evagine protoskoleks (Anon.2008a).

Son konaklar protoskoleks taşıyan fertil kistleri yiyerek enfekte olmaktadır. Çünkü kistlerde her zaman protoskoleks bulunmamakta, bunların bazıları steril kalmaktadır. Skoleksler ilk gün içinde pepsin, safra ve pH etkisiyle evagine olup ince bağırsak villusları arasına sokulurlar. Skolekslerde 11-14'üncü günde Ca cisimcikleri kaybolup, boşaltı kanalları belirginleşir. 14-17. günlerde ilk halka, 17-20. günlerde

ikinci halka, 33-37. günlerde üçüncü ya da dördüncü halka şekillenmiş olur. 34-58 gün sonra yumurta üretimi başlar ve en az 64 gün devam eder. 6-8 hafta sonunda parazitler gelişimlerini tamamlar ve gebe halkada olgunlaşmış yumurtalar bulunur (Şekil 13). Halkalar 70-95. günden sonra kopmaya başlar ve dışkıyla dışarı atılırlar. Erişkin parazit köpeğin bağırsağında iki yıl veya daha uzun süre yaşayabilmektedir. Atılan halkalar kendi hareketleriyle dışkıdan 5-20 cm uzaklığa gidebilirler (Merdivenci, 1976; Tiğın ve ark., 1991; Thompson, 1995; Derbala ve El Massry, 1998; Şenlik, 2004a).

Türlerin yaşam döngülerinde bazı farklılıklar vardır. *E.multilocularis* 'te kist içinde protoskoleks oluşumu 2-4 ay kadar sürmektedir. Bu kistleri yiyen son konakların bağırsaklarında evagine olan protoskolekslerin gelişmesi 25-38 günde tamamlanmaktadır. Olgun parazitlerin yumurta üretimi enfeksiyondan 28-35 gün sonra başlamakta ve yumurta üretimi 1,5-4 ay kadar sürmektedir. Yumurta üretimi *E.vogeli*'de 35, *E.oligarthus*'da ise 80 gün olarak bildirilmektedir. *E.multilocularis* 'in son konakta yaşama süresi *E.granulosus*'unkinden daha az olup 6 ay kadardır (Merdivenci ve Aydınlioğlu, 1982; Soulsby, 1986; Tiğın ve ark., 1991; Tınar ve Diker, 2001; Şenlik, 2004a).



Şekil 13. *Echinococcus granulosus*'un kesin konaktaki gelişim evreleri (Thompson, 1995) (Gd: Genital delik, R: Rostellum, Sg: Segment, Sk: Skoleks, O: Ovaryum, T: Testis, U: Uterus, V: Vajina, Vb: Vitellojen bezler, Vd: Vas deferens, Y: Yumurta, Z: Zigot).

2.5. TÜRKİYE'DEKİ YAYGINLIK

Kistik ekinokozis ülkemizde geniş bir yayılış alanına sahiptir. Birçok araştırmacı tarafından hastalığın yaygınlığı bölgelere ve konaklara göre farklı oranlarda bildirilmiştir (Tablo 4-5).

Tablo 4. Türkiye’de arakonaklarda kistik ekinokozisin yaygınlığı

Araştırmacı	Yer	Yıl	Araçkonak	Yaygınlık (%)
Kara ve ark.	Malatya	2009	Sığır ve koyun	7,6 ve 9,1
Acıöz ve ark.	Sivas	2008	Sığır	35,7
Köse ve Sevimli	Afyonkarahisar	2008	Sığır	29,47
Esatgil ve Tüzer	Trakya Bölgesi	2007	Sığır ve koyun	11,6 ve 3,50
Yıldız ve Tunçer	Kırıkkale	2005	Sığır	14,16
Gıcık ve ark.	Kars	2004	Sığır ve koyun	31.25 ve 63.85
Umur	Burdur	2003	Sığır, koyun ve keçi	13,5-26,6 ve 21,11
Öncel	Bursa	2000	Koyun	30
Şenlik	Bursa	2000	Koyun	50,7
Gönenç ve ark.	Ankara	1998	At	0,78
Öge ve ark.	Ankara	1998	Sığır, koyun ve keçi	9,4-5,9 ve 1,6
Arslan ve Umur	Erzurum	1997	Koyun ve sığır	70,91 ve 46,41
Çivi ve ark.	Konya	1995	Sığır	5,6
Çenet ve Taşçı	Manisa	1994	Sığır ve koyun	8,96 ve 15,98
Umur ve Aslantaş	Kars	1993	Sığır, koyun, keçi ve manda	24,65-48,35-25,11-16,66
Dik ve ark.	Konya	1992	Sığır ve koyun	11,2 ve 51.98
Türkmen	İstanbul	1992	Manda	22,32

Tablo 4 devam. Türkiye’de arakonaklarda kistik ekinokozisin yaygınlığı

Celep ve ark.	Samsun	1990	Sığır	21,1
Özçelik ve Saygı	Sivas	1990	Sığır ve koyun	39,7 ve 58,6
Zeybek ve Tokay	Ankara	1990	Sığır, koyun, keçi ve manda	18,6-25,8-9 ve 41,1
Poyraz ve ark.	Sivas	1990	Sığır ve koyun	4,5 ve 32,4
Toparlık ve Gül	Van	1989	Sığır, koyun ve keçi	19,4-32,9 ve 4,5

Tablo 5. Türkiye’de son konaklarda *Echinococcus granulosus*’un yaygınlığı

Araştırmacı	Yer	Yıl	Son konak	Yaygınlık (%)
Umur ve Arslan	Kars	1998	Köpek	40.5
Ayçiçek ve ark.	Ankara	1998	Köpek	0,94
Ataş ve ark.	Sivas	1997	Köpek	28
Aydenizöz	Konya	1997	Köpek	28.33
Şahin ve ark.	Kayseri	1993	Köpek	25
Saygı ve ark.	Sivas	1990	Köpek	16
Zeybek ve Tokay	Ankara	1990	Köpek	54.5
Tınar ve ark.	Bursa	1989	Köpek	36
Üner	İzmir	1989	Köpek	5,5
Doğanay	Ankara	1983	Köpek	44

Güralp ve ark.	Elazığ	197 7	Köpek	18.09
Mimioğlu ve ark.	Ankara	195 9	Köpek	4

2.6. EPİDEMİYOLOJİ

Echinococcus granulosus'un yaşam çemberinde üç biyolojik döngü vardır. Bunlar ormansal (silvatik), kentsel (rural) ve kırsal (pastoral) çemberlerdir. Pastoral çember çiftlikte yetiştirilen hayvanlar ile sokak ve çoban köpekleri, kentsel (köysel ve şehirsal) döngü kasaplık hayvanlar ile bunların kesiminin yapıldığı yerlerdeki sokak köpekleri, silvatik çember ise yabani karnivorlar ve yabani ruminantlar arasında olmaktadır. İnsanlar rastlansal olarak bu çemberlere dahil olmaktadır. Ancak bu çemberler keskin sınırlarla birbirlerinden ayıramamakta, her zaman için çapraz enfeksiyon mümkün olabilmektedir. Bu, avcılık sırasında avlanan yabani gevişenlerin iç organlarının av köpekleri tarafından yenmesi veya yabani karnivor dışkıyla atılan yumurtaların çiftlik hayvanları tarafından alınmasıyla olabilmektedir. Zoonotik açıdan pastoral döngü, silvatik döngüden daha önemlidir (Güralp, 1981; Ayaz ve Tınar, 2006).

Hastalık daha çok besi ve mezbaha hayvancılığının önemli bir gelir kaynağı olduğu ülkelerde ön plana çıkmaktadır. 1990'lı yıllardaki bilgilere göre görülme sıklığına göre dünya üç önemli gruba ayrılmaktadır. Birinci grup Uruguay, Arjantin, Yeni Zelanda, Yunanistan, Kıbrıs; ikinci grup Türkiye, Akdeniz ülkeleri, yakın ve Orta Doğu ülkeleri; üçüncü grup da İskandinavya, Birleşik Amerika ve Kanada gibi hastalığın daha az görüldüğü ülkelerdir (Budak, 1991). Fakat daha sonraki yıllarda Kıbrıs, Uruguay ve Yunanistan gibi ülkelerde uygulanan kontrol programlarıyla başarılı sonuçlar alınmış ve parazitin yaygınlığı önemli ölçüde azaltılmıştır (Eckert ve ark., 2001b; Dakkak, 2010). Grönland ve İzlanda'da ise parazite hiç rastlanılmamıştır (Kilimcioğlu ve Ok, 2004).

İnsan vakalarına genellikle koyun yetiştiriciliğinin fazla olduğu bölgelerde daha sık rastlanılmaktadır. Bunun nedeni, bu bölgelerdeki enfekte koyun iç organlarının etrafa bilinçsizce atılması ve köpekler tarafından yenmesidir. Ülkemizde de parazitin

geniş bir yayılış alanına sahip olmasının nedeni budur (Güralp, 1981). Türkiye’de 1861 yılından bu yana kistik ekinokokoz olguları bildirilmektedir (Merdivenci, 1976). 1939 yılında Aygün tarafından tespit edilen olgudan sonra hastalık insan sağlığı açısından önem kazanmaya başlamıştır (Unat, 1991). Ayrıca parazitin farklı konak türlerine adapte olması ve hayvan hareketleri, bu sestodun geniş alanlara yayılmasına neden olmaktadır. Yayılıştaki bölgesel farklılıklar konak, çevre ve insan davranışları gibi birçok faktörün etkisi altındadır (Schantz ve ark., 1995).

İnsanların enfekte olabilme durumları da kişisel sağlık, temizlik, sosyo-ekonomik ve kültürel farklılıklar gibi faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Yaşam ve sağlık standartları düşük olan toplumlarda enfeksiyon oranı doğal olarak daha yüksek olmaktadır. Sudan, Peru ve Kenya gibi ülkelerde yaşayan insanlarda bu gibi faktörler ön plana çıkmaktadır (Budak, 1991; Akyol, 2004).

Hastalığın yaygınlığı üzerine mesleğin rolü de oldukça fazladır. Köpek ile sıkı ilişki içerisinde olan avcı, kasap, çiftçi, çoban gibi meslek gruplarında, ayakkabı tamircisi ve mezbahe çalışanlarında risk daha fazla olmaktadır (Budak, 1991).

Yumurtaların yaşam süresi sıcaklık, nem oranı, güneş ışığı, toprak yapısı ve bitki örtüsü gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bu yumurtalar, fiziksel ve çevresel faktörlere diğer tenya yumurtalarından daha dayanıklı olup enfektivitelerini uzun süre koruyabilmektedirler. Kuraklık ve ısıya karşı fazla direnç gösteremeyen yumurtalar 4°C ile 15°C arasındaki ısılarda bir yıl kadar canlı kalabilmekte, 60°C’nin üstündeki ve -70°C’nin altındaki ısılarda ise kısa sürede ölmektedirler. *E.granulosus* yumurtaları 7°C’de 200 günden fazla, 21°C’de ise 50 gün canlılığını koruyabilirken, %25 nisbi nemde dört günde, %0 nemde bir gün de, 60-80°C’de ısı işlemiyle dakikadan daha kısa sürede ölmektedirler (Merdivenci, 1976; Tiğin ve ark., 1991; Thompson, 1995; Thompson ve McManus, 2001).

2.7. TANI YÖNTEMLERİ

Parazitin tanısı amacıyla uygulanan en güvenilir yöntem nekropsi olup kesin konaklarda erişkin parazitin, arakonaklarda ise larva şeklinin görülmesi ile doğrulanır (Şenlik, 2004b).

Ekinokok türleri ile enfekte karnivorlarda hemen hemen hiçbir önemli klinik belirti görülmemektedir. Canlı hayvanlarda teşhis dışkı bakışı, arekolin purgasyon yöntemi, serumda antikor ve dışkıda koproantijen aranmasıyla mümkündür. Ölüm sonrası ise nekropsi yapılarak bağırsak ve mukozada parazit aranır. Bunlar arasında en güvenilir olanı nekropsidir. Işık mikroskobu ile yapılan normal dışkı muayenelerinde *Echinococcus* ve *Taenia* türlerine ait yumurtalar ayırt edilemediği için tanısal değeri önemsizdir (Eckert ve ark., 2001a; Şenlik, 2004b; Ayaz ve Tınar, 2006).

Dışkı muayenesinde parazitin halka, yumurta ya da antijenleri aranır. Gerektiğinde hayvana 1,75-3,5 mg/kg dozda arekolin hidrobromid verilerek parazitlerin dışkı ile atılması sağlanabilir. Flotasyon, teloman ve selofan bant yöntemleriyle görülen ekinokok yumurtalarını diğer *Taenia* türlerinin yumurtalarından morfolojik olarak ayırt etmek mümkün değildir. Genelde dışkı ile halka atıldığı için yumurtaya rastlamak da her zaman mümkün olmamaktadır. Bu yüzden dışkı sulandırıldıktan sonra çıplak gözle ve stereomikroskop altında incelenerek halkalar aranabilir. Ancak, bu halkalar çok küçük olduklarından gözden kaçabilirler (Soulsby, 1986; Tiğın ve ark., 1991; Eckert ve ark., 2001a; Şenlik, 2004b; Ayaz ve Tınar, 2006).

Serumda özgül antikorların aranmasına yönelik uygulanan serolojik yöntemler tanıda güvenli olmamakla birlikte, epidemiyolojik çalışmalarda faydalı olmaktadır. Bu amaçla protoskoleks, onkosfer, sekresyon, ekskresyon, skoleks ve erişkin parazit antijenlerinden faydalanılmaktadır (Gasser ve ark., 1988; Eckert ve ark., 2001a; Kittelberger ve ark., 2002; Şenlik, 2004b; Jenkins ve Rickard, 2008).

Dışkıda antijen arama tekniğinin avantajı, parazitin erken dönemde teşhis edilmesini sağlamasıdır. Bu yöntemde amaç parazitin çeşitli antijenlerine karşı şekillenmiş antikorları kullanarak dışkıdaki özgül antijenleri saptamaktır. Testin özgüllüğü ve hassaslığı oldukça yüksek olmakla birlikte, nadiren de olsa çapraz reaksiyonlar görülebilmektedir. Koproantijenlerin aranmasında kullanılan en iyi ve en pratik test ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)'dır. Örnek toplanmasının kolay olması ve buzdolabında birkaç gün saklanabilmesi yöntemin avantajlarından biridir (Eckert ve ark., 2001a; Şenlik, 2004b; Ayaz ve Tınar, 2006).

Canlı arakonaklardaki teşhis son konaklardaki teşhise göre daha zordur. İnsanlarda kullanılan ve ekonomik olmadığı için hayvanlarda fazla tercih edilmeyen

görüntüleme teknikleri, immunolojik yöntemler ve moleküler teknikler gibi teşhis yöntemleri de bulunmaktadır. Hayvanlarda klinik tanıyla zor olsa da hastalıktan şüphelenilebilir. Akciğer hidatidozunda solunum bozuklukları, solunum yetersizliği, öksürük ve hırıltılı solunum dikkati çeker. Fakat hidatidozda görülen semptomların hiçbiri tanı için yeterli değildir. Bu nedenle klinik tanı hemen hemen imkansızdır. Arakonaklarda en güvenilir teşhis yöntemi nekropsi ile tipik kistlerin görülmesidir.

Görüntüleme amaçlı olarak radyografi, ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans yöntemlerinden faydalanılabilir. Ancak görüntüleme sonucu yanlış pozitif sonuçlar da alınabilmektedir (Tınar ve Coşkun, 1991; Şenlik, 2004b; Ayaz ve Tınar, 2006).

İmmunolojik testler konağın metasestoda karşı gösterdiği hücresel ve humoral immun yanıtın ortaya konması esasına dayanmaktadır. İnsanlarda etkili bir şekilde kullanılabilirken, hayvanlarda hastalığın tanısındaki başarısı yeterli düzeyde değildir. Bu yöntemlerin hayvanlarda uygulanması oldukça sınırlı olup, daha çok bilimsel ve araştırma amaçlı kullanılmaktadır (McManus ve ark., 2003; Zhang ve ark, 2003; Şenlik, 2004b).

Serolojik yöntemler, klinik bulguları desteklerken parazit ve konak özellikleri hakkında bilgi verirler. Örneğin; tür farklılıkları, kesin tanısı konamayan durumlar ve konağın immun durumu gibi.

Testlerin tanıdaki hassaslığı ve özgüllüğü:

- Antijenin kalitesi, saflığı, karakteri
- Konağın immunoglobulin cevabı
- Seçilen testin duyarlılığına bağlı olarak değişmektedir (Gottstein, 1992).

Doğal enfekte hayvanlarda enfeksiyona karşı oldukça düşük düzeyde antikor cevabı oluşmaktadır. Bu nedenle enfekte hayvanlarda sık olarak yanlış negatif sonuçlar şekillenmektedir. Ayrıca diğer taenid cestod larvalarıyla, özellikle *Taenia hydatigena* ve *T.ovis*'in larvalarıyla hidatid kist arasında çapraz reaksiyonların görülmesi yanlış pozitif sonuçlar doğurabilmektedir. Bu nedenle uygun antijen seçimi büyük önem taşımaktadır. İmmunolojik tanı amacıyla en yaygın kullanılan ve en uygun antijen kaynağı fertil kistlerden elde edilen kist sıvısı ve protoskolekslerdir. Serolojik tanı için gerekli olan

parazit antijenini en fazla bulunduran kaynak kist sıvısıdır. Immunoelktroforez ile en az 10, SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamid Gel Electrophoresis) ile 20 bileşen tanımlanmıştır (Zhang ve ark, 2003; Şenlik, 2004a).

Fertil ve fertil olmayan kist sıvılarından iki major antijen saflaştırılmış olup bunlardan biri ısıya dayanıksız bir lipoprotein olan antijen 5 (Ag5), diğeri de ısıya dayanıklı ve yine bir lipoprotein olan antijen B (AgB)'dir. Ancak fertil kist sıvılarındaki antijen yoğunluğu daha yüksektir (Gottstein, 1992).

Serolojik tanı yöntemlerinin çoğunun sonuçları birbirleriyle uyumlu olmasına rağmen, bir veya birkaç testte negatif çıkan serum, diğeri testlerde pozitif çıkabilmektedir. Bundan dolayı tanının hassasiyet ve özgüllüğünün iki veya daha fazla yöntemin aynı anda uygulanmasıyla geliştirilebileceği kabul edilmektedir. Hayvanlarda serolojik testlerin özgüllük ve duyarlılığının insanlara göre düşük olduğu ve nekropsinin yerini alamayacağı bildirilmektedir (Sermet, 1991; Tınar ve Coşkun, 1991; Eckert ve ark., 2001a; Ayaz ve Tınar, 2006).

Hidatid kiste serolojik yöntemlerin uygulanması 1906 yılında Ghedini, 1908 yılında Ymaz-Apphatic ve Lorentz ve yine aynı yılda Weinberg ve Parvu tarafından Kompleman Fikzasyon Testi (CFT)'nin kullanılmasıyla başlamıştır. Bu testten başka Casoni Deri Testi (CID), Agar Jel Presipitasyon (AGPT), Agar Jel İmmundifüzyon (AGID), İmmunelektroforez (IEP), İki Yönlü İmmunelektroforez (CIEP), Zıt Gidişli İmmunelektroforez (CCIEP), Bentonit Flokulasyon (BFT), Çift Difüzyon (DD), İndirek Hemaglutinasyon (IHAT), Lateks Aglutinasyon (LAT), İndirek Floresan Antikor (IFAT), Enzim İşaretili Antikor Yöntemi (ELISA), Enzim İşaretili İmmunelektrotransfer Blot (EITB) ve Western Blot (WB) gibi testler kullanılmaktadır (Şenlik, 2004b).

Aranan organizmanın sadece nükleik asitlerinin varlığını ortaya koymaya yönelik metodlara moleküler yöntemler adı verilmektedir (Alkan ve ark., 1997). Parazit sayısının fazla olduğu durumlarda parazitlerin morfolojik olarak araştırılması ve tür teşhisi için doğrudan mikroskopi yöntemi yeterli olmaktadır. Moleküler yöntemler ise çok sayıda örneğin otomatizasyonla bir arada incelenmesi avantajını sağlamakta, yine parazit sayısının az olduğu durumlarda yüksek duyarlılıkları ile hassas bir tanı yöntemi olarak kullanılmaktadırlar. Parazitoloji alanında moleküler uygulamalar 1990'lı

yıllardan itibaren hız kazanmaya başlamıştır (Alkan ve ark., 1997; Hökelek ve Arıkoğlu, 2004).

Moleküler teknikler, parazite özgü DNA ya da RNA sekanslarının belirleyici DNA molekülleri (prob) ile araştırılması esasına dayanmaktadır. Problar, radyoizotop, enzim veya kimyasal maddeler ile işaretlenmekte, hedef örnekteki parazite ait nükleik asitlerle karşılaştırılmakta ve hibridize olmuş problardan elde edilen sinyaller değerlendirilmektedir (Alkan ve ark., 1997).

Özgüllük ve duyarlılıklarından dolayı DNA tabanlı yöntemler parazitlerin varlığının saptanmasında, tür ve suş identifikasyonu analizlerinde son derece kullanışlı yöntemlerdir. Aslında *Echinococcus*'lar için bu yöntemler tanıdan çok tür ve suş ayrımı ve epidemiyolojik çalışmalar açısından önemlidir (Yolasığmaz ve Güneş, 2004).

Genetik yapının bilinmesi, genetik farklılaşmayı ve türleşmeyi anlayabilmek açısından temel şarttır. Moleküler çalışmalar tür içi ve türler arası farklılıkların belirlenmesinde olduğu kadar, taksonomi çalışmaları ve moleküler epidemiyoloji bakımından da önemlidir (Yolasığmaz ve Altıntaş, 2004).

