

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**FARKLI KONAKLARDAN ELDE EDİLEN *ECHINOCOCCUS*
GRANULOSUS İZOLATLARININ MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU**

**Hazırlayan
Emrah ERDOĞAN**

**Danışman
Prof. Dr. Süleyman YAZAR**

Yüksek Lisans Tezi

**Temmuz 2015
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**FARKLI KONAKLARDAN ELDE EDİLEN *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS*
İZOLATLARININ MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

**Hazırlayan
Emrah ERDOĞAN**

**Danışman
Prof. Dr. Süleyman YAZAR**

Yüksek Lisans Tezi

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TYL-2013-4329 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Temmuz 2015
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı : Emrah ERDOĞAN

İmza :

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

"Farklı Konaklardan Elde Edilen Echinococcus granulosus İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu" adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi' ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan
Emrah ERDOĞAN

Danışman
Prof. Dr. Süleyman YAZAR

Parazitoloji AD Başkanı
Prof. Dr. Süleyman YAZAR

KABUL ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Süleyman YAZAR danışmanlığında **Emrah ERDOĞAN** tarafından hazırlanan “**Farklı Konaklardan Elde Edilen *Echinococcus granulosus* İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

19/08/2015

İmza

JÜRİ:**Danışman: Prof. Dr. Süleyman YAZAR**

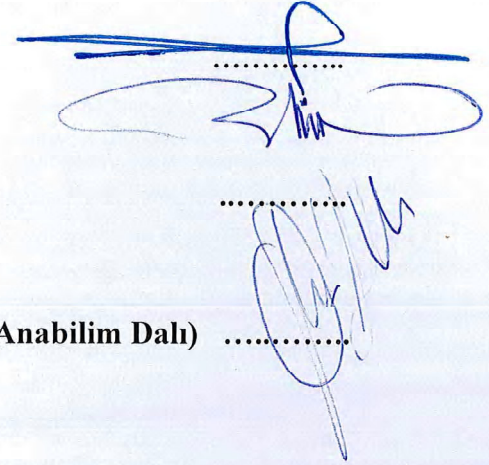
(Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı)

Üye :Prof. Dr. İzzet ŞAHİN

(Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı)

Üye :Doç. Dr. Özlem MİMAN

(Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı)

**ONAY:**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../2015

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR**Enstitü Müdürü**

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenciliğim ve tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimlerini aktararak desteklerini esirgemeyen tez danışmanım ve değerli hocam Sayın Prof. Dr. Süleyman YAZAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim ve tez çalışmam süresince değerli emeklerini ve katkılarını esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. İzzet ŞAHİN'e ve Sayın Prof. Dr. Salih KUK'a teşekkür ederim.

Çalışmada kullanılan *E. granulosus* içeren kist materyallerinin temininde yardımcı olan değerli arkadaşım Muhittin KAYA'ya, Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi çalışanları ve Sayın Uzm. Dr. Fatih MUTLU'ya, sekans sonuçlarının değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Eda SİVCAN ve Serkan KARACA'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince değerli emeklerini ve katkılarını esirgemeyen Erciyes Üniversitesi Parazitoloji Anabilim Dalı personeline teşekkür ederim.

Bu çalışmayı Yüksek Lisans Tez Projesi kapsamında maddi olarak destekleyen **Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi**'ne ve **ÖYP Kurum Koordinatörlüğü**'ne teşekkür ederim.

Son olarak çalışmam süresince sevgileri ile sürekli yanımda olan aileme, arkadaşlarıma sonsuz teşekkürler.

FARKLI KONAKLARDAN ELDE EDİLEN ECHINOCOCCUS GRANULOSUS İZOLATLARININ MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Emrah ERDOĞAN

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Parazitoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Temmuz 2015

Danışman: Prof. Dr. Süleyman YAZAR

KISA ÖZET

E. granulosus dünya genelinde görülebilmektedir. Parazitin neden olduğu “kistik ekinokokkozis” (KE) yurdumuzun da içinde bulunduğu hayvancılığın yaygın olduğu birçok ülkede önemli sağlık sorunları oluşturmakta ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Parazitin sık görüldüğü bölgeler; Kuzey ve Doğu Afrika, Avustralya, Güney Amerika ve Avrasya’dır.

Yapılan moleküler çalışmalarda taksonomik olarak doğrulanan dört türün yanında; *E. granulosus* türünün varyasyonları veya suşları denilen 10 farklı suş tanımlanmıştır. Ancak ülkemizde suş tayinine yönelik çalışmalar sınırlı sayıdadır. Suşlar arasındaki ara konak farklılıkları ve gelişimsel farklılıklar parazitle mücadeleyi ve kontrol çalışmalarını olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

Çalışmada amacımız; Türkiye’de farklı bölgelerden ve farklı ara konaklardan elde edilen hidatik kist materyalini moleküler yöntemlerle inceleyerek *E.granulosus* suş tayini yapmaktır. Çalışmamızın; Türkiye’de ve bölgemizde KE’ye karşı yapılacak olan etkin eradikasyon, kontrol ve aşı çalışmalarında içeriğinden faydalanılacak bir çalışma olması düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kistik Ekinokokkozis, *Echinococcus granulosus*, Suş, Moleküler Karakterizasyon

**MOLECULAR CHARACTERIZATION of ECHINOCOCCUS GRANULOSUS
ISOLATES OBTAINED FROM DIFFERENT SOURCES**

Emrah ERDOĞAN

Erciyes University, Graduate School of Health Sciences

Department of Parasitology

M.Sc. Thesis, July 2015

Supervisor: Prof. Süleyman YAZAR

ABSTRACT

E. granulosus can be seen throughout the world. Interference caused by the "cystic echinococcosis" (KE) is common in our country are also found in the animal constitutes a major health problem in many countries and cause economic losses. Parasite prevalent regions; North and East Africa, Australia, South America and Eurasia.

In addition to the four species by molecular studies confirmed the taxonomic; 10 different strains or strains of *E. granulosus* species known variations have been identified. However, in our country are limited studies on strain characterization. Search mansion differences between strains and developmental differences and the fight against parasite control studies can be adversely affected.

Our aim in this study; From different regions of Turkey and obtained from different intermediate hosts by examining the cyst material is to make the determination of molecular methods *E. granulosus* strains. Our study; Effective eradication keen to be held against Turkey and our region is considered to be a work that will benefit from the content in the control and vaccine development.

Keywords: Cystic Echinococcosis , *Echinococcus granulosus*, Strains, Molecular Characterization.

İÇİNDEKİLER

FARKLI KONAKLARDAN ELDE EDİLEN ECHINOCOCCUS GRANULOSUS İZOLATLARININ MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	iii
KABUL ONAY SAYFASI	v
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR	x
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. ECHINOCOCCUS CİNSİ ve TARİHÇE	3
2.1.1. Echinococcus Cinsinin Taksonomisi	3
2.1.2. Echinococcus Cinsinin Türleri	4
2.1.3. Echinococcus Cinsinin Alt Türleri	5
2.1.4. <i>Echinococcus</i> Cinsinin Morfolojisi	5
2.2. ECHINOCOCCUS GRANULOSUS	7
2.2.1 <i>Echinococcus granulosus</i> 'un Hayat Döngüsü	7
2.2.2 <i>Echinococcus granulosus</i> 'un Epidemiyolojisi	9
2.2.2.1 Dünya'da <i>Echinococcus granulosus</i> 'un Epidemiyolojisi	9
2.2.2.2 Türkiye'de <i>Echinococcus granulosus</i> 'un Epidemiyoloji	10
2.2.3 <i>Echinococcus granulosus</i> 'un Suşları	12
2.2.3.1 Evcil Koyun Suşu (G1)	13
2.2.3.2 Tazmanya Koyun Suşu (G2)	13
2.2.3.3 Manda Suşu (G3)	13
2.2.3.4 At Suşu (G4)	13
2.2.3.5 Sığır Suşu (G5)	14
2.2.3.6 Deve Suşu (G6)	14
2.2.3.7 Domuz Suşu (G7)	14
2.2.3.8 Geyik Suşu (G8)	15
2.2.3.9 İnsan Suşu (G9)	15

2.2.3.10 Fennoscandian Geyik Suşu (G10).....	15
2.2.4 <i>Echinococcus granulosus</i> Suşlarının Ayrımında Kullanılan Yöntemler.....	15
2.2.4.1 <i>Echinococcus granulosus</i> Suş Ayrımında Kullanılan Moleküler Yöntemler.....	15
2.2.4.1.1 Polymerase Chain Reaction (PCR).....	15
2.2.4.1.2 Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP).....	16
2.2.4.1.3 PCR-RFLP.....	16
2.2.4.1.4 Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)-PCR	16
2.2.4.1.5 PCR-Single Stranded Conformation Polimorphism (PCR-SSCP) Analizi	17
2.2.4.1.6 Dideoxy Fingerprinting (ddF).....	17
2.2.4.1.7 DNA Baz Dizi Analizi (Sequencing).....	17
2.2.5 Kistik Ekinokokkozis	17
2.2.5.1 Klinik.....	18
2.2.5.2 Tanı.....	18
2.2.5.2.1 Görüntüleme Yöntemleri	19
2.2.5.2.2 Serolojik Yöntemler	19
2.2.5.2.3 Moleküler Yöntemler	19
2.2.5.3 Tedavi.....	19
2.2.5.3.1 Cerrahi.....	20
2.2.5.3.2 Perkütan Tedavi.....	20
2.2.5.3.2.1 PAIR	20
2.2.5.3.2.2 Kateterizasyon (Hipertonik Salin ve Alkol)	21
2.2.5.3.2.3 Modifiye Kateterizasyon Teknikleri (PEVAC veya MoCaT)	21
2.2.5.3.3 Kemoterapi.....	21
2.2.5.3.4 Korunma ve Kontrol.....	21
2.2.5.3.4.1 Kontrol Programları.....	22
2.2.5.3.4.1.1 Kesin Konaklarda Kontrol.....	22
2.2.5.3.4.1.2 Ara Konaklarda Kontrol.....	22

3.GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. ÇALIŞMA PLANI	24
3.1.1 Çalışmada Kullanılan Cihazlar.....	25
3.1.2 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar.....	25
3.2. ÖRNEKLERİN TOPLANMASI.....	26
3.3. GENOMİK DNA İZOLASYONU.....	27
3.3.1 Yöntem ve Değerlendirme.....	27
3.4.MİTOKONDRIYAL SİTOKROM C OKSİDAZ SUBUNİT 1 (L) GEN BÖLGESİ KULLANILARAK PCR YÖNTEMİNİN UYGULANMASI.....	29
3.5. MİTOKONDRIYAL SİTOKROM C OKSİDAZ SUBUNİT 1 (S) GEN BÖLGESİ KULLANILARAK PCR YÖNTEMİNİN UYGULANMASI.....	30
3.6. DNA DİZİ ANALİZİ.....	30
4.BULGULAR.....	32
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	60
6.KAYNAKLAR	64
ÖZGEÇMİŞ	83

KISALTMALAR

<i>E. granulosus</i>	: <i>Echinococcus granulosus</i>
KE	: Kistik Ekinokokkozis
<i>E.multilocularis</i>	: <i>Echinococcus multilocularis</i>
<i>E. vogeli</i>	: <i>Echinococcus vogeli</i>
<i>E.oligarthrus</i>	: <i>Echinococcus oligarthrus</i>
<i>E. shiquicus</i>	: <i>Echinococcus shiquicus</i>
<i>E. g. canadensis</i>	: <i>Echinococcus granulosus canadensis</i>
<i>E. g. newzealandensis</i>	: <i>Echinococcus granulosus newzealandensis</i>
<i>E. g. equinus</i>	: <i>Echinococcus granulosus equinus</i>
<i>E. g. borealis</i>	: <i>Echinococcus granulosus borealis</i>
<i>E. g. Iycaontis</i>	: <i>Echinococcus granulosus Iycaontis</i>
<i>E. g. felidis</i>	: <i>Echinococcus granulosus felidis</i>
<i>E. g. ortleppi</i>	: <i>Echinococcus granulosus ortleppi</i>
<i>E. g. africanus</i>	: <i>Echinococcus granulosus africanus</i>
<i>E. g. dusicyontis</i>	: <i>Echinococcus granulosus dusicyontis</i>
<i>E. multilocularis multilocularis</i>	: <i>Echinococcus multilocularis multilocularis</i>
<i>E. m. sibiricensis</i>	: <i>Echinococcus multilocularis sibiricensis</i>
<i>E. m. kazakhensis</i>	: <i>Echinococcus multilocularis kazakhensis</i>
µm	: Mikrometre
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
IHA	: İndirekt Hemaglütinasyon
ark	: Arkadaşları
ELISA	: Enzim Bağlı İmmunosorban Yöntem
COX	: Cyclooxygenase

DNA	: Deoksiribo Nünleik Asit
PCR	: Polymerase Chain Reaction
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
RE	: Restriksiyon enzimleri
RAPD	: Random Amplified Polymorphic DNA
G	: Guanin
S	: Sitozin
SSCP	: PCR-Single Stranded Conformation Polimorphism
ddF	: Dideoxy Fingerprinting
US	: Ultrasonografi
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
PAIR	: Puncture-Aspiration-Injection-Reaspiration
MoCaT	: Modifiye Kateterizasyon Teknikleri
TAE	: Tris-Asetat
İ	: İzolat

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. <i>Echinococcus granulosus</i> izolatlarının PCR analizinde ve tiplendirilmesinde kullanılan primerler	28
Tablo 4.1. Çalışmada kullanılan referans dizilerin ve örnek izolatımızın Genbank numaraları.....	59
Şekil 2.1. Erişkin <i>Echinococcus</i> sp	7
Şekil 2.2. <i>E. granulosus</i> 'un Hayat Döngüsü.....	8
Şekil 3.1. Mitokondriyal COX-1 gen bölgesi.....	29
Şekil 4.1. Çalışmada incelenen kist sıvısı örneklerinde görülen protoskoleks ve çengeller.....	32
Şekil 4.2. <i>Echinococcus granulosus</i> 'un insan, sığır, koyun izolatlarının mitokondriyal COX-1 (L) bölgesinin PCR ile çoğaltılması sonucunda oluşan 789 bp'lik bant	33
Şekil 4.3. Çalışmada incelenen bütün izolatların COX-1 (L) gen bölgelerinin karşılaştırmalı sekans sonuçları.....	35
Şekil 4.4. Çalışmada elde edilen izolatın ve referans dizilerin COX-1 (L) gen bölgelerinin Neighbour-Joining filogenetik ilişkisi.....	48
Şekil 4.5. <i>Echinococcus granulosus</i> 'un insan, sığır, koyun izolatlarının mitokondriyal COX-1 (S) bölgesinin PCR ile çoğaltılması sonucunda oluşan 446 bp'lik bant	49
Şekil 4.6. Çalışmada incelenen bütün izolatların COX-1 (S) gen bölgelerinin karşılaştırmalı sekans sonuçları.....	50
Şekil 4.7. Çalışmada elde edilen izolatların ve referans dizilerin COX-1 (S) gen bölgelerinin Neighbour-Joining filogenetik ilişkisi.....	58

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Taeniidae ailesinde yer alan *Echinococcus* türleri küçük yapılı sestodlardır. Bugüne kadar *Echinococcus* cinsinin insanda parazitlendiği belirlenen beş türü tanımlanmıştır: *Echinococcus granulosus*, *E.multilocularis*, *E. vogeli* ve *E.oligarthrus*, *E. shiquicus*. Çin’de lokal bir bölgede tespit edilen *E.shiquicus*; *E.granulosus*’un yeni bir suşu olarak düşünülmüş fakat moleküler çalışmalarla yeni bir tür olduğu kabul edilmiştir. Parazitin larval (metasestod) formu; tırnaklı hayvanlar (sığır, keçi, domuz, at, koyun vs.) ve insanın iç organlarında yerleşirken; erişkin formu son konak köpekgillerin ince bağırsağında bulunur. Larval form ara konaklarda ekinokokkozise sebep olur (1, 2, 3, 4).

Echinococcus granulosus dünya genelinde görülebilmektedir. Parazitin neden olduğu “kistik ekinokokkozis” (KE) yurdumuzun da içinde bulunduğu hayvancılığın yaygın olduğu birçok ülkede önemli sağlık sorunları oluşturmakta ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır (5). Parazitin sık görüldüğü bölgeler; Kuzey ve Doğu Afrika, Avustralya, Güney Amerika ve Avrasya’dır (6). Yazar ve ark.’ın (7) yaptığı çalışmaya göre; yurdumuzda 2001-2005 yıllarında toplam 14789 KE olgusu bildirilmiştir.

Moleküler çalışmalarda taksonomik olarak doğrulanan dört türün yanında; *E. granulosus* türünün varyasyonları veya suşları denilen 10 farklı suş tanımlanmıştır. Ancak ülkemizde suş tayinine yönelik çalışmalar sınırlı sayıdadır. Suşlar arasındaki ara konak farklılıkları ve gelişimsel farklılıklar parazitle mücadeleyi ve kontrol çalışmalarını olumsuz yönde etkileyebilmektedir (8).

Çalışmada amacımız; Türkiye’de farklı bölgelerden ve farklı ara konaklardan elde edilen hidatik kist materyalini moleküler yöntemlerle inceleyerek *E.granulosus* suş tayini yapmaktır. Çalışma; örneklerin toplanması, genomik DNA izolasyonu, PCR aşamaları, PCR ürünlerinin sekanslanması ve en son olarak bu verilerin değerlendirilmesi çalışmalarını kapsamaktadır. Çalışmamızın; Türkiye’de ve bölgemizde KE’ye karşı yapılacak olan etkin eradikasyon, kontrol ve aşı çalışmalarında içeriğinden faydalanılacak bir çalışma olması düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *ECHINOCOCCUS* CİNSİ VE TARİHÇE

2.1.1. *Echinococcus* Cinsinin Taksonomisi

Rudolphi'nin 1801 yılında tanımladığı *Echinococcus* cinsine ait türlerin sınıflandırma ve isimlendirme çalışmaları 1950'den sonra hız kazanmıştır. 1954 ve 1969 yılları arasında üç adet *E. multilocularis* ve 10 adet *E. granulosus* alt türü tanımlanmıştır. Bu alt türlerden *E. granulosus*'un *E. granulosus granulosus* (Verster, 1965) ve *E. granulosus canadensis* (Webster ve Cameron, 1961) dışındaki alt türler geçersiz sayılmıştır. *E. multilocularis*'in ise; *E. multilocularis multilocularis* (Vogel, 1957), *E. multilocularis sibiricensis* (Rausch ve Schiller, 1954) ve *E. multilocularis kazakhensis* (Shul'ts, 1961) olmak üzere üç alt türü bulunmaktadır. Daha sonraki çalışmalarla bu alt türler geçersiz kılınmış ve taksonomik durumu net olmayan varyantlar suş olarak değerlendirilmiştir (9).

Echinococcus cinsinin sınıflandırmadaki yeri şu şekildedir (1, 8).

Alt alem: *Metazoa*

Şube: *Platyhelminthes*

Sınıf: *Cestoda*

Alt Sınıf: *Eucestoda*

Takım: *Cyclophyllidea*

Aile: *Taeniidae* (Ludwig, 1886)

Cins: *Echinococcus* (Rudolphi, 1801)

Türler: *E. granulosus* (Batsch, 1786), *E. multilocularis* (Leuckart, 1863), *E. oligarthrus* (Diesing, 1863) ve *E. vogeli* (Rausch ve Bernstein, 1972).

2.1.2. *Echinococcus* Cinsinin Türleri

Echinococcus (Rudolphi, 1801) cinsi parazitlerin isimlendirilmesi ve sınıflandırılması halen tartışma konusudur. 1957’de Vogel’in *E. multilocularis*’in hayat döngüsünü deneysel olarak açıklamasından sonra; *E. granulosus*’un kistik hidatidosis, *E. multilocularis*’in ise alveolar hidatidosis hastalığı etkeni olduğunu savunan görüşler haklı duruma gelmişlerdir. 1910 ile 1970 yılları arasında 14 farklı *Echinococcus* türü tanımlanmış; bunlardan *E. oligarthrus* (Diesing, 1863) ve *E. vogeli* (Rausch ve Berntein, 1972) geçerliliklerini devam ettirmişlerdir. Son yıllarda tür sayısı ile ilgili olarak ortaya konulan yaygın görüş; *E. granulosus*, *E. multilocularis*, *E. vogeli*, *E. oligarthrus* ve *E. shiquicus* olarak beş türün olduğuna yöneliktir (3, 10, 11).

2.1.3. *Echinococcus* Cinsinin Alt Türleri

Echinococcus granulosus'un zamanımızda geçerliliğini yitiren *E. g. canadensis*, *E. g. newzealandensis*, *E. g. equinus*, *E. g. borealis*, *E. g. Iycaontis*, *E. g. felidis*, *E. g. ortleppi*, *E. g. africanus*, *E. g. dusicyontis* olmak üzere 9 farklı alt türü tanımlanmıştır. *E. multilocularis*'in ise geçerliliği devam eden *E. multilocularis multilocularis*, *E. m. sibiricensis* ve *E. m. kazakhensis* olmak üzere 3 farklı alt türü bulunmaktadır (12, 13, 14).

2.1.4. *Echinococcus* Cinsinin Morfolojisi

Echinococcus cinsine ait türlerin erişkinleri son konak karnivorların ince bağırsağında yerleşmektedir. Metasestod, yani larval formları ise ara konak herbivor ve omnivorların başta karaciğer ve akciğer olmak üzere çeşitli doku ve organlarında yerleşip gelişir.

Erişkin parazitler 1.2-6 mm uzunluğunda ve skoleks olarak adlandırılan baş, boyun ve 2-6 adet halkaya (proglottid) sahip strobilia denilen gövdeden oluşur. Parazitin halkalarından başa en yakın olanı immatür, sonraki matür ve en sondaki gebe halkadır. İmmatür halkada üreme organları henüz gelişmemişken, matür halkada işlevsel üreme organları mevcuttur. Gebe halkada ise uterus yumurtalar ile doludur. Parazitin seksüel gelişimi 3-4 hafta sürmektedir. Tür ve suşa bağlı olarak yumurta üretimi 28. günde başlar (15, 16).

Yumurtalar elips-küresel şekilde olup genellikle 30-50 µm ile 22-44 µm'lik iki katmana sahiptir. Altı çengelli embriyonun (onkosfer = primer larval evre) etrafı dirençli keratinize embriyofor ve birkaç örtü ile çevrilidir. Embriyofor embriyoyu koruyan asıl tabakadır. Erişkin parazitin gebe halkalarının parçalanması ile son konağın dışkısına geçen yumurtalar dışkı ile dışarı atılır. Yumurtalar dış ortamda 4-15°C arasında nemli bir çevrede enfektivitelerini birkaç ay ile bir yıla kadar korur. Kuruluğa karşı son derece duyarlı yumurtalar, nispi nemin %0 olduğu ortamda 1 günde, 60-80 °C sıcaklıkta 5 dakikada ölmektedir (8, 15).

Ara konaklar enfektif yumurtaları oral yolla ve nadiren de olsa solunum yoluyla alarak enfeksiyona yakalanırlar. Alınan yumurtalar ara konakların mide ve ince bağırsaklarında açılıp onkosfer serbest kalır. Çengelleri ve histolitik enzimleri ile süratle villüs epitelinde lamina propriyaya ulaşmaktadır. Buradan venüllere geçerek genellikle karaciğer ve akciğerlere, daha az sıklıkla da kas, beyin, dalak, böbrek ve diğer organlara taşınır (17).

Parazitin ara konaklardaki organ lokalizasyonu *Echinococcus* türüne ve suşuna bağlı olarak değişmektedir. Koyun (G1) ve at suşu (G4) öncelikle karaciğere yerleşirken, sığır (G5) ve deve suşu (G6) ise ara konaklarda en çok akciğerlere yerleşmektedir. *Echinococcus* türlerinin ara konaklarda oluşturdukları kistler, dıştan laminar tabaka ile destekli iç kısımda germinal tabakadan oluşur. *E. multilocularis* haricindeki türlerin kistlerinde konak dokusu tarafından çevrelenmiş fibröz bir adventisiya tabakası bulunur. Kist gelişimleri; parazitin tür ve suşuna bağlı olduğu gibi, konağın tür, ırk, yaş, bağışıklık durumu ve cinsiyetine göre de değişebilmektedir. İçinde protoskoleks bulunan kistlere fertil; bulundurmayanlara ise steril kist denmektedir (17, 18).

Echinococcus granulosus parazitinde larval formun aseksüel gelişimi endojen bir süreç izlerken; *E. multilocularis*'de konağa ait adventisiya tabakası oluşmadığından larva hem endojen hem eksojen gelişim sergiler. Bu da, *E. multilocularis* larvasına farklı doku ve organlara metastaz yapma imkanı verir. Diğer iki türde ise konağa ait adventisiya tabakası ile eksojen gelişim sınırlandırılır. Karnivor son konaklar, protoskoleks içeren kistleri yemekle enfeksiyona yakalanır. Birkaç saat içerisinde ince bağırsak villuslarının arasına giren protoskoleksler burada tutunur ve bunlardan erişkin parazitler gelişir (9, 17, 18).



Şekil 2.1. Erişkin *Echinococcus* sp.

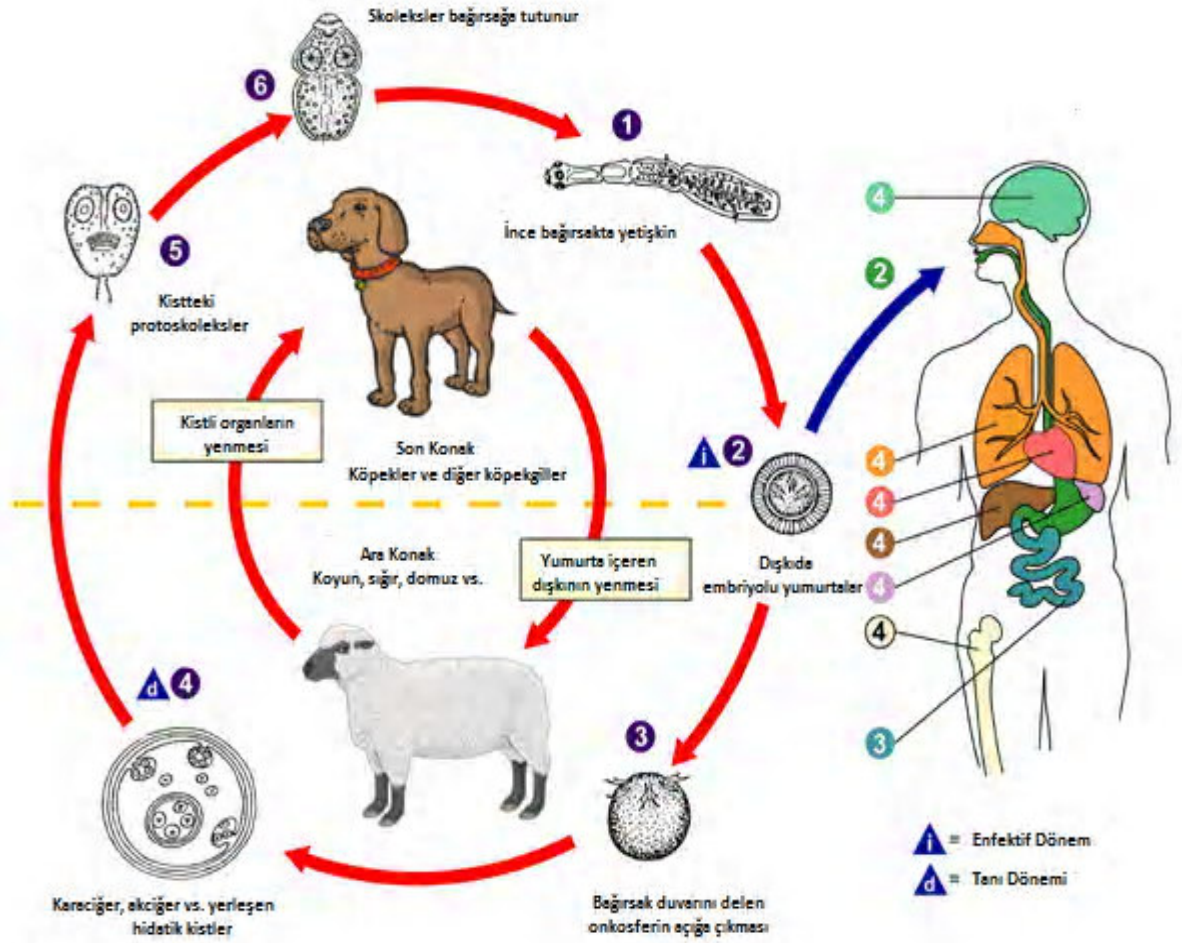
(http://www.phsource.us/PH/PARA/Chapter_8.htm) (19).

2.2. ECHINOCOCCUS GRANULOSUS

2.2.1. *Echinococcus granulosus*'un Hayat Döngüsü

Ara konaklar tarafından ağız yoluyla alınan embriyonlu yumurta mide ve ince bağırsakta açılır. Onkosfer diye isimlendirilen embriyo serbestleşerek histolitik enzimleri ve çengellerinin yardımıyla süratle villus epiteline penetre olarak lamina propriaya taşınır. Buradan da kan yoluyla başta karaciğer ve akciğer olmak üzere diğer doku ve organlara pasif olarak taşınır. Onkosfer on dört gün içinde değişim gösterir. Bu süre içerisinde türlere göre değişen şekillerde çengellerin dejenerasyonu, kas atrofisi, vezikülarizasyon, santral kavite ve kist tabakalarının oluşumu devam eder. Sonuçta aseksüel çoğalabilen metasestod oluşur. İnsanlarda kistler içerisinde protoskolekslerin gelişimi için gerekli süre bilinmemekle beraber domuzlarda bu süre 10-12 ay, koyunlarda 10 ay-4 yıl olarak hesaplanmıştır. Son konaklarda hidatik kistteki protoskoleksler sindirilerek enfeksiyon başlar. Birkaç saat içerisinde ince bağırsak villusları arasında erişkin parazitler gelişmeye başlar (2, 9, 15).

Enfektif yumurta içeren kesin konak dışkısının toprağa atılması ve bu yumurtaların ağız yoluyla alınması sonucun ara konaklarda enfeksiyon başlar. Yumurtalar kontamine çığ sebze, meyve gibi bitkilerin yenmesi ile alınabildiği gibi kontamine suların içilmesi de enfeksiyon için önemli kaynaklardır. Son konaklar için en önemli kaynak enfekte koyun iç organlarıdır (1, 2, 20).



Şekil 2.2. *E. granulosus*'un Hayat Döngüsü

(<http://www.cdc.gov/parasites/echinococcosis/biology.html>) (21).

2.2.2. *Echinococcus granulosus*'un Epidemiyolojisi

2.2.2.1. Dünya'da *E. granulosus*'un Epidemiyolojisi

Echinococcus granulosus kozmopolit bir dağılıma sahiptir. Avrasya (Akdeniz ülkeleri, Rusya Federasyonu ve Komşu ülkeler, Çin), Avustralya ve Güney Amerika'nın bir bölümü ve Afrika (Kuzey ve doğu bölümleri) yüksek prevalansa sahiptir. Grönland, İzlanda gibi birkaç bölgede parazitin bulunmadığı kabul edilmektedir (22).

İnsanlar ve hayvanları içine alan ara konaklarda en yüksek prevalans çiftlik hayvanları (özellikle koyun) yetiştiriciliğinin olduğu bölgelerdedir. İnsana enfeksiyonun öncelikle geçişi hijyen kurallarına uyulmamasına bağlıdır. Coğrafik koşullar ve parazitin genotipik özellikleri de enfeksiyonun yayılmasındaki önemli faktörlerdendir (23).

Echinococcus granulosus Avrupa'da; İzlanda, Danimarka ve İrlanda hariç her ülkede görülmektedir. Bulgaristan'da ekonomik verilerin kötüye gitmesi ve kontrol programlarındaki aksamalar sonucu ara ve son konaklarda ekinokokkozis görülmesi son yıllarda artmaya başlanmıştır (6). Yunanistan'da KE prevalansı sığırlarda %82, koyunlarda %80, keçilerde %24 ve domuzlarda %5; 1984 yılında opere edilen insan vakası 100.000'de 12.9 iken bu oran, 1984 yılında başlatılan kontrol programlarının etkisiyle 1998 yılındaki kontrollerde gerilediği tespit edilmiştir (24).

Özbekistan, Kırgızistan, Tacikistan, Türkmenistan ve Kazakistan bölgesini içine alan Orta Asya'da KE endemiktir ve cerrahi insidans 10/100.000 vakanın da üzerindedir (25). Çin Halk Cumhuriyeti'nde 1950 yılından beri yaklaşık 35.000 insan cerrahi olarak tedavi edilmiştir. Ülkenin farklı bölgelerinde yapılan çeşitli çalışmalarda insanda KE prevalansı %0.07-28.4; koyun, yak, keçi, sığır, domuz ve deve gibi çiftlik hayvanlarında %0.15-100; köpeklerdeki *E. granulosus* prevalansı ise %0-82.3 olarak tespit edilmiştir (24).

Avustralya'da KE önemli bir sağlık sorunudur. Avustralya'da ki yaban hayvanları *E. granulosus*'un çiftlik hayvanları, köpekler ve insanlara geçmesinde ciddi rol oynamaktadırlar. Hastalığın endemik olduğu alanlarda vahşi köpeklerde prevalans %48-90 iken; insanlarda bu oran %42.5'dir. Tazmanya Adası'nda 1960'larda *E. granulosus*

köpeklerde %12, üç yaş üstü koyunlarda %52 ve sığırlarda %17 olarak saptanırken; kontrol çalışmalarını takip eden yıllarda bu oranların düştüğü gözlenmiştir (6, 25).

Afrika'da Kuzey ve Doğu Afrika'nın küçük baş hayvancılık yapılan alanlarında prevalans %3'ün üzerindedir. Tunus ve Libya'da insan KE prevalansı %2 olarak belirtilmiştir. Kenya'nın özellikle Turkana bölgesinde 1983 yılında insanlardaki %7.5 olan KE prevalansı alınan önlemler sonucu 1992 yılında %3.1'e gerilemiştir (2, 6, 23, 25).

Kıbrıs'ta 1972'de köpeklerde %6.8, iki yaşından büyük koyunlarda %54, keçilerde %12, domuzlarda %10 ve sığırlarda %30 oranında *E. granulosus* belirlenmiştir. Uygulanan kontrol çalışmalarıyla Güney Kıbrıs'ta parazitin eradike olduğu düşüncesiyle programlar sonlandırılmış fakat yapılan kontrollerde kesilen kasaplık hayvanlarda kistlerin görülmesi üzerine 1993 yılında kontrol programlarının yeniden başlatılmasına karar verilmiştir (6, 26).

Amerika kıtasında parazit yüksek prevalans değerlerine sahiptir. Uruguay'da 1995 yılında insidans 9.2/100.000 olarak tespit edilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde vakaların çoğunu endemik bölgelerden göç eden insanlar oluşturmaktadır. Sporadik yerli vakalar olarak adlandırılan bu vakalar; Alaska, Kaliforniya, Arizona, New Mexico ve Utah'da tespit edilmiştir (2, 27).