Köpeklerde ilaç tedavisinin en uygun zamanlamasını belirleyen prepatent dönem, doğurganlık, rostellar kanca morfolojisi ve kist büyüme hızı gibi epidemiyolojik açıdan önemli özellikler hakkında yeterli bilgiye sahip olunmaması, kistik ekinokozisin kontrolünde moleküler çalışmaların etkisini kısıtlamaktadır (Soulsby, 1986; Schantz, 1982; Yolasığmaz ve Altıntaş, 2004).

Echinococcus türlerinin ayrımında morfolojik çalışmalar sınırlı sayıda olmak üzere biyolojik ve epidemiyolojik ölçütlerden yararlanılmaktadır. Fakat suş ayrımı, coğrafi dağılım, konak yaygınlığı, konak özgüllüğü, metabolizma, gelişim hızı, üreme biyolojisi, enfektivite, morfoloji, protein, enzim ve DNA analizleri gibi birçok ölçütün birlikte incelenmesiyle yapılmaktadır. Morfolojik ve biyolojik çalışmalar, suş ayrımında önemli bilgiler sağlamasına rağmen konak ve çevresel faktörlerden etkilenmektedirler. Moleküler teknikler direk olarak parazit genomunu analiz ederek suşlar arasındaki genetik farklılığı ortaya koymaktadırlar. Diğer tekniklerin aksine çevre ve konak faktörlerinden etkilenmemesi bu yöntemlerin avantajlarından biridir. Morfolojik ve moleküler tekniklerin birlikte uygulanması ile *Echinococcus* cinsi içerisindeki çeşitlilik

hakkında daha kesin ve güvenilir bilgi elde edilmektedir (Bowles ve ark., 1992a; Bowles ve McManus, 1993a; Thompson, 1995; Eckert ve Thompson, 1997).

Echinococcus türlerindeki genetik çeşitlilik mitokondriyal ya da nükleer DNA üzerinde incelenmiş ve mitokondriyal DNA (mtDNA) daha çok tercih edilmiştir. Bunun nedeni mtDNA'nın nükleer DNA'ya göre daha hızlı gelişmesi ve haploid olmasıdır. Mitokondriyal *cox1* gen bölgesinin dizi analizinin yapılması sonucu *Echinococcus* cinsi içinde 7 suş tespit edilmiş ve bu bölgenin cins içerisindeki farklılığı göstererek, suş tespitinde kullanışlı olduğu belirtilmiştir. Nitekim yapılan çalışmalarda nükleer gen bölgelerinin suş ayırımında başarısız olduğu gösterilmiştir (Hobbs ve ark., 1990; Bowles ve ark., 1992a; Bowles ve McManus, 1993a; Eckert ve Thompson, 1997; Rosenzvit ve ark., 1999; Bart ve ark., 2006).

Echinococcus granulosus içerisindeki suşların tanımlanması ve gruplandırılmasında en çok PZR tabanlı yöntemler kullanılmaktadır. PZR, RFLP, PZR-RFLP, RAPD-PZR, SSCP, dideoxy fingerprinting (ddF) ve DNA baz dizi analizi gerek parazitlerin genom araştırmalarında, gerekse tanıya yönelik moleküler çalışmalarda kullanılan temel tekniklerdir. Moleküler çalışmalarda ilk adım, amaca göre DNA ya da RNA izole etmektir. Ekinokoklarda nükleik asitler taze veya dondurulmuş erişkin parazit, protoskoleks ve germinatif membrandan izole edilebilirler (Gasser ve ark., 1998a; Hökelek ve Arıkoğlu, 2004; Yolasığmaz ve Güneş, 2004).

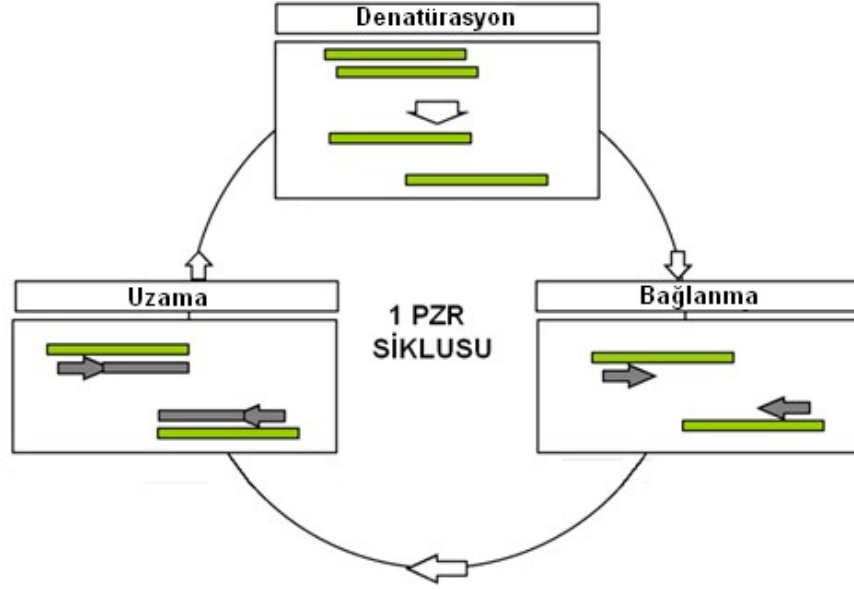
Suşların ayırımı, gelecekte *Echinococcus*'a karşı tanı yöntemleri ve aşuların üretilmesi, geliştirilmesi ve ilaçların etkinliği açısından önemlidir (Thompson ve Lymbery, 1988; Bowles ve McManus, 1993a).

2.8. KULLANILAN MOLEKÜLER TEKNİKLER

2.8.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu, PZR

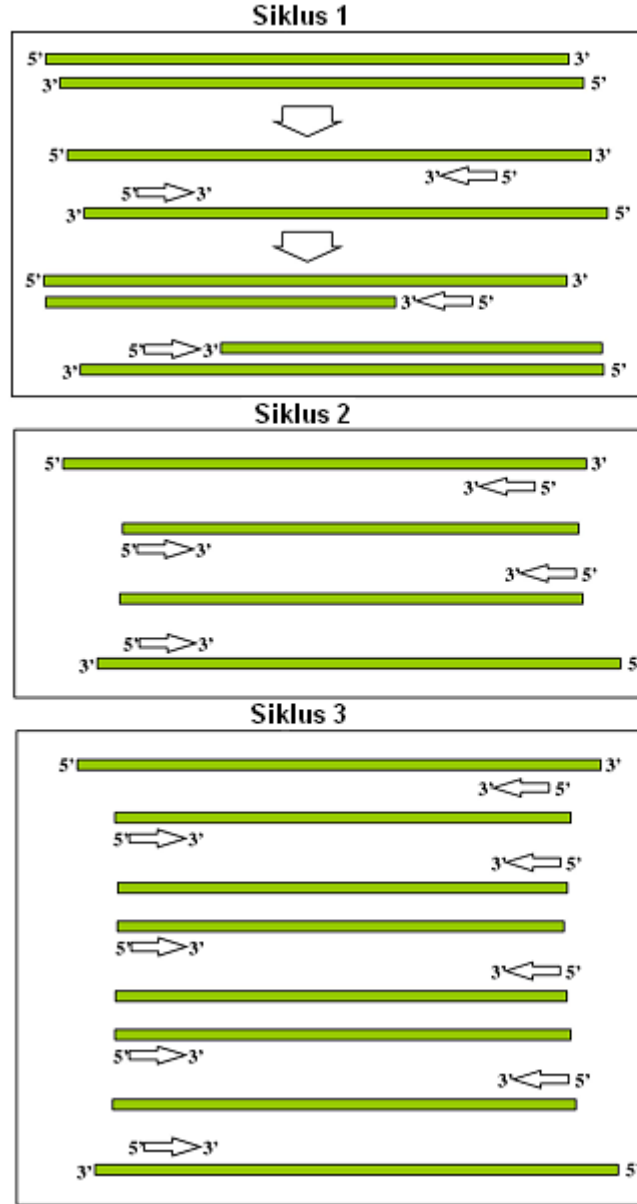
Belirli bir nükleik asit dizisinin in vitro şartlarda, enzimatik olarak çoğaltılması işlemi olan PZR ilk kez 1983 yılında Kary Mullis tarafından tanımlanmıştır. Moleküler yöntemlerden en geniş kullanım alanına sahip olan bu yöntem tek bir nükleik asidi bile gösterebilecek kadar güçlü bir çoğaltma yöntemidir. Özgül primerler kullanılarak hedef DNA'nın çoğaltılması esasına dayanmaktadır. PZR için, belirlenen nükleik asit

kısının her bir zincirinin 3' ucuna tutunacak ve 5' yönünde uzayacak iki kısa nükleotid dizisi (primer), uzamayı sağlayacak olan DNA polimeraz enzimi, yeni zincirlerin yapısında yer alacak oligonükleotidler ve reaksiyon için gerekli tuzu içeren tampon solüsyonlara ihtiyaç vardır.



Şekil 14. PZR siklusunun aşamaları (Theophilus, 2005)

Reaksiyon başlıca 3 aşamadan oluşmakta ve her aşama için farklı ısılar uygulanmaktadır. DNA'nın çift sarmal yapısının bozulup tek zincir haline getirilmesi (denatürasyon) için 92-95 °C, primerlerin hedef bölgelere bağlanmaları (annealing) için 37-72 °C, primerlerin 3' yönünde uzayarak (extensiyon) bağlandıkları tek zincir DNA'nın karşılığını oluşturmaları için 72 °C'lik ısı gerekmektedir (Şekil 14). Bu üç farklı siklusun ard arda 25-45 kez tekrarlanması sonucu hedef DNA'nın milyonlarca kopyası elde edilmektedir. Sonuçta tek bir DNA parçası 2^n (n = döngü sayısı) kadar çoğaltılır (Şekil 15) (Alkan ve ark., 1997).

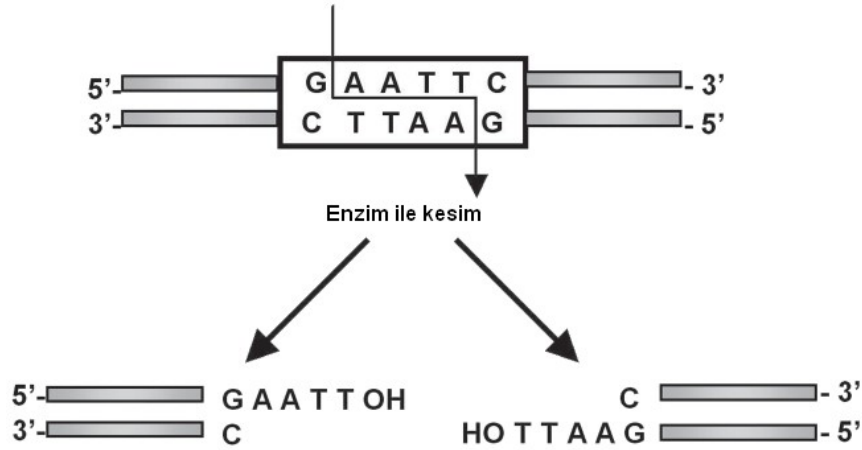


Şekil 15. PZR siklusları ile DNA'nın çoğalması (Theophilus, 2005)

2.8.2. Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi, RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

Genomik DNA, restriksiyon enzimleri (RE)'nin yardımıyla özgül bölgelerinden kesilerek agaroz jel elektroforezde parçalara ayrılmaktadır. RFLP, bu şekilde jelde oluşan DNA bantlarının sayısı ve yeri kıyaslanarak genom üzerinde belli bölgelerde oluşan tek baz çifti değişikliklerinin tespit edilmesidir (Şekil 16) (Hökelek ve Arıkoğlu, 2004; Yolasıgmaz ve Güneş, 2004).

RFLP kolaylıkla uygulanabilen duyarlı bir yöntemdir. Ancak enzim seçimi oldukça önemlidir. Çok sayıda ya da çok yakın bantları değerlendirmek mümkün olmayabilir. Yöntem PZR-RFLP ile karşılaştırıldığında; uygulaması ve değerlendirmesi daha güçtür, sonuçlar daha uzun sürede alınmaktadır ve maliyeti daha yüksektir (Yağcı, 2001).



Şekil 16. DNA'nın *EcoRI* enzimi ile kesimi (Rapley, 2005)

2.8.3. PZR-RFLP

Bu yöntemde genomik DNA'nın belirli bir bölgesi primerler ile çoğaltıldıktan sonra RE ile kesimi yapılmaktadır. PZR sonrası çoğaltılan ürünün enzimler ile kesimi sonucu yöntemin ayırt ediciliği artmaktadır (Yağcı, 2001).

Diğer moleküler yöntemlerin avantajları fark edilinceye kadar PZR-RFLP yöntemi parazitlerin tanımlanması ve ayırt edilmesinde yoğun olarak kullanılmıştır (Zarlenga ve Higgins, 2001).

PZR-RFLP *Echinococcus* izolatlarının ve diğer parazitlerin ayırımında kullanılan, hızlı basit ve hassaslığı yüksek bir yöntemdir. Bu teknik kullanılarak yapılan çalışmalarla *Echinococcus* tür ve suşları hızlı bir şekilde tanımlanabilmiştir. (Bowles ve McManus, 1993b; Gasser, 1999).

2.8.4. Rastgele oğaltılmış Polimorfik DNA, RAPD-PZR (Random Amplified Polymorphic DNA)

İlk defa 1990 yılında uygulanan, rastgele seçilmiş bir veya daha fazla primer ile DNA'nın ilgili bölgelerinin çoğaltılması işlemidir. Bu yöntemle bilinen bir bölge yerine rastgele primerlerin bağlandığı bölgeler çoğaltılmaktadır. Genellikle 9-10 bazlık primerler kullanılmakta olup G+C bakımından zengindirler. Aynı yıllarda başka araştırıcılar tarafından uygulanmış ve Arbitrary primed PCR (AP-PCR) olarak adlandırılmıştır (Welsh ve McClelland, 1990; Olive ve Bean, 1999; Yağcı, 2001; McManus, 2002; Yolasığmaz ve Güneş, 2004).

Bu yöntemde bağlanma ısısı 40-50°C'ye düşürülmüştür. Düşük sıcaklık derecelerindeki bağlanmada, primerler kendilerine zđ olan ve zđ olmayan bölgelere bağlanmaktadır. Aynı tür içindeki farklı suşlarda primerlerin bağlanma yeri ve sayısı farklı olacağından, jelde oluşan bantların sayısı ve yeri de birbirlerinden farklı olacaktır. Primerlerin bağlandığı bölgelerde gerçekleşmiş olan bir mutasyon bant farklılıklarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Her bir örneğe ait bant profilleri karşılaştırılarak değerlendirmekte, aynı bant profili gösteren izolatlar epidemiyolojik olarak birbirleriyle ilişkili denilebilmektedir (Olive ve Bean, 1999; Yağcı, 2001).

Teknik hızlı ve basit olup çok küçük miktarlarda DNA'ya gereksinim duymaktadır. Bu tekniğin en önemli özelliklerinden biri, uygun primerlerin sentezi için dizi bilgisinin önceden bilinmesine ihtiyaç olmamasıdır. RAPD-PZR'nin aynı zamanda başka bir moleküler teknikle kullanılması tavsiye edilmektedir (Scott ve McManus, 1994; McManus, 2002; Yolasığmaz ve Güneş, 2004; Bhattacharya ve ark., 2008).

Yöntem PZR-RFLP ile kıyaslandığında, maliyeti daha düşük, ayırım gücü yüksek ve daha hızlıdır. Fakat laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası tekrarlanabilirliği daha düşüktür. Her iki testin de kullanımı ve yorumlanması kolay, sonuç alma süreleri de kısadır (Penner ve ark., 1993; Olive ve Bean, 1999).

RAPD-PZR tekniği kullanılarak yapılan çalışmalar, farklı arakonaklara ait *E.granulosus* suşları içinde genetik varyasyonun var olduğunu doğrulamıştır (Siles-Lucas ve ark., 1993).

2.8.5. Tek Zincir Yapı Polimorfizmi, PZR-SSCP (Single Stranded Conformation Polymorphism)

Çift zincirin ayrılarak, tek iplikçikli DNA'nın şekil ve büyüklüğüne bağlı olarak denatüre olmayan jelde farklı hızlarda hareket etmesi prensibine dayanan bir tekniktir. Her bir zincir farklı formlarda katlanıp kıvrılarak değişik yapılar oluşturmaktadır (Hayashi, 1991; Hökelek ve Arıkoğlu, 2004).

Nokta mutasyonlar için hızlı, etkili ve basit bir tekniktir. Yöntemin ilk halinde radyoizitopla işaretli primerler kullanılmaktadır. Radyoizotopların sağlık açısından tehlikeli olmaları ve kullanımı için özel koşullar gerektirmesi gibi dezavantajları vardır. Bu yüzden radyoaktif olmayan sistemlere gereksinim duyularak yöntemin bazı modifikasyonları geliştirilmiştir (Hayashi, 1991; Takahashi-Fujii ve ark., 1993).

SSCP'nin en önemli özelliği aynı büyüklükte olan parçalardaki tek bir nükleotid farklılığını dahi belirleyebilmesidir. Çift iplikli DNA'nın jeldeki hareketi onun büyüklüğü ve ağırlığı ile ilişkili iken nükleotid farklılıklarından etkilenmemektedir. Tek iplikçikli DNA, elektroforez sırasında üç boyutlu yapı kazanmaktadır. Bu şekil değişiklikleri; DNA iplikçığının uzunluğuna, baz çiftlerinin sayısı ve yerine, ayrıca molekülün ilk sekansına bağlıdır. Yüzlerce nükleotid içerisinde meydana gelen tek bir nükleotid farklılığı dahi iplikçığın hareketini etkilemekte, böylece jelde birbirlerinden ayrı görülmelerine sebep olmaktadır (Hayashi, 1991; Gasser, 1997; Hayashi ve ark., 1997; Nataraj ve ark., 1999).

SSCP genel olarak küçük (300 bp'ye kadar) parçalardaki nokta mutasyonları belirlemek için kullanılmaktadır. 100-200 bp'lik parçalardaki mutasyonları belirleme oranı %50-95'tir. Bu oran, uzunluk 200 bp'nin üzerine çıktıkça düşmektedir. Yani hassasiyet, incelenen bölge büyüdükçe azalmaktadır. Fakat teknikteki son iyileştirmelerle 800 bp'ye kadar uzayan parçalarda SSCP analizleri yapılabilmektedir (Hayashi ve ark., 1997; Gasser ve Zhu, 1999).

Yöntemin avantajları; çok sayıda örnekle çalışma imkanı sunması, ucuz, kolay ve duyarlılığının yüksek olması, mutasyona uğramış bantların jelde ayrı olarak görülmesi, radyoaktif olmayan işaretlemenin uygulanabilir olmasıdır. Dezavantajları ise; analiz edilebilecek parça uzunluğunun sınırlı olması, jelin değerlendirilmesinin bazen

zor olması ve sekansı bilinmeyen DNA'ya uygulanabilirliğinin az olmasıdır (Nataraj ve ark., 1999; Sunnucks ve ark., 2000; Gasser ve Chilton, 2001; Yağcı, 2001).

2.8.6. Dideoxy Fingerprinting, ddF

PZR-SSCP basit ve hızlı bir test olmasına rağmen tüm dizilimdeki mutasyonları tespit edememektedir. Daha büyük parçalardaki mutasyonları inceleyebilmek ve mutasyonları tespit etme oranını %100'e çıkarmak için SSCP modifiye edilerek, ddF testi geliştirilmiştir (Gasser, 1997).

İlk defa Sarkar ve ark. tarafından bildirilen bu yöntem, SSCP ve Sanger sekanslama yöntemlerinin birleşiminden oluşmaktadır (Sarkar ve ark., 1992). Tek bir dideoksinükleotid kullanılarak yapılan Sanger sekanslamanın ardından denatüre olmayan jel elektroforezi yapılmaktadır. Mutasyonların varlığı, bantların oluşumu ve kaybolması veya bir veya daha çok bandın yer değiştirmesi ile saptanabilmektedir. 150-250 bp uzunluğundaki sekanslarda tek bir baz mutasyonu %100 oranında tespit edilebilmektedir. Eğer test çift yönlü uygulanırsa 300-600 bp'lik parçalarda da aynı oran yakalanabilmektedir (Liu ve ark., 1996; Gasser, 1997).

Testin diğer moleküler yöntemlere göre bazı önemli avantajları vardır. PZR-RFLP'de sınırlı sayıda bulunan enzim kesim bölgeleriyle varyasyonlar belirlenebilirken, ddF'de tüm sekans varyasyonu görülebilmektedir. Yine RAPD-PZR'nin aksine bu yöntemde özgül primerler kullanılarak hata yapma oranı en aza indirilmektedir. ddF, çok sayıda örnekteki nükleotid mutasyonlarını, DNA sekanslamasına gerek kalmadan doğru bir şekilde saptayabilen güçlü bir yöntemdir. Bu şekilde işçilik, zaman ve maliyetler azalmaktadır. (Gasser ve ark., 1998a).

2.8.7. DNA Baz Dizi Analizi (Sekanslama)

DNA dizi analizleri ya da sekanslama herhangi bir DNA parçasında bulunan A,G,T,C nükleotid sıralarının belirlenmesi olarak tanımlanabilmektedir (Yumurtacı, 2009). Moleküler teknikler arasında en klasik olan ve güvenilirliği nedeniyle referans olarak kullanılan yöntemdir (Yağcı, 2001).