2.2.2.2. Türkiye'de *E. granulosus*'un Epidemiyolojisi

Yurt genelinde veteriner hekim kontrolünde olamayan sokak köpeklerinin yaygınlığı ve gerekli tedbirlerin alınmamasından dolayı KE vakalarına oldukça sık rastlanmaktadır (28). Yazar ve ark.'nın çalışmasına göre Türkiye'de 2001-2005 yılları arasında toplam 14789 KE olgusu bildirildiği belirtilmiştir (7).

Akdeniz bölgesinde; Adana, Burdur, Hatay, Antalya, İçel, Isparta, Kahramanmaraş ve Osmaniye illeri İl Sağlık Müdürlükleri verilerine göre 2001-2005 yılları arasında 1289'u erkek, 1284'ü kadın, toplam 2573 olguya KE tanısı konmuştur (29). Diğer taraftan; Adana ve Hatay'da 1997-2007 yılları arasında çeşitli patoloji laboratuvarlarında 962 vakaya KE tanısı konmuştur (30).

İç Anadolu bölgesinde 2001-2005 yılları arasında 13 ilde yapılan araştırmaya göre; 2348 erkek, 2998 kadın toplam 5346 KE tanısı konmuştur (31). 1993-1998 yılları arasında Konya Sosyal Sigortalar Hastanesi'nde servislerde yatan hastaların %0,81'i (213 vaka) KE teşhisi ile opere edilmiştir (32). Kayseri'de ise çeşitli hastane ve İl Sağlık Müdürlüğü kayıtlarına göre 1999-2004 yılları arasında 699 KE olgusu saptanmıştır (33).

Trakya Bölgesi'ndeki Edirne, Tekirdağ ve Kırklareli illerinde 1991 yılında yapılan bir çalışmada; insanlarda IHA (indirekt hemaglutinasyon) yöntemi ile %12, Casoni yöntemi ile %16,8 pozitif sonuç alınmıştır (34). Yine Tekirdağ, Kırklareli, İzmit, Bursa, İstanbul ve Edirne illerini içine alan bir çalışmada; hastane kayıtlarına göre, KE tanısı almış 3628 hasta opere edilmiştir (35).

Doğu Anadolu Bölgesinde; 10 ili kapsayan bir çalışmada 2001-2005 824 hastanın opere edildiği bildirilmiştir (36). Kaplan ve ark. 2005-2007 yılları arasında Fırat Üniversitesi Hastanesi'nde 84 KE hastasına tedavi uygulandığını ve hastalığın görülme sıklığının 2-4/100000 oranında değiştiğini saptamışlardır (37). Erzurum'da 1999-2004 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 111 vakaya histopatolojik olarak KE tanısı konmuştur (38).

Ege Bölgesi'nde; bazı illerin hastane ve İl Sağlık Müdürlüğü kayıtlarının esas alındığı bir çalışmaya göre, 2001-2005 yılları arasında 2101 hastaya KE tanısı konmuştur (39). Altıntaş ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada; İzmir ve çevresindeki insanlardan alınan toplam 2055 kan örneğinde %3.45 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir (40). Özkol ve ark.'nın yaptığı başka bir çalışmada ise; seropozitiflik oranı ELISA ile %8.9, IHA testiyle %10.1 olarak tespit edilmiştir (41).

Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde 8 ili içine alan çalışmada 2001-2005 yılları arasında 837 olguya KE tanısı konulmuştur (42). Diyarbakır Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde ve Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde histopatolojik olarak 234 olguya KE tanısının konduğu bildirilmiştir (43).

Yurdumuzda hayvanlarda yapılan çalışmalarda: Kırıkkale'de sığırlarda %14.16; Bursa'da köpeklerde %36, koyunlarda %30-50.7; Erzurum'da sığırlarda %46,

koyunlarda %71; Ankara'da köpeklerde %1-54.5, sığırlarda %9.4-18.6, keçilerde %1.6-9, koyunlarda %7.3-63.2, atlarda %0.78; Elazığ'da köpeklerde %3.33, koyunlarda %62.65; Van'da sığırlarda %19.4-37.8, koyunlarda %32.9-68.7, keçilerde %4.5-32.6; İstanbul'da mandalarda %22.3; Konya'da köpeklerde %28.3, sığırlarda %5.6-11.2, keçilerde %5.9-29.3, koyunlarda %51.9-79.6; İzmir'de köpeklerde %5.5, sığırlarda %56.5, koyunlarda %22.5; Kars'ta sığırlarda %24.7, koyunlarda %48.4, keçilerde %25.1, köpeklerde %40.5; Kayseri'de ise köpeklerde %24 oranında *E.granulosus* görüldüğü bildirilmiştir (44-48).

Malatya, Muş, Bingöl, Erzincan, Erzurum, Elazığ ve Kars illerinde sığırlarda KE seroprevalansının araştırıldığı çalışmada; ELISA yöntemiyle %63.3, IFA yöntemiyle %54.7 olduğu görülmüştür. Elazığ'da yapılan diğer çalışmada ise koyunlarda seroprevalansın ELISA ile %62, Western blot ile %66.4 olduğu görülmüştür (49, 50).

Mimioğlu kasaplık hayvanlarda yayılımın çeşitli çalışmalar sonucunda %40-50 arasında olduğunu belirtmiştir (51). Doğanay ise hayvan cinsine ve bölgelere göre değişmekle birlikte oranın %2-52.3 arasında olduğunu bildirmiştir (52).

2.2.3. *Echinococcus granulosus*'un Suşları

Suş; birden çok ayırt edici karakterleri ile farkları ortaya konulabilen tür grupları olarak tanımlanabilir. Suşlar arasındaki farkları nükleik asit sekansları arasındaki farklılıklar oluşturur. Bunun sonucunda; parazitin hayat döngüsünü, patojenitesini, konak spesifitesini, ilaçlara duyarlılığını, hastalığın epidemiyolojisini ve takip edilebilirliğini, parazitin gelişim hızını etkileyen karakterler ortaya çıkmaktadır. Parazitin kontrolü ve eradikasyon çalışmalarının sağlıklı bir şekilde ilerleyebilmesi için endemik bölgelerdeki dominant suşların bilinmesi önemlidir (53). *E. granulosus*'un günümüze kadar tanımlanmış on suşu bulunmaktadır.

2.2.3.1.Evcil Koyun Suşu (G1)

Evcil koyunlar *Echinococcus granulosus*'un en sık rastlanılan ara konaklarıdır. Dünyanın çeşitli bölgelerinde incelenen izolatların biyolojik, morfolojik ve nükleik asit temelli yöntemlerle incelenmesi ile bu suşun sadece koyunlara yerleşmediği belirlenmiştir. Bu suş keçi, sığır, yak, domuz, buffalo gibi birçok hayvanda enfeksiyona neden olmaktadır. Yapılan cerrahi operasyonlarda elde edilen metasestod materyalinin incelenmesi sonucunda insanlarda en sık rastlanılan suşun koyun suşu olduğu belirlenmiştir (9, 11).

2.2.3.2. Tazmanya Koyun Suşu (G2)

Son yıllarda yapılan moleküler çalışmalar sonucu Tazmanya Adasında çalışılan koyun izolatlarının Avustralya ve diğer kıtalardaki izolatlardan farklı olduğu ortaya konulmuştur. Evcil koyun suşunda son konakta enfeksiyonu takiben yumurta atılışının 45. günde olmasına karşın Tazmanya koyun suşunda bu sürenin 39. gün olduğu ortaya konulmuştur. Mitokondriyal Cyclooxygenase (COX-1) gen bölgesi üzerinde yapılan çalışmalarda bu suşun Romanya, Hindistan ve Arjantin'de de görüldüğü tespit edilmiştir (9, 11, 53-57)

2.2.3.3. Manda Suşu (G3)

E.granulosus'un Asya'da öncelikli ara konakları mandalardır. Bu suşu erişkinlerini diğerlerinden farklı kılan morfolojik özelliği; gebe proglottidlerde iki bölme görülmesidir. Günümüzde DNA-PCR (RAPD-PCR) ve DNA sekans analizi gibi moleküler tekniklerle suş ayrımı yapılabilmektedir (9, 58-61).

2.2.3.4. At Suşu (G4)

At ve koyunlar üzerinde yapılan çalışmalarda iki ara konak grubundan elde edilen parazitlerin rostellar çengel yapıları ve erkek genital organlarının anatomileri arasında bariz farklılıkların olduğu ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca koyun kökenli *E. granulosus* enfeksiyonlarına atların dirençli olduğu, at kökenli *E.granulosus* enfeksiyonunda ise koyunlarda sınırlı bir metasestod gelişimi olduğu belirtilmiştir. Kızıl tilkilerin de son

konak olabileceği iddia edilse de bu suşun bilinen tek son konağı köpeklerdir. Nükleer, mitokondriyal ve ribozomal sekans çalışmaları sonucunda at suşunun *E.equinus* adıyla sınıflandırmadaki yerini almasına yönelik öneriler getirilmiştir (9, 11, 62-66).

2.2.3.5. Sığır Suşu (G5)

Sığır suşunun ara konaklarının genellikle sığırlar ve nadiren de insanlar olduğu bildirilmiştir. Prepatent sürelerine bakıldığında; diğer suşlarda 40-48 gün olan sürenin bu suшта 33-35 gün olduğu görülmüştür. Deneysel olarak kullanılan domuz, koyun ve sığır yavrularıyla yapılan enfeksiyon çalışmalarında oral yolla canlı yumurtalar verilmiş ve enfekte organlarda 3 mm çapında olan veziküller gözlenmiştir (9, 11, 65, 67-71).

2.2.3.6. Deve Suşu (G6)

Bu suşun son konağı köpekler, ara konakları ise deve, keçi ve sığırlardır. Afrika develeri üzerinde yapılan çalışmalarda bu suşun morfolojik olarak sığır suşu ile benzerlikler gösterdiği belirtilmiştir. Kenya, Somali ve Sudan'dan elde edilen izolatların moleküler tekniklerle çalışılmasından sonra suşun domuz suşu ile benzer olduğu saptanmıştır. Develerde görülen akciğerde hidatik kistlerinin %90'dan fazlasının fertil olduğu belirlenmiştir. Bu suşun insan enfeksiyonuna da neden olduğu bildirilmiştir (61, 62, 67, 68, 72-78).

2.2.3.7. Domuz Suşu (G7)

Domuz suşunun insanı enfekte etme oranının düşük olduğu bilinmektedir. Suşun son konaklarının; köpek, gümüş tilkiler ve vahşi karnivorlar olabileceği bildirilmiştir. Bu suş daha çok Çek Cumhuriyeti, Macaristan, Polonya ve Bulgaristan'da yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda prepatent sürenin 34 gün olduğu da belirlenmiştir (9, 68, 79-82).

2.2.3.8. Geyik Suşu (G8)

Koyun, keçi ve mandalarda enfeksiyona neden olmadığı bilinen geyik suşunun, Avrupa ve Kuzey Amerika'daki enfeksiyon zinciri; kurtlar ile büyük geyik türlerinden ren geyiği ve Kanada geyiği arasında geçmektedir (83-86).

2.2.3.9. İnsan Suşu (G9)

Yapılan bir çalışmada; kist materyali PCR-RFLP ve DNA dizileme teknikleriyle incelenmiş ve etkenin G7 suşuna çok yakın olmasına rağmen farklı bir suş olduğu kanaatine varılarak G9 suşu olarak isimlendirilmiştir (87).

2.2.3.10. Fennoscandian Geyik Suşu (G10)

Yapılan bir çalışmada: Amerikan geyiği ve dört ren geyiğinden alınan kist materyallerinin incelenmesi ile; Finlandiya'daki geyik suşunun Amerikan geyik suşundan farklı olduğu ve diğer suşlara da benzemediği için farklı bir suş olduğuna karar verilmiş ve G10 suşu olarak isimlendirilmiştir (9, 88, 89).

2.2.4. *Echinococcus granulosus* Suşlarının Ayrımında Kullanılan Yöntemler

Echinococcus granulosus suşları arasında yapılan tiplendirme çalışmalarında; morfolojik, biyolojik, biyokimyasal, epidemiyolojik ve moleküler teknikler gibi birçok seçenek değerlendirilmektedir (9, 14, 62, 72, 90).

2.2.4.1. *Echinococcus granulosus* Suş Ayrımında Kullanılan Moleküler Yöntemler

2.2.4.1.1. Polymerase Chain Reaction (PCR)

Hedef *E.granulosus* DNA veya RNA'sının cins veya tür spesifik kısa zincirli oligonükleotid primerler yardımıyla enzimatik olarak çoğaltılması işlemidir. Denatürasyon, primerlerin bağlanması (annealing) ve amplifikasyon (extension) aşamalarından oluşmaktadır. İlk amplifikasyon aşamasının 25-30 kez tekrarlanması sonucunda hedef genin milyonlarca kopyası meydana gelmektedir. Yöntem sonrası elde edilen PCR ürünü agaroz jel veya poliakrilamid jel elektroforezi ile ayrıştırılmakta,

ethidium bromide ile boyanarak veya Southern blot analizi ile görünür hale getirilmektedir. Genellikle cins teşhisinde kullanılmakla birlikte; bazen PCR/semi nested PCR çalışmaları ile de tür ve suş ayrımında da kullanılmaktadır (68, 91).

2.2.4.1.2. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

Restriksiyon enzimleri (RE), DNA'nın spesifik bölümlerinden kesim yapma özelliğine sahip olan enzimlerdir. Bu işlem ile DNA'dan bir gen veya gen taşıyan bir bölüm çıkarılmaktadır. Agaroz jel elektroforezi sonucunda jelde görülen DNA bantlarının yeri ve sayısı kıyaslanarak cins veya tür ayrımı yapılabilmektedir (91).

2.2.4.1.3. PCR-RFLP

Genomik DNA'nın belirli bir bölgesinin cins veya tür spesifik primerler yardımıyla çoğaltılması ile elde edilen PCR ürününün restriksiyon enzimiyle belirli yerlerinden kesilmesi işlemidir. İşlem sonucunda ortaya çıkan ürün agaroz jel elektroforezde yürütülmektedir. Oluşan DNA bantlarının yerleri ve sayıları kıyaslanarak *Echinococcus* izolatlarının ayrımı yapılabilmektedir. PCR-RFLP ve DNA dizileme tekniklerinin beraber kullanılması ile parazitin suşları tanımlanır (69, 72, 78, 79, 81, 82, 87, 91-98).

2.2.4.1.4. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)-PCR

Bu yöntemde Guanin ve Sitozin (GS) bakımından zengin 9-10 bazlık kısa primerler kullanılarak kromozomlar üzerinde hem kendilerine özgü olan hem de özgü olmayan bölgelere bağlanmaları sağlanmaktadır. Agaroz jelde saptanabilen farklı sayı ve uzunluktaki bantların değerlendirilmesi sonucunda aynı bant profili sergileyen izolatların epidemiyolojik olarak ilişkili olduğu yorumu yapılmaktadır. Yapılan çalışmalarda yöntemin türlerin tiplendirilmesi için uygun olduğu; ancak diğer moleküler tekniklerle doğrulanması gerektiği ifade edilmiştir (70, 99-102).

2.2.4.1.5. PCR-Single Stranded Conformation Polimorphism (PCR-SSCP) Analizi

Tek iplikçikli DNA'nın şekil ve büyüklüğüne bağlı olarak değerlendirilmenin yapıldığı bir yöntemdir. Jeldeki elektroforetik göç sırasında tek iplikçikli DNA sekonder ve tersiyer yapılar kazanmaktadır. Yöntemle DNA'nın yapısındaki tek bir baz farklılığı bile oluşan şekil ve hareket değişikliği ile belirlenebilmektedir. Bu yöntemle polimorfizmin çok olduğu gen bölgelerinin belirlenmesi, intraspesifik varyasyonların ortaya çıkarılması gerçekleştirilmektedir (103-108).

2.2.4.1.6. Dideoxy Fingerprinting (ddF)

Nükleik asitlerin jel elektroforezi boyunca kazandığı fiziksel özelliklerin incelendiği ve PCR ile çoğaltılan DNA bölümlerindeki sekans farklılıklarının belirlenmesinde kullanılan bir yöntemdir. Sekans uzunluğu 150-250 bp olan genlerdeki tek bir mutasyon bile %100 oranında belirlenmektedir (109).

2.2.4.1.7. DNA Baz Dizi Analizi (Sequencing)

Dizisi saptanacak DNA iplikçığının komplementlerinin sentezlenmesi esasına dayanan bir yöntemdir. Bu yöntemde deoksiribozun 3' pozisyonunda OH grubu taşımayan ddNTP'ler de substrat olarak kullanılmaktadır. Sentezlenen DNA iplikçığıne dNTP eklendiğinde uzama devam ederken ddNTP eklendiğinde uzama sonlanmaktadır. Son teknoloji sistemlerin çoğunda reaksiyon başlangıç aşamasında floresans veren madde ile işaretli primer veya nükleotidler kullanılarak baz dizilimi görülebilir hale getirilmektedir. Yöntemde her iki DNA zincirinin dizi analizi yapılarak, artefakt ve diğer faktörlere bağlı hatalar azaltılmalıdır (66, 79, 83, 96, 110, 111).

2.2.5. Kistik Ekinokokkosis

E. granulosus'un içi sıvı dolu, küresel ve uniloküler kistlerle karakterize larval formunun neden olduğu zoonotik bir enfeksiyondur. Kırsal alanlarda yaşayan nüfus, kentseldekilere nazaran daha yüksek risk grubunu oluşturmaktadır. Hastalığın oluşması ve yayılması aşamasında tanımlanan risk faktörleri arasında; çiftlik hayvanlarının

kontROLSÜZ kesimi, hijyenik olmayan şartlarda yaşama ve insanlara yakın olarak yaşayan kontROLSÜZ köpekler gösterilmektedir (112, 113).

Kistik ekinokokkozis, hastalarda hayat kalitesini azaltan ve ciddi sağlık sorunları oluşturan bir hastalıktır. Hastalığın %1-2 oranında fatal olduğu rapor edilmiştir (113, 114).

2.2.5.1. Klinik

Kistik ekinokokkoziste klinik belirtiler kistin boyutu, konumu ve durumuna göre değişebilmektedir. Enfeksiyon başlangıcı ile klinik belirti vermesi arasındaki süre genellikle birkaç yılı bulabilir. Oluşan kistlerin ortalama %60'ı karaciğer, %25'i akciğer lokalizasyonludur. Hastaların %20'sinde birden fazla bölgede tutulum vardır. Kistlerin rüptüre olma ihtimali vardır ve rüptüre olduğunda; ateş, pruritus, ürtiker, anafilaktik şok ve ölüm gözlenebilir. Bakterilerin kiste girmesi sonucu kiste piyojenik apse gelişebilir (115-117).

İntraabdominal yerleşimli kistlerin bulunduğu hastalarda karın ağrısı, ateş ve dispeptik şikayetler görülmektedir. Akciğer KE'li hastalarda öksürük, balgam çıkartma, göğüs ağrısı, solunum zorluğu, hemoptizi görülebilmektedir (118-123).

Böbrekte birikebilen antijen-antikor kompleksleri membranöz glomerülonefriti başlatabilir. Serebral kistler, artmış kafa içi basıncı ve fokal epilepsi tablosu oluşturabilir. Renal kistler bel ağrısı veya hematüri sebebi olabilir. Kemik kistleri patolojik kırıklar meydana gelinceye kadar genellikle semptom vermezler (113,114).

2.2.5.2. Tanı

Tanı; klinik bulgular yanında görüntüleme teknikleri, serolojik ve moleküler tekniklerle elde edilen verilerin değerlendirilmesi ile yapılmaktadır (115, 123).

2.2.5.2.1. Görüntüleme Yöntemleri

Yapılan çalışmalarda kesitsel görüntüleme yöntemleri olan bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans görüntüleme teknikleri en iyi görüntüleri sağlar. Konvansiyonel radyografi ve ultrasonografi (US) yöntemleri de beyin ve omurgadaki lezyonlar hariç tanı için yeterli görüntüleme yöntemi olabilir. Radyografi yöntemiyle akciğer kistleri saptanabilirken diğer bölgelerdeki kistlerin bu yöntemle saptanabilmesi için kistin kalsifiye olması gereklidir. Akciğerde; lezyonlar hafif düzensiz, kalsifikasyonsuz uniform dansiteli yuvarlak kitle olarak karakterizedir. Karaciğer lezyonlarının yarısı düz, kalsifik bir kenar oluşturur. Bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ve subdiafragmatik yerleşim, komplike kistler (apse, kistobiliar fistül) ve cerrahi öncesi değerlendirmeye yardımcı olur (113, 115, 124).

2.2.5.2.2. Serolojik Yöntemler

Antikor arama testleri; cerrahi veya tıbbi tedavi sonrası hasta takibinde, hastanın immun cevabını tam olarak gösterememesine rağmen olası radyolojik tanıyı doğrulamada kullanılır. Kistin yerleşimi dikkate alınmadan, serolojik testlerin duyarlılığı kist içindeki ekinokokkal antijenlerin toplanma derecesi ile ters orantılıdır. ELISA, IHA, lateks aglütinasyon, immunblot ve immunfloresans testleri en çok kullanılan yöntemlerdir (125, 126). Endemik bölgelerde yapılacak kitle taramalarında daha çok US ve serolojik yöntemler kullanılır (41, 127).

2.2.5.2.3. Moleküler Yöntemler

PCR analizi; tavsiye edilmese de eğer şüpheli KE'li hastasından ince iğne biyopsi yapılmış ise alınan materyalde parazitin DNA'sının varlığının tespitinde kullanılmaktadır (115).

2.2.5.3. Tedavi

1980 yılına kadar cerrahinin tek seçenek olarak sunulduğu hastalıkta, benzimidazol bileşikleri ile kemoterapi ve daha sonraki yıllarda kullanılan bir yöntem olan “puncture-aspiration-injection-reaspiration” (PAIR) yöntemi de tedaviye eklenmiştir (126).

2.2.5.3.1. Cerrahi

Büyük karaciğer kistleri (>10 cm çapında), beyin, akciğer ve böbreklerde önemli derecede kitle etkisi yapan kistler için cerrahi en radikal tedavi yöntemidir. Belli başlı cerrahi yöntemler; parsiyel hepatektomi, açık kistektomi, palyatif perikistektomidir (125, 126).

Protoskolekslerin inaktivasyonu amacıyla operasyon sırasında kistlerin içine hipertonic tuzlu su (%3,15-30), setrimid solüsyonu (%0,5), gümüş nitrat (%0,5), povidon iyot veya etanolün (%70-95) enjekte edilmesi önerilir. Enjeksiyondan yarım saat sonra kitle tamamen alınır. Yine kız kistlerin ve protoskolekslerin yayılma ihtimaline karşılık antihelmintik ajan ile hasta preoperatif olarak tedavi edilir (117, 125, 128).

Operasyonun yeterli imkanlar altında yapılamaması, kistin eksik olarak çıkarılması ve önceden saptanamayan kistlerin varlığı rekürrens ihtimalini arttırmaktadır. Operatif mortalite %0,5-4 arasında değişmektedir (27, 125).

2.2.5.3.2. Perkütan Tedavi

2.2.5.3.2.1. PAIR

Ponksiyon, aspirasyon, enjeksiyon, reaspirasyon yöntemi; multipl kistleri olan hastalarda, cerrahi reddeden hastalarda, hamilelerde cerrahi sonrası relaps gelişen hastalarda ve tek başına benzimidazole cevap vermeyen hastalarda perkütan olarak uygulanan bir yöntemdir (127, 129, 130).

Yöntemin aşamaları; ultrasonografi yardımıyla kistin perkütan delinmesi, kist içindeki sıvının aspire edilmesi, protoskolisidal madde (%95 etanol, %0,5 setrimid, %15 hipertonic tuzlu su vs.) enjekte edilmesi, 20-30 dakika beklendikten sonra kist içeriğinin tekrar aspire edilmesi şeklindedir (131, 132).

İnaktif ve kalsifiye lezyon varlığında, kalp, beyin, spinal bölge yerleşimli kistlerde, karaciğerin riskli bölgesinde bulunan kistlerde, abdominal kavite, bronşlar ve idrar yollarına açılan kistlerde PAIR önerilmez (129).

2.2.5.3.2.2.Kateterizasyon (Hipertonik Salin ve Alkol)

Kist çapının 6 cm'den buyk, safra sızıntısı ve bilier fistül olduğu durumlarda daha güvenli drenaj ve skleroz sağlamak maksadıyla bu yöntem seçilir (130).

2.2.5.3.2.3.Modifiye Kateterizasyon Teknikleri (PEVAC veya MoCaT)

Daha çok, komplike kistlerde (Bazı Tip III ve IV) kullanılan bu yöntemde; kalın kateter yardımı ile kist içeriği boőaltılır ve sonrasındaki diğer iőlemler kateterizasyon yöntemindeki gibi tekrarlanır (130).

2.2.5.3.3. Kemoterapi

Tedavide kullanılan kemoterapotiklerin baőında benzimidazol bileşikleri (albendazol ve mebendazol) gelmektedir. Cerrahi ve PAIR sonrası rekürrensi önlemek maksadıyla da kullanılabilmektedir (127).

Benzamidazollere cevap beyin, kemik ve göz yerleşimli kistlerde yetersizken; karaciğer ve akciğer kistlerinde daha iyidir. Albendazol ile tedavi (10 mg/kg, günde iki kez) sonunda; kistlerin %48'inin kaybolabildiği veya boyutlarında %24 oranında küçülme olduğu belirlenmiştir. Toksikolojik verilerin sınırlı olması sebebiyle albendazol 3-6 kez dört haftalık döngüler veya 14 günlük aralıklarla uygulanmalıdır. Beklenen yan etkileri; bulantı, hepatotoksisite, ntropeni ve bazen alopesidir. Bu nedenle hastaların karaciğer fonksiyon testleri ve lökosit sayısı düzenli olarak takip edilir (27, 125, 133).

Mebendazol (günde 40-50 mg/kg, e bölünmüő dozlarda) albendazole göre daha az etkilidir. Bunun sebebi ilacın intestinal absorbsiyonunun ve kist içine penetrasyonunun diğerine göre daha az olmasındandır (27, 133).

2.2.5.4. Korunma ve Kontrol

Kistik ekinokokkozisten korunmanın en temel őartı, hijyen kurallarına dikkat etmektir. Kişisel ve toplumsal yönden alınabilecek tedbirlerle hastalığın prevalansı azaltılabilir. Alınabilecek tedbirlerden baőlıcaları; sağlık eğitimi, köpeklerin rutin antihelmintik ilaçlar ile tedavisi ve takibi, sokak köpeği popülasyonunun kontrolü, kesimhanelerin

denetimi ve kasaplık hayvanların yetiştirildikleri ortamların düzenlenmesi şeklindedir (20).

2.2.5.4.1. Kontrol Programları

Bu programlar dört ana başlık altında sürdürülür; planlama, girişim, güçlendirme ve eradikasyon. Girişim evresinde; risk altındaki tüm konak türleri için kontrol önlemleri uygulanır. Güçlendirme evresinde; riskli alanlara yasal düzenleme ile kontrol önlemleri uygulanır. Eradikasyon evresinde; et denetim hizmetleri ve kaçak ve sağlıksız et girişlerini önlemek adına sınır denetimleri sıklaştırılır. Bu kontrol çalışmalarında bazen bir ülkenin çalışmaları yetersiz kalabilir. Yapılan örnek çalışmalarda birkaç ülkenin beraber ortak hareket ettiği ve sonuçta konuya yönelik ortak politikalarla eradikasyon çalışmalarında başarıya ulaşıldıkları görülmüştür (27, 112, 125, 134, 135).

2.2.5.4.1.1.Kesin Konaklarda Kontrol

Köpeklerin enfeksiyon zincirinde önemli bir konumda oldukları düşünüldüğünde, bu son konaklarla ilgili alınacak tedbirlerle hastalıkla mücadelede önemli yol alınabilmektedir. Sokak köpeklerinin kayıtlı hale getirilmeleri ve uygun barınaklarda tutulmaları ve köpek sahipliğinin özendirilmesi bu noktada son derece önemlidir (136).

Köpeklere uygulanan kitle tedavilerinde arekolin hibrobromid veya praziquantel kullanılmaktadır. Parazitin prepatent süresinin altı hafta olduğu düşünülürse önerilen tedavi aralığı da bu süreyi içine almalıdır. Bu sürenin üç ay olması halinde 10-15 yıl içinde köpeklerde ve çiftlik hayvanlarında prevalansın %1'in altına indiğini gösteren çalışmalar yapılmıştır (20, 112, 136, 137).

2.2.5.4.1.2. Ara Konaklarda Kontrol

Ara konaklardaki kontrolde; kasaplık hayvanların kesimlerinin uygun koşullarda ve veteriner hekim kontrolünde yapılması ve kesim sonrası kistli organların yok edilmesi çok önemlidir (136).

Hastalığın kontrolü ve önlenmesi aşamalarında aşı çalışmaları da hız kazanmıştır. Parazitin insanlara geçişini en aza indirmek ve hastalığın kontrolü için; geliştirilmiş olan ve sınırlı da olsa bir etkinliğinin olduğu ispatlanmış ekinokok aşısı ile koyunların yaygın olarak aşılınması yanında köpeklerin de proflaktik tedaviye alınması ve bu iki aşamanın beraber sürdürülmesi önemli bir kontrol politikasıdır (20).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMA PLANI

1. Örneklerin toplanması.
2. Direkt mikroskopik inceleme ve değerlendirme.
3. Genomik DNA izolasyonu.
4. Mitokondriyal COX-1 (L) gen bölgesi kullanılarak PCR yönteminin uygulanması.
5. Mitokondriyal COX-1 (S) gen bölgesi kullanılarak PCR yönteminin uygulanması.
6. Mitokondriyal COX-1 (L) ve COX-1 (S) gen bölgelerinin dizi analizlerinin yapılması.

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

1. Işık mikroskobu (Olympus CH30/Japonya)
2. Hassas terazi (Precisa 404 M SCS/Avustralya)
3. Santrifüj cihazı (Nüve/Türkiye)
4. Isı bloğu (Benchmark/ABD)
5. Vorteks cihazı (Nüve NM 110/Türkiye)
6. Mikrosantrifüj cihazı (Grant-bio/İngiltere)
7. Mikrodalga fırın (Arçelik/Türkiye)
8. Yatay elektroforez cihazı (Bio-Rad/ABD)
9. Derin dondurucu ve Soğutucu (Siemens/Almanya)
10. Termal döngü cihazı (PCR) (Sensoquest/Almanya)
11. Çalkalamalı benmari (Selecta/İspanya)
12. Güç kaynağı (Bio-Rad/ABD)
13. Etüv (Nüve/Türkiye)

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

-%70'lik Etil alkol: Etil alkol absolut (Sigma, ABD) / distile su oranı 100 ml/40 ml olacak şekilde hazırlandı.

-Proteinaz K Solusyonu (QIAGEN,Almanya): Bu solüsyondan 20mg/ml olacak şekilde DNA izolasyonunda 20µl kullanıldı.

-Taq PCR Master Mix (BIOMATİK/Kanada): Bu solüsyon 1,25U/ml olacak şekilde PCR karışımlarında 12,5µl miktarında kullanıldı.

-Agaroz LE (Lonza/Amerika): Agaroz jel 1×TAE ile hazırlandı.

-100 bç DNA Ladder (BIOMATİK/Kanada): Her elektroforez aşamasında 10µl kullanıldı.

-Etidyum bromid (Merck/Almanya): Agaroz jeli boyamak için 60ml 1×TAE solusyonuna 5µl katılarak kullanıldı.

3.2. ÖRNEKLERİN TOPLANMASI

01.05.2013 ile 31.08.2014 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve Sağlık Bakanlığı Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde KE tanısı ile opere edilen hastaların parazitolojik inceleme için gönderilen hidatik kist materyalleri çalışmaya alındı. Aynı zamanda Kayseri'de faaliyet gösteren bazı kesimhanelerde ve Bitlis ili Tatvan ilçesinde kesimi yapılan kasaplık hayvanların (iki koyun) hidatik kist materyalleri de çalışmaya dahil edildi. Toplamda; 25 insan, 8 sığır, 6 koyun ve 2 keçiden elde edilen kist materyali incelemeye alınmıştır. Hayvan ve insanlardan steril şartlarda elde edilen kist sıvısı ve kist membranları fertilite açısından mikroskopik incelemeye alındı. Bu amaçla: kist sıvıları 2000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilip pellet kısmından lam-lamel arası preparat hazırlanarak ışık mikroskopunda X100 büyütmede protoskoleks veya çengel olup olmaması açısından incelendi. Aynı işlem germinal membran ile de yapıldı. Membranın ince kesitleri alınarak lam-lamel arası preparat ile ışık mikroskopunda incelendi. Protoskoleks veya çengel görülen örnekler fertil kist olarak değerlendirildi. Hem kist sıvıları hem de membran örnekleri ayrı ayrı olacak şekilde %70'lik etil alkol içeren tüplere konulup çalışma yapılacağı zamana kadar -20 °C'de saklandı.

3.3. GENOMİK DNA İZOLASYONU

Fertil kistlerden DNA izolasyonunun daha kolay ve etkili olduğunun bilinmesine rağmen örnek bulmadaki güçlükten dolayı çalışmada, bütün kist sıvıları ve germinal membran örnekleri kullanıldı.

3.3.1. Yöntem ve Değerlendirme

-20°C’de saklanan materyallerin oda sıcaklığında çözünmeleri beklendikten sonra QIAamp Tissue Kit (QIAGEN, Almanya) ile kit üreticisinin önerileri doğrultusunda DNA’lar izole edildi. Bu amaçla:

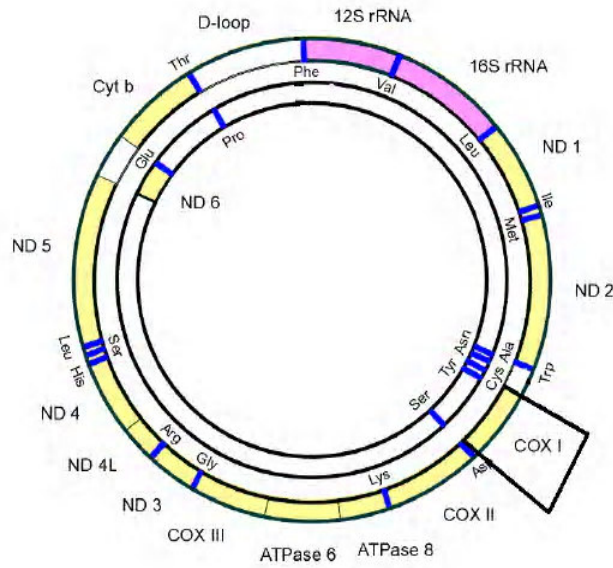
1. 25µg doku ya da 200µl kist sıvısı 1,5ml’lik mikrosantrifüj tüpüne aktarılıp üzerine 180µl buffer ATL eklendi.
2. 20µl proteinaz K eklenip 56°C’de su banyosunda dokular eriyene kadar bir gece bekletildi.
3. İnkübasyon sonunda örnekler 15 sn vortekslenerek üzerlerine 200µl buffer AL eklenip vortekslendi. Daha sonra 200µl saf etanol (Sigma, ABD) eklenip tekrar vortekslendi.
4. Mikrosantrifüj içindeki karışım toplama tüpü içindeki Dneasy Mini spin kolonuna aktarılıp 8000rpm’de bir dakika santrifüj edildi.
5. Toplama tüpü atıldı. Dneasy Mini spin kolonu yeni bir toplama tüpüne yerleştirilip üzerine 500µl buffer AW1 eklendi ve 8000rpm’de bir dakika santrifüj edildi.
6. Toplama tüpü atıldı. Dneasy Mini spin kolonu yeni bir toplama tüpüne yerleştirilip üzerine 500µl buffer AW2 eklendi ve 14000rpm’de üç dakika santrifüj edildi.
7. Toplama tüpü atıldı. Dneasy Mini spin kolonu yeni bir toplama tüpüne yerleştirilip üzerine 100µl buffer AE eklendi ve oda sıcaklığında beş dakika beklendikten sonra 8000rpm’de bir dakika santrifüj edildi.