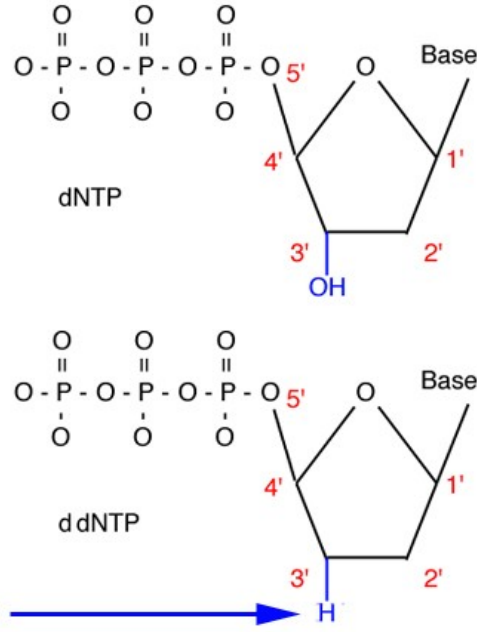
Moleküler biyolojik çalışmalar sırasında bir DNA parçasına ait nükleotidlerin sıralarının belirlenmesi ile:

- DNA bölgesinin hangi proteini kodlayabileceğine ilişkin bilgi elde edilebilmekte,
- Genomik DNA dizisi ile tamamlayıcı DNA'ya ait dizi bilgileri karşılaştırılarak ekson ve intron yapılarının ortaya çıkarılması mümkün olabilmekte,
- Gen aktivitesini kontrol eden bölgeler tanımlanabilmekte,
- Bir organizmaya ait genom dizisi ile o organizmaya ait gen dizileri tespit edilebilmekte,
- Özgül genlere ait DNA dizilerinin belirlenmesi ile ilgili genlere ait evrimsel akrabalık ilişkileri farklı canlı grupları ile karşılaştırılarak tanımlanabilmektedir (Yumurtacı, 2009).

Dizi analizinde; Klenow, Tag DNA polimeraz, reverse transkriptaz veya sekans enzimlerinden birisi kullanılarak, dizisi saptanacak DNA iplikçığının tamamlayıcısı sentezlenmektedir. Dizi analizlerinde iki temel teknik kullanılmaktadır. Bunlar; Sanger ve Maxam-Gillbert yöntemleridir (Olive ve Bean, 1999).

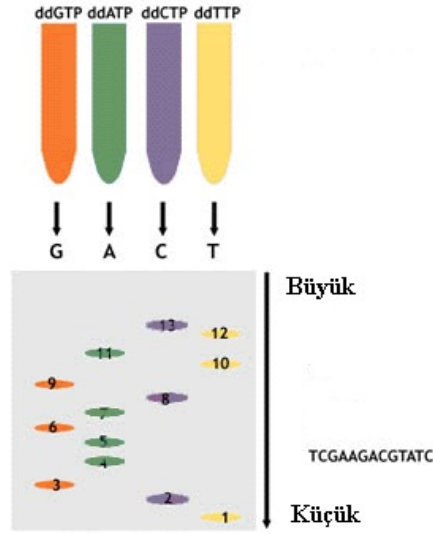
Parçalı kesim reaksiyonu olarak da adlandırılan Maxam-Gillbert yönteminde DNA molekülü üzerinde farklı bazlar arasındaki bağların koparılması ile meydana gelen farklı boyutlardaki DNA moleküllerinin ayrımı gerçekleştirilmektedir (Yumurtacı, 2009).

Daha çok kullanılan Sanger dizi analiz yöntemi, dideoksi ya da zincir sonlanması reaksiyonları olarak da bilinmektedir. 1975 ve 1980 yıllarında DNA dizi analizi çalışmaları ile kendisine iki kez Nobel ödülü kazandıran Frederick Sanger tarafından geliştirilmiştir. Tehlikeli kimyasallardan uzak ve daha hızlı bir yöntem olduğundan Maxam-Gilbert yöntemine göre tercih sebebidir. İlk kez insülin proteinine ait DNA dizi bilgisi çıkarılmıştır. Yöntem DNA polimerazların dNTP'ler yanında, deoksiribozun 3' pozisyonunda OH grubu taşımayan ddNTP'leri de substrat olarak kullanılmaları esasına dayanır (Şekil 17). Bu şekilde fosfodiester bağının oluşumu engellenerek yeni nükleotidler yapıya katılmazlar.



Şekil 17. dNTP ve ddNTP'lerin yapısı (Anon.2009b)

Sentezlenen DNA iplikçğine dNTP eklendiğinde uzama devam ederken, ddNTP eklenmesi halinde zincir uzaması durmaktadır. Bu Sanger yönteminin en önemli noktasıdır. ddNTP ile klasik dört dNTP bir reaksiyon karışımının içine konulduğunda, DNA zincir uzaması için aralarında bir yarışma olur. ddNTP'ler DNA molekülüne normal dNTP'lere oranla daha kolay bağlanabilmektedir. Floresan ya da radyoaktif olarak işaretlenmiş farklı nükleotidler ve diğer reaksiyon bileşenleri kullanılarak PZR gerçekleştirilir. Sonuçta sentez sonrası farklı uzunlukta DNA parçaları ortaya çıkar. Ürünler poliakrilamid jel elektroforezine uygulanarak boyutlarına göre ayrılırlar. Radyoaktif işaretleme yapıldığında her örneğe ait 4 farklı reaksiyon tüpü kullanılmaktadır. Floresan işaretleme yapıldığı durumlarda ise her örneğe ait tek tüp kullanılmaktadır ve jel üzerinde değişik floresan renk veren bantlar izlenerek dizi analizi gerçekleştirilmektedir (Şekil 18).



Şekil 18. Sanger dizi sonlandırma yöntemi (Anon.2009c)

Artan analiz sayısı, uzun zaman ve yüksek iş gücü gerektirmektedir. Bu gelişmeler sonucunda otomasyon kaçınılmaz olmuştur. Otomatik DNA cihazlarının geliştirilmesi ile poliakrilamid jellerin kullanımına gerek kalmamıştır. Bu analizler zaman kazancı yanında, standart çalışma koşulları ve elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde de yarar sağlamaktadırlar. Otomatik analizde de Sanger'in enzimatik DNA sentezine dayanan zincir sonlanma yöntemi kullanılmaktadır. Dört farklı floresan boya ile işaretli dideoksinükleotidler kullanılarak tüm reaksiyon tek bir tüp içerisinde yapılmaktadır. Otomatik DNA dizi analiz cihazları, bilgisayar programları ve bu programların yönettiği kapiller elektroforez sistemini içermektedir. Kapiller içerisine uygulanan jel içinde yürütme işlemi yapılmaktadır. Ayrılan bantlarda DNA'ya bağlanan floresan boya sistemden geçerken lazerle uyarılır ve uyarılan boya özgül dalga boyunda ışığı geri yansıtmaktadır. Yansıyan bu ışık demeti dedektör tarafından toplanarak bilgisayara gönderilir ve sonuçlar grafik şekline aktarılır (Olive ve Bean, 1999; Sambrook ve Russell, 2001; Anon.2009a; Yumurtacı, 2009).

Nükleotid sapma derecesinin ölçülebilmesi, farklı laboratuvar sonuçlarının direk karşılaştırılabilmesi, dizilerin yayınlanması ve elektronik veri tabanlarında (GenBank, EMBL ve DDBJ) saklanması, sonuçların doğrulanması ve bu uygulamaların diğer taksonlara suş ya da klon elde etmeye gerek kalmaksızın uygulanabilmesi, deneylerin tekrarlanabilmesine izin verecek özellikte olması yöntemin yararlarından.

DNA dizi analizi laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası tekrarlanabilirliği iyi, ayırım gücü yüksek olmasına rağmen, pahalı bir yöntemdir ve uygulamak için yüksek teknik yetenek gerektirir. *Echinococcus* cinsi içerisindeki genetik çeşitliliği en hassas ve en değerli biçimde göstermektedir (Takamatsu, 1998; Olive ve Bean, 1999; McManus, 2002).

2.9. TEDAVİ

Hastalığın tedavisi amacıyla son konaklarda erişkin parazite, arakonaklarda ise larva formuna karşı çeşitli uygulamalar yapılmaktadır. Son konak enfeksiyonlarının sağaltımı, hastalığın insanlara bulaşımının önlenmesi açısından çok önemlidir (Çırak, 2004).

Son konak enfeksiyonlarında kullanılan başlıca ilaçlar; prazikuantel, niklosamid, nitroskanat, epsiprantel, arekolin hidrobromid ve bunamidin hidroklorid'dir. Önceleri tedavi amaçlı kullanılan arekolin hidrobromid günümüzde daha çok teşhis amaçlı kullanılmaktadır. İlacın parazitleri öldürücü etkisi yoktur, bağırsak peristaltliğini arttırarak parazitlerin dışarı atılmasını sağlamaktadır. Genç parazitler bağırsak villusları arasına daha derin yerleştiklerinden erişkin parazitlere oranla ilaçlardan daha az etkilenmektedirler (Tiğın ve ark., 1991; Çırak, 2004; Burgu ve Sarımeahmetoğlu, 2005).

Araonakların tedavisinde normalde nematodlara karşı kullanılan benzimidazol türevleri iyi düzeyde etki etmektedir. Bu amaçla albendazol, fenbendazol, flubendazol, kambendazol ve mebendazol gibi ilaçlar kullanılmaktadır. Benzimidazollerin etki dozlarının çok yüksek olması ve uzun süre uygulanması çok pahalıya mal olmaktadır. Bu yüzden evcil hayvanlarda rutin tedavi genellikle yapılmamaktadır. Cerrahi yöntemler ise beşeri hekimlikte uygulanmakta, veteriner hekimlikte ekonomik olmadığı için fazla tercih edilmemektedir. Cerrahi işlem sırasında insan ve hayvanlarda primer kistlerin patlayarak sekonder kistlere ve anaflaktik şoka neden olma riski de oldukça fazladır (Soulsby, 1986; Tınar ve Coşkun, 1991; Tiğın ve ark., 1991; Çırak, 2004).

2.10. KORUNMA VE KONTROL

Kist hidatid insan ve hayvan sağlığını olumsuz etkilemesinin yanında sosyoekonomik sorunlara da yol açmaktadır. Hayvanlar açısından et, süt ve yapağı veriminin azalması; döl veriminin düşmesi; canlı ağırlık artışındaki azalma; vücut direncinin kırılarak diğer hastalıklara duyarlılığın artması, giderek zayıflayıp ölmeye, kistli organların imhası sonucu oluşan ekonomik kayıp gibi zararlara yol açmaktadır. İnsanlar açısından ise hastalığın tanısına yönelik harcamalar; ameliyat, bakım ve ilaç masrafları; tedavi için harcanan ulaşım giderleri; tarımsal faaliyetlerde iş gücü ve verim kaybı; ölüme bağlı yaşamsal kayıplar; sosyal ve ekonomik kayıplar gibi problemlere sebep olmaktadır. Tüm bu nedenlerden dolayı kist hidatid sadece bir sağlık sorunu değil aynı zamanda sosyal ve ekonomik bir problemdir.

Tüm bilimsel gelişmelere karşın günümüzde hala hastalığın tedavisinde yeterli düzeyde başarı sağlanamamaktadır. Bu yüzden enfeksiyonun giderek daha büyük sağlık ve ekonomik problem haline gelmemesi için korunma ve kontrol yöntemlerinin titizlikle uygulanması gerekmektedir.

Hastalık tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde çok yaygın bir problemdir. İzlanda, Kıbrıs, Yeni Zelanda ve Avustralya gibi ada ülkeleri kontrol programları uygulamışlar ve başarılı sonuçlar almışlardır. Ülkemizde ise eradikasyonla ilgili hiçbir devlet politikası bulunmamaktadır (Tiğin ve ark., 1991).

Korunma ve kontrol, ana başlıklarıyla 3 grupta toplanabilir. Bunlar:

- 1- Köpeklerde parazitin kontrolü ve tedavisi,
- 2- Köpek sayısı ve hareketlerinin kontrolü,
- 3- Halkın eğitimi ile ilgili çalışmalar

Her şeyden önce insan ve evcil hayvanlarla sürekli ilişki içerisinde bulunan köpeklerin periyodik tedavilerinin yapılması ve zorunlu hale getirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla her köpeğe enfekte olup olmadığına bakılmaksızın ilaç uygulanmalıdır. İlaçlamanın aralıksız yılda 2-3 kez yapılması gerekir. Mümkünse en uygun ilaçlar hayvan sahiplerine ücretsiz dağıtılarak, düzenli bir şekilde ilaçlamanın yapılması sağlanmalıdır. Tedavi sonrası dışkıların toplanarak yakılması da parazitin kontrolü açısından çok önemli ve gereklidir.

Köpeklerin parazitten korunmasını sağlamak için biyolojik çemberde köpek basamağının kırılması gerekmektedir. Bunun için kist hidatidli iç organların köpeklere verilmesi ve yedirilmesi engellenmelidir. Bu ancak kesimin uygun mezbahalarda ve veteriner hekimin denetiminde olmasıyla mümkündür. Bulaşmanın önlenmesi için bazı tedbirlerin alınması gerekmektedir. Bunlar;

- Hayvan kesimlerinin mutlaka veteriner hekim kontrolünde yapılması ve mezbaha dışında yapılan kaçak kesimlerin önlenmesi,
- Kesim sonrası kistli iç organların tamamen imha edilmesi ve bunun için mezbahalarda yakma fırınlarının bulunması,
- Yakma fırını olmayan kesimhaneler için, kesim yerinden en az 20 metre uzaklıkta, 5 metre derinliğinde, 2 metre çapında çukurların açılması,
- Ölen hayvanların açıkta bırakılmayıp en kısa sürede ortadan kaldırılması,
- Arıtma tesisi olmayan küçük kesimhanelerde su ve atıkların uygun bir şekilde uzaklaştırılmasının sağlanması,
- Kesimhanelerin etrafının yüksek tülle çevrilmesi, mezbahada bulunan köpeklerin kesim sırasında bağlanması ve köpeklerin içeriye girmesinin önlemesidir.

Hidatidozun eradikasyonunda köpeklerin kontrolü çok önemli bir yer tutmaktadır. Çünkü gerek insan gerekse hayvanlar için en önemli enfeksiyon kaynağı köpeklerdir. Köpeklerin sayısı ve hareketlerinin kontrol altına alınmasıyla köpek popülasyonu azaltılabilir ve hareketleri sınırlandırılabilir. Bunun için aşağıda belirtilen tedbirlerin alınması gerekmektedir:

- Köpekler mutlaka kayıt altına alınmalı ve sahip değişikliği bildirimleri de zorunlu olmalı,
- Köpeklerin kayıtlı olduğu ve ilaçlandığını belirten bir tasma taşıma zorunluluğu getirilmeli,
- Çoban köpeği sayısı sınırlandırılmalı ve ilaçlanmaları sağlanmalı,
- Başıboş köpekler belediyelerce toplanarak barınma evlerine alınmalı,

- Köpeklerin sahipliliği özendirilmeli,
- Dişi köpekler kısırlaştırılarak aşırı çoğalmaları önlenmeli,
- Köpeklerin sebze-meyve bahçeleri, park ve oyun alanlarına girmesi önlenmeli, buralara gelişigüzel dışkılamalarına engel olunmalıdır.

Tüm paraziter hastalıklarda olduğu gibi kist hidatidde de halkın eğitimi ile ilgili çalışmaların yapılması çok önemlidir. Hastalığın karmaşık bulaşma zinciri göz önüne alındığında eğitimin korunma ve bulaşmada ne kadar önemli olduğu anlaşılmaktadır. Halkın sosyoekonomik durumunun iyileştirilmesi ve halka toplum sağlığını koruma bilgisinin verilmesi en önemli korunma tedbirleri olacaktır. İnsanların hidatidoza karşı mücadeleyi görev olarak görmesi sağlanmalıdır. Bu konuda yapılması gerekenler şöyle sıralanabilir:

- Radyo, gazete, televizyon, kitap, film, afiş, dergi, konferans, cami vaazları gibi yollarla halkın anlayacağı düzeyde hastalıkla ilgili bilgilendirmeler yapılmalı, bu amaçla okullar, sağlık kuruluşları, kışlalar ve camiler de kullanılmalı,
- Hastalıkla ilgili afişler hazırlanarak, halkın toplu halde bulunduğu yerlere asılmalı,
- İlköğretim öğrencilerine hastalıkla ilgili bilgiler, anlayabilecekleri basitlikle resim ve şekillerle anlatılmalı,
- Çocukların başıboş sokak köpekleriyle oynamalarına izin verilmemeli ve engellenmeli,
- Kistli iç organların köpeklere verilmemesi ve etrafa atılmaması için kasaplar, çiftçiler, mezbaha çalışanları ve çobanlar başta olmak üzere toplum devamlı bilgilendirilmeli,
- Bunlara ilaveten çevre sağlığı koşulları düzeltilerek insanların kişisel hijyen tedbirlerini alması konusunda bilgilendirilmeleri gerekmektedir (Budak, 1991; Tınar ve Coşkun, 1991; Tiğın ve ark., 1991; Altıntaş ve Karababa, 2004).

Hidatidozun eradikasyonu için öncelikle korunma ve kontrol programının hazırlanması gerekmektedir. Programın hazırlanması ve yürütülmesi multidisipliner bir yaklaşım tarzında olmalıdır. Bunun için konuya yönelik özel bir üst kurul oluşturulmalıdır. Programda üniversiteler (Tıp ve Veteriner Fakülteleri), bakanlıklar (Sağlık, Tarım, Milli Eğitim, İçişleri), meslek örgütleri (Türk Tabipleri Birliği, Türk Veteriner Hekimleri Birliği), belediyeler ve sivil toplum kuruluşları görev almalıdır. Ayrıca bu konuda tecrübeli uluslararası örgütlerle ilişki kurularak deneyimlerinden faydalanılmalıdır (Umur, 1995; Altıntaş ve Karababa, 2004).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Genomik DNA purifikasyon kiti (Fermentas, K0512)

Lysis solüsyonu

Presipitasyon solüsyonu

1,2M NaCl

Proteinaz K (Promega)

Kloroform (Merck)

Etil alkol (Merck)

PBS (Phosphate buffer saline) tablet (Sigma)

10 X PCR buffer (Fermantas)

25 mM MgCl₂ (Fermantas)

10mM deoksinükleotid (dNTP) set (Fermantas)

JB3 primeri (Prizma lab.)

JB4.5 primeri (Prizma lab.)

1,25 U Taq DNA polimeraz enzimi (Fermantas)

Agaroz (Promega)

10X TAE (Tris Asetat EDTA) tampon çözeltisi (Fermantas)

6X loading dye (Fermantas)

Gene ruler 100-3000 bp DNA Ladder (Fermentas)

Etidyum bromid; 10 mg/ml (Promega)

ddH₂O

DNA-RNA free ependorf

Enjektör

Erlenmayer
Petri kutusu
Cam beher
Makas
Pens
Lam-lamel
Bıçak
Mikropipet seti (Nichiryo, Nichipet EX)
Stereomikroskop (Nikon SMZ1500)
Araştırma mikroskobu (Nikon eclipse 80i)
Fotoğraf ataçmanı (Nikon digital sight DS-L1)
Su banyosu (Nüve BM402)
Vorteks (Velp)
Hassas terazi (Kern, ABS220-4)
Derin dondurucu (Arçelik, 2031D)
Santrifüj (NF 800R)
Güç kaynağı (Tescom C-101)
Güvenlik kabini (Esco class II)
Termal siklus cihazı (Thermo Px2)
Yatay agaroz jel elektroforez cihazı (Thermo EC320)
Mikrodalga fırın (Regal RMD-17)
Jel görüntüleme sistemi (Gel logic 200 imaging system)
Masa üstü hızlı santrifüj (Kubota 3300)

3.2. Mezbaha Çalışmaları ve Örneklerin Toplanması

Bu çalışmada, Samsun bölgesi mandalarında kistik ekinokokozisin yaygınlığını belirlemek ve suşları PZR ve DNA Dizi Analizi ile tespit etmek için Mart 2006 ile Haziran 2010 tarihleri arasında Samsun (Merkez, Çarşamba, Terme, Bafra, Ondokuzmayıs) ve Amasya (Suluova)'daki mezbahalara gidilmiş ve toplam 166 manda incelenmiştir. Bu mezbahalarda kesimi yapılan mandaların yaş, cinsiyet ve menşei bilgileri alınarak kaydedilmiştir. Kesimi takiben hayvanların akciğer, karaciğer, kalp başta olmak üzere çeşitli organları öncelikle çıplak gözle incelenmiş, daha sonra dışarıdan görülemeyecek kistlerin de teşhis edilmesi amacıyla iki el arasına alınarak dikkatlice muayene edilmiştir. Kistli bulunan organlarda kistli bölge kesilerek ya da kesilemeyecek kadar büyük kisti olanlarda organlar tamamen alınarak, her hayvan için farklı bir poşete konulmuş ve laboratuvara getirilmiştir. Kistlerin büyüklükleri ölçülmüş ve hangi hayvanın hangi iç organında kist bulunduğu kaydedilmiştir. Kist içeriği steril ve kalın uçlu bir enjektörle çekilerek beher veya tüplerde toplanmış ve çökmesi için beklenmiştir. Daha sonra ince uçlu bir makasla kistler açılarak normal, kazeifiye ve kalsifiye olarak değerlendirilmiştir. Germinal membranlar ve kist sıvısı protoskoleks varlığı yönünden mikroskopta incelenmiş, içerisinde protoskoleks bulunan kistler fertil, bulunmayanlar ise steril olarak kabul edilmiştir. Bulunan germinal membranlar ve protoskoleksler PBS ile yıkanarak %70'lik etil alkole alınmış ve kullanılıncaya kadar -20°C'de saklanmıştır. Enfeksiyonun prevalansı, cinsiyet, yaş ve organ grupları arasındaki farkın önem kontrolü için ki kare testi uygulandı.

3.3. DNA Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu için hem protoskoleksler hem de germinal membranlardan yararlanıldı. Ekstraksiyonda ticari genomik DNA purifikasyon kiti (Fermentas) kullanıldı.

Toplam 12 kiste ait materyallerden DNA ekstraksiyonu yapıldı. Altı tanesinde germinal membran, üç tanesinde hem germinal membran hem protoskoleks, iki tanesinde kazeifiye ve bir tanesinde ise %50 kalsifiye kist germinal membranlarından yararlanıldı.

Ekstraksiyon işlemi için -20°C'de saklanan örnekler çıkarılarak, 20 mg (miligram) germinal membran ya da ortalama 200 dolayında protoskoleks alındı. DNA ekstraksiyonunun daha kolay olması için germinal membranlar lam üzerine alınarak bistüri ile kısmen parçalandı.