8. 7. aşama tekrar edildi. Mikrosantrifüj tüpünde kalan materyal DNA eldemiz olarak kabul edilip DNA miktarı spektrofotometrede ölçüldü.

9. Genomik DNA çalışmada kullanılıncaya kadar -20°C’de saklandı.

Tablo 3.1. *Echinococcus granulosus* izolatlarının PCR analizinde ve tiplendirilmesinde kullanılan primerler (62, 138).

Primer	Gen bölgesi	Nükleotid dizisi
COX-1 (L)-F	COX-1	(5'-TTGAATTTGCCACGTTGAATGC 3')
COX-1 (L)-R	COX-1	(5'-GAACCTAACGACATAACATAATGA-3')
COX-1 (S)-F	COX-1	(5'-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3')
COX-1 (S)-R	COX-1	(5'-TAAAGAAAG AC ATAATGAAAATG -3')



Şekil 3.1. Mitokondriyal COX-1 gen bölgesi

(<http://www.rzuser.uniheidelberg.de/~bu6/Introduction11.html>) (139).

3.4. MİTOKONDRIYAL SİTOKROM C OKSİDAZ SUBÜNİT 1 (L) GEN BÖLGESİ KULLANILARAK PCR YÖNTEMİNİN UYGULANMASI

Toplam 50µl'lik hacimde hazırlanan PCR karışımına 25µl 2X Taq PCR Master Mix (BIOMATİK, Kanada), COX-1 (L) F ve COX-1 (L) R primerlerinin her birinden 20 pmol ve 1µl, 200 ng örnek DNA'dan ise 1µl olacak şekilde ilave edildi. PCR amplifikasyonunda 94 °C'de 10 dk. ön denatürasyon aşamasını takiben, toplam 35 PCR siklusu 94 °C'de 30sn denatürasyon, 52 °C'de 45sn annealing, 72 °C'de bir dk. sentez olarak gerçekleştirildi. Son siklusu takiben 72 °C'de 7 dk. son uzama işlemi yapıldı. Polimeraz zincir reaksiyonu Sensoquest (Almanya) cihazında gerçekleştirildi. PCR işleminde elde edilen ürünler agaroz jel elektroforeze tabi tutuldu. Bu amaçla %1,5'lik agaroz jel hazırlandıktan sonra 10µl PCR ürünü jeldeki kuyucuklara yüklendi. Elektroforez işlemi Tris-Asetat (TAE) tampon solüsyonu kullanılarak jel tankında 100 voltta 45dk süreyle gerçekleştirildi. Bantların moleküler ağırlıklarını belirlemek için 100 bp'lik marker (BIOMATİK, Kanada) kullanıldı. PCR uygulamalarında pozitif

kontrol olarak daha önce DNA dizi analizi yapılarak koyun suşu olduğu belirlenen koyun izolatının DNA'sı, negatif kontrol olarak ise örnek DNA içermeyen PCR ürünü kullanıldı.

3.5. MİTOKONDRIYAL SİTOKROM C OKSİDAZ SUBUNIT 1 (S) GEN BÖLGESİ KULLANILARAK PCR YÖNTEMİNİN UYGULANMASI

Toplam 50µl'lik hacimde hazırlanan PCR karışımına 25µl 2X Taq PCR Master Mix (BIOMATİK, Kanada), COX-1 (S) F ve COX-1 (S) R primerlerinin her birinden 20 pmol ve 1µl, 200 ng örnek DNA'dan ise 1µl olacak şekilde ilave edildi. PCR amplifikasyonunda 95°C'de 10 dk ön denatürasyon aşamasını takiben, toplam 35 PCR siklusu 94 °C'de 30sn denatürasyon, 52 °C'de 40sn annealing, 72 °C'de 45sn sentez olarak gerçekleştirildi. Son siklusu takiben 72 °C'de 7 dk. son uzama işlemi yapıldı. PCR, Sensoquest (Almanya) cihazında gerçekleştirildi. PCR işleminde elde edilen ürünler agaroz jel elektroforeze tabi tutuldu. Bu amaçla %1,5'lik agaroz jel hazırlandıktan sonra 10µl PCR ürünü jeldeki kuyucuklara yüklendi. Elektroforez işlemi Tris-Asetat (TAE) tampon solüsyonu kullanılarak jel tankında 100 voltta 45 dk. süreyle gerçekleştirildi. Bantların moleküler ağırlıklarını belirlemek için 100bp'lik marker (BIOMATİK, Kanada) kullanıldı. PCR uygulamalarında pozitif kontrol olarak daha önce DNA dizi analizi yapılarak koyun suşu olduğu belirlenen koyun izolatının DNA'sı, negatif kontrol olarak ise örnek DNA içermeyen PCR ürünü kullanıldı.

3.6. DNA DİZİ ANALİZİ

Çalışmada kullanılan 41 örneğin tamamı mitokondriyal COX-1 (L) ve COX-1 (S) gen bölgeleri çoğaltıldı. Elde edilen izolatların hepsinin COX-1 (L) ve COX-1 (S) gen ürünleri LİGAND (İzmir, Türkiye) ve BmLab (Ankara, Türkiye) firmalarına gönderilerek çift yönlü DNA dizi analizleri yaptırılmıştır. DNA dizi analizleri işlemleri öncesinde izolatların hepsinin COX-1 (L) ve COX-1 (S) gen ürünleri firmalar tarafından saflaştırıldı.

Çalışmada elde edilen 41 izolatın dizi analizi sonuçları GenBank'tan elde edilen standart genotiplerle MEGA version 5 programında, Neighbour-Joining yöntemi

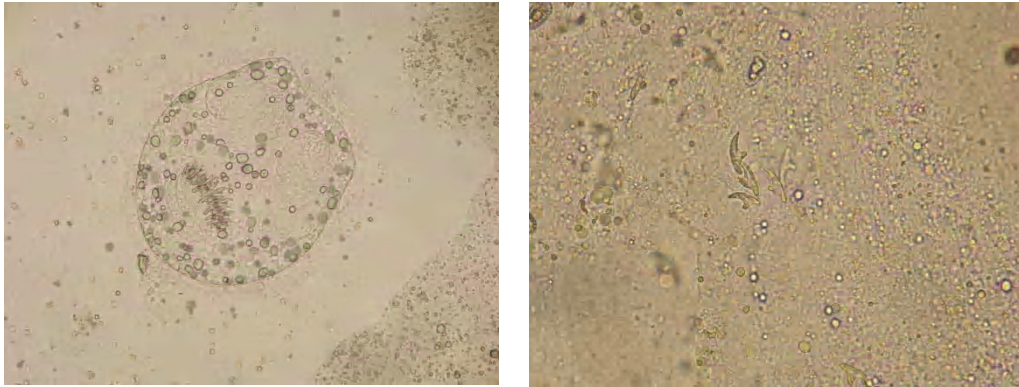
kullanılarak karşılaştırılmıştır. Genbank'tan elde edilen standart genotiplerle örneklerimizin DNA dizileri karşılaştırılmış ve standart örneklerle uyumluluğuna göre suş tayini yapılmıştır.

4.BULGULAR

Çalışmada; 25'i insan, 16'sı hayvan izolatu olmak üzere toplam 41 adet hidatik kist materyali örneği incelemeye alınmıştır. DNA ekstraksiyonu için; protoskoleks pozitif bulunan kist sıvıları direkt, protoskoleks negatif bulunanların ise kist sıvısı yerine germinal membranları kullanılmıştır. Bütün örneklerin mitokondriyal COX-1 (L) ve COX-1 (S) gen bölgelerinin DNA dizileri belirlenmiştir.

4.1. DİREKT MİKROSKOBİK İNCELEME

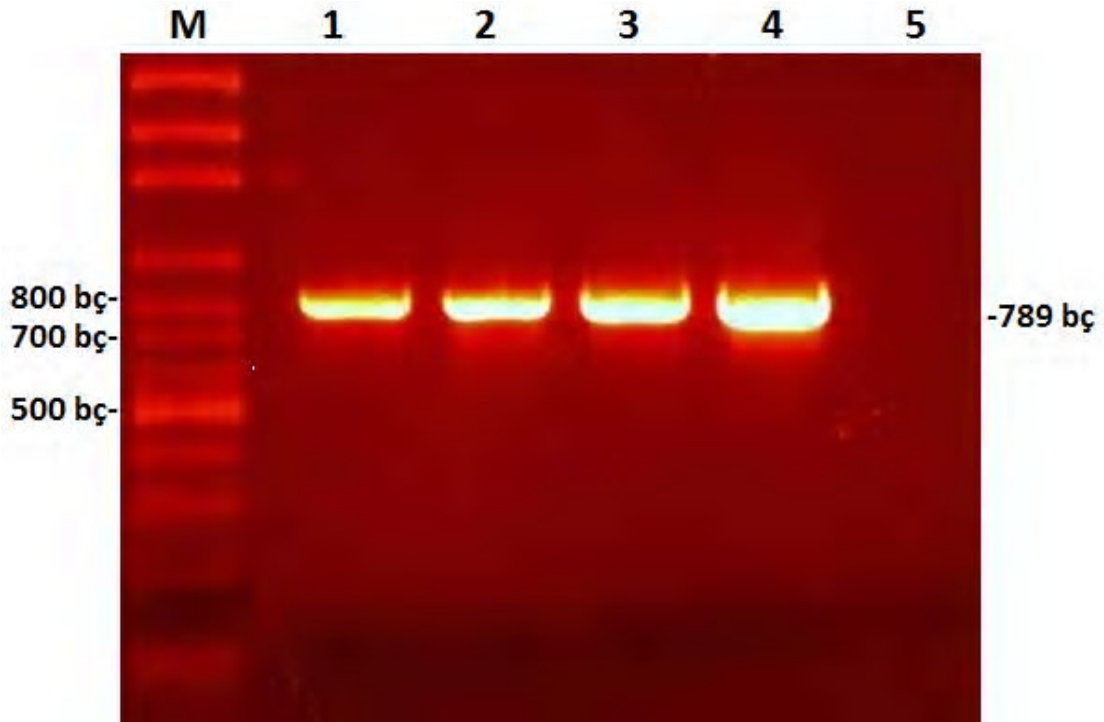
Çalışmaya dahil edilen 41 izolatu mikroskopik incelemesi sonucunda 10 insan, 2 koyun ve 2 sığır izolatında protoskoleks ve/veya çengel yapıları görülmüştür (**Şekil 4.1**).



Şekil 4.1. Çalışmada incelenen sığır kist sıvısı örneğinde görülen protoskoleks ve çengeller (×100)

4.2. MİTOKONDRIYAL COX-1 (L) PCR BULGULARI

Çalışmada protoskoleks ve germinal membranlardan elde edilen genomik DNA'ların parazitin mitokondriyal COX-1 (L) gen bölgesini çoğaltan COX-1 (L) F ve COX-1 (L) R primerleriyle PCR amplifikasyonu yapılmıştır. Amplifikasyon sonucunda 41 örneğin tamamında 789 bp büyüklüğünde bant elde edilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. *Echinococcus granulosus*'un insan, sığır, koyun izolatlarının mitokondriyal COX-1 (L) bölgesinin PCR ile çoğaltılması sonucunda oluşan 789 bp'lik bant M: 100 bp DNA marker (BIOMATİK/KANADA), 1: İnsan izolatı, 2: Sığır izolatı, 3: Koyun izolatı, 4: Pozitif kontrol, 5: Negatif kontrol,

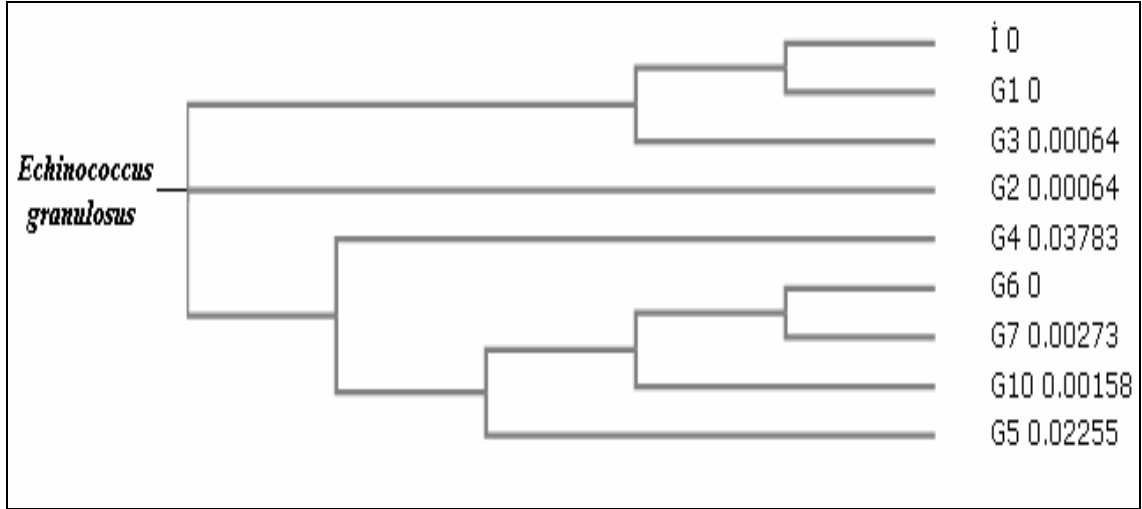
4.3. MİTOKONDRIYAL COX-1 (L) GENİNİN ÇİFT YÖNLÜ DNA DİZİ ANALİZİ SONUÇLARI

Elde edilen veriler BLAST search ile (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) Genbank'a daha önce girilmiş sonuçlarla karşılaştırılması ile; Kayseri ve Bitlis (iki koyun izolatu) illerinden toplanan ve bu çalışmaya dahil edilen insan, sığır, koyun ve keçi izolatlarının hepsinin koyun suşu (G1) olduğu belirlenmiştir (**Şekil 4.3**), (**Şekil 4.4**).

Türler veya tür içindeki varyasyonların arasındaki yakınlık derecelerinin araştırıldığı çeşitli yöntemler vardır. Bizim çalışmamızda kullandığımız Neighbour-Joining yöntemi komşu birleştirme metodu da denilen türler veya varyasyonlar arasında tek bir soy ağacının oluşturulduğu yöntemdir

İnsan2	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan4	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan9	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
Keçi2	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan5	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan7	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
Siğir2	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
Koyun6	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
Keçi1	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
Koyun5	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
Koyun4	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
Koyun3	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
Koyun2	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
Koyun1	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
Siğir8	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
Siğir7	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
Siğir6	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
Siğir5	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
Siğir4	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
Siğir3	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
Siğir1	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan25	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan24	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan23	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan22	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan21	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan20	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan19	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan18	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan17	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan16	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan15	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan14	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan13	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan12	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan11	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan10	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan6	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan3	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan1	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780
İnsan8	CCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTGGTATAAATTAGTCATATTTGTTTGAGT	780

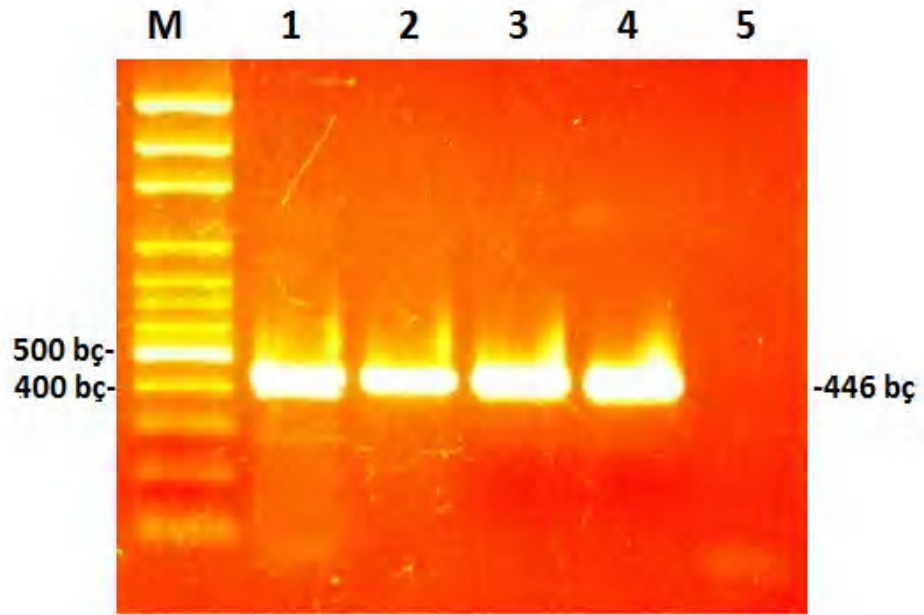
Şekil 4.3. Çalışmada incelenen bütün izolatların COX-1 (L) gen bölgelerinin karşılaştırmalı sekans sonuçları



Şekil 4.4. Çalışmada elde edilen izolatın ve referans dizilerin COX-1 (L) gen bölgelerinin Neighbour-Joining filogenetik ilişkisi

4.4. MİTOKONDRIYAL COX-1 (S) PCR BULGULARI

Çalışmada protoskoleks ve germinal membranlardan elde edilen genomik DNA'ların parazitin mitokondriyal COX-1 (S) gen bölgesini çoğaltan COX-1 (S) F ve COX-1 (S) R primerleriyle PCR amplifikasyonu yapılmıştır. Çalışma sonucunda 446 bp büyüklüğünde bant elde edilmiştir (**Şekil 4.5**).



Şekil 4.5. *Echinococcus granulosus*'un insan, sığır, koyun izolatlarının mitokondriyal COX-1 (S) bölgesinin PCR ile çoğaltılması sonucunda oluşan 446 bp'lik bant M: 100 bp DNA marker (BIOMATİK/KANADA), 1: İnsan izolatı, 2: Sığır izolatı, 3: Koyun izolatı, 4: Pozitif kontrol, 5: Negatif kontrol.

4.5. MİTOKONDRIYAL COX-1 (S) GENİNİN ÇİFT YÖNLÜ DNA DİZİ ANALİZİ SONUÇLARI

Elde edilen veriler BLAST search ile (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/)_Genbank'a daha önce girilmiş sonuçlarla karşılaştırılması ile; insan, sığır, koyun ve keçi izolatlarımızın hepsinin koyun suşu (G1) olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.6), (Şekil 4.7).

Siğir5	-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	59
Siğir7	-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	59
Siğir3	-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	59
İnsan25	TTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	60
İnsan24	TTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	60
İnsan21	TTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	60
İnsan19	TTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	60
İnsan15	TTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	60
İnsan14	TTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	60
İnsan12	TTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	60
İnsan10	TTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	60
İnsan6	TTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	60
İnsan4	TTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	60
İnsan2	TTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	60
İnsan8	TTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	60
İnsan22	TTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	60
Keçil	-----CCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	23
Keçi2	-----CCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	23
İnsan9	TTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	60
İnsan5	-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	59
Siğir2	-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	59
İnsan7	-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	59
Koyun3	TTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	60
Koyun6	TTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	60
Koyun1	TTTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	60
İnsan3	-----GTATAAATTAGTCA	13
Siğir1	-----GTATAAATTAGTCA	13
Siğir4	-----GTATAAATTAGTCA	13
Siğir6	-----GTATAAATTAGTCA	13
Siğir8	-----GTATAAATTAGTCA	13
Koyun5	TTTTTTTGGC-ATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	59
Koyun4	TTTTTTTGGC-ATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	59
Koyun2	TTTTTTTGGC-ATCCTGAGGTTTATGTGTTGATTTTGCCTGGATTTCGTATAAATTAGTCA	59
İnsan23	-----GCTATA-TTAGTCA	13
İnsan20	-----GCTATA-TTAGTCA	13
İnsan17	-----GCTATA-TTAGTCA	13
İnsan13	-----GCTATA-TTAGTCA	13
İnsan1	-----GCTATA-TTAGTCA	13
İnsan16	-----TGGTATA-TTAGTCA	14
İnsan11	-----ATA-TTAGTCA	10
İnsan18	-----ATA-TTAGTCA	10

*** *****

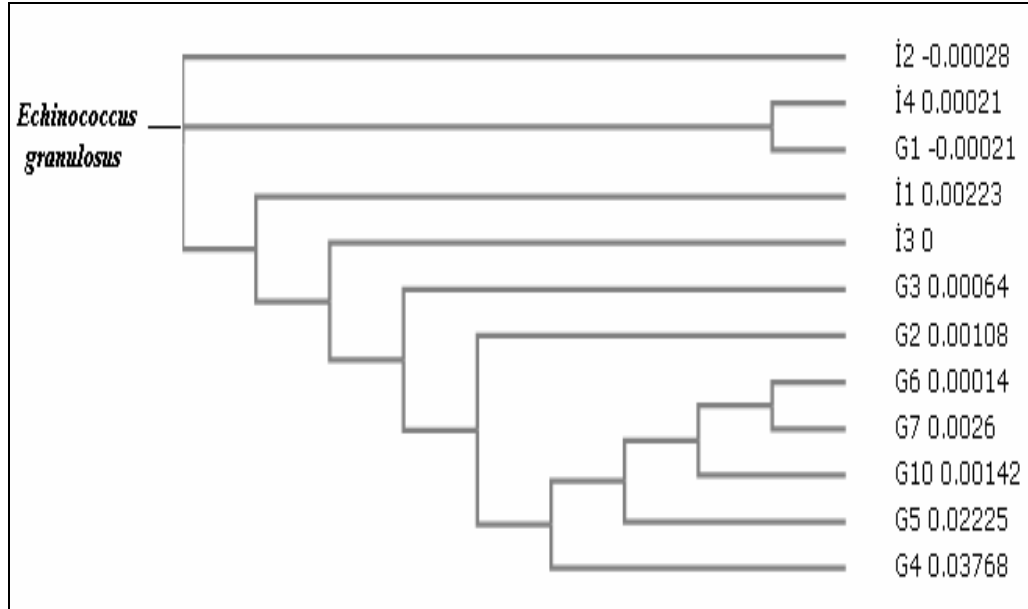
Siğir5	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 179
Siğir7	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 179
Siğir3	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 179
İnsan25	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 180
İnsan24	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 180
İnsan21	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 180
İnsan19	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 180
İnsan15	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 180
İnsan14	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 180
İnsan12	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 180
İnsan10	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 180
İnsan6	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 180
İnsan4	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 180
İnsan2	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 180
İnsan8	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 180
İnsan22	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 180
Reçil	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 143
Reçi2	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 143
İnsan9	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 180
İnsan5	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGTAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 179
Siğir2	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 179
İnsan7	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCACCATATGTTTACTGTTGG 179
Koyun3	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 180
Koyun6	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 180
Koyun1	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 180
İnsan3	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 133
Siğir1	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 133
Siğir4	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 133
Siğir6	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 133
Siğir8	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 133
Koyun5	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 179
Koyun4	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 179
Koyun2	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 179
İnsan23	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 133
İnsan20	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 133
İnsan17	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 133
İnsan13	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 133
İnsan1	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 133
İnsan16	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 134
İnsan11	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 130
İnsan18	TATGTTTTCTATAGTGTGTTTGGGTAGCAGGGTTTGGGGTCATCATATGTTTACTGTTGG 130

Siğır5	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 299
Siğır7	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 299
Siğır3	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 299
İnsan25	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 300
İnsan24	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 300
İnsan21	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 300
İnsan19	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 300
İnsan15	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 300
İnsan14	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 300
İnsan12	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 300
İnsan10	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 300
İnsan6	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 300
İnsan4	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 300
İnsan2	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 300
İnsan8	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 300
İnsan22	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 300
Keçi1	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 263
Keçi2	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 263
İnsan9	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 300
İnsan5	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 299
Siğır2	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 299
İnsan7	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 299
Koyun3	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 300
Koyun6	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 300
Koyun1	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 300
İnsan3	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 253
Siğır1	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 253
Siğır4	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 253
Siğır6	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 253
Siğır8	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 253
Koyun5	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 299
Koyun4	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 299
Koyun2	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 299
İnsan23	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 253
İnsan20	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 253
İnsan17	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 253
İnsan13	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 253
İnsan1	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 253
İnsan16	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 254
İnsan11	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 250
İnsan18	TGGTATAAAGGTGTTTACTTGGTTATATATGTTGTTGAATTCGAGTGTTAAATGTTAGTGA 250

Siğir5	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 419
Siğir7	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 419
Siğir3	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 419
İnsan25	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 420
İnsan24	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 420
İnsan21	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 420
İnsan19	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 420
İnsan15	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 420
İnsan14	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 420
İnsan12	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 420
İnsan10	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 420
İnsan6	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 420
İnsan4	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 420
İnsan2	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 420
İnsan8	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 420
İnsan22	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 420
Keçil	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGAT----- 366
Keçi2	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGAT----- 366
İnsan9	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 420
İnsan5	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 419
Siğir2	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 419
İnsan7	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 419
Koyun3	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 420
Koyun6	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 420
Koyun1	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 420
İnsan3	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 373
Siğir1	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 373
Siğir4	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 373
Siğir6	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 373
Siğir8	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 373
Koyun5	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 419
Koyun4	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 419
Koyun2	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 419
İnsan23	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 373
İnsan20	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 373
İnsan17	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 373
İnsan13	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 373
İnsan1	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 373
İnsan16	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 374
İnsan11	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 370
İnsan18	TATAGTTTTGCTGCTTGTGTGTTAGATAAATATTTTGCATGATACTTGGTTTGTGGTGGC 370

Siğir5	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	445
Siğir7	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	445
Siğir3	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	445
İnsan25	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	446
İnsan24	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	446
İnsan21	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	446
İnsan19	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	446
İnsan15	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	446
İnsan14	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	446
İnsan12	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	446
İnsan10	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	446
İnsan6	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	446
İnsan4	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	446
İnsan2	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	446
İnsan8	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	446
İnsan22	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	446
Keçil	-----	
Keçi2	-----	
İnsan9	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	447
İnsan5	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	444
Siğir2	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	444
İnsan7	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	445
Koyun3	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	446
Koyun6	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAAATT-----	448
Koyun1	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAAATT-----	448
İnsan3	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	399
Siğir1	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	399
Siğir4	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	399
Siğir6	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	399
Siğir8	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	399
Koyun5	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	445
Koyun4	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	445
Koyun2	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	445
İnsan23	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	399
İnsan20	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	399
İnsan17	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	399
İnsan13	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	399
İnsan1	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAA-----	399
İnsan16	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAAAGGTGGGG	407
İnsan11	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAAAGGCCGA	403
İnsan18	TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAAAGGCCGA	403

Şekil 4.6. Çalışmada incelenen bütün izolatların COX-1 (S) gen bölgelerinin karşılaştırmalı sekans sonuçları



Şekil 4.7. Çalışmada elde edilen izolatların ve referans dizilerin COX-1 (S) gen bölgelerinin Neighbour-Joining filogenetik ilişkisi

Tablo 4.1. Çalışmada kullanılan referans dizilerin ve örnek izolatımızın Genbank numaraları

Genotip	Genbank Numarası
G1	U50464
G2	M84662
G3	M84663
G4	M84664
G5	M84665
G6	M84666
G7	M84667
G10	AF525457
Erc	KT345956

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Echinococcus granulosus'un neden olduğu kistik ekinokokkozis, dünya genelinde yaygın ve önemli bir helmintozoonozdur. Hastalık insanlarda ciddi semptomlar oluşturmakla beraber bazen ölümcül olabilirken, ara konakların çeşitliliği düşünüldüğünde özellikle hayvanlarda çeşitli organ ve dokularda yapısal ve fonksiyonel bozukluklara sebep olmaktadır. Parazitin larval döneminin neden olduğu KE bu ara konaklarda ekonomik yönden de oldukça önemlidir. *Echinococcus* cinsi parazitler dünyada kozmopolit bir dağılım sergilemektedir (17, 20, 125).

Echinococcus granulosus'un sığır, koyun, keçi, geyik, deve, manda, tavşan, kanguru, domuz, at, eşek ve rastlantısal olarak da insan gibi çok sayıda memeli ara konağı vardır. Parazitin bu konaklarda bulunan farklı suşlarının etki dereceleri kendini, parazitin hayat döngüsü, konak spesifitesi, patojenitesi, hastalığın epidemiyolojisi, antijenitesi, bulaşma yolları, kontrol ve eradikasyon çalışmalarında göstermektedir. Özellikle endemik bölgelerde etkili kontrol ve eradikasyon çalışmalarının başlayabilmesi için bu bölgelerdeki baskın suş veya suşların belirlenmesi gerekmektedir. Günümüzde suşların ayırt edilmesinde çeşitli biyolojik ve morfolojik kriterler dikkate alınmakla beraber kesin çizgilerle birbirlerinden ayrılmaları noktasında moleküler yöntemlerin önemi de hızla artmaktadır (53, 67, 140).

Son yıllarda yapılan moleküler çalışmalar *E.granulosus*'un on farklı suşu olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bunlar; 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), domuz suşuna benzemekle beraber ondan genetik olarak ayrılan insan suşu (G9) ve Fennoscandian geyik suşu (G10) olarak tanımlanmıştır. Bunlardan G1, G2 ve G3'ün *E.granulosus sensu stricto*, G4'ün *E.equinus* ve G5'in *E.ortleppi* statüsünde değerlendirilmesi gerektiğini belirten yazarlar da vardır. Diğer türlerden *E.oligarthus* ve *E.vogeli* türlerinin farklı suşlarının olmadığı ve *E.multilocularis* suşları arası farklılığın *E.granulosus* suşları arasındaki farklılıktan on kat daha düşük olduğu ortaya çıkarılmıştır (10, 11, 53, 83, 87, 141).

Echinococcus cinsi içerisinde genetik farklılığı belirlemek adına PCR, RFLP, PCR-RFLP, RAPD- PCR, SSCP, ddF, prob hibridizasyon tekniği ve DNA dizileme gibi moleküler teknikler kullanılmaktadır (68, 69, 72, 83, 92, 97, 98, 102, 142, 143).

Bu yöntemler içerisinde uygulaması ve yorumlanması kolay olan yöntemlerden biri de PCR-RFLP yöntemidir. Kısa sürede sonuç alınabilmesi, laboratuvar çalışmaları ile tekrarlanabilir olması ve maliyetinin orta düzeyde olması avantajlarıdır (12).

Moleküler teknikler içinde en güvenilir olanı DNA dizileme tekniğidir. Mevcut şartlarda genotipik farklılığın ölçümünü ortaya çıkarabilecek başka bir tekniğin bulunmaması bu yöntemi standart yöntem konumuna getirmiştir. Genellikle her iki DNA zincirinin dizi analizi yapılarak doğabilecek hatalar en aza indirilmelidir. Yöntemin tiplendirilebilirliği mükemmeldir ancak uygulaması zor ve maliyeti yüksektir. Sonuçların alınması PCR-RFLP yöntemine göre daha uzun sürmektedir (12, 99).

PCR-RFLP tekniği kullanılarak *E.granulosus*'un sığır, insan, koyun, keçi, eşek, at, deve, domuz, kanguru, manda ve köpek örnekleri; *E.multilocularis*, *E.vogeli* ve *E.oligarthus*'un ise rodent örnekleri incelenmiştir. Bütün bu örneklerin incelenmesi sonucunda *E.granulosus*'un G1, G4, G5 ve G6 suşları belirlenmiştir (72).

İspanya'nın çeşitli bölgelerinden elde edilen 53 izolatın incelendiği bir çalışmada PCR-RFLP yöntemi kullanılmış ve *E.granulosus*'un *E.multilocularis*'ten ayrımı yapılmıştır. Domuz suşunun ileri ayrımı için COX-1 ve NAD1 genleri çoğaltılıp dizilenmiştir (79).

Peru'da yapılan bir çalışmada toplanan 21 insan materyalinden 20 örneğin mitokondriyal COX-1 gen bölgesi çoğaltılıp dizi analizinin yapılması sonucunda 19 izolatın G1, 1 izolatın ise G6 suşu olduğu tespit edilmiştir. Yine Güney Brezilya'da 28 sığır ve 12 koyundan elde edilen izolatların COX-1 gen bölgeleri incelendiğinde 38 izolatın G1, 2 sığır izolatının G5 suşu olduğu belirlenmiştir (144).

Bowles ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada; 56 *Echinococcus* izolatının COX-1 gen bölgesini dizilemeleri sonucunda dört *Echinococcus türünü*, *E.multilocularis*'in iki alt türünü ve *E.granulosus*'un yedi farklı suşunu tespit etmişlerdir (62).

İtalya'nın güneyinde mandalardan elde edilen 48 izolatın COX-1 gen bölgelerinin incelendiği bir çalışmada; 33 örnek G1, 15 örnek ise G3 suşu olarak belirlenmiştir (58).

Libya'nın Benghazi bölgesinden toplanan 12 sığır, 10 koyun, 5 deve ve 3 insan izolatının COX-1 geninin incelenmesi sonucunda tamamının G1 suşu olduğu tespit edilmiştir (145).

Bulgaristan'da *E.granulosus*'un koyun, sığır, domuz, kurt ve çakal izolatlarının nüklear ve mitokondriyal gen dizilerinin incelendiği başka bir çalışmada izolatların hepsinin G1 suşu olduğu belirlenmiştir (146).

Hindistan'da 6 manda, 5 koyun ve 1 sığır izolatının ITS-1, COX-1 ve NAD1 gen bölgeleri incelenmiş; NAD1 dizilerinin incelenmesi sonucunda izolatların tamamının G1 suşu olduğu, ancak COX-1 dizilerinin incelenmesi ile 2 koyun ve 1 manda izolatının G2 suşuna ait olduğu gözlenmiştir (147).

Çin'in Uygur özerk bölgesinde insan izolatları üzerinde yapılan bir çalışmada; 67 hidatik kist materyalinin mitokondriyal COX-1 gen bölgesinin dizilenmesi sonucunda 45 hastanın G1, 2 hastanın da G6 suşu ile enfekte olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan, G1 suşu ile enfekte bir köpekte bulunan erişkin parazitlerden bazılarının G6 suşuna ait

olduğu ve sonuç olarak *E.granulosus*'un farklı suşlarının neden olduğu miks enfeksiyonların olabileceği ifade edilmiştir (148).

Ülkemizde yapılan moleküler tiplendirme çalışmalarında:

Afyon, Ardahan, Siirt, Tekirdağ, Yozgat, Erzurum ve Kars illerinden toplanan, 100 koyun ve 12 sığır kist materyali örneklerinden yapılan bir çalışmada *E.granulosus* izolatlarının COX-1 gen bölgeleri çalışılmıştır. İzolatların 107'si G1, 5'i G3 olarak belirlenmiştir. Ülkemizde ilk kez bir Anadolu yaban koyunundan (*Ovis gmelinii anatolica*) elde edilen kist materyalinin çalışması neticesinde izolatın G1 suşu olduğu tespit edilmiştir (149).