- Her bir ependorfa lysis solüsyonundan 400 µl konuldu.
- Üzerine 20 µl (20 mg/ml) proteinaz K eklendi ve 56 °C'de 5 saat su banyosunda inkübe edildi.
- Su banyosundan çıkarılan örneklerdeki germinal membranlar alınarak atıldı.
- Bunun üzerine 600 µl kloroform eklenerek tüp yavaşça 3-5 kez alt üst edildi.
- 14.000 rpm'de 2 dk. santrifüj edildi.
- Santrifüj sonunda üst kısım yeni bir ependorfa alınarak alt kısım atıldı.
- Üzerine yeni hazırlanan 10X presipitasyon solüsyonundan 800 µl konuldu ve yavaş bir şekilde 1-2 dk. ters çevrildi (10 X hazırlamak için 720 µl distile su + 80 µl presipitasyon solüsyonu).
- 14.000 rpm'de 2 dk. santrifüj edildi.
- Üste kalan sıvının hepsi döküldü.
- 100 µl 1,2M NaCl eklenerek DNA'nın çözüldüğünden emin oluncaya kadar yavaşça vortekslendi.
- NaCl dökülmeden üzerine 300 µl soğuk etil alkol eklendi. -20°C'de 10 dk. beklenerek DNA'nın çökmesi sağlandı.
- 14.000 rpm'de 4 dk. santrifüj edildi.
- Etil alkolün tamamı dökülerek üzerine 600 µl %70'lik etil alkol eklendi.
- 14.000 rpm'de 1 dk. santrifüj edildi ve üst kısım tamamen döküldü.
- Son olarak 50 µl distile su eklendi ve yavaşça vortekslenerek DNA'nın çözülmesi sağlandı.

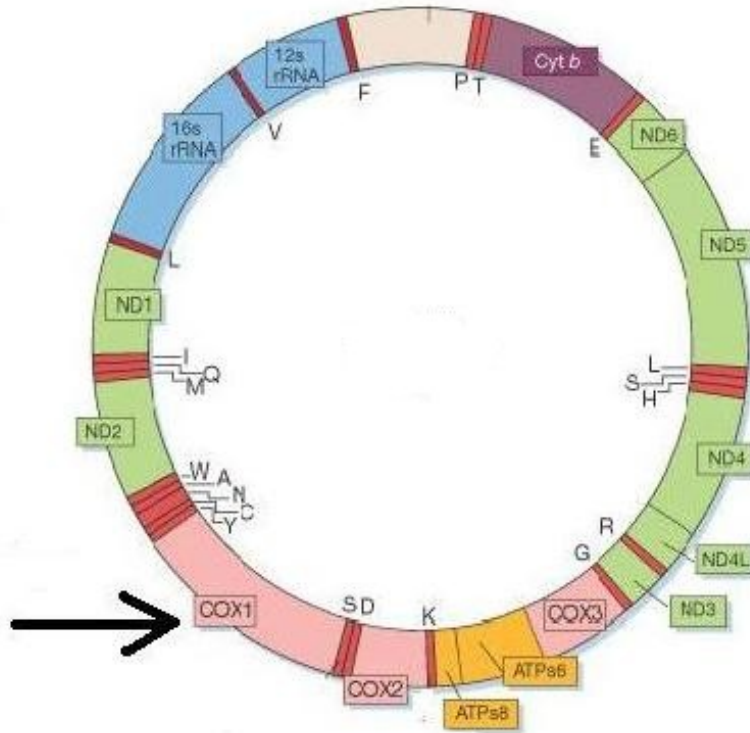
- Elde edilen bu son ürün hedef DNA olarak kullanıldı.

3.4. *cox1* Gen Bölgesinin PZR ile Çoğaltılması

PZR için *cox1* (Cytochrome c Oxidase 1) gen bölgesi seçildi (Şekil 19). *cox1* gen bölgesinin çoğaltılması amacıyla kullanılan ileri ve geri primerler ile baz dizilimleri sırasıyla aşağıda gösterilmiştir:

JB3 (5'-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3') ve

JB4.5 (5'-TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG-3').



Şekil 19. *cox1* gen bölgesi (Anon.2009d).

Öncelikle her bir örnek için toplam 45 µl hacminde ana karışım hazırlandı (Tablo 6).

Tablo 6. PZR için ana karışımın hazırlanması

No	Malzeme	Miktar	Toplam miktar (10 numune)
1	10X PZR buffer (Fermantas)	5 µl	50 µl
2	25 mM MgCl ₂ (Fermantas)	5 µl	50 µl
3	deoksiniükleotid (dNTP) set (Fermantas)	4 µl	40 µl
4	JB3 primeri (20 pmol) (Prizma)	1 µl	10 µl
5	JB4.5 primeri (20 pmol) (Prizma)	1 µl	10 µl
6	dH ₂ O	28,8 µl	288 µl
7	1,25 U Taq DNA polimeraz enzimi (Fermantas)	0,2 µl	2 µl
Toplam		45 µl	450 µl

Toplamda 10 (9 örnek, 1 negatif kontrol) numunemiz olduğu için bir fazlası kadar ana karışım hazırlandı. Ana karışım vortekslendikten sonra kenarlara yapışan damlalardan da yararlanmak için çok kısa bir santrifüj yapıldı. Daha sonra hazırlanan bu karışımdan 0,5 µl'lik DNA-RNA içermeyen tüplerin içerisine 45'şer µl koyuldu. Bunların üzerine her bir hedef DNA'dan 5 µl koyularak toplam 50 µl hacminde PZR karışımı hazırlandı. Bütün numuneler termal siklus cihazına (Thermo Px2) yerleştirilerek Tablo 7'deki protokole göre ayarlanarak reaksiyon gerçekleştirildi.

Tablo 7. PZR protokolü

Sikluslar	Denatürasyon	Bağlanma	Uzama
Ön denatürasyon	95 °C’de 10 dk.	-	-
35 siklus	94 °C’de 30 saniye	52 °C’de 40 saniye	72 °C’de 45 saniye
Son uzama	-	-	72 °C’de 7 dk.
En son	4 °C		

3.5. Yatay Agaroz Elektroforez

PZR ürünlerini elektroforez ile görüntülenmek amacıyla %1’lik agaroz jel hazırlandı.

- Yürütme yaptığımız tank hacmi 30 ml. olduğu için 3 ml agaroz tartılarak 1X hazırlanan TAE solüsyonu ile karıştırıldı.
- Bu karışım mikrodalga fırına koyularak kaynatıldı ve agarın tamamen erimesi sağlandı.
- Mikrodalga fırından çıkarılarak güvenlik kabininin içinde soğumaya bırakıldı. Yaklaşık 50-60 °C’ye kadar soğuduğunda 5 µl etidyum bromid eklenerek hafifçe karıştırıldı.
- Jel hazırlama tepsi hazırlandı ve taraklar yerleştirilerek %1’lik agaroz yavaşça tepsinin içine döküldü. Bu esnada hava kabarcığı kalmamasına özen gösterildi.
- Tepsi buzdolabına kaldırılarak tamamen polimerize olması için 20-25 dk. kadar beklendi.
- Daha sonra taraklar dikkatlice çıkarılarak jel tepsi elektroforez tankına yerleştirildi. Üzerine jelin yüzeyini geçecek kadar 1X TAE solüsyonu döküldü.

- 10 µl PZR ürünü ve 5 µl DNA ölçeği, 1'er µl yükleme boyası ile karıştırılarak jeldeki kuyucuklara yüklendi.
- Elektroforez tankının kapağı kapatılarak, elektrotlar güç kaynağına bağlandı. Cihaz 90 volta ayarlanarak çalıştırıldı ve örnekler yaklaşık 45 dakika yürütüldü.
- Yürütme işlemi bittikten sonra jel çıkarılarak görüntüleme cihazına konuldu ve fotoğrafları çekildi.

3.6. *cox1* Gen Bölgesinin DNA Dizi Analizi

Dokuz adet mitokondrial *cox1* gen bölgesine ait PZR ürünü İONTEK (İstanbul, Türkiye) firmasına gönderilerek çift yönlü DNA dizi analizi yaptırıldı. Bunun için firmaya PZR ürünlerinden 50 µl ve her bir örnek için JB3 ve JB4.5 primerlerinden 5 pmol/µl konsantrasyonda 10'ar µl yollandı.

Dizi analizi sonuçları Blast'a (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) girilerek ve ClustalW programı kullanılarak GenBank'taki referans suşların dizi analizleri ile karşılaştırıldı.

4.BULGULAR

4.1. Mezbaha Bulguları

Bu çalışma Samsun merkez ve Suluova'da ikişer, Ünye, Çarşamba, Terme, Bafra ve 19 Mayıs ilçelerinde birer tane olmak üzere toplam dokuz farklı mezbahada yürütüldü (Şekil 20).



Şekil 20. Bölgedeki mandalar (orjinal)

60'ı dişi ve 106'sı erkek olmak üzere toplam 166 manda incelendi. Erkeklerin 93'ü genç, 13'ü yaşlı; dişilerin ise 44'ü genç 16'sı yaşlı olarak tespit edildi (Tablo 8).

Tablo 8. İncelenen mandaların yaş ve cinsiyet durumu

	Erkek	Dişi	Toplam
Yaş \leq 3	93	44	137
Yaş $>$ 3	13	16	29
Toplam	106	60	166

İncelenen 166 mandanın 17'sinde (prevalans=%10,24; %95 CI=%6,2-15,89) kist saptandı. Cinsiyete göre enfeksiyon dişilerde yüksek (prevalans=%21,66; %95 CI=%12,73-34,06), erkeklerde ise düşük (prevalans=%3,77; %95 CI=%1,30-9,29) bulundu. Genç hayvanların 6'sı, yaşlı hayvanların ise 11'i enfekte bulundu (Tablo 9).

Tablo 9. Enfekte mandaların yaş ve cinsiyet dağılımı

	Erkek	Dişi	Toplam
Yaş ≤ 3	3	3	6
Yaş > 3	1	10	11
Toplam	4	13	17

Enfeksiyonun yaşa bağlı olarak arttığı görülmüştür. Gençlerde bu oran %4,38 (%95 CI=%1,93-9,36) olarak bulunurken, yaşlılarda ise %37,93 (%95 CI=22,08-56,99) olarak tespit edildi. Cinsiyet ve yaş birlikte değerlendirildiğinde, enfeksiyon genç erkeklerde %3,22, genç dişilerde %6,81, yaşlı erkeklerde %7,69 ve yaşlı dişilerde %62,5 olarak bulundu.

Enfekte toplam 17 mandada 21 tane kiste rastlandı. Bunlar enfekte mandaların 8 (%47,06)'inin akciğer, 5 (%29,41)'inin karaciğer ve 4 (%23,53)'ünün de her iki organında birlikte görüldü (Tablo 10).

Tablo 10. Enfekte manda sayıları ve kistlerin organlara göre dağılımı

Organ	Manda sayısı
Akciğer	8
Karaciğer	5
Akciğer + Karaciğer	4
Toplam	17

Kistlerin beşi fertil, dördü infertil ve 12'si de kalsifiye/kazeifiye (2'si kazeifiye) olarak tespit edildi. Her iki organında kist görülen mandalardan birinin

akciğer ve karaciğeri, birinin akciğeri, diğerinin ise karaciğeri kalsifiye olarak bulundu (Şekil 21-23, Tablo 11)..



Şekil 21. Fertil kistte protoskoleksler (orjinal)



Şekil 22. Akciğere yerleşmiş kalsifiye kist (orjinal)

Tablo 11. Kistlerin organlara göre dağılımı

(* Bir tanesi yaklaşık %50 kalsifiye)

Organ	Hidatik Kistli Organ Sayıları			Toplam
	İnfertil	Fertil	Kazeifiye/kalsifiye	
Akciğer	3	3	6*	12
Karaciğer	2	1	6	9
Toplam	5	4	12	21



Şekil 23. Germinal membran ve kız keseler (orjinal)

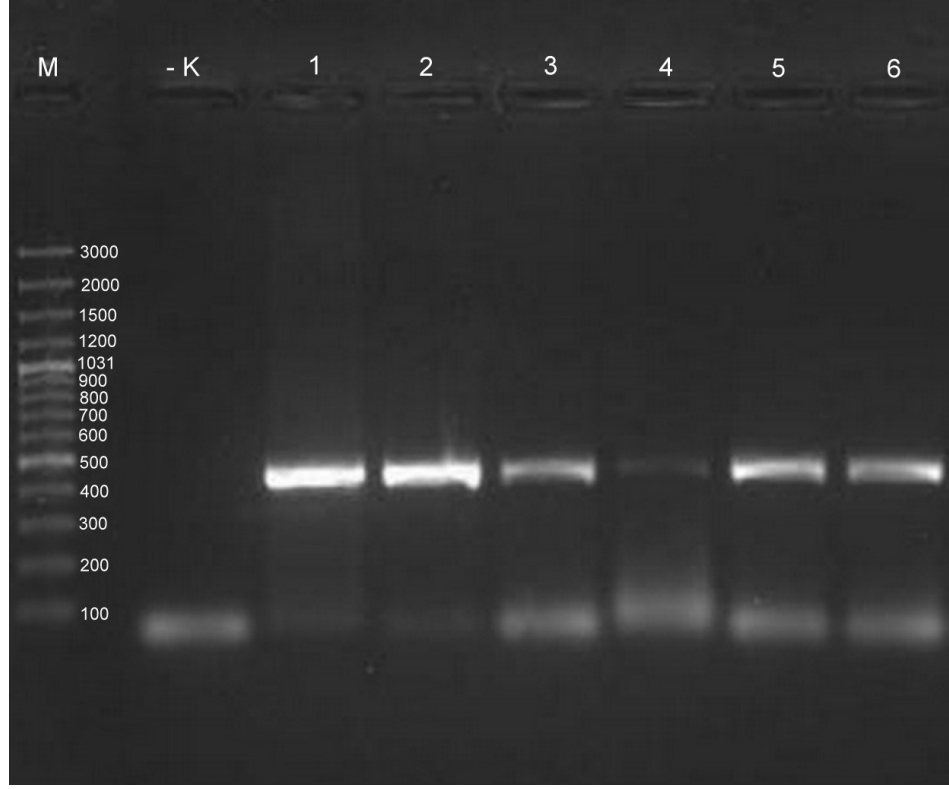
Chi-square testi ile enfeksiyonun yaygınlığı cinsiyet ($\chi^2=13.34$, $p<0.05$) ve yaşa ($\chi^2= 29.31$, $p<0.05$) göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

4.2. DNA Ekstraksiyon Bulguları

Yarısı (%50) kalsifiye ve tamamen kazeifiye olmuş toplam üç kistten elde edilen germinal membranlardan DNA elde edilemedi. Bunlar dışında kalan dokuz adet kist materyalinden DNA izolasyonu yapıldı.

4.3. *cox1* PZR ve Agaroz Jel Elektroforez Bulguları

DNA ekstraksiyonu sonucu elde edilen dokuz örneğin *cox1* gen bölgeleri JB3 ve JB4.5 primerleri ile çoğaltıldıktan sonra %1'lik agaroz jel elektroforezde yürütüldü ve yaklaşık 450 bp büyüklüğündeki bantlar görüntüledi (Şekil 24).



Şekil 24. *E.granulosus*'un manda izolatlarının mitokondrial *cox1* gen bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonucunda oluşan bandlar, **M**:marker, **-K**: negatif kontrol, 1-6: manda izolatları.

4.4. *cox1* Gen Bölgesinin DNA Dizi Analizi Bulguları

Sekiz mandaya ait dokuz örneğin dizi analizi sonuçları GenBank'ta veri tabanına kaydedilerek referans numaraları alındı (Tablo 12). Karşılaştırma sonucunda altı izolat evcil koyun suşu G1 (DQ062857_G1) ile tamamen aynı, diğer üç izolat ise *E.granulosus* sensu stricto (G1-G3 grubu)'nun varyantları olarak bulundu. TRWB07 ve TRWB09 örneklerinin 52. nükleotid pozisyonları G2 gibi timin iken, geri kalan tüm sekans G1'e benzemektedir. Ayrıca TRWB04 izolatının 122. pozisyonu G1'e kıyasla bir nükleotid değişiklik göstermektedir (C122T). Tüm izolatların nükleotid farklılıkları Tablo 13'de gösterilmiştir.

Tablo 12. Manda izolatlarının Genbank numaraları

Örnek no ve kodu	Parazitli organ	Fertilite durumu	Genbank Accession no
1-TRWBO1	Ac	İnfertil	HM598451
2- TRWBO2	Kc	İnfertil	HM598452
3- TRWBO3	Ac	Fertil	HM598453
4- TRWBO4	Ac	İnfertil	HM598454
5- TRWBO5	Ac	İnfertil	HM598455
6- TRWBO6	Kc	Fertil	HM598456
7- TRWBO7	Kc	İnfertil	HM598457
8- TRWBO8	Ac	Fertil	HM598458
9- TRWBO9	Ac	Fertil	HM598459

Tablo 13. Çalışmadaki ve Genbank'taki dizi analizi sonuçlarının nükleotid farklılıkları

		1111111	1111111122	2222222222	2222222222	2333
	12333345	5670001122	2444579901	1223334445	5556677799	9001
	2919258972	3241470924	5039501432	8473692482	3453528936	9281
DQ062857_G1	AAAGTTTGTC	GCGGTCGTTA	TGGGGCGTTG	TATGGTGGTG	TTAGTATGGG	TGGA
M84662_G2T	.T.....	C.....
M84663_G3T	.T.....	C.....
HM598459_TRWB09T
HM598458_TRWB08
HM598457_TRWB07T
HM598456_TRWB06
HM598455_TRWB05
HM598454_TRWB04C.
HM598453_TRWB03
HM598452_TRWB02
HM598451_TRWB01
M84664_G4	G..AG...GT	.T.AAT.G..	...T.TA..T	.G..A..A.A	AG.T..G.T.	.TA.
M84665_G5	GGT..C..GT	TTAA.TT...TT...	.G.A..TA.C	G..T.G.ATA	C.TT
EU048812_G6	.GT.G..TGT	TT.A.TTA.C	CAA.TTT...	.G.A..TA..	C..TCG.ATA	...C
M84667_G7	.GT.G..TGT	TT.A.TTA..	.AA.TTT...	.G.A..TA..	C..T.G.ATA	...C
DQ144021_G8	.GT.G..TGT	TT.A.TTG..	.AA.TTTCA.	CGC.A.TAA.	G.GT.G.ATA	.C.C
DQ144022_G10	.GT.G.G.GT	TT.A.TTA..	.AA.TTT...	.G.A.CTA.T	C..T.G.ATA	...C

5. TARTIŞMA

Echinococcus granulosus'un neden olduğu kistik ekinokokozis hem insan hem de hayvanları etkileyen dünyadaki en önemli zoonozlardan birisidir. Hastalık enfekte hayvan ve insanlarda sağlıklı yaşamı olumsuz yönde etkileyerek ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Güralp, 1981; Merdivenci ve Aydınlioğlu, 1982; Tiğın ve ark., 1991; Ayaz ve Tınar, 2006).

Son yıllarda hayvancılıkta bakış açısı değişmekte, daha önce fazla önemseyen manda yetiştiriciliği, süt kalitesi, kaymağı vb. nedenlerle tekrar önem kazanmaktadır. Türkiye'de 2000 yılında 146 bin olan manda sayısı 2009 yılında 87 binlere düşerken, Samsun'un payı %15'lerden % 10'ların da altına düşmüştür. Samsun ilinde 2 delta ve buna bağlı bataklık alanların fazla olması nedeniyle manda yetiştiriciliği hala önemini korumaktadır ve bu amaçla manda yetiştiriciler birliği kurulmuştur (Anon.2011a; b).