İzmir, Manisa, Uşak ve Denizli illerinden 12 koyun ve 10 insan izolatının çeşitli gen bölgelerinin incelenmesi sonucunda iki koyun izolatı ve bir insan izolatının G7, bir koyun izolatının G3, bir koyun izolatının G1 ve G3 referans dizileri arasında bir diziye sahip olduğu, diğer izolatların ise G1 suşu olduğu belirlenmiştir (150).

Türkiye'nin farklı bölgelerinden İstanbul'a kesim için getirilen koyunlardan elde edilen kist materyallerinin incelendiği başka bir çalışmada ise; COX-1 gen bölgesi incelenen 100 koyun izolatının 98'i G1 suşu, iki izolatın ise G3 suşu olduğu ortaya çıkarılmıştır (151).

Sonuç olarak; çeşitli ara konaklardan elde edilen hidatik kist materyalleri PCR ve DNA dizi analizi yöntemleri ile incelenerek Kayseri ve çevresindeki genotip çeşitliliği araştırılmıştır. Çalışmanın sonucuna göre; bölgemizde ve Tatvan ilçesinden gelen iki izolatın genotipinin evcil koyun suşu olduğu belirlenmiştir. Ülkemiz için maalesef önemli bir halk sağlığı sorunu olan KE'nin kontrolü, etkin teşhis ve tedavi teknikleri, eradikasyon, aşı ve ilaç geliştirme çalışmalarına önemli bir kaynak teşkil edecek veriler elde edilmiştir. Ülke genelinde etkin ve başarılı kontrol programlarının yapılabilmesi için benzer çalışmaların tüm bölgeleri kapsayacak şekilde arttırılması kanaatine varılmıştır.

6. KAYNAKLAR

1. Soulsby E.J.L. Helminths, arthropods and of domesticated animals. 7th ed. London:Bailliere Tindall, 1986:pp.92-136.
2. Eckert J, Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of Echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. Clin Microbiol Rev 2004;17:107-35.
3. 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 for Parasitol 2005; 35: 693-731.
4. Junying M., Hu W., Gonghua L., Fang Z., Chao L., Tongzuo Z., Xiao M., Yongguo Z., Zhibin H., Huixia C., Peiyun L., Yongshun W. Surveillance of Echinococcus isolates from Qinghai, China. Vet Parasitol 2015; 207: 44-48.
5. Özbilgin A, Kilimcioğlu AA. Kistik echinococcosis. Özcel MA (Editör). Özcel'in tıbbi parazit hastalıkları'nda. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği; 2007.s.s.541-66.
6. Eckert J, Schantz PM, Gasser RB, Torgerson PR, Bessonov AS, Movsessian SO et al. Geographic distribution and prevalence. In: Eckert J, Gemmell MA, Meslin F.-X,

- Pawlowski ZS (Eds.). WHO/OIE manual on Echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. Paris: World organisation for animal health; 2001.pp.101-43.
7. Yazar S, Taylan Özkan A, Hökelek M, Polat E, Yılmaz H, Özbilge H et al. Türkiye’de 2000-2005 yılları arasında kistik ekinokokkozis. *Turkiye Parazitol Derg* 2008; 32:208-20.
 8. Thompson RCA. Biology and systematics of *Echinococcus*. In: Thompson RCA, Lymbery AJ (Eds.). *Echinococcus* and hydatid disease. Wallingford: CAB International; 1995.pp.1-50.
 9. Thompson RCA, Lymbery AJ. The nature, extent and significance of variation within the genus *Echinococcus*. *Adv Parasitol* 1988; 27:209-58.
 10. Roving T, Dinkel A, Mackenstedt U. The present situation of echinococcosis in Europe. *Parasitol Int* 2006; 55:187-191.
 11. Thompson RCA, McManus DP. Towards a taxonomic revision of the genus *Echinococcus*. *Trends Parasitol* 2002; 18: 452-457.
 12. Durmaz R. Moleküler Epidemiyolojinin Prensipleri. “Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji” R Durmaz (Editör). İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya, 2001: ss.139-147.
 13. Kumaratilake LM, Thompson RCA. A review of the taxonomy and speciation of the genus *Echinococcus Rudolphi* 1801. *Zeitsch Parasit* 1982; 68: 121-146.
 14. Thompson RCA, Lymbery AJ, Constantine CC. Variation in *Echinococcus*: towards a taxonomic revision of the genus. *Adv Parasitol* 1995; 35: 145-176.
 15. Flisser A. Larval Cestodes. In: Collier L, Balows A, Sussman M (Eds.). *Topley and Wilson’s microbiology and microbial infections* vol.5, London: Arnold; 1998:pp.539-60.

16. Thompson RCA, McManus DP. Aetiology: parasites and life-cycles. In: Eckert J, Gemmell MA, Meslin F.-X, Pawlowski ZS (Eds.). WHO/OIE manual on Echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. Paris: World organisation for animal health, 2001: pp.1-19.
17. Amman RW, Eckert J. (1995). Clinical Diagnosis and Treatment of Echinococcosis in Humans. “*Echinococcus* and Hydatid Disease” RCA Thompson ve AJ Lymbery (Editors). Cab International, Wallingford, Oxon. pp.411-463.
18. McManus DP, Zhang W, Li J, Bartley PB. Echinococcosis. The Lancet 2003; 362: 1295-1304.
19. Erişim:(http://www.phsource.us/PH/PARA/Chapter_8.htm). Erişim tarihi: 10.12.2014.
20. Torgerson PR, Budke CM. *Echinococcosis* – an international public health challenge. Res Vet Sci 2003;74:191-202.
21. Erişim:(<http://www.cdc.gov/parasites/echinococcosis/biology.html>). Erişim tarihi: 12.12.2012.
22. Eckert J, Schantz PM, Gemmell MA, Romig T, Sato N, Suzuki K. Control of *Echinococcus multilocularis*. In: Eckert J, Gemmell MA, Meslin F.-X, Pawlowski ZS (Eds.). WHO/OIE manual on Echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. Paris: World organisation for animal health, 2001: pp.230-7.
23. Romig T. Epidemiology of echinococcosis. Langenbecks Arch Surg 2003; 388:209-17.
24. Zhenghuan W, Xiaoming W, Xiaoqing L. Echinococcosis in China, a Review of the Epidemiology of *Echinococcus* spp. Ecohealth 2008; 5:115-26.

25. Torgerson PR, Oguljahan B, Muminov AE, Karaeva RR, Kuttubaev OT, Aminjanov M et al. Present situation of cystic echinococcosis in Central Asia. *Parasitol Int* 2006; 55:207-12.
26. Dakkak A. Echinococcosis/hydatidosis: A severe threat in Mediterranean countries. *Vet Parasitol* 2010; 174:2-11.
27. Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review. *Int J Infect Dis* 2009; 13(2):125-33.
28. Saygı G. Hydatidosis in Turkey within the last fourteen years (1979-1993). Sivas: Cumhuriyet University Press, 1996:ss.1-52.
29. Koltas İS, Koç Z, Demirci M, Aktaş H, Parsak CK, Özerdem D. Akdeniz bölgesinde cystic echinococcosis, 3. Ulusal Hidatidoloji Kongresi Özet Kitabı, ss.27, 2006, Samsun.
30. Hakverdi S, Sayar H, Yıldız M, Erdoğan Ş, Akansu B, Canda MŞ. Çukurova yöresinde seyrek yerleşimli ekinokokkozis (134 olgu). *Türkiye Parazitol Derg* 2009; 33:77-81.
31. Taylan Özkan A, Yazar S, Ertek M. İç Anadolu bölgesinde cystic echinococcosis, 3. Ulusal Hidatidoloji Kongresi Özet Kitabı, ss.28, 2006, Samsun.
32. Aldemir OS, Baykan M, Gökçen A. Konya SSK Hastanesi'nde kistik ekinokokkozis olguları. *Genel Tıp Derg* 2000; 10:129-32.
33. Yazar S. Kayseri'de kistik ekinokokkozisin son altı yıldaki durumu. *Türkiye Parazitol Derg* 2005; 29:241-3.
34. Özkan MC. Edirne ve Çevresinde Kist Hidatiğin Casoni ve İndirekt Hemaglutinasyon Testleri İle Sıklığının Araştırılması, Tez. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne 1991.
35. Polat E, Sakru N, Sönmez Tamer G, Alver O. Marmara bölgesinde cystic echinococcosis, 3. Ulusal Hidatidoloji Kongresi Özet Kitabı, s.25, 2006, Samsun.

36. Yılmaz H, Cengiz ZT, Özer A, Keklik K, Yemenici N, Turan M ve ark. Doğu Anadolu bölgesinde cystic echinococcosis, 3. Ulusal Hidatidoloji Kongresi Özet Kitabı, ss.30, 2006, Samsun.
37. Kaplan M, Aygen E, Özyurtkan MO, Bakal Ü. 2005-2007 yılları arasında Fırat Üniversitesi Hastanesindeki kistik ekinokokkozis olguları. F Ü Sağ.Bil Tıp Derg 2010; 24:109-13.
38. Gündoğdu C, Arslan R, Arslan MÖ, Gıcık Y. Erzurum ve çevresinde insanlarda kistik ve alveolar ekinokokkozis olgularının değerlendirilmesi. Türkiye Parazitoloj Derg 2005;29:163-6.
39. Üstün Ş, Girginkardeşler N, Çetinkaya Z, Türk M. Ege bölgesinde cystic echinococcosis, 3. Ulusal Hidatidoloji Kongresi Özet Kitabı, ss.26, 2006, Samsun.
40. Altıntaş N, Yazar S, Yolasıgımaz A, Akisu C, Sakru N, Karacasu F et al. A seroepidemiological study of cystic echinococcosis in Izmir and its surrounding area, Turkey. Helminthologia 1999; 36:19-23.
41. Ozkol M, Kilimcioglu AA, Girginkardesler N, Balcioglu IC, Sakru N, Korkmaz M et al. A discrepancy between cystic echinococcosis confirmed by ultrasound and seropositivity in Turkish children. Acta Trop 2005; 93:213-6.
42. Özbilge H. Güney Doğu Anadolu bölgesinde cystic echinococcosis, 3. Ulusal Hidatidoloji Kongresi Özet Kitabı, ss.31, 2006, Samsun.
43. Özekinci S, Bakır Ş, Mızrak B. 2002-2007 yılları arasında Diyarbakır'da histopatolojik tanı alan kistik ekinokokkozis olgularının değerlendirilmesi. Türkiye Parazitoloj Derg 2009; 33:232-5.
44. Akyol ÇV. *Echinococcus* Türlerinin Epidemiyolojisi. "Echinococcosis" N Altıntaş, R Tınar ve A Çoker (Editörler), Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova, İzmir, 2004: ss.259-283.

45. Özer E, Özcan C, Aslan N, Kalender H, Angın M.. Elazığ Et ve Balık Kurumunda atılan koyun karaciğerlerinde bakteriyel ve paraziter etkenlerle bunların oluşturduğu ekonomik kayıplar. Tr J of Vet Anim Sci 1996; 20:191-201.
46. Taşan E. Elazığ kırsal yöre köpeklerinde helmintlerin yayılışı ve insan sağlığı yönünden önemi. Doğa Bilim Derg 1984; 8:160-167.
47. Ulutaş M. Trakya’da Kasaplık Hayvanlarda Hidatidozun Yaygınlığı, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 1999.
48. Yıldız K, Tunçer Ç.. Kırıkkale’de sığırlarda kist hidatik’in yayılışı. T Parazitol Derg 2005; 29: 247-250.
49. Şimşek S, Köroğlu E. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and enzyme-linked immunoelectrotransfer blot (EITB) for immunodiagnosis of hydatid diseases in Sheep. Acta Trop 2004; 92:17-24.
50. Şimşek S, Köroğlu E, Dumanlı N, Aktaş M, Şaki CE, Altay K. Seroprevalance of cattle hydatidosis in some countries of East Anatolian Region of Turkey. Turk J Vet Anim Sci 2005; 29: 1305-1310.
51. Mimioğlu M. Evcil Gevişenlerde Hidatidoz, Türkiye’de Ekinokokkoz Problemi Sempozyumu, Sayfa 23-25, 1974, Erzurum.
52. Doğanay A. Zoonoz Olarak Ekinokokkozun Halk Sağlığı Yönünden Önemi, Hayvancılık Sempozyumu, 1986, Cumhuriyet Üniversitesi Tokat Ziraat Fakültesi, Tokat.
53. Eckert J, Thompson RCA.. Intraspecific variation of *Echinococcus granulosus* and related species with emphises on their infectivity to humans. Acta Tropica 1997; 64: 19-34.
54. 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: 130-137.

55. Eugster RO. A Contribution to the Epidemiology of Echinococcosis/Hydatidosis in Kenya (East Africa) with Special Reference to the Kajido District, Ph.D, University of Zurich, Zurich 1978.
56. French CM, Nelson GS, Wood M. Hydatid disease in the Turkana District of Kenya I. The background to the problem with hypotheses to account for the remarkably high prevalence of the disease in man. *Ann Trop Med Parasitol* 1982; 76: 425-437.
57. Macpherson CNL. An active intermediate host role for man in the life cycle of *Echinococcus granulosus* in Turkana, Kenya. *Am J Trop Med Hyg* 1983; 32: 397-404.
58. 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.
59. Gill HS, Venkateswara R. Incidence and fertility rate of hydatid cysts in Indian buffalo (*Bos Bubalus*). *Bulletin De l'office Internationale Des Epizooties* 1967; 69: 989-997.
60. Islam AW. The prevalence of hydatid disease in buffalos in Bangladesh. *Ann Trop Med Parasitol* 1982; 76: 623-626.
61. Schwabe CW. Current Status of Hydatid Disease: A Zoonosis of Increasing Importance. "The Biology of *Echinococcus* and Hydatid Disease" RCA Thomson (Editor). Allen & Unwin, London, 1986: Sayfa 81-113.
62. Bowles J, Blair D, McManus DP. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Mol Biochem Parasitol* 1992; 54: 165-173.
63. Gasser RB, Zhu X, McManus DP. Display of sequence variation in PCR-amplified mitochondrial DNA regions of *Echinococcus* by single-strand conformation polymorphism. *Acta Tropica* 1998; 71: 107-115.

64. Gasser RB, Zhu X, McManus DP. Dideoxy fingerprinting: Application to the genotyping of *Echinococcus*. Int J for Parasitol 1998; 28: 1775-1779.
65. Herwerden VL, Gasser RB, Blair D. ITS-1 ribosomal DNA sequence variants are maintained in different species and strains of *Echinococcus*. Int J for Parasitol 2000; 30: 157-169.
66. 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*. Parasitol 2002; 124: 97-112.
67. Bowles J, McManus DP. Molecular variation in *Echinococcus*. Acta Trop 1993; 53: 291-305.
68. Dinkel A, Njoroge EM, Zimmermann A, Walz M, Zeyhle E, Elhamdi IE, Mackenstedt U, Romig T. A PCR system for detection of species and genotypes of the *Echinococcus granulosus*-complex, with reference to the epidemiological situation in Eastern Africa. Int J for Parasitol 2004; 34: 645-653.
69. Maravilla P, Thompson RCA, Palacios-Ruiz JA, Estcourt A, Ramirez-Solis E, Mondragon-De-La-Peña C, Moreno-Moller M, Cardenas-Mejia A, Mata-Miranda P, Aguirre-Alcantara MT, Bonilla-Rodriguez CB, Flisser A. *Echinococcus granulosus* cattle strain identification in an autochthonous case of cystic echinococcosis in Central Mexico. Acta Tropica 2004; 92: 231-236.
70. Siles-Lucas M, Benito Mc, Cuesta-Bandera C. *Echinococcus granulosus*: Genomic and isoenzymatic study of spanish strains isolated from different intermediate hosts. Vet Parasitol 1996; 63: 273-282.
71. Worbes H. Zum vorkommen von *Echinococcus granulosus* and *E. multilocularis* in thüringen. Ang Parasitol 1992; 33: 193-204.
72. Bowles J, McManus DP. Rapid discrimination of *Echinococcus* species and strains using a polymerase chain reaction-based RFLP method. Mol Biochem Parasitol 1993; 57: 231-239.

73. Dailey MD, Sweetman GK. The taxonomy of *Echinococcus granulosus* in donkey and dromedary in Lebanon and Syria. *Ann Trop Med Parasitol* 1965; 59: 463-477.
74. Macpherson CNL, McManus DP. A comparative study of *Echinococcus granulosus* from human and animal hosts in Kenya using isoelectric focusing and isoenzyme analysis. *Int J for Parasitol* 1982; 12: 515-521.
75. Macpherson CNL, Smyth JD. In vitro culture of strobilar stage of *Echinococcus granulosus* from protoscoleces of human, camel, sheep and goat origin from Kenya and buffalo origin from India. *Int J for Parasitol* 1985; 15: 137-140.
76. Thompson RCA, Lymbery AJ. The epidemiological significance of biological variation in *Echinococcus*. *Arch Hydatid* 1991; 30: 195–200.
77. 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.
78. Zhang L, Eslami A, Hosseini H, McManus DP. Indication of the presence of two distinct strains of *Echinococcus granulosus* in Iran by mitochondrial DNA markers. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59: 171-174.
79. González LM, Daniel-Mwambete K, Montero E, Rosenzvit MC, McManus DP, Gárate T, Cuesta-Bandera C. Further molecular discrimination of Spanish strains of *Echinococcus granulosus*. *Exp Parasitol* 2002; 102: 46-56.
80. Pawlowski Z, Mrozewicz B, Stefaniak J, Schantz, P, Wilson M, Eckert J, Jacquier P, Haremski T, Nowosielski J And Zieta B. *Echinococcus granulosus* pig strain from Poland has low infectivity to humans. *Am J Trop Med Hyg Suppl* 1993; 49: 342–343.
81. Rosenzvit MC, Zhang LH, Kamenetzky L, Canova SG, Guarnera EA, McManus DP. Genetic variation and epidemiology of *Echinococcus granulosus* in Argentina. *Parasitol* 1999; 118: 523-530.