Türkiye'de mandalarda kistik ekinokokozisin yaygınlığı hakkında yeterli çalışma yapılmamıştır. Yapılan az sayıda çalışma ise eski tarihli olup hiçbiri güncel verileri yansıtmamaktadır. Karadeniz Bölgesi'nde mandalarda parazitin yaygınlığı hakkında sadece bir veri bulunmakta, o da mezbaha kayıtlarına dayanmaktadır (Zeybek, 1973).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda mandalardaki enfeksiyon oranını Türkmen (1992) İstanbul'da %22,32, Umur ve Aslantaş (1993) Kars'ta %16,66, Zeybek ve Tokay (1990) ise Ankara'da %41,1 olarak bulmuşlardır. Ulukan (1981)'a atfen Türkmen'in bildirdiğine göre (1992) Çorlu mezbahasında kesilen mandaların %19,1'i enfekte bulunmuştur. Yine Zeybek (1973) Samsun mezbahasındaki kayıtlara göre mandaların %29,6'sının enfekte olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada ise enfeksiyon oranı %10,24 olarak bulunmuştur. Araştırma sonucunun daha önce yapılan çalışmalardan daha düşük olduğu görülmektedir. 1973 ile 1993 yılında mandalarda yapılan bu çalışmaların üzerinden yıllar geçmiş olması nedeniyle, bu rakamlar güncel verileri yansıtmamaktadır. Bunun yanında eskiye nazaran insanların hastalık hakkında daha fazla bilgi sahibi olmaları, halkın genel eğitim ve kültür düzeyinin yükselmesine bağlı olarak hijyene verilen önemin artması, son yıllarda belediyelerin barınaklar kurması dolayısıyla başıboş gezen köpek sayısındaki azalma, barınaklarda köpeklerin düzenli

ilaçlanması, manda sayısındaki azalmaya bağlı olarak köpeklerin enfekte iç organ yeme olasılığının düşmesi gibi faktörler, hastalığın görülme oranının azalmasının nedenleri olabilir. Nitekim 1972 yılında mandalarda %29.6 olan enfeksiyon oranının bugün yaklaşık üç kat azalması bu düşünceyi destekler niteliktedir. Cinsiyete göre enfeksiyona bakıldığında Türkmen (1992) erkek mandalarda yoğunluğu %20,14, dişilerde ise %90,91 olarak bildirmiştir. Yapılan bu çalışmada ise erkeklerde enfeksiyon %3,77, dişilerde ise %21,66 olarak bulunmuştur. İki çalışma arasında hem dişilerdeki hem de erkeklerdeki enfeksiyon yoğunluğu bakımından anlamlı derecede fark görülmektedir ($p<0.05$). Türkmen dişilerdeki enfeksiyon oranını %90,91 oranında bulmasına karşın 9-15 yaşları arasındaki mandaların hepsini (%100) enfekte olarak tespit etmiştir. Buradan da anlaşılacağı gibi burada enfeksiyonun yaygın olmasının nedeni cinsiyetten çok yaş ile ilgili olmasıdır. Yine de Türkmen'in yaşlı dişilerde bulduğu %90,91'lik oran, bu çalışmada yaşlı dişilerde görülen (%58,82) enfeksiyondan çok fazladır. Dişi hayvanlar, süt ve döl verimlerinden uzun süre faydalanmak için kesime daha geç gönderilmekte ve buna bağlı olarak daha uzun süre açık arazilerde otlamaktadırlar. Türkmen'in çalışmasında da dişilerde bu kadar yüksek oranların çıkmasının ana nedeninin incelenen mandaların çok yaşlı olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Türkmen (1992) yaptığı çalışmada organlara göre enfeksiyon oranlarını sadece akciğerde %53,13, sadece karaciğerde %35, hem akciğer hem de karaciğerde birlikte %11,87 olarak bulmuştur. Umur ve Aslantaş (1993) ise aynı oranları sırasıyla %47,82, %30,43 ve %21,73 olarak tespit etmişlerdir. Zeybek (1973), Samsun mezbahası verilerine göre kistlerin %34,34'ünün karaciğer, %65,66 da akciğerde bulunduğunu bildirmiştir. Zeybek bu verilerinde her iki organda birlikte görülen kistlerin oranını değerlendirmemiş, o yüzden her bir organdaki enfeksiyon oranı daha fazla görülmektedir. Zeybek ve Tokay (1990), Ankara yöresinde yaptıkları araştırmada 28 enfekte organın 13 (%46,43)'ünün karaciğer, 15 (%53,57)'inin ise akciğer olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmada ise sadece akciğerde %47,05, sadece karaciğerde %29,41 ve her iki organda birlikte %23,53 oranında enfeksiyon tespit edilmiştir. Bulunan sonuçların Umur ve Aslantaş (1993)'in sonuçlarına oldukça yakın olduğu dikkat çekmektedir. Bu çalışmada sadece akciğer ve sadece karaciğerdeki enfeksiyon oranı Türkmen (1992)'nin sonuçlarından daha düşük olmasına karşın her iki organda birlikte görülen enfeksiyon oranı daha yüksektir. Zeybek ve Tokay (1990)'ın yaptıkları çalışmada akciğer ve karaciğer

enfeksiyonlarının birbirine oldukça yakın olması oldukça dikkat çekicidir. İncelenen manda sayıları ve araştırma yapılan yerlerin birbirinden farklı olması bu oranların birbirinden farklı olmasının temel nedeni olduğu düşünülmektedir.

Kistik ekinokozisin değişik arakonaklarda yaygınlığı ile ilgili birçok çalışma olmasına karşı, hastalığın mandalardaki durumu ile ilgili çalışmalar daha çok manda yetiştiriciliğinin yaygın olduğu İran, Pakistan, Hindistan, Mısır ve Nepal'in ağırlıkta olduğu Asya ülkeleri ve İtalya'da yapılmıştır. Bu ülkelerde parazitin mandalardaki yaygınlığı % 0 - 48,1 arasında değişen oranlarda tespit edilmiştir (Singh ve Dhar, 1988; Khan ve ark., 1990; Rahman ve ark., 1992; Cringoli ve ark., 2006; Manandhar ve ark., 2006; Daryani ve ark., 2007). Araştırma sonuçları birbirinden çok farklı olup, farkların nedeni incelenen hayvan sayısı ile araştırma yapılan bölgelerin farklı olmasına bağlıdır. Daryani ve ark. (2007) İran'da erkek mandaların %9,3'ünün, dişilerin ise %16,3'ünün enfekte olduğunu tespit etmişlerdir. Cringoli ve ark. (2006) İtalya'da 43 enfekte mandanın 42'sinin dişi, birinin ise erkek olduğunu belirtmişlerdir. Khanmohammadi ve ark. (2008) mandalarda toplam 663 kist bulmuşlar, bunların 101'inin (%15,23) erkeklerde, 562'sinin (%84,77) de dişilerde bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise erkeklerde enfeksiyon oranı %3,77, dişilerde ise %21,66 olarak bulunmuştur. Genel olarak diğer arakonaklarda olduğu gibi, mandalarda da dişilerdeki enfeksiyon oranının erkeklere göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Singh ve Dhar (1988) enfeksiyonun yaşlılarda daha çok görüldüğünü kaydetmişlerdir. Khan ve Purohit (2006) yaptıkları çalışmada 2 yaşından küçük mandalarda enfeksiyon oranını %11,1 olarak bulurken, 2 yaşından büyüklerde bu oranı %43,6 olarak tespit etmişlerdir. Mirani ve ark. (2002) enfeksiyonu, 0-2 yaş arası mandalarda %5, 5-8 yaş arasındakilerde %9,3, 8-11 yaş arasındakilerde %33,74 ve 11 yaş ve üzeri mandalarda ise %62,66 olarak belirlemişlerdir. İtalya'da yapılan bir çalışmada mandalardaki enfeksiyon oranı %10,5 bulunurken, 9 yaşından büyük mandalarda bu oran %42,1 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada da enfeksiyon yaşa göre artmış, gençlerde %4,38 yaşlılarda ise %37,93 olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonuçları ile daha önce yapılan araştırmalar arasında paralellik görülmekte, bu da enfeksiyonun yaş ile doğrudan ilişkili olduğunu göstermektedir. Organlara göre enfeksiyon oranları da yapılan çalışmalarda farklılık göstermektedir. Daryani ve ark. (2007) mandalarda kistlerin daha çok akciğerde bulduklarını bildirmişlerdir. Cringoli ve ark. (2006) İtalya'da yaptıkları çalışmada 43

enfekte mandanın 10'unun sadece karaciğerinin, 20'sinin sadece akciğerinin ve 13'ünde ise de her iki organının birlikte enfekte olduğunu belirtmişlerdir. Yine İtalya'da yapılan başka bir çalışmada 76 mandanın 34'ünün akciğer, 17'sinin karaciğer ve 25 tanesinin her iki organının birlikte enfekte olduğu görülmüştür (Capuano ve ark., 2006). Manandhar ve ark. (2006) sadece akciğerlerde %60,38, sadece karaciğerde %22,64 ve hem akciğer hem de karaciğerde %16,98 oranında yaygınlık bildirmişlerdir. Mehrabani ve ark. (1999) 25 manda incelemişler, karaciğerlerin %4'ünü, akciğerlerin ise %8'ini enfekte bulmuşlardır. İran'da Khanmohammadi ve ark. (2008) kistik ekinokokozisi %33,83 karaciğerde, %70,28 de akciğerde tespit etmişlerdir. Hindistan'daki bir çalışmada enfekte mandalarda %60 oranında sadece akciğerde ve bunun yaklaşık yarısı kadar %32 oranında sadece karaciğerde kist olduğu bildirilmiştir (Singh ve ark., 1988). Yine Hindistan'da Singh ve ark. (2006) kistik ekinokokozis buldukları 47 mandanın 32'sinin akciğerinin, 15 tanesinin de karaciğerinin enfekte olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada da sadece akciğerde %47,05, sadece karaciğerde %29,41 ve her iki organda birlikte %23,53 oranında enfeksiyon görülmüştür. Yukarıdaki çalışmalar ile paralellik gösteren bu çalışmada da görüldüğü gibi, kistik ekinokokozis mandaların akciğerinde karaciğerlerinden daha fazla görülmektedir.

Echinococcus granulosus içerisindeki suşların tanımlanması ve gruplandırılmasında en çok PZR tabanlı yöntemler kullanılmaktadır. PZR, RFLP, PZR-RFLP, RAPD-PZR, SSCP, dideoxy fingerprinting (ddF) ve DNA baz dizi analizi gerek parazitlerin genom araştırmalarında, gerekse tanıya yönelik moleküler çalışmalarda kullanılan temel tekniklerdir (Gasser ve ark., 1998a; Hökelek ve Arıkoğlu, 2004; Yolasığmaz ve Güneş, 2004). Tek bir nükleik asidi bile gösterebilecek kadar güçlü bir çoğaltma tekniği olan PZR bugün en yaygın kullanılan yöntemidir (Alkan ve ark., 1997). DNA dizi analizleri ya da sekanslama ise herhangi bir DNA parçasında bulunan A,G,T,C nükleotid sıralarının belirlenmesi olarak tanımlanabilmektedir (Yumurtacı, 2009).

Echinococcus granulosus'un G1 ve G4 suşlarının ve *Taenia crassiceps*'in tüm mitokondriyal genomu Le ve ark. (2002) tarafından dizilenmiştir. DNA dizilerini *E.multilocularis* ve *Hymenolepis diminuta*'nın genomu ile karşılaştırmışlar ve tüm bu türlerin genom yapılarının benzer olduğunu görmüşlerdir. G1 ve G4 suşlarının protein kodlayan genlerinin ise birbirinden oldukça farklı olduğu belirtilmiştir.

Polonya’da domuzlardan elde edilen kist hidatid materyalleri incelendiğinde, bunların at, koyun, sığır ve deve izolatlarından sadece moleküler olarak değil, morfolojik ve biyolojik olarak da ayrılabilirdiği gösterilmiştir (Eckert ve ark., 1993). İran’da insan ve hayvanlardan toplanan izolatların tiplendirilmesinde hem morfolojik hem de moleküler (*ITS1* PZR-RFLP) teknikler kullanılmış, koyun ve deve suşlarının sadece çengel morfolojileri ile de birbirinden ayrılabilirdiği belirtilmiştir (Harandi ve ark., 2002). Tunus’ta develerden elde edilen kist hidatidler morfolojik ve moleküler olarak incelenmiş daha sonra *cox1* gen bölgesinin dizi analizi ile tüm izolatların G1 suşu olduğu tespit edilmiştir (Lahmar ve ark., 2004). İnsan, koyun ve deve izolatlarından elde edilen protoskolekslerin rostellar kanca morfolojileri ve ribozomal *ITS1* gen bölgesinin PZR-RFLP analizi ile koyun ve insan izolatlarının benzer, deve izolatlarının ise farklı olduğu görülmüştür (Ahmadi ve Dalimi, 2006). Libya’da ise insan, koyun, sığır ve develerden elde edilen parazitlerin çengel morfolojileri incelenmiş, koyun ve sığır izolatları benzer bulunurken, bunların deve ve insan izolatlarından farklı olduğu bildirilmiş, bunun üzerine aynı izolatların *cox1* gen bölgeleri DNA dizi analizi ile incelendiğinde hepsinin G1 suşu olduğu anlaşılmıştır (Tashani ve ark., 2002).

cox1 gen bölgesinin sekanslanmasıyla yapılan ilk çalışmayla *E.granulosus* türü içerisinde 7 suş tespit edilmiştir (Bowles ve ark., 1992a). Daha sonra *nad1* gen bölgesinin sekanslandığı bir çalışmada G2-G3 suş ayrımı sağlanamadığından 6 suş tanımlanabilmiştir (Bowles ve McManus, 1993c). Kenya’da insanlardan PAIR yöntemiyle elde edilen 59 kist hidatid materyalinin *cox1* ve *nad1* gen bölgeleri sekanslanmış, 49 (%83)’u G1 ve 10 (%17)’u de G6 suşu olarak tespit edilmiştir. Bu insanlarda G6 suşunun varlığı bakımından önemli ve yüksek bir orandır (Casulli ve ark., 2010). Obwaller ve ark. (2004) *nad1* ve *cox1* gen bölgelerinin DNA dizi analizleri sonucu suşlar arasındaki ve içindeki genetik varyasyonun derecesini göstermişlerdir. Arjantin’de 41 hastadan elde edilen hidatid kistlerin *cox1* gen bölgeleri dizilenmiş ve G1, G2, G5 ve G6 suşlarının varlığı gösterilmiştir (Guarnera ve ark., 2004). Çin’de 37 insan, 9 sığır, 5 koyun ve 4 köpeğe ait 53 *E.granulosus* izolatının farklı gen bölgeleri (*cox1*, *nad1* ve *atp6*) PZR ve DNA dizi analizi ile incelenmiş ve hepsinin G1 suşu ve bu suşun mutasyonları olduğu tespit edilmiştir (Ma ve ark., 2008). Afrika’da 20 deve, 2 insan ve 3 sığır kistin, bir nükleer (*BG 1/3*) ve 2 mitokondriyal (*cox1* ve *nad1*) gen bölgesinin DNA dizi analizi yapılmış ve deve suşunun insan enfeksiyonlarında rol

aldığı gösterilmiştir (Bardonnet ve ark., 2002). Bulgaristan'da domuz, koyun, sığır, çakal ve kurtlardan elde edilen izolatların yine nükleer ve mitokondriyal gen bölgeleri PZR ile çoğaltılarak DNA dizi analizi yapılmıştır. Bu amaçla *nad1*, *hbx*, *ActIII* ve *AgBI* gen bölgeleri seçilmiş ve Bulgaristan'da baskın suşun G1 olduğu sonucuna varılmıştır (Breyer ve ark., 2004). Estonya'da yabani geyiklerden elde edilen hidatid kistlerin *atp6*, *nad1* ve *cox1* gen bölgeleri çoğaltılarak sekanslanmıştır. Geyiklerde G8 ve G10 suşlarını tespit eden araştırmacılar bu çalışmalarlarıyla Avrasya'da ilk kez G8 suşunun varlığını göstermişlerdir (Moks ve ark., 2008). Finlandiya ve İsveç geyiklerinden elde edilen izolatların *nad1* gen bölgesi sekanslanmış, *atp6*, *nad1*, *nad3* ve *cox1* gen bölgeleri üzerinde de filogenetik analizler yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucu, G6, G7, G8 ve G10 suşlarının bir grup oluşturduğu, bu grubun G1 ve G4 suşlarından oldukça farklı olduğu, fakat G5 suşuna da çok yakın olduğu görülmüştür. Aynı araştırmacılar G6-G10 suş grubunun *E.g. sensu stricto*'dan farklı olduğunu görüşünü de desteklemiştir (Lavikainen ve ark., 2006). Yine Finlandiya'da beş geyikten elde edilen izolatların *cox1*, *nad1* ve *ITS1* gen bölgelerinin sekans analizi sonucunda, Finlandiya'daki geyik suşunun Amerikan geyik suşuna benzediği, fakat tüm suşlardan farklı olduğu belirtilerek buna Fennoscandian Geyik Suşu (G10) adı verilmiştir (Lavikainen ve ark., 2003). Arjantin'de *cox1* gen bölgesinin sekanslanması sonucu G1 suşuna koyun, sığır, domuz, köpek ve insanda; G2 suşuna koyun, sığır ve insanda; G5 suşuna köpek, insan ve sığırdaki, G6 suşuna köpek, insan ve keçi; G7 suşuna da domuz ve köpekte rastlanmıştır (Kamenetzky ve ark., 2002). İtalya'da 40 sığıra ait kist hidatid materyalinin mitokondriyal *cox1* gen bölgesinin dizi analizi yapılmış ve 21'i G1, 2'si G2, 17'si ise G3 suşu olarak tespit edilmiştir (Rinaldi ve ark., 2008). Üç Afrika ülkesinde koyun, sığır, deve ve insandan toplanan kist hidatid materyallerin mitokondriyal (*cox1* ve *nad1*) ve nükleer (*actIII* ve *hbx2*) gen bölgelerinin sekans analizleri sonucunda G1, G2 ve G6 suşlarının varlığı bildirilmiştir (Maillard ve ark., 2007). Çin'in batı bölgesinde yapılan bir çalışmada mitokondriyal *atp6* gen bölgesi sekanslanmış ve koyun, keçi, sığır ve insanda G1 suşuna rastlanmıştır (Yang ve ark., 2005). İtalya'da parazit izolatlarının ayırımında *cox1* ve *nad1* gen bölgelerine ilave olarak *rrnS* (rRNA small subunit) gen bölgesiyle de çalışılmış ve suş ayırımı sağlanabilmiştir. *cox1* bölgesi için JB3 ve JB4.5, *nad1* bölgesi için egND1-for ve egND1-rev, *rrnS* bölgesi için de P60 ve P375 primerleri kullanılmıştır. Araştırmacılar

diğer gen bölgelerinin aksine *nad1* ile G2-G3 suş ayrımını sağlayamamışlardır (Busi ve ark., 2007).

Dinkel ve ark. (2004), Kenya ve Sudan'dan elde ettikleri insan, koyun, keçi, sığır, deve ve domuz izolatlarını yeni tasarladıkları primerlerle çoğaltarak, dizi analizine gerek kalmadan G1 ve G5/6/7 suşlarının tespitini sağlayabildiklerini göstermişlerdir. Yine Rahimi ve ark., (2007) *ITS1* gen bölgesi için *EgF* ve *EgR* adlı yeni primerler tasarlayarak PZR uygulamışlardır. Bu şekilde daha fazla DNA ve agaroz jel elektroforezde daha kolay görülür bantlar elde etmişlerdir. Buna karşın, Yunanistan'da ise koyun ve keçilerden elde edilen izolatlarda G1/G2/G3 kümesi ile G5 ve G6/G7 suşlarının ayrımı için Dinkel ve ark. (2004)'nın kullandıkları yöntem kullanılmış ancak başarılı olunamamıştır. Son olarak *cox1* ve *nad1* gen bölgeleri sırasıyla JB3/JB4 ve JB11/JB12 primerleri ile çoğaltılmış ve DNA dizi analizi ile G1, G3 ve G7 suşlarının varlığı ortaya konmuştur (Varsacia ve ark., 2007). Uganda'da aslan dışkılarından elde edilen tenya tip yumurtaların *cox1*, *nad1*, *cob* (cytochrome b) ve *rrn* mitokondriyal gen bölgelerinin yanı sıra *efla* (elongation factor 1 alpha) ve *elp* (ezrin-radixin-moesin (ERM)-like protein) nükleer gen bölgeleri de PZR ile çoğaltılmıştır (Hüttner ve ark., 2008). Romanya'da var olan suşların tespiti için bir nükleer (*BG1/3*) ve iki mitokondriyal (*cox1* ve *nad1*) gen bölgesi dizilenmiştir. Mitokondriyal gen bölgelerinin çoğaltılmasında primerlerde bazı değişiklikler yapılarak EgCOI, EgCOI 2, EgNDI 1 ve EgNDI 2 adlı yeni primerler kullanılmıştır. Koyun ve sığırlarda G1 ve G2, domuzlarda ise G7 suşu tespit edilmiştir. Sığırlarda G2 suşunun varlığı ilk kez Romanya'daki bu çalışma ile gösterilmiştir (Bart ve ark., 2006). Bir başka çalışmada ise PZR için *cox1*, *AgB/1*, *EmHbX2*, *ActII*, *BG1/3*, *ITS1*, *MS* bölgeleri hedef alınmış ve bu sekiz farklı bölge için 8 farklı primer çifti kullanılmıştır. Beş farklı konak üzerinde yürütülen çalışmada insan, koyun ve sığırlarda G1; yine insan, sığır ve deve G6 suşu tespit edilmiştir (Bart ve ark., 2004).

İlk kez Polonya'da domuz kaynaklı *E.granulosus* izolatları RFLP yapılarak incelenmiş ve bunların morfolojik, biyolojik ve genetik olarak diğer suşlardan farklı olduğunu anlaşılmıştır (Eckert ve ark., 1993). Polonya'da insanlardan elde edilen kist hidatid materyallerinin incelenmesi sonucu, hastaların insanlarda yaygın olarak bulunan G1 suşu ile enfekte olmadığı tespit edilmiştir. *nad1* gen bölgesinin sekans sonucu G7 suşuna benzemesine karşın bazı farklılıklar olduğu görülmüştür. Bunun üzerine *ITS1*

gen bölgesi *AluI*, *CfoI*, *MspI* ve *RsaI* enzimleri ile kesilmiş (PZR-RFLP) ve bu izolatların ilk defa tanımlanan G9 (insan) suşu olduğuna karar verilmiştir (Scott ve ark., 1997). Şili’de *RsaI* enzimi ile PZR-RFLP ve *coxI* gen bölgesinin dizi analizinin yapıldığı bir çalışmada G1 ve G6 suşlarının varlığı gösterilmiştir (Manterola ve ark., 2008). Meksika domuzları ile Polonya domuzlarından elde edilen izolatlar *ITS1* gen bölgesinin PZR-RFLP, RAPD ve *coxI* gen bölgesinin DNA dizi analizi metotları ile karşılaştırılmış ve genetik olarak aynı bulunmuştur. Benzer bulunan sonuçlar çengel morfolojisi çalışmalarıyla da tamamlanmıştır (Cruz-Reyes ve ark., 2007). Arjantin’de farklı bölgelerden ve farklı konaklardan elde edilen 33 *E.granulosus* izolatının *ITS1* gen bölgesinin PZR-RFLP, *nadI* ve *coxI* gen bölgelerinin DNA dizi analizi ile G1, G2, G6 ve G7 suşları tespit edilmiştir. Arjantin’de yapılan bu çalışmayla insanlarda ilk kez G2 ve G6 suşlarının varlığı gösterilmiştir (Rosenzvit ve ark., 1999). Çin’de koyun, sığır, domuz, deve ve insandan elde izolatlarla RFLP, PZR-RFLP ve *coxI* bölgesinin DNA dizi analizi yapılmış ve tüm izolatlar koyun suşu olarak tespit edilmiştir (McManus ve ark., 1994). Slovakya’da domuz izolatlarının *nadI* gen bölgesi sekanslanmış ve G7 suşunun varlığı ortaya konmuştur. Fakat *nadI* gen bölgesinin sekans analizi G7 ve G9 suşlarının ayrımını sağlayamadığından, buna ilave olarak *ITS1* gen bölgesi de PZR-RFLP yöntemiyle incelenmiştir (Snabel ve ark., 2000). Meksika’da 38 yaşında bir insandan elde edilen kist materyaline *MspI*, *RsaI*, *AluI* ve *HhaI* enzimleri kullanılarak PZR-RFLP, RAPD ve DNA dizi analizi yapılmış ve sığır suşunun varlığı gösterilmiştir (Maravilla ve ark., 2004). Domuz izolatlarının ayrımının yapıldığı bir başka çalışmada bu dört enzime ek olarak *TaqI* enzimi de kullanılmıştır (Cruz-Reyes ve ark., 2007). Meksikada domuzlardan elde edilen kist izolatlarının *coxI* ve *nadI* bölgeleri sekanslanmış, *ITS1*, Eg9 ve Eg16 bölgeleri PZR ile çoğaltılmış ve *ITS1* bölgesi *MspI*, *RsaI* ve *CfoI* enzimleri ile kesilerek PZR-RFLP uygulanmıştır. Bu moleküler çalışmalar sonucu G1 ve G7 suşlarının varlığı ortaya konmuştur. *ITS1* bölgesi için BD1/4S, *nadI* bölgesi için JB11/JB12, *coxI* bölgesi için de JB3/JB4.5 primerleri kullanılmıştır (Villalobos ve ark., 2007). Tunus’ta *E.granulosus*’un moleküler epidemiyolojisi hakkında bilgi sağlamak için yapılan ilk çalışmada *ITS1* PZR-RFLP ve *coxI* sekans analizi yapılmış, develerde G6; insan, koyun ve sığırdaki ise G1 suşu tespit edilmiştir (M’rad ve ark., 2005). Bowles ve McManus, (1993b) yaptıkları çalışmada *E.granulosus* suşları içerisindeki ayrımı tanımlayabilmek için *ITS1* gen bölgesine *MspI*,

Rsa1, *Cfo1*, *Alu1* ve *Taq1* enzimlerini kullanarak PZR-RFLP yöntemini uygulamışlardır. İspanya'da *E.granulosus* suşlarını tespit etmek amacıyla farklı primerler tasarlanmış ve 53 izolata PZR-RFLP uygulanmıştır. Yaptıkları bu çalışma ile *E.granulosus*'un *E.multilocularis*'ten ayrımı sağlanmış, İspanya'da bulunan *E.granulosus* suşları tanımlanmış ve domuzlarda bulunan iki ayrı suş tespit edilmiştir. Daha sonra domuzlardaki genetik çeşitliliği daha iyi ortaya koyabilmek amacıyla *nad1* ve *cox1* gen bölgeleri dizi analizi yapılarak G1 ve G7 genotiplerinin varlığı bir kez daha ortaya konmuştur (Gonzales ve ark., 2002).

Slovakya'da domuz, insan ve sığırlardan elde edilen izolatlar RAPD-PZR ve *nad1* gen bölgesinin sekans analizi ile incelenmiş ve bu üç arakonakta da G7 suşu tespit edilmiştir (Turcekova ve ark., 2003). Sığır, koyun ve manda izolatları 26 farklı primer kullanılarak RAPD-PZR yöntemi ile incelenmiş ve sadece 2 primer bu izolatların ayrımını sağlayabilmiştir. Daha sonra *MspI* ve *RsaI* enzimleri ile *ITS1* PZR-RFLP yöntemi uygulanmış fakat farklılık görülemediği (Bhattacharya ve ark., 2008). Bazı araştırmacılar İspanya'da bulunan suşların tam anlamıyla genotiplendirilmediğini düşünerek farklı konaklardan elde ettikleri izolatlara RAPD uygulamışlar, *cox1* ve *nad1* gen bölgelerini de sekanslamışlardır. Bunun sonucunda atlarda G4 suşunu, keçi, domuz ve yaban domuzunda hem G1 hem de G7 suşunu, insan, koyun ve sığırlarda da G1 suşunu tespit etmişlerdir (Mwambete ve ark., 2004).

Sudan'da araştırmacılar suşların tespiti için başka bir yöntem seçerek nested-PZR uygulamışlar, *nad1* gen bölgesini hedef alarak birinci basamak için EGL1 ve EGR2, ikinci basamak için de EGL3 ve EGR4 primerlerini kullanmışlardır. Nested-PZR yöntemi ile koyun, sığır ve deve suşlarını tespit edebilmişlerdir (Osman ve ark., 2009).

Gasser ve ark. (1998) SSCP yöntemi ile DNA dizi analizine ve enzimle kesime gerek kalmadan mitokondriyal DNA'daki sekans farklılığının gösterilebildiğini ve SSCP'nin kullanışlı bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir (Gasser ve ark., 1998b).

İtalya'da mandalardan elde edilen 48 ekinokok kistin *cox1* gen bölgesi PZR ile çoğaltıldıktan sonra DNA dizi analizi yapılmış, bunların 33'ünün G1, 15'inin G3 suşu olduğu tespit edilmiştir (Capuano ve ark., 2006). Hindistan'da manda, sığır ve koyun izolatlarının *nad1* ve *cox1* gen bölgeleri üzerinde çalışılmıştır. *nad1* bölgesinin sekanslanması sonucu izolatlar *E.granulosus* sensu stricto olarak gruplandırılırken, *cox1*

bölgesinin sekanslanmasıyla tüm izolatlar G2 ve G2'nin varyantları şeklinde tespit edilmiştir. Bu çalışma ile mandalarda G2 suşunun varlığı ilk kez ortaya çıkarılmıştır (Bhattacharya ve ark., 2007). Yine Hindistan'da sığır, manda, domuz ve koyun izolatlarının *cox1* bölgesinin sekanslanması ve filogenetik analizi sonucu G3'ün en yaygın suş olduğu bulunmuştur. Araştırmacılar yaptıkları bu çalışmada mandalarda G3 suşu dışında G1 ve G5 suşlarına da rastlamışlardır. Ayrıca G3 ve G5 suşlarının domuzlarda fertil kistler oluşturabildiği de bu çalışmada gösterilmiştir (Pednekar ve ark., 2009). İtalya'da sığır ve mandalar üzerinde yürütülen bir çalışmada yaygın olarak yapıldığı gibi *nad1* ve *cox1* gen bölgelerinin DNA dizi analizi yapılmıştır. Mandalarda G1, G2 ve G3 suşlarına rastlanırken sığırlarda bu üç suşa ilave olarak G5 suşu da tespit edilmiş ve İtalya'da ilk kez G5 suşunun varlığı bildirilmiştir (Casulli ve ark., 2008). Yapılan çalışmalarla görüldüğü gibi mandalarda sadece G3 suşu değil G1, G2 ve G5 suşlarının da bulunmaktadır. Bu çalışmada da mandalardan elde edilen izolatların *cox1* gen bölgesinin DNA dizi analizi yapılmış ve G1 suşu ve varyantlarının varlığı gösterilmiştir.

Türkiye'de 50 koyun ve 10 sığırdan elde edilen protoskolekslerin rostellar çengel morfolojileri incelenmiş ve bunların birbirlerine çok benzer olduğu görülmüştür (Yıldız ve Gürcan, 2009). Bowles ve ark. (1992a) Türkiye'den gönderilen koyun izolatlarının *cox1* gen bölgesini DNA dizi analizi ile incelemişler ve bunların G1 suşu olduğunu belirtmişlerdir. Yine Türkiye'den yurtdışına gönderilen 2 koyuna ait hidatid kist izolatlarının *ITS1* gen bölgesi PZR-RFLP yöntemi ile incelenmiş ve bunların da G1 suşu oldukları tespit edilmiştir (Bowles ve McManus, 1993b). Türkiye'de yapılan bir başka çalışmada ülkenin farklı bölgelerinden koyun ve sığırlardan elde edilen kistlerin *cox1* gen bölgesinin dizi analizi yapılmıştır. 100 koyunun 98'inde G1, 2'sinde G3 suşuna rastlanırken, 12 sığırın 9'unda G1, 3'ünde de G3 suşu tespit edilmiştir (Vural ve ark., 2008). Ülkemizin batı bölgesinden elde edilen 12 koyun ve 10 insan izolatu üzerine yapılan çalışmada mitokondriyal *cox1*, *nad1*, *atp6* ve *rrnS* gen bölgelerinin DNA dizi analizi yapılmıştır. Sonuçlar Türkiye'de *E.granulosus sensu stricto* ve *E.canadensis* gruplarının varlığını göstermiştir. İnsan ve koyunda G1, koyunda G1/G3 ara formu ve G3, yine insan ve koyunda G7 suşu tespit edilmiştir. Bu Türkiye'de domuz suşunun varlığını gösteren ilk çalışmadır (Snabel ve ark., 2009). Malatya'da bir Anadolu yaban koyunun karaciğerinden elde edilen izolatın *cox1* gen bölgesinin sekanslanması sonucu

G1 suşu olduğu tespit edilmiştir (Şimşek ve Eröksüz, 2009). Türkiye’de sığır, koyun, keçi, deve, köpek ve insandan alınan izolatların *ITS1* gen bölgesi *cfo1*, *alu1*, *Rsa1*, *Msp1* enzimleri ile PZR-RFLP, *cox1* gen bölgesi de DNA dizi analizi yöntemiyle incelenmiş ve tüm konaklarda G1 suşu tespit edilmiştir (Ütük ve ark., 2008). Bu çalışmada iki izolat (TRWB07, TRWB09) G1 referans suşunun *cox1* dizi analizi sonucuna göre 52 (T/C) pozisyonunda varyasyon göstermektedir. Aynı varyasyonu Vural ve ark. (2008)’nin 12 sığırın 2’sinde ve Snábel ve ark. (2009)’nin 22 örneğin 4’ünde (2 koyun ve 2 insan) tespit etmeleri, bu varyantın Türkiye’de yaygın olduğunu göstermektedir. Ayrıca TRWB04 izolatının tek bir nükleotidde gösterdiği varyasyon (C122T) ilk defa bu çalışmada görülmüştür.

Yukarıdaki çalışmalarda görüldüğü gibi Türkiye’de baskın suş G1 olmakla birlikte, G3 ve G7 suşlarına da rastlanmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye’de farklı arakonaklarda kistik ekinokozis ile ilgili moleküler çalışmalar yapılmış olmasına rağmen ülke ekonomisi ve yöre hayvancılığında önemli rolü olan mandalarla ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma Türkiye’de mandalardan elde edilen *E.granulosus* izolatlarındaki genetik varyasyonu tespit etmek amacı ile yapılan ilk araştırmadır. Daha önce yapılan çalışmalarda olduğu gibi mandalarda da G1 suşu ve varyantlarının bulunduğu görülmüş ve ülkemizde G1’in baskın suş olduğu sonucuna varılmıştır.

Genotipik farklılıklar; parazitin yaşam çemberi, konak spesifitesi, gelişim hızı, patojenitesi, antijenite ve kemoterapotiklere duyarlılığı, bulaşma dinamikleri, hastalığın epidemiyoloji ve kontrol teknikleri üzerine etki etmektedir. Yapılan bu çalışma ile hastalığın kontrolünde daha etkili stratejilerin geliştirilmesine, bölgesel ve ulusal düzeyde yapılması gerekli olan eradikasyon, aşı ve ilaç geliştirme çalışmalarına yararlı olabilecek bilgiler elde edilmiştir. Üretilen veya ithal edilecek aşının etki ettiği suşlar bilineceği için dolaylı olarak ülke ekonomisine de katkı sağlayacaktır.

Mandalarda G1 suşunun tespit edilmesi, bu hayvanların insan enfeksiyonları için kaynak oluşturabileceğini göstermektedir. Bu nedenle hayvanlarda hidatidosisin eradikasyonu ve kontrolüne yönelik çalışmalar gecikmeden başlatılmalı ve bu alanda sağlanacak başarılarla Türkiye’nin en önemli halk sağlığı sorunlarından birisi olan insan enfeksiyonları tamamen ortadan kaldırılmalı veya önemsizmeyecek düzeyde azaltılmalıdır.

Ülkemizde etkin epidemiyolojik ve stratejik kontrol mekanizmasının oluşturulabilmesi ve başarılı bir şekilde yürütülebilmesi için, tüm Türkiye’yi kapsayacak şekilde, gerek ergin parazit ile ilgili son konaklarda, gerekse larva formuna yönelik olarak farklı arakonaklarda bu tip daha geniş kapsamlı moleküler ve epidemiyolojik çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Acıöz M, Çeliksöz A, Özçelik S, Değerli S. Sivas'ta Nisan-Mayıs 2005 tarihleri arasında kesilen sığırlarda kist hidatik yaygınlığı. Türkiye Parazitol Derg. 2008;32(3):205-207.
- Ahmadi N, Dalimi A. Characterization of *Echinococcus granulosus* isolates from human, sheep and camel in Iran. Infect Genet Evol. 2006;6:85-90.
- Akyol ÇV. *Echinococcus* türlerinin epidemiyolojisi. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Editörler, Echinococcosis'de, İzmir; Hidatidoloji Derneği Yayın no:1, Ege Üniversitesi Matbaası. 2004; 259-283.
- Alkan Z, Özbel Y, Özensoy S, Atambay M. Moleküler biyolojik yöntemler. Özcel MA, Altıntaş N. Editörler, Parazit Hastalıklarında Tanı'da, İzmir; Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, no:15, Ege Üniversitesi Basımevi. 1997; 373-411.
- Altıntaş N. *Echinococcus* sp. ve kist hidatik'in immunoloji. Unat EK, Üner A, Özcel MA. Editörler, İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik'te, İzmir; Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, no: 10, Ege Üniversitesi Ofset Basımevi. 1991; 89-100.
- Altıntaş N. Past to present: echinococcosis in Turkey. Acta trop. 2003;85:105-112.
- Altıntaş N, Karababa AO. Echinococcosisde korunma ve kontrol. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Editörler, Echinococcosis'de, İzmir; Hidatidoloji Derneği Yayın no:1, Ege Üniversitesi Matbaası. 2004; 355-368.
- Anonim.(2008a). Echinococcosis
http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Echinococcosis_il.htm
07.10.2008
- Anonim.(2008b). *Echinococcus vogeli*. Adult worms from dog.
<http://picasaweb.google.com/idintl/ParasitologyVolume2ForWeb#5177666252342031298>
07.10.2008
- Anonim.(2009a). DNA Dizi Analiz Yöntemleri
http://yunus.hacettepe.edu.tr/~mergen/derleme/d_dizi.pdf 10.08.2009
- Anonim.(2009b). las ADN polimerasas (las ADN pols)
<http://home.scarlet.be/~tsk05520/biomolespa/Enzimas/ADN-POL.html> 17.08.2009
- Anonim.(2009c). Molecular Kitchen
<http://askabiologist.asu.edu/expstuff/mamajis/sequencing/sequencing.html>
17.08.2009

- Anonim.(2009d). A map of human mitochondrial DNA indicating diabetes-associated mutations
http://www.nature.com/nature/journal/v414/n6865/fig_tab/414807a_F1.html
16.12.2009
- Anonim.(2010). Echinococcosis (Hydatid)
<http://pathmicro.med.sc.edu/parasitology/cestodes.htm> 10.06.2010
- Anonim.(2011a). Hayvancılık istatistikleri http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=46&ust_id=13 10.03.2011
- Anonim.(2011b). Samsun Ticaret ve Sanayi Odası iktisadi raporlar
<http://www.samsuntso.org.tr/Yayinlar.html> 10.03.2011
- Arslan MÖ, Umur Ş. Prevalance and economic importance of hydatidosis in slaughtered sheep and cattle in Erzurum salughterhouses. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 1997;3(2):167-171.
- Ataş DA, Özçelik S, Saygı G. Sivas sokak köpeklerinde helmint türleri, bunların yayılışı ve halk sağlığı yönünden önemi. Türkiye Parazit Derg. 1997;21(3):305-309.
- Ayaz E, Tınar R. Cestoda. Tınar R. Editör, Helmintoloji’de, Ankara; Nobel Yayın no: 965. 2006; 103-213.
- Ayçiçek H, Sarımeahmetoğlu HO, Tanyüksel M, Özyurt M, Gün H. Ankara sokak köpeklerinde görülen bağırsak helmintlerinin yayılışı ve bunların halk sağlığı bakımından önemi. Türkiye Parazit Derg. 1998;22(2):156-158.
- Aydenizöz M. Konya yöresi köpeklerinde helmintolojik araştırmalar. Türkiye Parazit Derg. 1997;21(4):429-434.
- Bardonnet K, Piarroux R, Dia L, Schneegans F, Beurdeley A, Godot V, Vuitton DA. Combined eco-epidemiological and molecular biology approaches to assess *Echinococcus granulosus* transmission to humans in Mauritania: occurrence of the ‘camel’ strain and human cystic echinococcosis. T Roy Soc Trop Med H. 2002;96:383-386.
- Bart JM, Bardonnet K, Elfegoun MCB, Dumon H, Dia L, Vuitton DA, Piarroux R. *Echinococcus granulosus* strain typing in North Africa: comparison of eight nuclear and mitochondrial DNA fragments. Parasitol. 2004;128:229-234.
- Bart JM, Morariu S, Knapp J, Ilie MS, Pitulescu M, Anghel A, Cosoroaba I, Piarroux R. Genetic typing of *Echinococcus granulosus* in Romania. Parasitol Res. 2006;98(2):130-137.

- Bhattacharya D, Bera AK, Bera BC, Maity A, Das SK. Genotypic characterisation of Indian cattle, buffalo and sheep isolates of *Echinococcus granulosus*. *Vet Parasitol.* 2007;143:371-374.
- Bhattacharya D, Bera AK, Bera BC, Pan D, Das SK. Molecular appraisal of Indian animal isolates of *Echinococcus granulosus*. *Indian J Med Res.* 2008;127:383-387.
- Bowles J, McManus DP. Molecular variation in echinococcosis. *Acta Trop.* 1993a;53:291-305.
- Bowles J, McManus DP. Rapid discrimination of *Echinococcus* species and strains using a polymerase chain reaction-based RFLP method. *Mol Biochem Parasit.* 1993b;57:231-240.
- Bowles J, McManus DP. NADH Dehydrogenase 1 gene sequences compared for species and strains of the genus *Echinococcus*. *Int J Parasitol.* 1993c;23(7):969-972.
- Bowles J, Blair D, McManus DP. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Mol Biochem Parasit.* 1992a;54:165-174.
- Bowles J, Van Knapen F, McManus DP. Cattle strain of *Echinococcus granulosus* and human infection. *Lancet*,1992b;39:1358.
- Breyer I, Georgieva D, Kurdova R, Gottstein B. *Echinococcus granulosus* strain typing in Bulgaria: the G1 genotype is predominant in intermediate and definitive wild hosts. *Parasitol Res.* 2004;93:127-130.
- Budak S. Kist hidatik'in epidemiyolojisi. Unat EK, Üner A, Özcel MA. Editörler, İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik (Echinococcosis)'de, İzmir; Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, no: 10, Ege Üniversitesi Ofset Basımevi. 1991; 55-64.
- Budke CM, Deplazes P, Torgerson PR. Global socioeconomic impact of cystic echinococcosis. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(2):296-303.
- Burgu A, Sarımehmetoğlu O. Köpek ve kedilerin parazit hastalıklarında tedavi. Helminth hastalıklarında tedavi. Burgu A, Karaer Z. Editörler, Parazit Hastalıklarında Tedavi'de, İzmir; Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, no: 19, Meta Basım Matbaacılık. 2005; 133-156.
- Busi M, Snabel V, Varsacia A, Garippa G, Perrone V, Liberato CD, Amelio SD. Genetic variation within and between G1 and G3 genotypes of *Echinococcus granulosus* in Italy revealed by multilocus DNA sequencing. *Vet Parasitol.* 2007;150:75-83.
- Capuano F, Rinaldi L, Maurelli MP, Perugini AG, Veneziano V, Garippa G, Genchi C, Musella V, Cringoli G. Cystic echinococcosis in water buffaloes: epidemiological

- survey and molecular evidence of ovine (G1) and buffalo (G3) strains. *Vet Parasitol.* 2006;137:262-268.
- Casulli A, Manfredi MT, Rosa GL, Cerbo ARD, Genchi C, Pozio E. *Echinococcus ortleppi* and *E.granulosus* G1, G2 and G3 genotypes in Italian bovines. *Vet Parasitol.* 2008;155:168-172.
- Casulli A, Zeyhle E, Brunetti E, Pozio E, Meroni V, Genco F, Filice C. Molecular evidence of the camel strain (G6 genotype) of *Echinococcus granulosus* in humans from Turkana, Kenya. *T Roy Soc Trop Med H.* 2010;104:29-32.
- Celep A, Açıcı M, Çetindağ M, Coşkun ŞZ, Gürsoy S. Samsun yöresi sığırlarında helmintolojik araştırmalar. *Etlik Vet Mikrob Derg.* 1990;6(6):117-130.
- Cringoli G, Veneziano V, Rinaldi L, Capuano F, Garippa G. Cystic echinococcosis in water buffaloes from the Campania Region of Southern Italy. *Vet Res Commun.* 2006;30(1):31-34.
- Cruz-Reyes A, Constantine CC, Boxell AC, Hobbs RP, Thompson RCA. *Echinococcus granulosus* from Mexican pigs is the same strain as that in Polish pigs. *J Helminthol.* 2007;81:287-292.
- Çenet O, Taşçı S. Manisa Et ve Balık Kurumu'nda (EBK) 1986-1993 yılları arasında kesilen kasaplık hayvanlarda kesim sonrası görülen hastalıkların araştırılması. *Türkiye Parazitoloj Derg.* 1994;18(4):511-516.
- Çırak VY. Hayvanlarda erişkin ve larver echinococcosisin tedavisi. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Editörler, *Echinococcosis'de*, İzmir; Hidatidoloji Derneği, Yayın no:1, Ege Üniversitesi Matbaası. 2004; 317-324.
- Çivi S, Güler S, Kesci S. Konya Et Balık Kurumu ve Konet Tesisleri kayıtlarına göre kist hidatik nedeniyle oluşan ekonomik kayıplar. *Türkiye Parazitoloj Derg.* 1995;19(2):237-242.
- Dakkak A. Echinococcosis/hydatidosis: A severe threat in Mediterranean countries. *Vet Parasitol.* 2010;174(1-2):2-11.
- Daryani A, Alaei R, Arab R, Sharif M, Dehghan MH, Ziaei H. The prevalence, intensity and viability of hydatid cysts in slaughtered animals in the Ardabil province of Northwest Iran. *J Helminthol.* 2007;81:13-17.
- Derbala AA, El Massry AA. Some studies on the growth and development of *Echinococcus granulosus*, camel origin in experimentaly infected dogs. *J Egypt Soc Parasitol.* 1998;28 (3):849-861.

- Dik B, Cantoray R, Handemir E. Konya Et Balık Kurumu Kombinasyonu'nda kesilen küçük ve büyükbaş hayvanlarda hidatidozun yayılışı ve ekonomik önemi. Türkiye Parazitolojisi Derg. 1992;16(3-4):91-99.
- Dinkel A, Njoroge EM, Zimmermann A, Walz M, Zeyhle E, Elmahdi IE, Mackenstedt U, Romig T. A PCR system for detection of species and genotypes of the *Echinococcus granulosus*-complex, with reference to the epidemiological situation in eastern Africa. Int J Parasitol. 2004;34:645-653.
- Doğanay A. Ankara köpeklerinde görülen helmint türleri, bunların yayılışı ve halk sağlığı yönünden önemi. Ankara Üniv Vet Fak. 1983;30(4):550-561.
- Dunn AM. Veterinary Helminthology. Second Ed., London, William Heineman Medical Books Ltd. 1978; 119-121.
- Eckert J, Thompson RCA. *Echinococcus* strains in Europe: a review. Trop Med. Parasitol. 1988;39:1-8.
- Eckert J, Thompson RCA. Intraspecific variation of *Echinococcus granulosus* and related species with emphasis on their infectivity to humans. Acta Trop. 1997;64:19-34.
- Eckert J, Thompson RCA, Michael SA, Kumaratilake LM, El-Sawah HM. *Echinococcus granulosus* of camel origin: development in dogs and parasite morphology. Parasitol Res. 1989;75:536-544.
- Eckert J, Thompson RCA, Lymbery AJ, Pawlowski ZS, Gottstein B, Morgan UM. Further evidence for the occurrence of a distinct strain of *Echinococcus granulosus* in European pigs. Parasitol Res. 1993;79(1):42-48.
- Eckert J, Deplazes P, Craig PS, Gemmel MA, Gottstein B, Heath D, Jenkins DJ, Kamiya M, Lightowers M. Echinococcosis in animals: clinical aspects, diagnosis and treatment. In: Eckert J, Gemmel MA, Meslin F-X, Pawlowski ZS, editors. WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. Paris; World Organisation for Animal Health. 2001a; 72-99.
- Eckert J, Schantz PM, Gasser RB, Torgerson PR, Bessonov AS, Movsessian SO, Thakur A, Grimm F, Nikogossian MA. Geographic distribution and prevalence. In: Eckert J, Gemmel MA, Meslin F-X, Pawlowski ZS, editors. WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. Paris; World Organisation for Animal Health. 2001b; 100-143.
- Esatgil MU, Tüzer E. Prevalence of hydatidosis in slaughtered animals in Thrace, Turkey. Türkiye Parazitolojisi Derg. 2007;31(1):41-45.
- Gasser RB. Mutation scanning methods for the analysis of parasite genes. Int J Parasitol. 1997;27(12):1449-1463.

- Gasser RB. PCR-based technology in veterinary parasitology. *Vet Parasitol.* 1999;84:229-258.
- Gasser RB, Chilton NB. Applications of single-strand conformation polymorphism (SSCP) to taxonomy, diagnosis, population genetics and molecular evolution of parasitic nematodes. *Vet Parasitol.* 2001;101:201-213.
- Gasser RB, Zhu XQ. Sequence-based analysis of DNA fragments by mutation detection techniques. *Parasitol Today.* 1999;15:462-465.
- Gasser RB, Zhu XQ, McManus DP. Dideoxy fingerprinting: application to the genotyping of *Echinococcus*. *Int J Parasitol.* 1998a;28:1775-1779.
- Gasser RB, Zhu X, McManus DP. Display of sequence variation in PCR-amplified mitochondrial DNA regions of *Echinococcus* by single-strand conformation polymorphism. *Acta Trop.* 1998b;71:107-115.
- Gasser RB, Lightowlers MW, Obendorf DL, Jenkins DJ, Rickard MD. Evaluation of a serological test system for the diagnosis of natural *Echinococcus granulosus* infection in dogs using *E.granulosus* protoscolex and oncosphere antigens. *Aust Vet J.* 1988;65(12):369-73.
- Gıcık Y, Arslan MÖ, Kara M, Köse M. Kars ilinde kesilen sığır ve koyunlarda kistik ekinokokkozisin yaygınlığı. *Türkiye Parazitoloj Derg.* 2004;28(3):136-139.
- Gill US, Rao BV. On the biology and morphology of *E.granulosus* (Batsch, 1786) of buffalo-dog origin. *Parasitology.* 1967;57:695-704.
- Gonzalez LM, Daniel-Mwambete K, Montero E, Rosenzvit MC, McManus DP, Garate T, Cuesta-Bandera C. Further molecular discrimination of Spanish strains of *Echinococcus granulosus*. *Exp Parasitol.* 2002;102:46-56.
- Gottstein B. Molecular and immunological diagnosis of echinococcosis. *Clin Microbiol Rev.* 1992;5(3):248-261.
- Gönenç B, Ayaz E, Gıcık Y. The prevalence of cyst hydatid in horses and donkeys and the capability of protoscolices forming seconder cyst in mice. *Türkiye Parazitoloj Derg.* 1998;22(4):428-431.
- Guarnera EA, Parra A, Kamenetzky L, Garcia G, Gutierrez A. Cystic echinococcosis in Argentina: evolution of metacestode and clinical expression in various *Echinococcus granulosus* strains. *Acta Trop.* 2004;92:153-159.
- Güralp N. Helminoloji. İkinci baskı, Ankara, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayını, 368/266. 1981; 221-239.

- Güralp N, Dinçer Ş, Kemer R, Cantoray R, Taşan E. Elazığ yöresi köpeklerinde görülen gastrointestinal helmint türleriyle bunların yayılış oranı ve halk sağlığı yönünden önemleri. Ankara Üniv Vet Fak. 1977;24(2):241-249.
- Harandi MF, Hobbs RP, Adams PJ, Mobedi I, Morgan-Ryan UM, Thompson RCA. Molecular and morphological characterization of *Echinococcus granulosus* of human and animal origin in Iran. Parasitology. 2002;125:367-373.
- Hayashi K. PCR-SSCP: A simple and sensitive method for detection of mutations in the genomic DNA. PCR Method Appl. 1991;1:34-38.
- Hayashi K, Kukita Y, Masakazu I, Tahira T. Single-strand conformation polymorphism analysis. In: Cotton RGH, Edkins E, Forrest S, editors. Mutation Detection. Oxford; Oxford University Press. 1997; 7-25.
- Hobbs RP, Lymbery AJ, Thompson RCA. Rostellar hook morphology of *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) from natural and experimental Australian hosts, and its implications for strain recognition. Parasitology. 1990;101:273-281.
- Hökelek M, Arıkoğlu H. *Echinococcus* türlerinin biyokimyasal, fizyolojik özellikleri ve moleküler biyolojisi. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Editörler, Echinococcosis'de, İzmir; Hidatidoloji Derneği Yayın no:1, Ege Üniversitesi Matbaası. 2004; 87-106.
- Hüttner M, Nakao M, Wassermann T, Siefert L, Boomker JDF, Dinkel A, Sako Y, Mackensted U, Romig T, Ito A. Genetic characterization and phylogenetic position of *Echinococcus felidis* Ortlepp, 1937 (Cestoda: Taeniidae) from the African lion. Int J Parasitol. 2008;38:861-868.
- Jenkins DC, Rickard MD. Specificity of scolex and oncosphere antigens for the serological diagnosis of taeniid cestode infections in dogs. Aust Vet J. 2008;63(2):40-42.
- Kamenetzky L, Gutierrez AM, Canova SG, Haag KL, Guarnera EA, Para A, García GE, Rosenzvit MC. Several strains of *Echinococcus granulosus* infect livestock and humans in Argentina. Infect Genet Evol. 2002;2:129-136.
- Kara M, Gıcık Y, Sari B, Bulut H, Arslan MÖ. A slaughterhouse study on prevalence of some helminths of cattle and sheep in Malatya province, Turkey. J Anim Vet Adv. 2009;8(11):2200-2205.
- Kassai T. Veterinary Helminthology. First ed., Oxford, Butterworth-Heinemann. 1999; 45-49.
- Khan NA, Purohit SK. Prevalence of echinococcosis in buffaloes. Vet Scan. 2006;1(1):1-2.
- Khan MQ, Afzal M, Ali S. Prevalence and serology of hydatidosis in large ruminants of Pakistan. Vet Parasitol. 1990;37(2):163-168.

- Khanmohammadi M, Maghami SG, Zadeh MZ. The prevalence of hydatidosis by sex, season and location in slaughtered buffaloes at the Tabriz Abattoir in 2006-2007. *Int J Vet Med.* 2008;4(2):1-3.
- Kilimcioğlu A, Ok ÜZ. İnsanda *Echinococcus* türlerinin epidemiyolojileri, coğrafi yaygınlık ve Türkiye'deki durum. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Editörler, *Echinococcosis*'de, İzmir; Hidatidoloji Derneği Yayın no:1, Ege Üniversitesi Matbaası. 2004; 129-140.
- Kittelberger R, Reichel MP, Jenner J, Heath DD, Lightowlers MW, Moro P, Ibrahim MM, Craig PS, O'Keefe JS. Evaluation of three enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) for the detection of serum antibodies in sheep infected with *Echinococcus granulosus*. *Vet Parasitol.* 2002;110:57-76.
- Köse M, Sevimli FK. Prevalence of cystic echinococcosis in slaughtered cattle in Afyonkarahisar. *Türkiye Parazitoloj Derg.* 2008;32(1):27-30.
- Kumaratilake LM, Thompson RCA, Dunsmore JD. Comparative strobilar development of *Echinococcus granulosus* of sheep origin from different geographical areas of Australia *in vivo* and *in vitro*. *Int J Parasitol.* 1983;13:151-156.
- Lahmar S, Debbek H, Zhang LH, McManus DP, Souissi A, Chelly S, Torgerson PR. Transmission dynamics of the *Echinococcus granulosus* sheep-dog strain (G1 genotype) in camels in Tunisia. *Vet Parasitol.* 2004;121:151-156.
- Lavikainen A, Lehtinen MJ, Meri T, Hirvela-Koski V, Meri S. Molecular genetic characterization of the Fennoscandian cervid strain, a new genotypic group (G10) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology.* 2003;127(3):207-215.
- Lavikainen A, Lehtinen MJ, Laaksonen S, Agren E, Oksanen A, Meri S. Molecular characterization of *Echinococcus* isolates of cervid origin from Finland and Sweden. *Parasitology.* 2006;133:565-570.
- Le TH, Pearson MS, Blair D, Dai N, Zhang LH, McManus DP. Complete mitochondrial genomes confirm the distinctiveness of the horse-dog and sheep-dog strains of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology.* 2002;124:97-112.
- Liu Q, Feng J, Sommer SS. Bi-directional dideoxy fingerprinting (Bi-ddF): a rapid method for quantitative detection of mutations in genomic regions of 300–600 bp. *Hum Mol Genet.* 1996;5(1):107-114.
- Ma SM, Maillard S, Zhao HL, Huang X, Wang H, Geng PL, Bart JM, Piarroux R. Assessment of *Echinococcus granulosus* polymorphism in Qinghai Province, People's Republic of China. *Parasitol Res.* 2008;102:1201-1206.
- Maillard S, Benchikh-Elfegou MC, Knapp J, Bart JM, Koskei P, Gottstein B, Piarroux R. Taxonomic position and geographical distribution of the common sheep G1 and

- camel G6 strains of *Echinococcus granulosus* in three African countries. *Parasitol Res.* 2007;100:495-503.
- Manandhar S, Hörchner F, Morakote N, Kyule MN, Baumann MP. Occurrence of hydatidosis in slaughter buffaloes (*Bos bubalis*) and helminths in stray dogs in Kathmandu Valley, Nepal. *Berl Munch Tierarztl.* 2006;119(7-8):308-311.
- Manterola C, Benavente F, Melo A, Vial M, Roa JC. Description of *Echinococcus granulosus* genotypes in human hydatidosis in a region of southern Chile. *Parasitol Int.* 2008;57:342-346.
- Maravilla P, Thompson RCA, Palacios-Ruiz JA, Estcourt A, Ramirez-Solis E, Mondragon-de-la-Pena C, Moreno-Moller M, Cardenas-Mejia A, Mata-Miranda P, Aguirre-Alcantara M, Rodriguez CB, Flisser A. *Echinococcus granulosus* cattle strain identification in an autochthonous case of cystic echinococcosis in central Mexico. *Acta Trop.* 2004;92:231-236.
- McManus DP. The molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus* and cystic hydatid disease. *T Roy Soc Trop Med H.* 2002;96(1):151-157.
- McManus DP. Genetic discrimination of *Echinococcus* species and strains. In: Maule AG, Marks NJ, editors. *Parasitic Flatworms Molecular Biology, Biochemistry, Immunology and Physiology*. Wallingford; CABI Publishing. 2006; 81-96.
- McManus DP, Ding Z, Bowles J. A molecular genetic survey indicates the presence of a single, homogeneous strain of *Echinococcus granulosus* in north-west China. *Acta Trop.* 1994;56:7-14.
- McManus DP, Zhang W, Li J, Bartley PB. Echinococcosis. *Lancet.* 2003;362:1295-1304.
- Mehrabani D, Oryan A, Sadjjadi SM. Prevalence of *Echinococcus granulosus* infection in stray dogs and herbivores in Shiraz, Iran. *Vet Parasitol.* 1999;86(3):217-220.
- Merdivenci A. Türkiye’de Kist Hidatik Hastalığı. İstanbul, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, no: 2145/36. 1976; 9-112.
- Merdivenci A, Aydınlioğlu K. Hidatidoz (Hidatik Kist Hastalığı). İstanbul; İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, no: 2972/97. 1982; 4-327.
- Mimioğlu MM, Güralp N, Sayın F. Ankara köpeklerinde görülen parazit türleri ve bunların yayılış nisbeti. *Ankara Üniv Vet Fak.* 1959;6(1-2):53-68.
- Mirani AH, Bhughio S, Akhtar N. Age and size-wise distribution of echinococcosis in buffaloes slaughtered at the Larkana Abattoir. *J Appl S.* 2002;2(8):837-838.

- Moks E, Jogisalu I, Valdmann H, Sarma U. First report of *Echinococcus granulosus* G8 in Eurasia and a reappraisal of the phylogenetic relationships of 'genotypes' G5-G10. *Parasitology*. 2008;135:647-654.
- Mwambete KD, Ponce-Gordo F, Cuesta-Bandera C. Genetic identification and host range of the Spanish strains of *Echinococcus granulosus*. *Acta Trop*. 2004;91:87-93.
- M'rad S, Filisetti D, Oudni M, Mekki M, Belguith M, Nouri M, 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.
- Naidich A, McManus DP, Canova SG, Gutierrez AM, Zhang W, Guarnera EA, Rosenzvit MC. Patent and pre-patent detection of *Echinococcus granulosus* genotypes in the definitive host. *Mol Cell Probe*. 2006;20:5-10.
- Nakao M, McManus DP, Schantz PM, Craig PS, Ito A. A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus* inferred from complete mitochondrial genomes. *Parasitology*. 2007;134:713-722.
- Nataraj AJ, Olivos-Glander I, Kusukawa N, Highsmith WE. Single-strand conformation polymorphism and heteroduplex analysis for gel-based mutation detection. *Electrophoresis*. 1999;20:1177-1185.
- Obwaller A, Schneider R, Walochnik J, Gollackner B, Deutz A, Janitschke K, Aspöck H, Auer H. *Echinococcus granulosus* strain differentiation based on sequence heterogeneity in mitochondrial genes of cytochrome c oxidase-1 and NADH dehydrogenase-1. *Parasitology*. 2004;128:569-575.
- Olive DM, Bean P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. *J Clin Microbiol*. 1999;37(6):1661-1669.
- Osman AMA, Aradaib IE, Ashmaig AK, Gameel AA. Detection and differentiation of *Echinococcus granulosus*-complex using a simple PCR-based assay. *Int J Trop Med*. 2009;4(1):21-26.
- Öge H, Gıcık Y, Kalınbacak F, Yıldız K. Ankara yöresinde kesilen koyun, keçi ve sığırlarda bazı metasetodların (Hydatid cyst, *Cysticercus tenuicollis*, *Cysticercus bovis*) yayılışı. *Ankara Üniv Vet Fak*. 1998;45(1):123-130.
- Öncel T. The prevalence of helminth species in sheep in the southern region of Marmara. *Türkiye Parazitol Derg*. 2000;24(4):414-419.
- Özçelik S, Saygı G. Sivas mezbahasında kesilen koyun ve sığırlarda kist hidatik görülme oranları. *Türkiye Parazitol Derg*. 1990;14(1):41-44.

- Pednekar RP, Gatne ML, Thompson RCA, Traub RJ. Molecular and morphological characterisation of *Echinococcus* from food producing animals in India. *Vet Parasitol.* 2009;165:58-65.
- Penner GA, Bush A, Wise R, Kim W, Domier L, Kasha K, Laroche A, Scoles G, Molnar SJ, Fedak G. Reproducibility of random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis among laboratories. *PCR Method Appl.* 1993;2(4):341-345.
- Poyraz Ö, Özçelik S, Saygı G, Genç Ş. Sivas Et ve Balık Kurumu Kombinasyonunda 1985-1988 yılları arasında kesilen sığırlarda kist hidatik görülme oranı. *Türkiye Parazitoloj Derg.* 1990;14(1):35-40.
- Rahimi HR, Kia EB, Mirhendi SH, Talebi A, Fasihi Harandi M, Jalali-zand N, Rokni MB. A new primer pair in ITS1 region for molecular studies on *Echinococcus granulosus*. *Iran J Public Health.* 2007;36(1):45-49.
- Rahman MS, Sokkar SM, Dahab S. Comparative studies on hydatidosis in farm animals in Egypt. *Deut Tierarztl Woch.* 1992;9(11):438-440.
- Rapley R. Basic techniques in molecular biology. In: Walker JM, Rapley R, editors. *Medical Biomethods Handbook*. Totowa; Humana Press. 2005; 1-12.
- Rausch LR. Life cycle patterns and geographic distribution of *Echinococcus* species. In: Thompson RCA, Lymbery AJ, editors. *Echinococcus and Hydatid Diseases*. Wallingford; CAB International. 1995; 89-134.
- Rinaldi L, Maurelli MP, Veneziano V, Capuano F, Perugini AG, Cringoli S. The role of cattle in the epidemiology of *Echinococcus granulosus* in an endemic area of southern Italy. *Parasitol Res.* 2008;103:175-179.
- Rosenzvit MC, Zhanh LH, Kamenetzky L, Canova SG, Guarnera EA, McManus DP. Genetic variation and epidemiology of *Echinococcus granulosus* in Argentina. *Parasitology.* 1999;118:523-530.
- Sambrook J, Russel DW. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Volume 2. Chapter 12. Third Ed., New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2001.
- Sarıözkan S, Yalçın C. Estimating the production losses due to cystic echinococcosis in ruminants in Turkey. *Vet Parasitol.* 2009;163: 330-334.
- Sarkar G, Yoon HS, Sommer SS. Dideoxy fingerprinting (ddE): a rapid and efficient screen for the presence of mutations. *Genomics.* 1992;13(2):441-443.
- Saygı G, Özçelik S, Temizkan N. Sivas sokak köpeklerinin ince barsaklarında bulunduğumuz helmintler. *Türkiye Parazitoloj Derg.* 1990;14(1):81-93.

- Schantz PM. Echinococcosis. In: Jacobs L, Arambulo P, editors. CRC Handbook Series in Zoonoses, Section C: Parasitic Zoonoses. Volume I, Florida; CRC Press. 1982; 231-277.
- Schantz PM, Lord RD. *Echinococcus* in the South American red fox (*Dusicyon culpaeus*) and the European hare (*Lepus europaeus*) in the Province of Neuquen, Argentina. Ann Trop Med Parasit. 1972;66:479-485.
- Schantz PM, Chai J, Craig PS, Eckert J, Jenkins DJ, Macpherson CNL, Thakur A. Epidemiology and control of hydatid disease. In; Thompson RCA, Lymbery AJ, editors. Echinococcus and Hydatid Disease. Wallingford; CAB International. 1995; 233-331.
- Scott JC, McManus DP. The random amplification of polymorphic DNA can discriminate species and strains of *Echinococcus*. Trop Med Parasit. 1994;45:1-4.
- Scott JC, Stefaniak J, Pawlowski ZS, McManus DP. Molecular genetic analysis of human cystic hydatid cases from Poland: identification of a new genotypic group (G9) of *Echinococcus granulosus*. Parasitology. 1997;114:37-43.
- Sermet İ. Kist hidatik'te immunolojik tanı. Unat EK, Üner A, Özcel MA Editörler, İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik (Echinococcosis)'de, İzmir; Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, no: 10, Ege Üniversitesi Ofset Basımevi. 1991; 105-120.
- Siles-Lucas M, Cuesta-Bandera C, Cesar-Benito M. Random amplified polymorphic DNA technique for speciation studies of *Echinococcus granulosus*. Parasitol Res. 1993;79:343-345.
- Singh BP, Dhar DN. *Echinococcus granulosus* in animals in northern India. Vet Parasitol. 1988;28(3):261-266.
- Singh BP, Sharma Deorani VP, Srivastava VK. Prevalence of hydatid in buffaloes in India and report of a severe liver infection. J Helminthol. 1988;62:124-126.
- Singh VS, Chauhan PPS, Agrawal RD, Shanker D. Incidence of hydatid cysts in buffaloes. J Vet Public Health. 2006;3(1):87-88.
- Smyth JD. Introduction to Animal Parasitology. Third Ed., New York, Cambridge University Pres. 1994; 334-340.
- Snabel V, D'Amelio S, Mathiopoulus K, Turcekova L, Dubinsky P Molecular evidence for the presence of a G7 genotype of *Echinococcus granulosus* in Slovakia. J Helminthol. 2000;74:177-181.
- Snabel V, Altintas N, D'Amelio S, Nakao M, Romig T, Yolasigmaz A, Gunes K, Turk M, Busi M, Hüttner M, Sevcova D, Ito A, Altintas N, Dubinsky P. Cystic

- echinococcosis in Turkey: genetic variability and first record of the pig strain (G7) in the country. *Parasitol Res.* 2009;105(1):145-54.
- Soulsby E.J.L. *Helminths Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. Seventh Ed., London, Bailliere Tindall. 1986; 119-127.
- Sunnucs P, Wilson ACC, Beheregaray LB, Zenger K, French J, Taylor AC. SSCP is not so difficult: the application and utility of single-stranded conformation polymorphism in evolutionary biology and molecular ecology. *Mol Ecol.* 2000;9:1699-1710.
- Şahin İ, Ekinci N, Şen İ, Özcan M, Gödekmerdan A. Kayseri yöresi köpeklerinde *Echinococcus granulosus* (Batsch,1876) ve diğer parazitlerin yayılışı. *Türkiye Parazitoloj Derg.* 1993;17(3-4):69-76.
- Şenlik B. Prevalance of hydatidosis and its relationsheep to the age, tace and sex of the sheep in the province of Bursa. *Türkiye Parazitoloj Derg.* 2000;24(3):304-308.
- Şenlik B. *Echinococcus* türlerinin gelişmeleri. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Editörler, *Echinococcosis'de*, İzmir; Hidatidoloji Derneği Yayın no:1, Ege Üniversitesi Matbaası. 2004a; 31-44.
- Şenlik B. Echinococcosisde hayvanlarda tanı. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Editörler, *Echinococcosis'de*, İzmir; Hidatidoloji Derneği Yayın no:1, Ege Üniversitesi Matbaası. 2004b; 295-316.
- Şenlik B, Diker Aİ. Echinococ'ların taksonomisi ve morfolojisi. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Editörler, *Echinococcosis'de*, İzmir; Hidatidoloji Derneği Yayın no:1, Ege Üniversitesi Matbaası. 2004; 13-30.
- Şimşek S, Eröksüz Y. Occurrence and molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in Turkish mouflon (*Ovis gmelinii anatolica*). *Acta Trop.* 2009;109:167-169.
- Takahashi-Fujii A, Ishino Y, Shimada A, Kato I. Practical application of fluorescence-based image analyzer for PCR single-stranded conformation polymorphism analysis used in detection of multiple point mutations. *PCR Method Appl.* 1993;2(4):323-327.
- Takamatsu, S. PCR Applications in fungal phylogeny. In; Bridge PD, Arora DK, Reddy CA, Elander RP, editors. *Application of PCR in Mycology*. New York; Cab International. 1998; 125-153.
- Tashani OA, Zhang LH, Boufana B, Jegi A, McManus DP. Epidemiology and strain characteristics of *Echinococcus granulosus* in the Benghazi area of eastern Libya. *Ann Trop Med Parasit.* 2002;96(4):369-381.

- Theophilus BDM. Principles and medical applications of the polymerase chain reaction. In: Walker JM, Rapley R, editors. Medical Biomethods Handbook. Totowa; Humana Press. 2005; 63-72.
- Thompson RCA. Biology and speciation of *Echinococcus granulosus*. Aust Vet J. 1979;5593-98.
- Thompson RCA. Biology and systematics of *Echinococcus*. In: Thompson RCA, Lymbery AJ, editors. Echinococcus and Hydatid Disease. Wallingford; CAB International. 1995; 1-50.
- Thompson RCA, Lymbery AJ. The nature, extent and significance of variation within the genus *Echinococcus*. In: Baker JR, Muller R, editors. Advanced Parasitology. Volume 27, London; Academic Press. 1988; 209-258.
- Thompson RCA, Lymbery AJ. *Echinococcus*: biology and strain variation. Int J Parasitol. 1990;20(4):457-470.
- Thompson RCA, McManus DP. Aetiology: parasites and life-cycles. In: Eckert J, Gemmell MA, Melsin X, Pawloski ZS, editors. WHO/OIE Manuel on Echinococcosis in Humans and Animals: A Public Health Problem of Global Concern. Paris; World Organisation for Animal Health. 2001; 1-19.
- Thompson RCA, McManus DP. Towards a taxonomic revision of the genus *Echinococcus*. Trends Parasitol. 2002;18(10):452-457.
- Thompson RCA, Kumaratilake LM, Eckert J. Observations on *Echinococcus granulosus* of cattle origin in switzerland. Int J Parasitol. 1984;14(3):283-291.
- Thompson RCA, Boxel AC, Ralston BJ, Constantine CC, Hobbs RP, Shury T, Olson ME. Molecular and morphological characterization of *Echinococcus* in cervids from North America. Parasitology. 2006;132:439-447.
- Tınar R. *Echinococcus* türlerinin tarihçesi. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Editörler, Echinococcosis'de, İzmir; Hidatidoloji Derneği Yayın no:1, Ege Üniversitesi Matbaası. 2004; 1-12.
- Tınar R, Coşkun ŞZ. Hayvanlarda kist hidatik (echinococcosis). Unat EK, Üner A, Özcel MA. Editörler, İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik (Echinococcosis)'de, İzmir; Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, no: 10, Ege Üniversitesi Ofset Basımevi. 1991; 157-196.
- Tınar R, Diker Aİ. The factors of distribution of echinococcosis in Turkey. XXth International Congress of Hydatidology, Kuşadası-İzmir, Özet Kitabı, 2001; 149.
- Tınar R, Coşkun ŞZ, Doğan H, Demir S, Akyol ÇV, Aydın L. Bursa yöresi köpeklerinde görülen helmint türleri ve bunların yayılışı. Türkiye Parazitol Derg. 1989;13(3-4):113-120.

- Tiğın Y, Burgu A, Doğanay A. Hayvanlarda ekinokok türleri (*Echinococcus* sp.). Unat EK, Üner A, Özcel MA. Editörler, İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik (Echinococcosis)'de, İzmir; Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, no: 10, Ege Üniversitesi Ofset Basımevi. 1991; 129-155.
- Toparlak M, Gül Y.. Van ili belediye mezbahasında kesilen hayvanlarda hidatidozun yayılışı. Ankara Üniv Vet Fak. 1989;36(1):129-137.
- Toparlak M, Tüzer E. Veteriner Helminoloji. Ders notu no:102, İstanbul, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları. 1999, 1-162.
- Turcekova L, Snabel V, D'Amelio S, Busi M, Dubinsky P. Morphological and genetic characterization of *Echinococcus granulosus* in the Slovak Republic. Acta Trop. 2003;85:223-229.
- Türkmen H. Mandalarda (*Bubalus bubalis* Linnaeus, 1758) hydatidosis. Türkiye Parazitol Derg. 1992;16(2):31-45.
- Umur Ş. Hidatidozun (kist hidatik) önemi, korunma yolları ve eradikasyonu için bir öneri. Vet Hekim Dern Derg. 1995;65(4):18-22.
- Umur Ş. Prevalence and economic importance of cystic echinococcosis in slaughtered ruminants in Burdur, Turkey. J Vet Med Sci. 2003;50:247-252.
- Umur Ş, Arslan MÖ. Kars yöresi sokak köpeklerinde görülen helmint türlerinin yayılışı. Türkiye Parazitol Derg, 1998;22(2):188-193.
- Umur Ş, Aslantaş Ö. Kars belediye mezbahasında kesilen ruminantlarda hidatidozun yayılışı ve ekonomik önemi. Türkiye Parazitol Derg. 1993;17(2):27-34.
- Unat EK. Ekinokok'ların ve enfeksiyonlarının tarihçesi. Unat EK, Üner A, Özcel MA. Editörler, İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik (Echinococcosis)'de. İzmir; Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, no: 10, Ege Üniversitesi Ofset Basımevi. 1991; 1-12.
- Üner A. İzmir ve civarında köpeklerde *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) Rudolphi üzerindeki araştırmalar. Türkiye Parazitol Derg. 1989;13(3-4):103-112.
- Üner A. Ekinokok'ların sistematigi ve biyolojisi. Unat EK, Üner A, Özcel MA. Editörler, İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik (Echinococcosis)'de. İzmir; Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, no: 10, Ege Üniversitesi Ofset Basımevi. 1991;13-28.
- Ütük AE, Şimşek S, Köroğlu E, McManus DP. Molecular genetic characterization of different isolates of *Echinococcus granulosus* in east and southeast regions of Turkey. Acta Trop. 2008;107:192-194.

- Varcasia A, Canu S, Kogkos A, Pipia AP, Scala A, Garippa G, Seimenis A. Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in sheep and goats of Peloponnesus, Greece. *Parasitol Res.* 2007;101:1135-1139.
- Villalobos N, Gonzalez LM, Morales J, de Aluja AS, Jimenez MI, Blanco MA, Harrison LJS, Parkhouse RME, Garate T. Molecular identification of *Echinococcus granulosus* genotypes (G1 and G7) isolated from pigs in Mexico. *Vet Parasitol.* 2007;147:185-189.
- Vural G, Baca AU, Gauci CG, Bağci 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.
- Wachira TM, Bowles J, Zeyhle E, McManus DP. Molecular examination of the sympatry and distribution of sheep and camel strains of *Echinococcus granulosus* in Kenya. *Am J Trop Med Hyg.* 1993;48:473-479.
- Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* 1990;18:7213-7218.
- Xiao N, Qiu J, Nakao M, Li T, Yang W, Chen X, Schantz PM, Craig PS, Ito A. *Echinococcus shiquicus* n. sp. a taeniid cestode from Tibetan fox and plateau pika in China. *Int J Parasitol.* 2005;35:693-701.
- Xiao N, Qiu J, Nakao M, Li T, Yang W, Chen X, Schantz PM, Craig PS, Ito A. *Echinococcus shiquicus*, a new species from the Qinghai–Tibet plateau region of China: discovery and epidemiological implications. *Parasitol Int.* 2006;55:233-236.
- Yağcı A. Restriction fragment length polymorphism ve polimeraz zincir reaksiyon bazlı tiplleme yöntemleri. Durmaz R. Editör, *Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji*'de, İkinci Baskı, Malatya; İnönü Üniv. Tıp Fak. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji A.D. 2001; 149-160.
- Yang YR, Rosenzvit MC, Zhang LH, Zhang JZ, McManus DP. Molecular study of *Echinococcus* in west-central China. *Parasitology.* 2005;131:547-555.
- Yıldız K, Gürcan IS. The detection of *Echinococcus granulosus* strains using larval rostellar hook morphometry. *Türkiye Parazitol Derg.* 2009;33(2):199-202.
- Yıldız K, Tunđer Ç. Kırıkkale'de sığırlarda kist hidatik'in yayılışı. *Türkiye Parazitol Derg.* 2005;29(4):247-250.
- Yolasığmaz A, Altıntaş N. Echinococcosisde genetik farklılaşmalar. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Editörler, *Echinococcosis*'de, İzmir; Hidatidoloji Derneği Yayın no:1, Ege Üniversitesi Matbaası. 2004; 45-54.

- Yolasışmaz A, Güneş K. Echinococcosisde moleküler tanı yöntemleri. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Editörler, Echinococcosis'de, İzmir; Hidatidoloji Derneği Yayın no:1, Ege Üniversitesi Matbaası. 2004; 219-228.
- Yumurtacı A. DNA dizi analizi. Floresan Temelli Yeni Nesil Genetik Analiz Uygulamaları: DNA Dizi Analizi, Moleküler Markör Uygulamaları ve Çoklu Gen Anlatım Analizleri Uygulamalı Eğitimi Kitabı'nda. TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü Yayını, Gebze-Kocaeli. 2009; 62-66.
- Zarlenga DS, Higgins J. PCR as a diagnostic and quantitative technique in veterinary parasitology. Vet Parasitol. 2001;101:215-230.
- Zeybek H. Samsun bölgesinde insanlarda görülen hydatique olayları ve alınması gereken koruyucu tedbirler. Türk Hidatidol Derg. 1973;19:76-84.
- Zeybek H, Tokay A. Ankara yöresinde evcil ve yabani canidaelerde echinococcus türlerinin yayılışı, cyst şekillerinin ensidansı ve kontrol olanaklarının araştırılması. Etlik Vet Mikrobiyol Derg. 1990;6(6):1-19.
- Zhang W, Joshi DD, McManus DP. Three genotypes of *Echinococcus granulosus* identified in Nepal using mitochondrial DNA markers. T Roy Soc Trop Med H. 2000;94:258-260.
- Zhang W, Li J, McManus DP. Concepts in immunology and diagnosis of hydatid disease. Clin Microbiol Rev. 2003;16:18-36.

EKLER

Ek 1. *E.granulosus*'un TRWB01 İzolatının *cox1* Gen Dizisi

```
1 ttttttgggc atcctgaggt ttatgtggtg attttgctg gatttggtat aattagtcac
61 atttgtttga gtattagtgc taattttgat gcgtttgggt tctatgggtt gttgtttgc
121 atgttttcta tagtgtgttt gggtagcagg gtttggggtc atcatatggt tactgttggg
181 ttggatgtga agacggctgt tttttttagc tctgttacta tgattatagg ggttcctact
241 ggtataaagg tgtttacttg gttatatatg ttgttgaatt cgagtgttaa tgttagtgat
301 ccggttttgt gatgggttgt ttcttttata gtgttgttta cgtttggggg agttacgggt
361 atagttttgt ctgcttgtgt gttagataat attttgcacg atacttgggt tggggtggct
421 cattttcatt atgttctttc tttaa
```

Ek 2. *E.granulosus*'un TRWB02 İzolatının *cox1* Gen Dizisi

```
1 ttttttgggc atcctgaggt ttatgtggtg attttgcctg gatttgggat aattagtcac
61 atttgtttga gtattagtgc taattttgat gcgtttgggt tctatggggt gttgtttgct
121 atgttttcta tagtgtggtt gggtagcagg gtttggggtc atcatatggt tactgttggg
181 ttggatgtga agacggctgt tttttttagc tctgttacta tgattatagg ggttcctact
241 ggtataaagg tgtttacttg gttatatatg ttgttgaatt cgagtgttaa tgttagtgat
301 ccggttttgt gatgggttgt ttcttttata gtgttgttta cgtttggggg agttacgggt
361 atagttttgt ctgcttgtgt gttagataat attttgcacg atacttgggt tgtggtggct
421 cattttcatt atgttctttc ttttaa
```

Ek 3. *E.granulosus*'un TRWB03 İzolatının *cox1* Gen Dizisi

```
1 ttttttgggc atcctgaggt ttatgtggtg attttgcctg gatttggtat aattagtcac
61 atttgtttga gtattagtgc taattttgat gcgtttgggt tctatgggtt gttgtttgct
121 atgttttcta tagtgtggtt gggtagcagg gtttggggtc atcatatggt tactgttggg
181 ttggatgtga agacggctgt tttttttagc tctgttacta tgattatagg ggttcctact
241 ggtataaagg tgtttacttg gttatatatg ttgttgaatt cgagtgttaa tgttagtgat
301 ccggttttgt gatgggttgt ttcttttata gtgttgttta cgtttggggg agttacgggt
361 atagttttgt ctgcttgtgt gttagataat attttgcacg atacttggtt tgtggtggct
421 cattttcatt atgttctttc ttttaa
```

Ek 4. *E.granulosus*'un TRWB04 İzolatının *cox1* Gen Dizisi

```
1 ttttttgggc atcctgaggt ttatgtggtg attttgcctg gatttggtat aattagtcacat
61 atttgtttga gtattagtgc taattttgat gcgtttgggt tctatggggt gttgtttgct
121 atgttttcta tagtgtggtt gggtagcagg gtttggggtc accatatggt tactgttggg
181 ttggatgtga agacggctgt ttttttagc tctgttacta tgattatagg ggttcctact
241 ggtataaagg tgtttacttg gttatatatg ttgttgaatt cgagtgttaa tgttagtgat
301 ccggttttgt gatgggttgt ttcttttata gtgttggtta cgtttggggg agttacgggt
361 atagttttgt ctgcttgtgt gttagataat attttgcacg atacttggtt tgtggtggct
421 cattttcatt atgttctttc ttttaa
```

Ek 5. *E.granulosus*'un TRWB05 İzolatının *cox1* Gen Dizisi

```
1 ttttttgggc atcctgaggt ttatgtggtg attttgctg gatttggtat aattagtcac
61 atttgtttga gtattagtgc taattttgat gcgtttgggt tctatgggtt gttgtttgct
121 atgttttcta tagtgtgttt gggtagcagg gtttggggtc atcatatggt tactgttggg
181 ttggatgtga agacggctgt tttttttagc tctgttacta tgattatagg ggttcctact
241 ggtataaagg tgtttacttg gttatatatg ttgttgaatt cgagtgttaa tgtagtgat
301 ccggttttgt gatgggttgt ttcttttata gtgttgttta cgtttggggg agttacgggt
361 atagttttgt ctgcttgtgt gttagataat attttgcacg atacttgggt tgggtggct
421 cattttcatt atgttctttc tttaa
```

Ek 6. *E.granulosus*'un TRWB06 İzolatının *cox1* Gen Dizisi

```
1 ttttttgggc atcctgaggt ttatgtggtg attttgcctg gatttggtat aattagtcac
61 atttgtttga gtattagtgc taattttgat gcgtttgggt tctatgggtt gttgtttgct
121 atgttttcta tagtgtgttt gggtagcagg gtttggggtc atcatatggt tactgttggg
181 ttggatgtga agacggctgt tttttttagc tctgttacta tgattatagg ggttcctact
241 ggtataaagg tgtttacttg gttatatatg ttgttgaatt cgagtgttaa tgttagtgat
301 ccggttttgt gatgggttgt ttcttttata gtgttgttta cgtttggggg agttacgggt
361 atagttttgt ctgcttgtgt gttagataat attttgcacg atacttggtt tgtggtggct
421 cattttcatt atgttctttc tttaa
```

Ek 7. *E.granulosus*'un TRWB07 İzolatının *cox1* Gen Dizisi

```
1 ttttttgggc atcctgaggt ttatgtggtg attttgcctg gatttggtat aattagtcacat
61 atttgtttga gtattagtgc taattttgat gtgtttgggt tctatggggt gttgtttgct
121 atgttttcta tagtgtggtt gggtagcagg gtttggggtc atcatatggt tactgttggg
181 ttggatgtga agacggctgt tttttttagc tctgttacta tgattatagg ggttcctact
241 ggtataaagg tgtttacttg gttatatatg ttgttgaatt cgagtgttaa tgttagtgat
301 ccggttttgt gatgggttgt ttcttttata gtgttgttta cgtttggggg agttacgggt
361 atagttttgt ctgcttgtgt gttagataat attttgcacg atacttggtt t
```

Ek 8. *E.granulosus*'un TRWB08 İzolatının *cox1* Gen Dizisi

```
1 ttttttgggc atcctgaggt ttatgtggtg attttgctg gatttggtat aattagtcac
61 atttgtttga gtattagtgc taattttgat gcgtttgggt tctatgggtt gttgtttgc
121 atgttttcta tagtgtgttt gggtagcagg gtttggggtc atcatatggt tactgttggg
181 ttggatgtga agacggctgt tttttttagc tctgttacta tgattatagg ggttcctact
241 ggtataaagg tgtttacttg gttatatatg ttgttgaatt cgagtgttaa tgttagtgat
301 ccggttttgt gatgggttgt ttcttttata gtgttgttta cgtttggggg agttacgggt
361 atagttttgt ctgcttgtgt gttagataat attttgcacg atacttggtt tgtggtggct
421 cattttcatt atgttctttc tttaa
```


Ek 9. *E.granulosus*'un TRWB09 İzolatının *cox1* Gen Dizisi

```
1 ttttttgggc atcctgaggt ttatgtggtg attttgcctg gatttggtat aattagtcac
61 atttgtttga gtattagtgc taattttgat gtgtttgggt tctatgggtt gttgtttgct
121 atgttttcta tagtgtggtt gggtagcagg gtttggggtc atcatatggt tactgttggg
181 ttggatgtga agacggctgt tttttttagc tctgttacta tgattatagg ggttcctact
241 ggtataaagg tgtttacttg gttatatatg ttgttgaatt cgagtgttaa tgttagtgat
301 ccggttttgt gatgggttgt ttcttttata gtgttgttta cgtttggggg agttacgggt
361 atagttttgt ctgcttgtgt gttagataat attttgcacg atacttggtt tgtggtggct
421 cattttcatt atgttctttc ttttaa
```

ÖZGEÇMİŞ

Samsun'un Terme ilçesinde 1982 yılında doğdum. İlkokulu Terme Atatürk İlkokulu'nda tamamladıktan sonra 2000 yılında Çarşamba Anadolu Lisesi'ni bitirdim. Aynı yıl Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne girerek 2005 yılında mezun oldum. 2005 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Ana Bilim Dalı'na Araştırma Görevlisi olarak atandım.