82. Snabel V, D'amelio S, Mathiopoulos 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.
83. 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*. Parasitol 2003; 127: 207-215.
84. Mankhaeva VS, Shumilov MF. Development of *Echinococcus granulosus* in dogs working with deer. Nauchno-Tekhnicheskii Byulleten, Sibirskoe Otdelenie VASKHNIL (Voprosy Veterinarii Na Krainen Severovostoke) 1982; 27: 25-26.
85. Rausch RL. A consideration of intraspecific categories in the genus *Echinococcus Rudolphi*, 1801 (Cestoda: Taeniidae). J Parasitol 53 1967; 484-491.
86. Rausch RL. Life-Cycle Pattern and Geographic Distribution of *Echinococcus* Species."The Biology of *Echinococcus* and Hydatid Disease" RCA Thompson (Editor), Allen&Unwin, London, 1986: Sayfa 44-80.
87. 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*. Parasitol 1997; 114: 37-43.
88. Safranov MG, Isakov SI. *Echinococcus granulosus* and its varieties in Yakutia. Byulleten Vsesoyuznogo Instituta Gel'mintologii İm K.I. Skrabina 1984; 37: 58-59.
89. Wilson JF, Diddams AC, Rausch RL. Cystic hydatid disease in Alaska: A review of 101 autochthonous cases of *Echinococcus granulosus* infection. Am Rev Respir Dis 1968; 98: 1-15.
90. Bowles J, McManus DP. NADH dehydrogenase I gene sequences compared for species and strains of the genus *Echinococcus*. Int J for Parasitol 1993; 23: 969-972.
91. Arda M. Biyoteknoloji: Bazı Temel İlkeler (İkinci Baskı), Kükem Derneği Bilimsel Yayınları, Ankara, 1994.

92. Ahmadi N, Dalimi A. Characterization of *Echinococcus granulosus* isolates from human, sheep and camel in Iran. *Inf Gen Evol* 2006; 6: 85–90.
93. Bowles J, Blair D, McManus DP. Molecular genetic characterization of the cervid strain (Northern Form) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitol* 1994; 109: 215-221.
94. Bowles J, Knapen FV, McManus DP. Cattle strain of *Echinococcus granulosus* and human infection. *The Lancet* 1992; 339: 1358.
95. Gasser RB. PCR-based technology in veterinary parasitology. *Vet Parasitol* 1999; 84: 229-258.
96. 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. *Parasitol* 2002; 125: 367-373.
97. M'rad S, Fiisetti D, Oudni M, Mekki M, Belguith M, Nouri A, Sayadi T, Lahmar S, Candolfi E, Azaiez R, Mezhoud H, Baba H. Molecular evidence of ovine (G1) and camel (G6) strains of *Echinococcus granulosus* in Tunisia and putative role of cattle in human contamination. *Vet Parasitol* 2005; 129: 267-272.
98. Nikulina NA, Benediktov H, Garaev MM. *Echinococcus* genotyping by PCR-RFLP. *Med Parasitol* 2003; 2: 29-32.
99. Olive M, Bean P. Principles and applications of methods for DNA based typing of microbial organisms. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1661-1669.
100. Ortona E, Margutti P, Rigano R, Siracusano A. Genetic variability in Italian sheep isolates of *Echinococcus granulosus*. *Appl Parasitol* 1996; 3: 205-208.
101. Turčeková L, Šnábel V, D'amelio S, Busi M, Dubinský P. Morphological and genetic characterization of *Echinococcus granulosus* in the Slovak Republic. *Acta Tropica* 2003; 85: 223-229.

102. Ütük AE, Şimşek S, Köroğlu E. *Echinococcus granulosus*'un Koyun Suşunun (G1) RAPD-PCR ve DNA Dizi Analizi ile Tanısı, 3. Ulusal Hidatidoloji Kongresi, Sayfa 60, 2006.
103. Gasser RB. Mutation scanning methods for the analysis of parasite genes. Int J for Parasitol 1997; 27: 1449-1463.
104. Gasser RB, Monti JR. Identification of parasitic nematodes by PCR-SSCP of ITS-2 rDNA. Mol Cell Prob 1997; 11: 201-209.
105. Hongyo T, Buzard GS, Calvert RJ, Weghorst CM. Cold SSCP: A simple, rapid and non-radioactive method for optimized single strand conformation polymorphism analyses. Nucl Acids Res 1993; 21: 3637- 3642.
106. MelcherU.(2003).
SSCPsErişim:([Http://Opbs.Okstate.Edu/~Melcher/Mg/Mgw1/Mg11129.Html](http://Opbs.Okstate.Edu/~Melcher/Mg/Mgw1/Mg11129.Html)).
Erişim tarihi: 13.04.2004.
107. Orita M, Suzuki Y, Sekiya T, Hayashi K. Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. Genomics 1989; 5: 874-879.
108. Sunnucks 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.
109. Sarkar G, Yoon HS, Sommer SS. Dideoxy fingerprinting: A rapid and efficient screen for the presence of mutations. Genomics 1992; 13: 441-443.
110. Haag KL, Araújo AM, Gottstein B, Zaha A. Selection, recombination and history in a parasitic flatworm (*Echinococcus*) inferred from nucleotide sequences. Mem Ins Oswaldo Cruz 1998; 93: 695-702.

111. McManus DP, Ding Z, Bowles J. A molecular genetic survey indicates the presence of a single, homogeneous strain of *Echinococcus granulosus* in North-Western China. *Acta Trop* 1994; 56: 7-14.
112. McGreevy PB, Nelson GS. Larval cestode infections (7th ed), In: Strickland GT (Ed.), *Hunter's tropical medicine*, Philadelphia, W.B. Saunders Co, 1991: pp.843-59.
113. Schantz PM. Progress in diagnosis, treatment and elimination of echinococcosis and cysticercosis. *Parasitol Int* 2006;55:7-13.
114. Torgerson PR. Economic effects of echinococcosis. *Acta Trop* 2003; 85:113-8.
115. Plorde JJ. Cestodes (4th ed), In: Ryan KJ, Ray CG (Eds.), *Sherris medical microbiology an introduction to infectious diseases*, New York, Mc Graw Hill Co, 2004: pp.791-802.
116. Bostan H, Yücel AF, Şahin DA. Ameliyat sırasında oluşan şokun nadir bir sebebi: Karaciğer hidatik kist rüptürüne bağlı anafilaksi. Olgu sunumu. *J Surg Arts* 2010; 1:1-4.
117. King CH. Cestodes (Tapeworms) (6th ed), In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (Eds.), *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*, Philadelphia, Elsevier Churchill Livingstone, 2005: pp.3285-93.
118. Miman Ö, Atambay M, Aydın NE, Daldal N. Kistik ekinokokkozis nedeniyle opere edilmiş 91 olguda klinik, morfolojik ve serolojik irdelemeler. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2010; 34:179-83.
119. Pekcici MR, Canlı AB, Uyanık İ, İnceköy M. Abdominal kist hidatik olgularımızın retrospektif değerlendirilmesi. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2004;2:5-10.
120. Inan M, Ayvaz S, Baser M, Karaayvaz A, Ciftci A, Hatipoglu AR et al. Hepatic hydatid disease in children and adults living in different areas in Turkey. *Saudi Med J* 2007; 28:555-8.

121. Işıtmangil T, Görür R, Yiyit N, Erdik O, Yıldızhan A, Candaş F ve ark. Toraksta kist hidatik hastalığı nedeniyle cerrahi tedavi uygulanan 308 hastanın değerlendirilmesi. Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg 2010; 18:27-33.
122. Tatar D, Senol G, Gunes E, Unsal S, Perim G. Diagnosis and treatment of pulmonary cystic hydatidosis. Indian J Pediatr 2008; 75:1003-7.
123. Çakan A, Çağırıcı U, Veral A, Bilkay Ö. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde akciğer kist hidatid hastalığının cerrahi sağaltım sonuçları. Türkiye Ekopatoloji Dergisi 2001; 7:7-10.
124. Sever A, Elmas A. Echinococcosisde görüntüleme yöntemleri. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A (Editörler). Echinococcosis'de. İzmir:Hidatidoloji Derneği; 2004.ss.203-18.
125. McManus DP, Zhang W, Li J, Bartley PB. Echinococcosis. The Lancet 2003; 362: 1295-1304.
126. Moro PL, Nakao M, Ito A, Schantz PM, Caverio C, Cabrera L. Molecular identification of *Echinococcus* isolates from Peru. Parasitol Int 2009; 58:184-6.
127. Brunetti E, Kern P, Vuitton DA. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. Acta Trop 2010; 114:1-16.
128. Brunetti E, Gulizia R, Troia G, Filice C. Effects of chemical agents on hydatid cyst membranes. Am J Roentgenol 2005; 184:1025-6.
129. World Health Organization Informal Working Group of Echinococcosis. Puncture, aspiration, injection, re-aspiration. An option for the treatment of cystic echinococcosis. Document: WHO/CDS/CSR/APH/2001.6. Geneva: World Health Organization, 2001.
130. Akhan O. Echinococcosis'de Karaciğer kist hidatiklerinin perkütan tedavisi. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A (Editörler), Hidatidoloji Derneği, İzmir, 2004: ss.239-48.

131. Filice C, Brunetti E. Use of PAIR in human cystic echinococcosis. *Acta Trop* 1997; 64:95-107.
132. Akhan O, Ozmen MN, Dinçer A, Sayek I, Göçmen A. Liver hydatid disease: longterm results of percutaneous treatment. *Radiology* 1996; 198:259-64.
133. Pawlowski ZS, Eckert J, Vuitton DA, Ammann RW, Kern P, Craig PS et al. Echinococcosis in humans: clinical aspects, diagnosis and treatment, In: Eckert J, Gemmell MA, Meslin F.-X, Pawlowski ZS (Eds.), WHO/OIE manual on Echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern, World organisation for animal health, Paris, 2001: pp.20-72.
134. Gemmell MA, Roberts MG, Beard TC, Campano Diaz S, Lawson JR, Nonnemaker JM. Control of *Echinococcus granulosus*. In: Eckert J, Gemmell MA, Meslin F.-X, Pawlowski ZS (Eds.), WHO/OIE manual on Echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern, World organisation for animal health, Paris, 2001: pp.195-204.
135. Eckert J, Conraths FJ, Tackmann K. Echinococcosis: an emerging or re-emerging zoonosis? *Int J Parasitol* 2000; 30:1283-94.
136. Altıntaş N, Karababa AO. Echinococcosisde korunma ve kontrol. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A (Editörler), Hidatidoloji Derneği, İzmir, 2004: ss.355-68.
137. Schantz PM. Larval cestodiasis (4th ed). In: Hoeprich PD, Jordan MC (Eds.), *Infectious diseases*, J. B. Lippincott Co, Philadelphia, 1989: pp.829-41.
138. Xiao N, Qiu J, Nakao M, Nakaya K, Yamasaki H, Sako Y, Mamuti W, Schantz PM, Craig PS, Ito A (2003) Short report: identification of *Echinococcus* species from a yak in the Qinghai-Tibet plateau region of China. *Am J Trop Med Hyg* 69:445–446.
139. Anonim.(2008).Phylogeny.
Erişim:(<http://www.rzuser.uniheidelberg.de/~bu6/Introduction11.html>).
Erişim Tarihi: 23.01.2008.

140. Bowles J. Genetic Approches to the Identification and Evolutionary Study of Helminth Parasites, Ph.D, Universty of Queensland, St.Lucia, Queensland, Australia 1993.
141. Haag KL, Zaha A, Araujo AM, Gottstein B. Reduced genetic variability within coding and non-coding regions of the *Echinococcus multilocularis* genome. Parasitol 1997; 115: 521-529.
142. Ütük AE, Şimşek S, Köroğlu E. *Echinococcus* cinsinin moleküler genetik karakterizasyonu. T Parazitol Derg 2005; 29: 171-176.
143. Yolasıǧmaz A, Turčeková L, Türk M, Reyhan E, Šnabel V, Dubinský P, Güneş K, Altıntaş N. Genetic Variation in *Echinococcus granulosus* from Turkey and Slovakia Demonstrated by Sequence and SSCP Analysis, XXıst International Congress of Hydatidology, 2004, Nairobi, Kenya.
144. De La Rue ML, Dinkel A, Mackenstedt U, Romig T. New data on *Echinococcus* spp. in southern Brazil. Rev Inst Med Trop S Paulo 2006; 48:103-4.
145. 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 Parasitol 2002; 96: 369-381.
146. 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.
147. 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.
148. Bart JM, Abdulkader M, Zhang YL, Lin RY, Wang YH, Nakao M, Ito A, Craig PS, Piarraoux R, Vuitton DA, Wen H. Genotyping of human cystic echinococcosis in Xinjiang, PR China. Parasitol 2006; 133: 571-579.

149. Vural G, Unsal Baca A, Gauci CG, Bagci O, Gicik Y, Lightowlers MW. Variability in the *Echinococcus granulosus* cytochrome c oxidase 1 mitochondrial gene sequence from livestock in Turkey and a re-appraisal of the G1-3 genotype cluster. Vet Parasitol 2008; 154:347-50.
150. Snabel V, Altintas N, D'Amelio S, Nakao M, Romig T, Yolasigmaz A et al. Cystic echinococcosis in Turkey: genetic variability and first record of the pig strain (G7) in the country. Parasitol Res 2009; 105:145-54.
151. Bağcı Ö, Vural G, Baca AÜ, Gauci C. Türkiye'de Koyunlarda Cytochrom C Oxidase Subunit 1 Gen Analizi ile *Echinococcus granulosus* Genotipinin Belirlenmesi. 2007; Tübitak Proje No: 104 V 132.

ETİK KURULUN ADI	: ERCİYES ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
AÇIK ADRES	: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Melikgazi/KAYSERİ
TELEFON	: 0 352 437 49 10 - 11
FAKS	: 0 352 437 62 85
E-POSTA	: byancar@erciyes.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Farklı Konaklardan Elde Edilen Echinococcus granulosus İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu		
ARAŞTIRMA PROTOKOLÜNÜN KODU			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr. Süleyman Yazar		
KOORDİNATÖR SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Parazitoloji		
KOORDİNATÖRÜN ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr. Süleyman Yazar		
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı/Kayseri		
DESTEKLEYİCİ			
DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMCİLCİSİ			
ARAŞTIRMA FAZİ	FAZ 1	☐	
	FAZ 2	☐	
	FAZ 3	☐	
	FAZ 4	☐	
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	☐	
	Yüksek Doz Araştırması	☐	
	Diğer İse Belirtiniz	☒	Yüksek Lisans Tezi
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEKMERKEZ ☒	ÇOKMERKEZ ☐	ULUSAL ☒ ULUSLARARASI ☐

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER

BELGE ADI	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER

BELGE ADI	Açıklama
TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐
SIGORTA	☐
ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐
BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFERFORMU	☐
HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐
ILAN	☐
YILLIK BİLDİRİM	☐
SONUÇ RAPORU	☐

ASLI BİLDİRİM
T.C.
1923
BAHİR YANCAR
Fakülte Şefi

ASLI GIBİDİR



DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	GÜVENLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER	☐	

KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 2012/630	Karar Tarihi : 06.11.2012
	Yukarıda bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.	

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu
---------------	--

ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI : Prof. Dr. Kader KÖSE

ETİK KURUL ÜYELERİ

Ünvanı / Adı Soyadı Ek Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Kader KÖSE	Tıbbi Biyokimya	E.Ü. Tıp Fak.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>K. Köse</i>
Prof. Dr. Olgun KONTAŞ	Patoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>O. KONTAŞ</i>
Prof. Dr. Duran ARSLAN	Çocuk Sağ. ve Hast.	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	<i>D. ARSLAN</i>
Prof. Dr. Nazan DOLU	Fizyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>N. DOLU</i>
Prof. Dr. İrfan ÖZYAZGAN	Plastik ve Rekonst.	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>I. ÖZYAZGAN</i>
Doç. Dr. Polat DURUKAN	Acil Tıp	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>P. DURUKAN</i>
Doç. Dr. Fatih TANRIVERDİ	İç Hastalıkları	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>F. TANRIVERDİ</i>
Doç. Dr. Leyla HASDIRAZ	Göğüs Cerrahisi	E.Ü. Tıp Fak.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	<i>L. HASDIRAZ</i>
Doç. Dr. Ertuğrul MAVİLİ	Radyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>E. MAVİLİ</i>
Doç. Dr. Hasan B. ULUSOY	Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>H. ULUSOY</i>
Doç. Dr. Mehmet A. SOMDAŞ	KBB	Kayseri Eğitim Hastanesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>M. SOMDAŞ</i>
Yard. Doç. Dr. Ferhan ELMALI	Biyoistatistik	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>F. ELMALI</i>
Av. Zübeyde ÇELEBİ	Avukat	Hukuk Müşaviri	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>Z. ÇELEBİ</i>
Ecz. Şükran TERZİ	Eczacı	Serbest Eczacı	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	<i>S. TERZİ</i>
Yusuf Oğuz ALTUNTAŞ	Sivil Üye	Sivil-Tiyatro Sanatçısı	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	<i>Y. ALTUNTAŞ</i>

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Emrah ERDOĞAN

Uyruğu : Türkiye (T.C.)

Doğum Tarihi ve Yeri : 13.02.1985, Ankara

E-mail : emrah@erciyes.edu.tr

Yazışma Adresi : Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD.

Melikgazi / KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2011
Lise	Ankara Halide Edip Lisesi	2003

YABANCI DİL

İngilizce

KATILDIĞI KURSLAR SINAVLAR

Erciyes Üniversitesi DEKAM Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası