

T.C
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İNSAN KAYNAKLI KİSTİK EKİNOKOKKOZİS'İN
MOLEKÜLER EPİDEMİYOLOJİSİ

Uzm. Bio. Serra ÖRSTEN

Mikrobiyoloji Programı

DOKTORA TEZİ

ANKARA

2017

T.C
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İNSAN KAYNAKLI KİSTİK EKİNOKOKKOZİS'İN
MOLEKÜLER EPİDEMİYOLOJİSİ

Uzm. Bio. Serra ÖRSTEN

Mikrobiyoloji Programı

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Cumhuri Özkuyumcu

ANKARA

2017

İnsan Kaynaklı Kistik Ekinokokkozis'in Moleküler Epidemiyolojisi**Uzm.Bio. Serra Örsten**

Bu çalışma 29.06.2017 tarihinde jürimiz tarafından "Mikrobiyoloji Programı" nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

Prof. Dr. Okan Akhan
(Hacettepe Üniversitesi)

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Cumhuri Özkuyumcu
(Hacettepe Üniversitesi)

Üye:

Prof. Dr. Gülşen Hasçelik
(Hacettepe Üniversitesi)

Üye:

Prof. Dr. Murat Özsan
(Ankara Üniversitesi)

Üye:

Prof. Dr. Nedim Sultan
(Gazi Üniversitesi)

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

Tarih

13 Temmuz 2017



Prof. Dr. Diclehan Orhan

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- o **Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**
(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, teziniz arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir)
- **Tezimin/Raporumun 28.06.2019 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**
(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir)
- o **Tezimin/Raporumun.....tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**
- o **Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

11 /07/2017



Uzm. Bio. Serra Örsen

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Cumhur Özkuyumcu danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığımı beyan ederim.



(İmza)

Uzm.Bio. Serra Örsten

TEŞEKKÜR

Eğitimimin ve tez çalışmasının her aşamasında bana destek olan, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım danışmanım Prof.Dr. Cumhuri Özkuyumcu'ya,

Tez çalışması ve eğitimim konusunda her türlü imkanı sunan, bilgi, tecrübe ve desteklerini hiç esirgemeyen Prof.Dr. Okan Akhan başta olmak üzere Prof. Dr. Devrim Akıncı ve Doç. Dr. Türkmen Çiftçi'ye

Tez çalışması için laboratuvarlarından faydalandığım, her aşamada bilgi ve tecrübelerini aktararak, tezin gelişimine katkıda bulunan Dr. Belgees Boufana ve Dr. Adriano Casulli'ye,

Eğitimim süresince bana her zaman destek olan, bilgi ve tecrübelerini paylaşan Doç. Dr. Koray Ergünay'a,

Eğitimim boyunca bana dostluklarıyla destek olan asistan arkadaşlarıma ve sevgili arkadaşım Duygu Deniz Kazancı'ya,

Maddi ve manevi desteklerini hep hissettiren sevgili teyzelerim Serpil Özkan ve Prof.Dr. Sevinç Özkan Altın'er'e, sevgili ablam Yrd.Doç.Dr. Seda Örsten Esirgen'e,

Her zaman yanımda olan, eğitimim boyunca desteklerini hiç esirgemeyen sevgili annem Rezzan Örsten ve babam Haluk Örsten'e teşekkür ederim.

ÖZET

ÖRSTEN S. İnsan Kaynaklı Kistik Ekinokokkozis'in Moleküler Epidemiyolojisi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Programı Doktora Tezi, Ankara, 2017. Kistik Ekinokokkozis (KE), *Echinococcus* cinsi parazitlerin larva formunun insanlarda neden olduğu zoonotik bir hastalıktır. KE dünya genelinde en yaygın zoonotik hastalıklardan biri olup, özellikle kırsal kesimlerde besi hayvanları ve köpeklerle yakın temasta olan kişilerde görülmektedir. *Echinococcus* cinsinin yaşam döngüsü temel olarak evcil/ vahşi etobur ve otobur hayvanlar arasında devam etmekte, insan bu döngüde rastlantısal olarak yer almaktadır. Cins içerisinde temel olarak *E. granulosus*, *E. multilocularis*, *E. oligarthrus* ve *E. vogeli* olmak üzere 4 türün varlığı kabul edilmektedir. Dizi analizleri sonucu, KE etkenlerinin genetik çeşitlilik gösterdiği saptanmış; bu çeşitliliğin parazitin yaşam döngüsü ve konak özgüllüğünde çeşitli farklılıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Güncel verilere göre, *E. granulosus* türü içerisinde 10 genotip (G1-G10) tanımlanmaktadır. Bu çalışma ile KE açısından endemik olan Türkiye ve çeşitli Doğu Avrupa ülkelerinde olgularda saptanan izolatların genotiplerinin saptanması, genotip dağılımının çeşitli epidemiyolojik özellikler ve klinik takibe etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

Anahtar kelimeler: Kistik Ekinokokkozis, KE, *Echinococcus granulosus* kompleks, genotiplendirme

ABSTRACT

Orsten S. Molecular Epidemiology of Human Cystic Echinococcosis. Hacettepe University Institute of Health Sciences, PhD, thesis in Microbiology, Ankara, 2017. Cystic Echinococcosis (CE) is a zoonotic disease caused by larval forms of parasites of the genus *Echinococcus* in humans. CE is one of the most common zoonotic diseases in the world, particularly in regions where the local population is active with animal breeding, being in close contact with sheep, cattle and dogs. Members of the *Echinococcus* circulate between domestic / wild carnivores and herbivores, and humans become incidental hosts. The genus includes mainly 4 species which comprise *E.granulosus*, *E.multilocularis*, *E.oligarthrus* and *E.vogeli*. Significant genetic variability has been demonstrated on CE agents and has been associated with life cycle and host specificity. According to recent findings, *E.granulosus* complex are divided into 10 genotypes (G1-G10). The proposed study aims to determine the genotypes of *E.granulosus* isolates, detected in CE cases from endemic regions including Turkey and various Eastern European countries and investigate the epidemiology and impact of genotypes on clinical progress.

Key words: Cystic Echinococcosis, CE, *Echinococcus granulosus* complex, genotyping

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Tarihçe	2
2.2 Sınıflandırma	3
2.2.1 Suşlar ve Genotipler	3
2.3 Parazit Yapısı ve Morfolojik Özellikler	5
2.4 Yaşam Döngüsü	8
2.5 İmmünoloji	11
2.6 Klinik	11
2.7 Tanı	12
2.7.1 Radyolojik Tanı	12
2.7.2 Serolojik Tanı	14

2.7.3 Mikroskopik İnceleme	15
2.7.4 Moleküler Yöntemler	15
2.8 Tedavi	18
2.8.1 Cerrahi Tedavi	19
2.8.2 Ponksiyon, aspirasyon, enjeksiyon, reaspirasyon	19
2.8.3 Kemoterapi	20
2.9 Epidemiyoloji	20
2.10 Koruma ve Kontrol	23
2.10.1 Aşı Çalışmaları	23
3.GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1 Örneklerin Toplanması	24
3.2 Örneklerin Hazırlanması	24
3.3 DNA Ekstraksiyonu	25
3.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu	26
3.5 Elektroforez	27
3.6 PCR Ürünlerinin Temizlenmesi	28
3.7 DNA Dizi Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi	28
3.8 İstatistiksel Analiz	29
4. BULGULAR	30
4.1 İncelenen Olguların Genel Özellikleri ve Dağılımlar	30
4.2 Kist Materyallerinin Mikrobiyolojik İncelenmesi	33
4.3 Genotiplerin Belirlenmesi ve Haplotip Analizi	33

4.4 Genetik Çeşitlilik ile Hastaların Demografik Özellikleri Arasındaki İlişkinin İncelenmesi	36
4.5 Genetik Çeşitlilik ile Hastaların Klinik Özellikleri Arasındaki İlişkinin İncelenmesi	37
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	52
7. KAYNAKLAR	53
8. EKLER	
EK-1: Tez Çalışması ile ilgili Etik Kurul İzni	
9. ÖZGEÇMİŞ	

SİMGE VE KISALTMALAR

BT	Bilgisayarlı Tomografi
DNA	Deoxyribonucleic acid
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
IFA	Immunofluorescence assay
IHA	Indirect Hemagglutination
IWGE	Informal Working Group of Echinococcosis
MR	Manyetik Rezonans
PCR	Polymerase chain reaction
RFLP	Restriction Fragment Length Pattern

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1 <i>Echinococcus granulosus</i> 'un erişkin formunun morfolojik yapısı	6
2.2 <i>Echinococcus</i> yumurtasının morfolojik yapısı	7
2.3 <i>E.granulosus</i> 'un metasestod formunun morfolojik yapısı	9
2.4 <i>E.granulosus</i> 'un yaşam döngüsü	10
2.5 WHO-IWGE tarafından standardize edilmiş hidatik kist sınıflandırması	14
3.1 PCR amplikonlarının agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmesi	27
4.1 Bölgelere göre hasta sayılarının dağılımı	31
4.2 Kist tiplerinin dağılımı	32
4.3 Kist tutulumuna göre organ dağılımı	32
4.4 Referans genotip dizileri ve örneklerin filogenetik analizi	34
4.5 Haplotip ağı	35
4.6 Başlangıç ve tedavi sonrası kist çaplarının genetik gruplara göre dağılımı	39
4.7 Başlangıç ve tedavi sonrası kist hacimlerinin genetik gruplara göre dağılımı	40

TABLULAR

Tablo	Sayfa
2.1 <i>E.granulosus</i> suşlarının genel özellikleri	5
3.1 COX1 gen bölgesi için kullanılan primer dizileri	26
3.2 COX1 PCR için karışım içeriği ve reaksiyon koşulları	26
4.1 Hastaların cinsiyet ve yaşlara göre dağılımları	30
4.2 Örneklerin PCR ve rutin analiz sonuçlarının dağılımı	33
4.3 COX1 genine göre <i>E.granulosus</i> (s.s.) da çeşitlilik ve nötralite indeksleri	36
4.4 Genetik gruplara göre demografik özelliklerin dağılımı	37
4.5 Genetik gruplara göre kist özelliklerinin dağılımı	38

1. GİRİŞ

Kistik Ekinokokkozis(KE), *Echinococcus* cinsi parazitlerin larva formunun insanlarda neden olduğu zoonotik bir hastalıktır. KE dünya genelinde en yaygın zoonotik hastalıklardan biri olup, özellikle kırsal kesimlerde besi hayvanları ve köpeklerle yakın temasta olan kişilerde görülmektedir. *Echinococcus* cinsinin yaşam döngüsü temel olarak evcil/ vahşi etobur ve otobur hayvanlar arasında devam etmekte, insan bu döngüde rastlantısal olarak yer almaktadır. Parazitin erişkin formu köpek, kurt vb etoburların ince bağırsağına yerleşmekte, dışarı atılan gebe halkalar ile dış ortama yumurtaları yayılmaktadır. Enfektif yumurtaların ağız yoluyla otobur hayvanlar veya insan tarafından alınmasıyla döngü devam etmekte ve larvası çoğunlukla karaciğer olmak üzere böbrek, dalak, kas ve beyin gibi organlara yerleşmekte ve hidatik kist oluşturmaktadır (1).

Echinococcus cinsinin sınıflandırması günümüzde hala tartışmalıdır. Cins içerisinde temel olarak *E. granulosus*, *E. multilocularis*, *E. oligarthrus* ve *E. vogeli* olmak üzere 4 türün varlığı kabul edilmektedir (2). Dizi analizleri sonucu, KE etkenlerinin genetik çeşitlilik gösterdiği saptanmış; bu çeşitliliğin parazitin yaşam döngüsü ve konak özgüllüğünde çeşitli farklılıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Güncel verilere göre, *E. granulosus* türü içerisinde 10 genotip (G1-G10) tanımlanmaktadır (3). Bu genotipler, mitokondriyal DNA dizilerine göre, *E. granulosus* kompleksi; *E. granulosus* sensu stricto (genotip G1-G3), *E. equinus* (G4), *E. ortleppi* (G5) ve genotip kümesi *E. canadensis* (G6-G10) olarak gruplandırılmaktadır (2, 4, 5). *E. granulosus* sensu stricto dahilinde, G1-Evcil koyun suşu, G2-Tazmanya koyun suşu ve G3-Manda suşu dünya genelinde en geniş yayılım gösterenlerdir (6). Enfeksiyon oluşturan farklı genotiplerin, klinik gidişlerinin değişikliklere farklı klinik sonuçlara neden olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmektedir.

Türkiye, KE açısından endemik bir bölge olmasına rağmen genotip dağılımı ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Bu çalışma, Türkiye kaynaklı, insanlardan elde edilmiş parazit materyali kullanılarak genetik çeşitlilik ve populasyon yapısının irdelendiği ve genetik çeşitlilik ile klinik özellikler arasındaki korelasyonun araştırıldığı ilk çalışmadır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Tarihçe

Kist hidatik veya kistik ekinokokkozis (KE), eski çağlardan beri bilinen zoonotik bir hastalıktır. Özellikle karaciğerde yerleşmiş olan kistlere dair ilk gözlemler, M.Ö 4. yy'da Hipokrat, M.S. 1. yy'da Aretaeus ve M.S. 2.yy'da Galen gibi hekimlerin içi sıvı dolu keselerin varlığını farketmesine dayanmaktadır. İnsanlardaki hidatik kistlerin betimlemeleri de Corpus Hippocratorum'da, Galen'in çalışmalarında ve daha sonraki dönemlerde Avrupa'daki tıbbi kayıtlarda, mukus kesesi, genişlemiş bez, deforme kan damarları, lenfatik varis veya lenf birikimi olarak kayıtlara geçmiştir (1). 17. yy'da Francesco Redi, parazitin skolekslerini betimlemiş ve kistlerin parazitik doğasını tanımlamıştır. 1766'da Peter Simon Palas, hidatik kistlerin parazitin larval dönemini temsil ettiği hipotezini önermiştir (1). 1786 yılında Batch, otçul hayvanların çeşitli organlarında oluşan hidatik keseleri tanımlayarak "*Hidatigena granulosa*" olarak adlandırmıştır (2). C.A.Rudolphi, 1801 yılında köpeklerin ince bağırsaklarında görülen parazitik küçük şeritlerin, farklı yaşam evresi olan larva dönemini temsil eden hidatik kiste "*Echinococcus*" adını vermiş, 1808'de ise insanlardaki ekinokokkozis için "Hidatik kist" terimini kullanmıştır. Tıp literatüründe ilk kist hidatik bildirim, 1821'de Bresmer tarafından yapılmıştır (2,3). 1843 yılında, protoskoleks görülmeyen kistlerin de kist hidatik olduğu Liviois tarafından gösterilmiştir (2). 1853'te Carl von Siebold, koyunlardaki kistlerin köpeklerde yetişkin parazitlere neden olduğunu bildirmiş, 1863 yılında ise Bernhard Naunyn, kist hidatik olan organ ile beslenen köpeklerde, yetişkin parazitin görüldüğünü saptamıştır (1). Felix Deve 1901'de, bütünlüğü bozulmuş kistteki protoskolekslerin başka dokulara ulaşmasıyla, sekonder kistlerin oluştuğunu deneysel olarak göstermiştir (2). Hastalığın kliniğinin tam olarak anlaşılması 1900'lerin başlarını bulmuştur.

Ülkemizdeki ilk hidatik kist olgusu, 1939 yılında Dr. Kamile Aygün tarafından bildirilmiştir. Sonrasında ülkenin hemen hemen her bölgesinden olgu bildirimleri yapılmaya başlamıştır. KE'nin ülkemizdeki yaygınlığı göz önüne alınarak, 1958 yılında Prof. Dr. Muhittin Ülker ve arkadaşları tarafından Türk Hidatoloji Derneği kurulmuştur (4).

2.2 Sınıflandırma

Antik çağlardan beri, insanlar ve hayvanlarda bilinen kistik ekinokokkozis birçok dilde isimlendirilmiştir. 1758 yılında, modern zoolojik isimlendirmenin başlamasıyla birlikte, 19. yy sonlarına kadar *Echinococcus* için en az 85 binominal veya trinominal, büyük çoğunluğu metasestod formunun morfolojik özellikleri ve konak orijini esas alınarak verilen, Latince isimler yayınlanmıştır. Kabul edilen ilk geçerli isim *Hydatigena granulosa* olarak Batch tarafından 1786'da verilmiştir. Kısa bir süre sonrasında, 1801'de Rudolphi, kist içerisinde küçük, yuvarlak, dikenli protoskolekslerin varlığını belirterek, bugünde kabul edilen *Echinococcus* cins ismini yayınlamıştır. Fakat metasestod ve erişkin formları arasındaki bağlantı farkedilememiş ve Rudolphi erişkin *Echinococcus* için 1808'de *Taenia cateniformis* ismini önermiştir. 19. yy sonlarında, yaşam döngüsündeki tüm formlar için *Echinococcus granulosa* adı kullanılmaya başlanmıştır (5).

Güncel sınıflandırmada *Echinococcus* cinsi, Metazoa alemi içerisinde, Plathelminthes şubesi, Cestoda sınıfı, Eucestoda alt sınıfı, *Cyclophyllidea* takımı, *Taeniidae* ailesi içerisinde sınıflandırılmaktadır. Filogenetik çalışmaların sonucunda, *Echinococcus* cinsi içerisinde 4 tür kabul edilmiş, *Echinococcus granulosa* (Batsch, 1786), *Echinococcus multilocularis* (Leuckart, 1863), *Echinococcus oligarthus* (Diesing, 1863) ve *Echinococcus vogeli* (Raussh ve Bernstein, 1792) olarak belirlenmiştir (6). Bunlara ek olarak, *Echinococcus felidis* ve *Echinococcus shiquicus* türlerinin sırasıyla *E.granulosus sensu stricto* ve *E.multilocularis* ile kardeş türler oldukları kabul edilmiştir (7-9). Şu an ki mevcut durumda, *E.granulosus* 5 türe ayrılmış bunlar, *E.granulosus sensu stricto*, *E.felidis*, *E.equinus*, *E.ortleppi*, *E.canadensis*, bunlara ek olarak alveolar ve polikistik ekinokokkozis etkenleri de *E.multilocularis*, *E. oligarthus*, *E. vogeli* ve *E. shiquicus* olarak kabul edilmektedir (5).

2.2.1 Suşlar ve Genotipler

1980'lerin başında, *E.granulosus*, *E.multilocularis*, *E.oligarthus* ve *E.vogeli*'nin tür olarak varlığı tartışmasız bir biçimde kabul edilmiştir (10). Ancak *E.granulosus* türü içerisinde, morfolojik özellikler, konak özgüllüğü, biyokimyasal parametreler, biyolojik gelişim evreleri ve coğrafi dağılım gibi özellikler açısından farklılık gösteren,

azımsanmayacak miktarda varyant olduğu gösterilmiştir. 1967 yılında Rausch'un öne sürdüğü, tüm simpatrik alttürlerin kaldırılmasına yol açan biyolojik tür kavramı uygulaması, birçok bilim adamı tarafından eleştirilmesine rağmen varyantların alttür isimleri alması konusunda hiçbir girişimde bulunulmamıştır (5). Bunun yerine, tür içi farklılıkları belirten "suş" kavramı kademeli bir şekilde kurulmuştur. Bu terim, epidemiyolojik öneme sahip özellikler açısından farklılık gösteren varyantları tanımlamak için kullanılmıştır (11). Bunun sonucunda, Evcil Koyun, Tazmanya Koyun, Manda, At, Sığır, Deve, Domuz, Varyant Domuz (İnsan-Domuz), Geyik, Fennoscandian Geyik ve Aslan olmak üzere 11 suş tanımlanmıştır. Suş ve genotiplerin ara ve son konakları Tablo 1.1'de özetlenmiştir. Tanımlamada, konak spektrumu, morfoloji ve coğrafik özellikler gibi genetik olmayan parametreler kullanılmıştır (5,12,13).

1990'lara gelindiğinde, tür ve suşların tanımlanmasında gen dizilerinin kullanımı hızla önem kazanmıştır. Mitokondriyal genler olan sitokrom oksidaz alt ünite 1 (cox1) ve nikotinamid adenin dinükleotit dehidrogenaz alt ünite 1 (nad1) genlerinin kısmi dizilerinin belirlenmesi ile ilk etapta 4 türün varlığı kesinleştirilmiş, bunun yanı sıra *E.granulosus*'un 7 suşu, genotip (G1-G7) olarak kabul edilmiştir. Epidemiyolojik ve biyolojik özellikler esas alınarak belirlenen suşlardan, kısıtlı sayıda birey genotiplendirme çalışmaları için analize alınmasına rağmen suş ve genotip kavramları birbiri yerine kullanılmaya başlanmıştır (5). Genotipler, suş isimleri korunarak, Evcil koyun suşu (G1), Tazmanya koyun suşu (G2), Manda suşu (G3), At suşu (G4), Sığır suşu (G5), Deve suşu (G6) ve Domuz suşu (G7) olarak belirlenmiştir (12,13). İlerleyen zamanlarda, Geyik (G8), İnsan (G9) ve Fennoscandian geyik (G10) suşları da genotip olarak kabul edilmiştir. Genotiplendirme için Aslan suşuna ait biyolojik örnek bulunmaması nedeniyle Aslan suşu genotiplendirme dışında kalmıştır (5,14-16).

İlerleyen zamanlarda, *E.granulosus* suşları ile ilgili biyokimyasal, coğrafi ve epidemiyolojik bilgilerin birikimi ve filogenetik analizlerde kullanılan mitokondriyal ve nükleer genlerden daha uzun diziler elde edilmesi ile tür içinde taksonomik yapının tekrar gözden geçirilmesi gerekmiştir (5). Buna göre *E.granulosus* kompleksi içerisinde; *E.granulosus* sensu stricto (genotip G1-G3), *E.equinus* (G4), *E.ortleppi* (G5)

ve genotip kümesi *E.canadensis* (G6-G10) olarak gruplandırılması önerilmiştir (8,15,17)

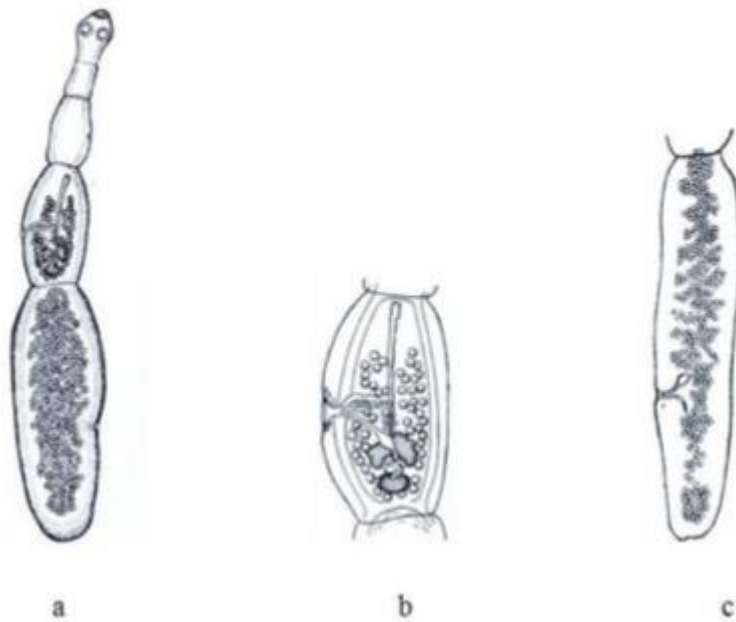
Tablo 2.1 *Echinococcus granulosus*'un suşlarının genel özellikleri (18'den uyarlanmıştır.)

Suş/Genotip	Ara Konak	Son Konak
Koyun/G1	Koyun, keçi, sığır, manda, yak, deve, domuz, kanguru	Köpek, tilki, dingo, kurt, çakal, sırtlan
Tazmanya Koyun/G2	Koyun, sığır, manda	Köpek
Manda/G3	Manda, sığır, koyun	Köpek, tilki?
At/G4	At, tek toynaklılar	Köpek
Sığır/G5	Sığır, koyun, keçi, manda	Köpek, tilki?
Deve/G6	Deve, keçi, sığır, koyun	Köpek
Domuz/G7	Domuz, yaban domuzu, sığır, keçi	Köpek, tilki?
Geyik/G8	Geyik	Kurt, köpek
İnsan/G9	İnsan	Köpekgiller
Fenoskandiyan geyik/G10	Geyik	Köpekgiller
Aslan	Manda, yaban domuzu, yaban öküzü, antilop, zebra	Aslan

2.3 Parazit Yapısı ve Morfolojik Özellikler

Echinococcus cinsi, aynı aile içerisinde yer alan *Taenia* cinsi erişkinlerinden farklı olarak yalnızca birkaç milimetre uzunluğa (3-7 mm) erişmektedir. Erişkinlerin

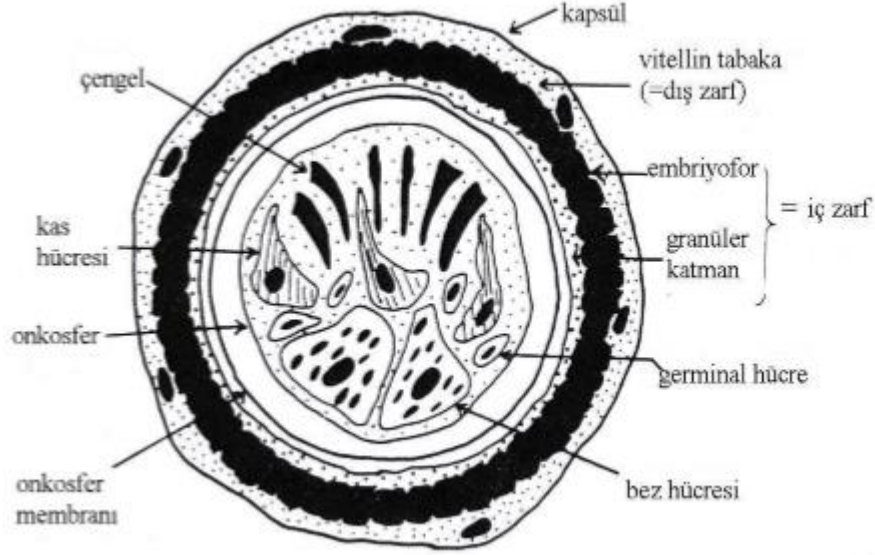
anteriyor kısmında skoleks olarak adlandırılan, iki sıra halinde çengel (Ön sırada büyük çengeller; uzunlukları 25-49 mikron, arka sırada küçük çengeller; uzunlukları 17-31 mikron) taşıyan rostellum ve dört adet çekmene sahip olan tutunma organı bulunmaktadır (19). Gövde veya strobila, segmentli olup genellikle 3 halkadan (proglotit) oluşmakla birlikte halka sayısı 2 ila 6 arasında değişebilmektedir. En sonda, yer alan gebe halkanın her iki genital organı gelişmiş durumda olup, ovaryum böbrek şeklinde ve arkasında vitellus kesesini bulundurmaktadır. Testisler ise genital deliğin ön ve arka kısmında bulunmaktadır(20,21). Genital delik yerleşimi, türlere göre farklılık göstermekte olup, halkanın ortasına yakın ya da arka yarısından dışarı açılmaktadır. Uterus dallanma göstermekte ve 200 ila 800 civarında yumurta içerebilmektedir (2,22-24). Erişkin formun şematik gösterimi Şekil 2.1’de gösterilmektedir.



Şekil 2.1 *Echinococcus granulosus*'un Erişkin formunun Morfolojik Yapısı. a: Erişkin formu b: Olgun halkası c: Gebe halkası (25'den alınmıştır.)

Yumurtaları, ovoid (30 μm -40 μm çapında) şekilde olup, birkaç zar (bunların içinde en belirgin ve yumurtanın koyu çizgili görünmesine neden olan keratinize embriyofor) ile çevrelenmiş şekilde, gelişmiş altı çengelli embriyo (onkosfer = ilk larval aşama) bulunmaktadır. Yumurtalar konaktan atıldıktan kısa bir süre sonra dış kapsülü

hızla kaybetmektedirler. Ayrıca morfolojik olarak, *Taenia* cinsi yumurtalarından ayırt edilememektedir (19) Yumurtanın morfolojik yapısı Şekil 2.2’de gösterilmektedir.



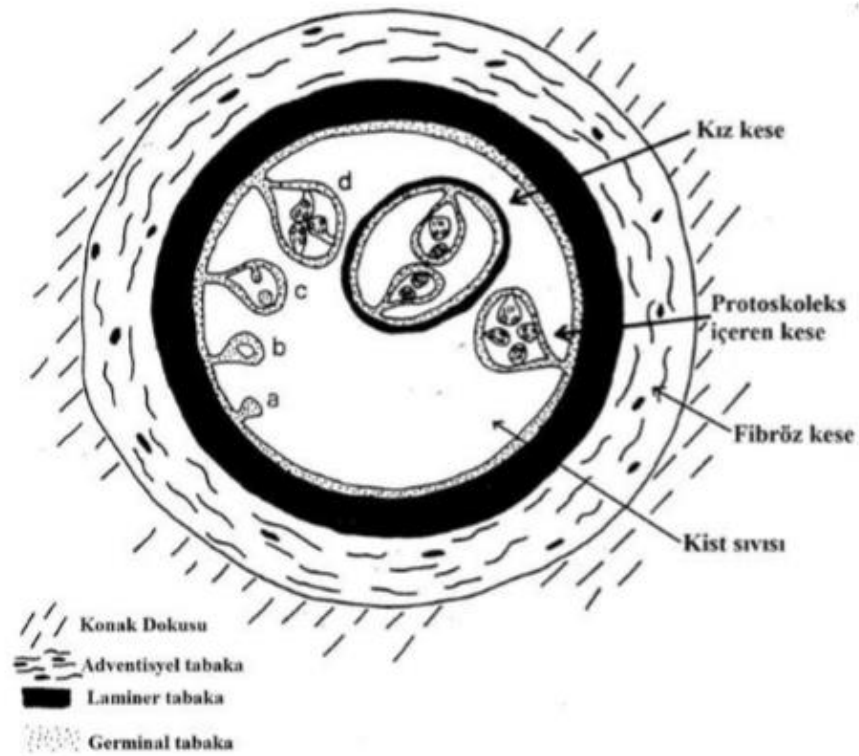
Şekil 2.2 *Echinococcus* yumurtası (25’den alınmıştır.)

Metasestod formu, esas olarak hücre bulunmayan bir tabaka ve tomurcuklanma sonucu meydana gelen çimlenme kapsüllerini oluşturan çekirdekli germinal tabakadan oluşmuş kese biçimindeki larval formu tanımlamaktadır (23) (Şekil2.3). Metasestod, gelişim evreleri ve yapı bakımından *Echinococcus* türleri arasında farklılık göstermektedir (19). Türler göre, metacestod formların ara konaklarda neden oldukları hastalıklar farklı adlandırılmaktadır. *Echinococcus granulosus* etken ise kistik ekinokokkozis, *Echinococcus multilocularis* etken ise alveolar ekinokokkozis, *Echinococcus oligarthrus* veya *Echinococcus vogeli* etken ise hastalığa polikistik ekinokokkozis adı verilmektedir (23). *E.granulosus*’un metasestod formu “hidatik kist” olarak da adlandırılmakta ve diğer türlerin metasestod formlarına göre daha basit bir yapı göstermektedir. Oluşan kistler genellikle uniloküler yapıda olmakla birlikte multiveziküler yapı olarak da görülebilmektedir (23,26). Uniloküler yapıdaki kistler her zaman tek bir kese yapısı göstermekte olup, içerisinde kız kistler bulundurabilmektedir. Multiveziküler yapıdaki kistlerin farklılığı ise kistin dışı doğru (ekzojen) kız keseler

oluşturması ve sonucunda birbirine bağlı çok sayıda küçük kistin oluşturduğu bir yapı haline gelmeleridir (23).

Metasestod, formun yapısı incelendiğinde, küre şeklinde içi sıvı dolu, içte germinal tabaka ve dışta laminar tabakadan oluştuğu görülmektedir. *E. multilocularis* hariç tüm türlerde kist, dıştan konak kaynaklı adventisyal tabaka ile çevrili bulunmaktadır (22,27). Germinal tabaka, yapısal olarak tegument, kas ve glikojen depolayıcı farklılaşmış hücrelerden meydana gelmekte olup, iki tabaka arasındaki süreklilik tegümental hücreler vasıtasıyla sağlanmaktadır. Germinal tabakadaki farklılaşmamış hücreler çoğalarak kist içine doğru uzayan kapsülleri oluşturmakta, başlangıçta membrana bağlı, çok sayıda çengel taşıyan rostellum taslağının invaginasyonu ile protoskoleksler meydana gelmektedir. İçleri steril hidatik sıvı ile dolu olan kistlerin yaşlanmasıyla içlerinde, kız keseler, serbest protoskoleksler bulunabilmekte ve bunlar “hidatik kum” olarak isimlendirilmektedir (28,29). Üreme kapsülleri, protoskoleks ve kız keseler bulundurmayan hidatik kistlere “steril kist”, bulunduranlara ise “fertil kist” denmektedir (18,23,24,28,30).

Dıştaki laminar tabaka, konak canlıda gelişen immun yanıtına karşı kisti korumakta, fakat antikorların geçişine engel olamamaktadır. (23,26). Kist sıvısı, bir diğer adıyla “kaya suyu” genellikle berrak, renksiz, kokusuz olup, antijenik bir yapı göstermektedir (20,30). Kistin yırtılması sonucu içeriğinin serbestleşmesi, antijenik özelliği nedeniyle anafilaktik reaksiyonlara yol açabilmektedir (24,31, 32).

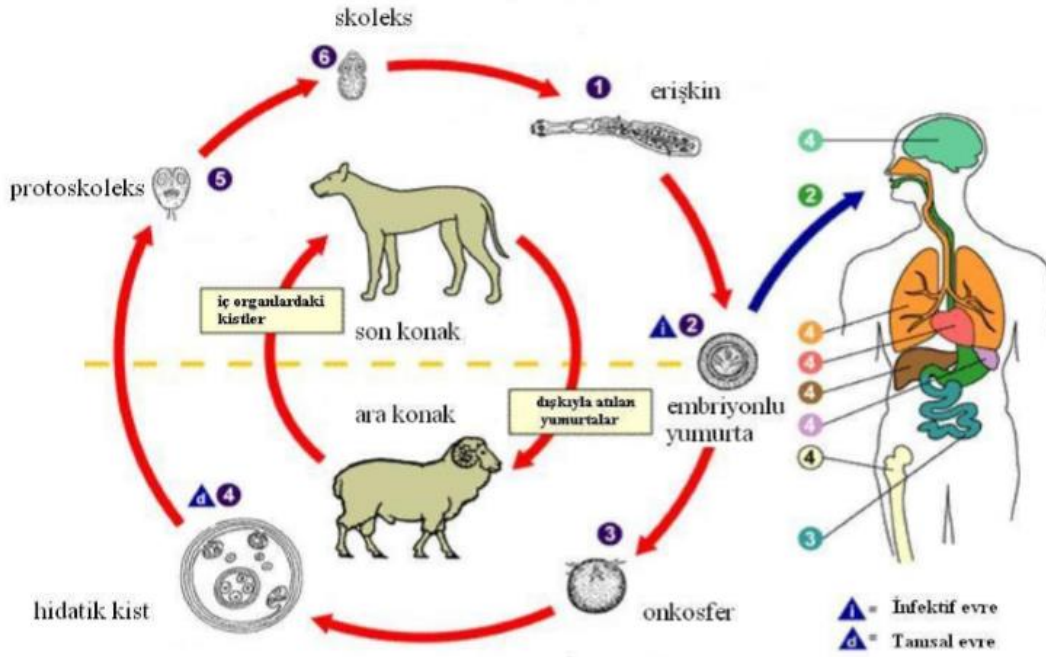


Şekil 2.3 *E. granulosus*'un metasestod formu (25'den alınmıştır)

2.4 Yaşam Döngüsü

Echinococcus cinsinin yaşam döngüsü temel olarak evcil/ vahşi etobur ve otobur hayvanlar arasında devam etmekte olup, insan bu döngüde rastlantısal olarak yer almaktadır. Parazitin erişkin formu kesin konak olan köpek, kurt vb. etoburların ince bağırsağına yerleşmekte, seksüel olgunlaşma sonrasında yumurta üretimi başlamakta, serbest şekilde veya dışarı atılan gebe halkalar ile yumurtalar çevreye yayılmaktadır. Çevre koşullarına çok dayanıklı olan yumurtalar, 1 yıla kadar görece düşük sıcaklıklarda (4-15 °C) enfektif kalabilmektedir. Donmaya karşı da dayanıklı olan yumurtalar, aşırı sıcaklık ve kuruluğa karşı hassas olup, birkaç gün içerisinde ölmektedir. Enfektif yumurtaların ağız yoluyla ara konak olan otobur hayvanlar ve/veya rastlantısal konak olan insan tarafından alınmasıyla döngü devam etmektedir. Ağızdan alınan yumurtalardan, mide ve ince bağırsaktaki enzimlerin etkisiyle keratinize embriyofor açılır ve onkosfer açığa çıkmaktadır. Safra salgılarının etkisiyle aktive olan

onkosfer, ince bağırsak duvarına tutunmaktadır. Onkosfer, venül veya lenf damarına erişim sağladığında pasif yolla çoğunlukla karaciğere taşınmakta olup, bazıları akciğer, böbrek, dalak, kas ve beyin gibi organlara yerleşmekte ve hidatik kist oluşumuna sebep olmaktadır (19) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 *E. granulosus*'un yaşam döngüsü (29'den alınmıştır.)

Onkosferler, tutundukları organlarda parankime yerleşir ve salgıladıkları enzimler aracılığı ile çevre dokuya hasar vererek vezikül oluşturmaktadır. Vezikül çok yavaş büyüyerek beş ay sonunda ancak 1 cm çapa ulaşmakta, gelişmeleri yaklaşık 10 ila 20 yıl hatta daha uzun sürebilmektedir. Oluşan her bir protoskoleks seksüel olarak olgun erişkin birey oluşturma kapasitesine sahip olmaktadır. Kistlerin içinde protoskoleksler oluşmaya başlaması aylar almaktadır ve bu oluşum, her kiste görülmemekle birlikte kistin büyüklüğüne, konağa ve tutulum gösterdiği organa göre farklılık gösterebilmektedir. Örneğin; koyunlarda bulunan çoğu kist protoskoleks içermekteyken (fertil kist), sığırlardaki çoğu kiste protoskoleks görülmemektedir (steril kist) (19,33).

Protoskoleksler kesin konak olan köpek, kurt vb. etoburlar tarafından alındıktan sonra, midede pepsin aktivitesi sonrası duodenumun üst kısmında pH değişikliği, safra ve yükselen sıcaklık sonucu açılmakta ve mukozaya tutunmaktadır. Enfeksiyon sonrası tür, suş ve konağın duyarlılığına bağlı olarak 4- 6 hafta sonunda olgun erişkinler meydana gelmektedir (19).

2.5 İmmünolojisi

KE çok uzun zamandır bilinen bir hastalık olmasına rağmen immünolojisi hala tam aydınlatılamamıştır. Diğer enfeksiyonlarda olduğu gibi, konağın KE'ye olan duyarlılığı yaş, cinsiyet ve fizyolojik özelliklere göre farklılık göstermektedir. Ayrıca immün yanıt, kistin bulunduğu organ ve parazitin yoğunluğu ile de yakın ilişkili bulunmuştur. Parazit, poliklonal B hücre aktivasyonuna neden olarak değişik tipte immünglobulinlerin salgılanmasına yol açmaktadır. KE'ye verilen immün yanıt oldukça değişken olup, araştırmalar olguların %10'unun seronegatif olduğunu bildirmektedir. Metasestodun, laminer ve germinal tabakaları olması ayrıca konak kaynaklı adventisyanın varlığı, kist içerisine büyük moleküllerin geçişini engellemekte ve koruyucu bir mekanizma oluşturmaktadır (28).

2.6 Klinik

Enfeksiyon başlangıçta her zaman asemptomatik olup, sonrasında yavaş büyüyen kistler ile meydana gelmektedir. KE için klinik semptomlar çeşitlilik göstermekle birlikte patognomonik olmayıp, yıllarca asemptomatik kalabilmektedir. Birkaç ay veya yıl gibi belirsiz bir inkübasyon süresi sonunda, kistlerin komşu doku üzerindeki baskıyı arttırmaları veya diğer patolojik olaylar sonucu enfeksiyon semptomatik hale geçebilmektedir. Asemptomatik seyreden bir kistin aniden belirti vermesi genellikle spontan ya da travmatik kist rüptürü sonucunda görülmektedir (34). Buna ek olarak laminar membranın parçalanması ile kistin içine serum sızması sonucu bakteri kolonizasyonu gerçekleşebilmekte ve kistler yerleşim gösterdikleri organda apse kliniği ile belirti görülebilmektedir (35).

Etkenin *E. granulosus* olduğu olguların, %70'ten fazlasında tek bir kist bulunduğu ve %85-90 oranında tek organ tutulumu olduğu görülmektedir. Kistlerin

yerleşim sıklığına göre organlar, %50-70 karaciğer, %10-30 akciğer ve %10 diğer organ ya da dokular olarak belirlenmiştir. En sık yerleşim görülen karaciğerde, kistlerin çoğunun sağ lob yerleşimli ve tek oldukları görülmektedir. Akciğerde ise kistlerin %70'i tek bulunmakta ve genellikle sağ akciğer ve alt lob tutulumu göstermektedir (23,24). Akciğerde kist yerleşimi gösteren KE'li olgularda, %20-40 karaciğerlerinde de kist görülmektedir. Böbrekte yerleşim gösteren olgularda ise, kistler genellikle tek ve kortekse yerleşmiş olarak bulunmaktadır. Kemikte yerleşim görülme oranı %0.5 ile 4 arasında olup, çoğunlukla omurga ve pelviste yerleşim göstermektedir. Beyin yerleşimi ise %1 sıklıkla görülmektedir (35).

Hastalığın çok özgün belirtileri olmamakla birlikte, eozinofili, çocuklarda gelişim hızının yavaşlaması gibi genel belirtiler veya yerel belirtiler olarak sağ üst kadranda ağrı, karın şişliği, karın ağrısı, dispepsi, kusma, sarılık ve ateş görülebilmektedir (36).

Karaciğerde kistlerinde komplikasyonlara sık rastlanmakta olup, bunlar, komşu organlara bası, kistin yırtılması ve patlaması, safra yollarına açılma, sindirim kanalına açılma, peritona açılma, göğüse açılma, vena kavaya açılma ve kistin iltihaplanması olarak sayılabilmektedir (36).

2.7 Tanı

KE için klinik semptomlar çeşitlilik göstermekle birlikte patognomonik bir bulgu bulunmamaktadır. KE tanısı temelde ultrasonografi(US), bilgisayarlı tomografi (BT), röntgen ve manyetik rezonans (MR) gibi invaziv olmayan görüntüleme tekniklerine dayanmakta, karakteristik olmayan görüntüleme bulgularının var olduğu olguların tanısında serolojik testler kullanılmaktadır. Ayrıca alınan kist sıvısında protoskoleks görülmesi parazitolojik açıdan tanıyı doğrular nitelik taşımaktadır (37).

2.7.1 Radyolojik Tanı

Günümüzde görüntüleme teknikleri, çoğu olguda KE tanısı koymak için tek başına yeterli veriyi sağlamaktadır. Beyin ve omurgadaki lezyonlar hariç, US ve

konvansiyel radyografi tanı ve tedavi stratejisinin belirlenmesi için yeterli olmaktadır (38). Abdominal US taraması, tanı yöntemlerindeki hiyerarşiyi alt üst etmiş, varolan kistlerin sayı, büyüklük (kist>1 cm) ve lokasyonlarını tespit etmenin yanı sıra hidatik kistin doğal gelişiminin izlenmesi ve diğer organlarla ilişkisinin belirlenmesine olanak sağlamaktadır(34).

E.granulosus'un etken olduğu kistlerin farklı US görünümleri temel alınarak birçok bilim adamı tarafından, sınıflandırma şemaları önerilmiştir. Önerilen tüm sınıflandırmalar dikkate alınarak 2001 yılında Dünya Sağlık Örgütü'nün Ekinokokkozis çalışma grubu (WHO-IWGE), karaciğer hidatik kisti için hastalığın aktivitesini temel alan ve tüm dünyada kabul gören bir sınıflama yayınlamıştır (Şekil 5) (34, 39). Bu sınıflandırmaya göre;

CL, yuvarlak, uniloküler, anekoik içerikli, duvarı ayrıca seçilemeyen kistik lezyon olarak tanımlanmaktadır. Bu lezyonlar hidatik kist ise hastalığın erken evresindedir. US incelemesinde patognomonik bulgu yoktur (39).

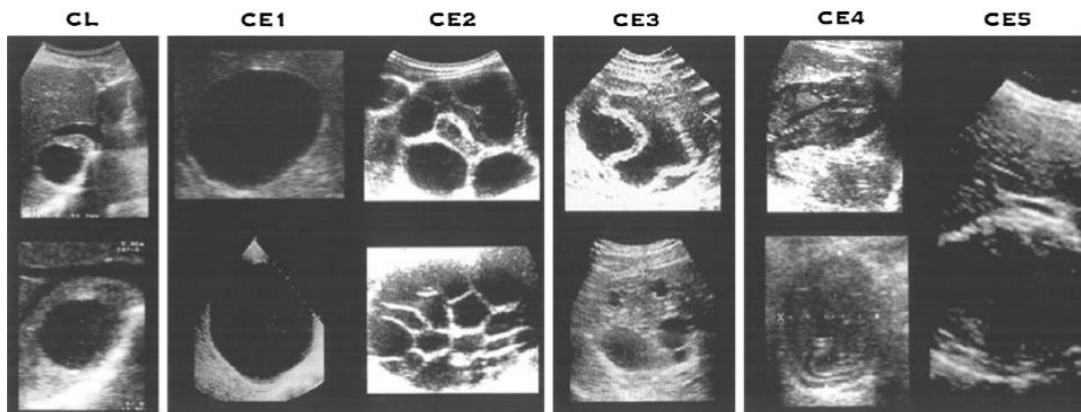
CE tip 1, Yuvarlak veya oval, uniloküler, uniform anekoik içerikli veya hidatik kum bileşeni olabilen, duvarı mevcut kistik lezyon olarak tanımlanmaktadır. Aktif dönemde ve sıklıkla fertildir. US incelemesi açısından duvarının izlenmesi ve hidatik kum varlığı patognomoniktir (39).

CE tip 2, Yuvarlak veya oval, 'araba tekerleği' veya 'balpeteği görünümü' oluşturan multiveziküler, multiseptalı, duvarı izlenen kistik lezyon şeklinde tanımlanmaktadır. Kız kistleri, ana kistin içini tamamen ya da kısmen doldurabilmektedir. Aktif dönemde ve sıklıkla fertildir. US incelemesinde bu bulgular patognomoniktir (39).

CE tip 3, 'Nilüfer çiçeği' bulgusunu oluşturan kist duvarından ayrılmış yüzen membranın izlendiği (tip 3A) ya da azalmış sıvı içeriğine bağlı yuvarlaklığı azalmış, uniloküler, kız kistler de içerebilen formda (tip 3B) kistik lezyonlar olarak tanımlanmaktadır. Kist dejenerasyonu başlamış olup, transizyonel evrededir. Ancak halen kız kist oluşumu görülebilmektedir. US incelemesinde bu bulgular patognomoniktir (39).

CE tip 4, Heterojen hipoekoik veya hiperekoik dejeneratif içerikli, kız kist içermeyen ve ‘yün yumağı’ görünümünde dejeneratif membranların izlenebildiği lezyon olarak tanımlanmaktadır. İnaktif dönemdedir. Pek çok kist canlı protoskoleks içermez. US bulguları patognomonik değildir. Kesin tanı için ek tanı testlerine ihtiyaç vardır (39).

CE tip 5, Kalın kemer şekilli kalsifiye duvarı posteriyor akustik gölgesi ile karakterize lezyon olarak tanımlanmaktadır. Kalsifikasyon parsiyel ya da komple olabilir. İnaktif dönemdedir. Kistlerin büyük çoğunluğu canlı protoskoleks içermez. Bulgular kesin tanı açısından patognomonik olmamakla birlikte yüksek olasılıkla kist hidatiği destekler niteliktedir (39).



Şekil 2.5 WHO-IWGE tarafından standardize edilmiş hidatik kist sınıflandırması (37’den alınmıştır.)

2.7.2 Serolojik Tanı

Serolojik testler, her zaman saptanabilir immün yanıt gösterilememesine rağmen radyolojik tanıyı doğrulamada ve tedavi sonrası hastaların takibinde kullanılmaktadır (40,41). Parazit kaynaklı proteinlerden oluşan hidatik kist sıvısındaki, antijenler kullanılarak geliştirilen, ELISA, IHA ve lateks aglütinasyon yöntemleri laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılan yöntemler olmak ile birlikte IFAT ve WB de kullanımda olan testlerdir. Bu testlerin serumdaki antikörleri saptama duyarlılığı, karaciğer kistleri için %85-98, akciğer kistleri için %50-60 ve çoklu organ tutulumu

olan kistler için %90-100'dür (37,42). IgG-ELISA testi birçok ülkede hali hazırda kullanılmakta olup, tüm serolojik testler arasında en iyi seçenektir (34).

Çoğu rutin laboratuvar test sistemi ve ticari olarak satılan kitlerde ham ya da yarı saflaştırılmış *E.granulosus* antijenleri kullanılmaktadır. En sık kullanılan iki hidatik kist sıvısı antijeni; ısıya dayanıksız "Antijen 5" ve ısıya dayanıklı "Antijen B" dir. Antijen B, polimerik bir protein olup, proteaz inhibitör aktivite, nötrofil kemotaksis inhibisyonu, bağışıklık hücrelerinin apoptozisinin indüklenmesi gibi biyolojik aktivitelere sahiptir. Antijen 5'de yine hidatik kist sıvısında bolca bulunan immunojenik bir bileşen olup, biyolojik aktivitesi büyük ölçüde belirsizdir. Fakat her iki antijenin *Taenia* cinsi organizmalarda da bulunması özgüllüğü düşüren en önemli faktördür (43).

Testlerin özgüllüğünü kısıtlayan diğer faktörler, diğer sesto enfeksiyonları (*E. multilocularis* ve *Taenia solium*), bazı helmint enfeksiyonları, malignansiler, karaciğer sirozu ve anti-P1 antikorlarına bağlı çapraz reaksiyonlar olarak sıralanmaktadır (37).

Testlerin yüksek duyarlılık oranlarına rağmen her zaman antikor tespit edilememesi, beyin ve göz gibi organlarda yerleşim gösteren kistler ile kalsifiye olmuş kistlere karşı, genellikle çok düşük ya da hiç immün yanıt oluşmamasından kaynaklanmaktadır (44).

2.7.3 Mikroskopik İnceleme

Aspire edilmiş hidatik kist sıvısında karakteristik protoskolekslerin görülmesine dayanmaktadır. Vital boyama ile protoskolekslerin canlılıkları hakkında bilgi verilebilmektedir. Ancak yöntemin çoğunlukla tercih edilmemesinin nedeni, sadece cerrahi müdahale, terapötik ponksiyon (PAIR) veya tanısal ponksiyon sonucu materyal elde edilebilmesidir (34,37).

2.7.4 Moleküler Yöntemler

Moleküler yöntemler, tanıdan ziyade elde edilmiş kist materyalinde tür ve suş düzeyinde ayırım yapılabilmesini sağlamakta olup, bu amaçla kullanılan birçok yöntem bulunmaktadır (11,29,45,46,47)

2.7.4.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu, ‘‘polymerase chain reaction’’(PCR) iki oligonükleotid primer arasında bulunan kalıp DNA’nın enzimatik olarak çoğaltılması esasına dayanan bir yöntemdir. Primerlerden biri hedef dizinin bir zincirine komplementer, diğer primer de zıt yöndeki diğer zincire komplementer olup, primerler aralarında kalan diziyi DNA polimeraz enzimi aracılığı ile sentezleyerek çoğaltır (48). PCR’ın tür ayırımı ve genotiplendirmede kullanılması ile ilgili birçok çalışma mevcuttur(11,46,47). 2004 yılında Dinkel ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; *E.multilocularis*, *E.equinus*, *E.ortleppi* ve *E. granulosus*’un G1, G6 ve G7 suşlarının da dahil olduğu 16 türün izolatlarının değerlendirilmesi sonucu PCR analizinin özgülüğü % 100 olarak bulunmuştur (45).

Echinococcus türleri arasındaki genetik çeşitliliği belirlemek ve genotip tayini amacıyla, rRNA kodlayan bazı gen bölgeleri (internal transcribed spacer 1 (ITS1), Antijen B/1 (AgB/1), BG1 DNA prob, Aktin III (ActIII), MS Microsatellite U1 snRNA bölgesi (MS), Elongasyon Faktör 1 alfa (ef1a) veya mitokondriyal gen bölgeleri cox1 ve nad1 hedeflenerek çoğaltılıp, dizi analizleri ile genotip tayini yapılmaktadır (12,13,49).

2.7.4.2 Restriksiyon Fragman Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP)

Restriksiyon enzimleri (RE), çift iplikli DNA’da 5-10 baz uzunluğunda özgül bölgeleri tanıyarak, bu noktalardan kesim yapmakta, DNA’dan bir genin veya gen taşıyan bir segmentinin çıkarılmasını sağlamaktadırlar. DNA’nın bu enzimlerden bir veya birkaçı ile kesime uğratıldıktan sonra, agaroz jel elektroforezinde yürütülmesi sonucu oluşan bant paternlerinin yeri ve sayısı kıyaslanarak elde edilen çeşitliliğe ‘‘restriction fragment length polymorphism’’ adı verilmektedir. Bu yöntem, uygulama ve yorumlama konusunda deneyim gerektirmektedir. Sonuçların diğer yöntemlere kıyasla görece uzun sürede alınması ve maliyetinin yüksek olması dezavantajlarındandır. Diğer tiplendirme teknikleri ile kıyaslandığında laboratuvarlar arası sonuç uyumları yüksek olmakla birlikte, ayırım gücü orta düzeydedir (45).

2.7.4.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonu - Restriksiyon Fragman Uzunluğu Polimorfizmi

Bu yöntemde, DNA'nın belirli bir bölgesi hedeflenerek özgül primerler ile çoğaltılmakta, sonrasında ürünler klasik RFLP'deki gibi bir veya birden fazla RE ile kesilerek agaroz jel elektroforezinde yürütülerek bant paternleri elde edilmektedir. Bu yöntem, *Echinococcus* izolatlarının yanı sıra diğer parazitlerinde ayırımında kullanılan görece basit ve duyarlı yöntemdir(45,50).

2.7.4.4 Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik Deoksiribonükleik Asit – Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA – polimeraz zincir reaksiyonu, “random amplification of polymorphic DNA – polymerase chain reaction” (RAPD-PCR), rastgele seçilmiş primer kullanılarak özgül bir bölge hedeflenmeden DNA'nın amplifiye edilmesine dayanan bir polimorfizm inceleme yöntemidir (22). Aynı yıllarda başka bir çalışma grubu tarafından da “Arbitrarily Primed PCR” (AP-PCR) olarak adlandırılarak uygulanmıştır. Bu yöntemde, nükleotid dizilimi rastgele seçilmiş, 9-10 baz çifti uzunluğunda bir veya daha fazla primer, düşük bağlanma sıcaklığında kalıp genomik DNA'ya bağlanarak amplifikasyon gerçekleştirmektedir (51). Reaksiyon sonunda ürünlerin agaroz jel elektroforezinde, ortaya çıkardığı bant profilleri karşılaştırılmakta ve aynı profile sahip olan izolatlar “epidemiolojik olarak ilişkili” şeklinde yorumlanmaktadır. Yöntemin en büyük avantajı, dizi analizi bilgisine ihtiyaç duyulmamasıdır. Hızlı ve kolay uygulanabilir bir yöntem olmasına rağmen tekrarlanabilirliğinin düşük olması ve zayıf profillerin ortaya çıkması durumunda polimorfizm değerlendirmesi kısıtlı olmaktadır (45).

2.7.4.5 Polimeraz Zincir Reaksiyonu - Tek Sarmal Konformasyon Polimorfizmi

Polimeraz zincir reaksiyonu - tek sarmal konformasyon polimorfizmi, “Polymerase Chain Reaction - Single Stranded Conformation Polymorphism” (PCR-SSCP); mutasyonları saptamada kullanılan ucuz, kolay uygulanabilir ve güvenilir bir yöntemdir. Temelde, PCR ile çoğaltılmış olan çift iplikli DNA'nın sıcaklığın artmasıyla

tek zincir haline dönüşmesi ve bu tek iplikli DNA'nın şekil ve büyüklüğüne bağlı olarak poliakrilamid jel içerisinde elektroforetik hareketinin incelenmesine dayanmaktadır (52,53).

2.7.4.6 DNA Dizi Analizi Yöntemi

DNA dizi analizi, DNA molekülünün nükleotit baz diziliminin belirlenmesi işlemidir. Bu amaçla en sık kullanılan yöntem, zincir sonlandırma yöntemi ya da diğer bir isimle Sanger dizi analizi yöntemidir. Bu yöntemin temeli, reaksiyonda OH grubu taşımayan dideoksinükleosittrifosfatların (ddNTP) kullanılmasıdır. Reaksiyon karışımına, DNA polimeraz ve dNTP'lerin yanı sıra dört reaksiyon tüpünün her birine farklı ddNTP'ler de substrat olarak eklenir, DNA sentezlenirken ipliğe dNTP eklenirse uzama devam ederken, ddNTP eklenmesi halinde zincir sonlanmaktadır. Reaksiyon sonucunda, her bir tüpte farklı uzunluklarda DNA parçaları elde edilmiş olmaktadır. Bu DNA parçaları poliakrilamid jel elektroforezinde incelenmektedir. Sonuçları görüntülemek amacıyla radyoaktif madde, kemilüminesans veya floresan veren boyalarla işaretleme yapılmaktadır. Her iki DNA zincirinin dizi analizi sonucu baz alınması, arka plan kirliliği ve diğer faktörlere bağlı hataları en aza indirmektedir (45).

2.8 Tedavi

KE için varolan tüm tedavi yöntemlerinin karşılaştırmalı klinik denemesi yapılmadığı için, en iyi tedavi yöntemi şeklinde bir genelleme yapılamamaktadır (37). Günümüzde, alternatif yöntemler olmasına karşın cerrahi hala *E.granulosus* kaynaklı kistlerin çıkartılması ve tam kür sağlanmasında en sık tercih edilen tedavi yöntemidir. Kistin yerleşimi riskli bir bölgede olmadığı sürece cerrahi tedavi yöntemi hastaların %90'ında başarılı sonuçlanmakta, buna rağmen, hastada çoklu organ tutulumu ve birden fazla kist mevcut ise yetersiz kalmaktadır. Kemoterapi ve "puncture-aspiration-injection-reaspiration" (PAIR) yöntemlerinin geliştirilmesi, özellikle cerrahi girişimin riskli olduğu veya operasyona uygun olmayan hastalar için alternatif tedavi yöntemleri olarak sunulmaktadır. Homojen olarak kalsifiye olmuş kist duvarı bulunan kistler cerrahi müdahale gerektirmemekte, tedavisiz izlem "Watch and Wait" yaklaşımı önerilmektedir. Her bir vaka için optimal tedavi yöntemi dikkatle değerlendirilmelidir.

KE için tedavi seçenekleri; Cerrahi, PAIR, Kemoterapi ve Tedavisiz izlem (Watch and wait) olarak sıralanmaktadır (34)

2.8.1 Cerrahi

Cerrahi tedavi yöntemi, büyük karaciğer kistlerinin varlığında, yüzeysel yerleşimli rüptür riski olan kistlerde, enfekte kistlerde, safra yollarına ve/veya hayati organlarda baskı yapan ve beyin, akciğer, böbrek gibi organlarda bulunan kistler için uygulanmaktadır (34). Cerrahi uygulama, çok yaşlılarda, gebe olan kadınlarda, riskli tıbbi durumu olan ve cerrahi yöntemi reddeden hastalarda kontrendikedir (41). Karaciğer yerleşimli KE için cerrahi yöntemler; Parsiyel hepatektomi, Perikistektomi, açık kistektomi (omentoplastili veya omentoplastisiz), palyatif cerrahi (enfekte kistin tüp drenajı) ve akciğer yerleşimli KE için kullanılan cerrahi yöntemler; Lobektomi, Kist ekstrüzyonu (Barrett tekniği) ve Perikistektomi olarak sıralanabilmektedir (54,55).

Cerrahi girişim öncesinde, protoskolisidal etki amacıyla, hem güvenli hem çok etkili ideal bir bileşik olmasa da, kistlerin içerisine hipertonic tuzlu su (%15-20), setrimid solüsyonu (%0.5), gümüş nitrat (%0.5) veya etanol (%70-95) enjekte edilmesi tavsiye edilen ve uygulanan bir yaklaşımdır (22,39,56,57). Cerrahi tedavi yöntemi kullanılmasının en büyük dezavantajı ise rekürrens durumudur. Yapılan araştırmalara göre cerrahi tedavi sonrası rekürrens riski %2-25 olarak belirtilmiştir (40).

2.8.2 Ponksiyon, aspirasyon, enjeksiyon, reaspirasyon (PAIR)

1980'li yılların ortalarında, US kılavuzluğunda kist ponksiyonu KE için tedavi amaçlı kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle opere edilemeyen veya cerrahi müdahaleyi reddeden hastalarda, karaciğer, abdominal boşluk, dalak, böbrek ve kemiklerde yerleşim gösteren kistlerin tedavisinde kullanılmaktadır. Karaciğerde bulunan ve kist tipi CL, CE1, CE2 ve CE3 olan, özellikle boyutu 5 cm'den büyük olan kistler için PAIR tedavisi uygulanmaktadır. Ayrıca cerrahi sonrası relaps gelişen veya kemoterapinin başarısız olduğu hastalarda da kullanılmaktadır. Uygulanan yöntemin basamakları sırasıyla şu şekildedir (34):

-US eşliğinde kistin perkütan ponksiyonu,

- Kist sıvısının büyük ölçüde aspire edilmesi,
- Protoskolisidal madde (tercihen %95'lik etanol) enjekte edilmesi,
- 15-20 dakika sonrasında kist sıvısının tekrar aspire edilmesi

2.8.3 Kemoterapi

Benzimidazol türevi bileşikler (albendazol ve mebendazol), opere edilemeyen hastalarda, iki veya daha fazla organda multipl kist bulunan hastalarda tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucu, kemoterapi başlangıcından 12 ay sonrasındaki değerlendirmelerde hastaların %10-30'unda kist tamamen kaybolmuş, %50-70'inde kist dejenerasyonu ve/veya kist boyutunda önemli ölçüde (%30'dan fazla) küçülme görülmüş, %20-30'unda ise herhangi bir değişiklik izlenmemiştir (34). Benzimidazol türevleri, cerrahi müdahale öncesinde ve sonrasında rekürrensi önlemek amacıyla da kullanılmaktadır (58).

Albendazol tedavi amacıyla, 10 mg/kg, günde iki kez, 14 günlük aralıklar ile 3-6 aylık döngüler halinde uygulanmaktadır. Mebendazol ile tedavi de ise günde 40-50 mg/kg, üçe bölünmüş dozlarda en az 3-6 ay kullanım önerilmektedir (34).

Benzimidazol türevi ilaç kullanımında, en sık görülen yan etkiler karın ağrısı, hepatotoksisite, nötropeni ve bazen alopesi olarak bildirilmiştir (40,59).

2.9 Epidemiyoloji

Kistik ekinokokkozis, kozmopolitan bir yayılım göstermekte olup, bazı bölgelerde ciddi halk sağlığı problemi yaratmaktadır. Endemik olarak bulunduğu bölgeler, Peru, Şili, Arjantina, Uruguay, Brezilya'nın güneyi, Akdeniz bölgesi, Orta Asya, Çin Halk Cumhuriyeti'nin kuzeybatısı ve Doğu Afrika olarak kabul edilmektedir. Antartika'da hiç bulunmadığı ve geniş çaplı eradikasyon programları ile İzlanda, Yeni Zelanda ve Tazmanya'da elimine edildiği bildirilmiştir (60). Sosyo-ekonomik açıdan geri kalmış, genel hijyen kurallarına uyulmayan ve hayvancılığın aktif olarak yapıldığı toplumlarda hastalığın görülme oranının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (61).

E.granulosus'un yaşam döngüsünün, ara konak olarak yer alan hayvanların coğrafik dağılımına göre, Avrupa'da İspanya, İtalya, eski Yugoslavya coğrafyası, Yunanistan ve Türkiye'de çoğunlukla köpek-koyun arasında gerçekleştiği görülmekteyken, Batı Avrupa ve İrlanda'da köpek-at arasında, Belçika, Almanya ve İsviçre'de çoğunlukla köpek-sığır arasında gerçekleşmektedir. Polonya, Macaristan gibi Doğu Avrupa ülkelerinde ise çoğunlukla köpek-domuz arasında olduğu görülmektedir (27).

Akdeniz bölgesinde yer alan ülkelerde ve Bulgaristan, Romanya gibi Doğu Avrupa ülkelerinde KE vakalarına sıklıkla rastlanmaktadır (62,63). Bulgaristan'da 1960'lı yıllarda başlatılan kontrol programının idari değişiklikler ve ekonomik yetersizlikler nedeniyle durmasına bağlı olarak, insanlarda ve hayvanlarda KE olguları son yıllarda yeniden görülmeye başlamıştır. 1971-1982 ve 1983-1995 yılları arasında köpek ve koyunlardaki enfeksiyon oranları %4-7 arasında seyretmekteyken, %19-32'ye yükseldiği bildirilmiştir. Aynı zaman zarfında, cerrahi olarak müdahale edilen vakaların sayısı da 176'dan 291'e yükselmiştir (64). Yunanistan'da KE için başlatılan kontrol programlarının öncesinde prevalans, sığır ve koyunlarda yaklaşık %80, keçilerde %24 ve domuzlarda %5 iken; 1998 yılında prevalans değerleri, koyunlarda %31.3'e, keçilerde %10.3'e, domuzlarda %0.6'ya ve sığırlarda %0 olarak bildirilmiştir (65).

Kıbrıs'da 1970'lere kadar KE, yaygın olarak görülen ve yıllık cerrahi insidans oranı 12.9/100000 olarak belirlenmiş, ciddi bir halk sağlığı problemi olarak görülmekteydi. 1971 yılında Veterinerlik Hizmetleri Bölümü ülke çapında bir kontrol programı başlatmıştır. Bu program kapsamında, sokak köpeklerinin kontrolü, sahipli köpeklerin kayıt altına alınması, dişi köpeklerin kısırlaştırılması, besi hayvanlarının kesimlerinin kontrol altına alınması, bütün köpeklere arekolin yöntemi uygulanması ve halkın bilinçlendirilmesi hedeflenmiştir (66). Programın 1985 yılında başarıyla tamamlandığı düşünülmüş ancak parazit döngüsünün çok düşük oranlarda da olsa devam ettiği görülmüş ve 1993 yılında 2. kontrol programı uygulamaya konulmuştur (27).

Orta Asya bölgesinde KE, ciddi bir halk sağlığı problemi olmaya devam etmektedir. Kırgızistan'da yapılan bir çalışmada 1991 yılında hastalığın insidansı

5.4/100000 vaka iken 2000 yılında 18/100000 vaka olarak bildirilmiştir. Kazakistan, Özbekistan, Kırgızistan, Tacikistan ve Türkmenistan'ın bulunduğu birçok bölgede cerrahi KE insidansı 10/100000 vakanın üzerindedir (22). Çin'de 1950'lerden beri en az 35000 cerrahi olarak tedavi uygulanmış KE vakası kaydedilmiş olup, halen ekinokokkozis için en önemli endemik bölgelerden biri olarak gösterilmektedir (67).

Amerika kıtasında da geniş bir yayılıma sahip olan *E.granulosus* özellikle Güney Amerika'da yoğun olarak görülmektedir (22,59). Her yıl opere edilen 2000'den fazla KE vakası olup, bunların yaklaşık 464'ü Arjantin, 367'si Uruguay, 573'ü Şili ve 244'ünün Peru'dan olduğu bildirilmiştir. Ancak yine de endemik bölgelerdeki gerçek sayıların daha yüksek olduğu düşünülmektedir(27). Amerika Birleşik Devletleri'nde görülen KE vakalarının çoğu, göçmen statüsünde ülkede bulunmakta olup, sporadik vakalar Alaska, Kaliforniya, Utah, Arizona ve New Mexico'da saptanmıştır (68).

Afrika kıtasında prevalans değerleri, Cezayir, Tunus ve Libya'nın yer aldığı Kuzey Afrika'da yaklaşık %3, Doğu Afrika'da özellikle Kenya'nın Turkana bölgesinde %7.5 olduğu bildirilmiştir (27). 1983 yılında başlatılan kontrol çalışmaları, 10 yıllık bir periyot sonunda prevalansın %7,5'ten %3,1'e inmesini sağlamıştır (69).

Ülkemizde ekinokokkozis, en önemli helmantik enfeksiyonların başında gelmekte ve eski çağlardan bu yana varlığını sürdürmektedir. İnsan ve hayvan olgularına dair ilk veriler Osmanlı dönemine ait olup, sonrasında ilk olgu bildirim, 1939 yılında Kamile Aygün tarafından yapılmış ve ardından hemen hemen her bölgeden olgu bildirimleri gelmiştir. Sağlık Bakanlığı verilerine göre, 1955-1972 yılları arasında, Türkiye'de 12206 vaka kaydedilmiştir (4). 1975-1994 yılları arasında ise cerrahi tedavi uygulanan 40242 vaka bildirilmiştir. 2001-2005 yılları arasında, bölgelere göre KE vakaları, Marmara bölgesinde 2534 (%13,13), Ege bölgesinde 2114 (%16,94), Akdeniz bölgesinde 2578 (%16,09), İç Anadolu bölgesinde 5404 (%38,57), Karadeniz bölgesinde 428 (%5,70), Doğu Anadolu bölgesinde 844 (%6,80), Güneydoğu Anadolu bölgesinde 887 (%2,75) olmak üzere toplam 14789 olarak bildirilmiştir (70).

2.10 Korunma ve Kontrol

KE'den korunma sağlamak için, parazitin yaşam döngüsünde yer alan konaklar ile ilişkisinin engellenmesi en temel adımdır. Parazitin kesin konağı olan köpeklerle yönelik alınabilecek tedbirler şu şekilde olabilir; enfekte olmasını önlemek amacıyla; köpeklerin antiparazitik tedavilerinin (3 ayda bir) düzenli olarak sürdürülmesi ve tedavinin akabinde 3-5 gün boyunca dışkılarının imha edilmesi, sokak köpeğı sayısını kontrol altına alınması ve kayıt altına alınan köpeklerin aşı durumunun takip edilmesi, besi hayvanlarının kesim işleminin sadece mezbahalarda ve veteriner hekim kontrolü altında yapılması, varolan kistli organların uygun yöntemler ile yok edilmesi gerekmektedir (71). Bunun yanı sıra, hastalık ile ilgili halkın bilinçlendirilmesi ve özellikle çocuklara hijyen kurallarının önemi aktarılmalıdır (27).

2.10.1 Aşı Çalışmaları

Aşı çalışmaları özellikle, parazitin yaşam döngüsünde en sık rastlanılan ara konak olan koyunlar üzerinde başlatılmıştır. Bu araştırmalar sonucu EG95 kodlu bir aşı geliştirilmiş olup, onkosferden metasestod formunun gelişmesi aşamasının engellenmesi amaçlanmıştır. Afrika, Asya ve Güney Amerika'da yapılan çalışmaların sonuçları başarılı olmasına rağmen hayvancılık ile uğraşan kişiler konuya ilgisiz kalmıştır. Enfeksiyonun sessiz seyrediyor olması bu ilgisizlikteki temel noktayı oluşturmaktadır. Bu durumun aşılması için başka aşılarla kombine hale getirilmesi konusu gündemde bulunmaktadır (36).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Örneklerin Toplanması

Çalışmada kullanılan örnekler, “Merkez Bölgede ve Doğu Bölgesinde İnsanlarda Görülen Kistik Ekinokokkozis Araştırması (HERACLES)” projesi kapsamında, Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Radyoloji Anabilim Dalı Non Vasküler Girişimsel Radyoloji bölümünde, Kasım 2014 - Aralık 2016 tarihleri arasında, kistik ekinokokkozis tanısı konmuş ve tedavisi uygulanmış hastalardan elde edilmiş ve bilgilendirilmiş onamları ile çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya alınan vakaların, radyolojik değerlendirmeleri, hasta için uygun bulunan tedavi yöntemi ve sonuçlarına göre hastanın genel klinik durumu değerlendirilmiştir.

Proje kapsamında örneklerin toplanması, Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun GO 14/293-37 sayılı kararıyla etik açıdan uygun bulunmuştur.

Elde edilen kist sıvısı ve/veya germinal membran; steril tüplere aktarılmış ve çalışılincaya kadar -80 °C'de saklanmıştır.

3.2 Örneklerin Hazırlanması

Kist materyallerinin hazırlanması sırasında uygulanacak protokol aşağıdaki gibi olacaktır.

Kist Sıvısı için;

- a. Aspire edilmiş kist sıvısından 2mL alınarak yeni bir tüpe aktarılmıştır.
- b. 3 dk 3000 g'de santrifüj edilmiş, sıvı faz atılmıştır ve bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır.
- c. Elde edilen pellet, başka bir tüpe aktarılmıştır.

Germinal Membran için;

- a. Elde edilmiş germinal membrandan bir parça kesilmiş, varsa kist sıvısından da üzerine eklenmiş ve 2mL'lik bir tüpe aktarılmıştır.
- b. 3 dk 3000 g'de santrifüj edilmiş, sıvı faz atılmıştır.
- c. 2mL deiyonize su eklenmiş ve vortekslenmiştir.
- d. Toplamda 3 kez b ve c basamakları tekrarlanmıştır.
- e. Elde edilen pellet, başka bir tüpe aktarılmıştır.

3.3. DNA Ekstraksiyonu

Kist materyalinden DNA saflaştırma işlemleri, ticari bir spin kolon nükleik asit ekstraksiyon kiti olan “DNeasy Blood&Tissue Kit” (QIAGEN®, Almanya) ile üretici firma talimatları doğrultusunda yapılmıştır:

1. Her bir örnek 25 mg olacak şekilde 1.5 ml'lik eppendorf tüplere aktarılmış ve her örneğe 180 µl ATL tamponu ve 20 µl proteinaz K eklenerek, karıştırılmıştır.
2. Ardından 56⁰C'de ısı bloğunda, çalkalanarak 1-3 saat arası inkübasyona bırakılmıştır.
3. Inkübasyon sonrası 15 saniye karıştırılmış, 200 µl AL tamponu ve hemen sonrasında 200 µl etanol (%96-100) eklenerek tekrar karıştırılmıştır.
4. Elde edilen karışım, pipet ile spin kolon tüplerine aktarılmış ve 1 dakika süre ile 8000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
5. Yeni toplama tüplerine aktarılan spin kolonlara 500 µl AW1 (yıkama tamponu) eklenmiş ve 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj uygulanmıştır.
6. Sonrasında 500 µl AW2 (yıkama tamponu) eklenerek, 3 dakika 14 000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
7. Son aşamada 200 µl AE ayrıştırma solüsyonu (10 mM Tris·Cl, 0.5 mM EDTA, pH 9.0) eklenerek, 1 dakika oda ısısında bekletildikten sonra 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj uygulanarak, DNA elde edilmiştir.

3.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Genotiplendirme amacıyla, kist materyalinden elde edilen DNA'lara, mitokondriyal bir gen olan sitokrom oksidaz c alt ünite 1(cox 1) genini hedefleyen PCR protokolü uygulanmıştır. Bu amaçla PCR karışımı örnek başına, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP ve her bir primerden 100 pmol, 1.25 mM Taq polimeraz içerecek şekilde, 1.5 ml'lik ependorf tüpünde PCR karışımı hazırlanmıştır. Örnek sayısına göre hazırlanan karışım, vorteks cihazında hafifçe karıştırılıp 3000 rpm'de 10 saniye santrifüj edildikten sonra, her bir örneğe ait ve üzerinde numaraları yazılı steril 0.2 ml'lik PCR tüplerine 45 µl olacak şekilde paylaştırılmıştır. Daha sonra karışıma 5'er µl DNA örneği konulup, son hacim 50 µl olacak şekilde, reaksiyon için ısı döngü cihazına (Veriti™ Thermal Cycler, Applied Biosystems™, ABD) yerleştirilmiştir (Tablo 3.2).

Tablo 3.1 COX1 Gen Bölgesi için Kullanılan Primer Dizileri (Nakao2000).

Forward	5' - TTG AAT TTG CCA CGT TTG AAT GC - 3'
Reverse	5' - TCA TTA TGT TAT GTC GTT AGG TTC - 3'

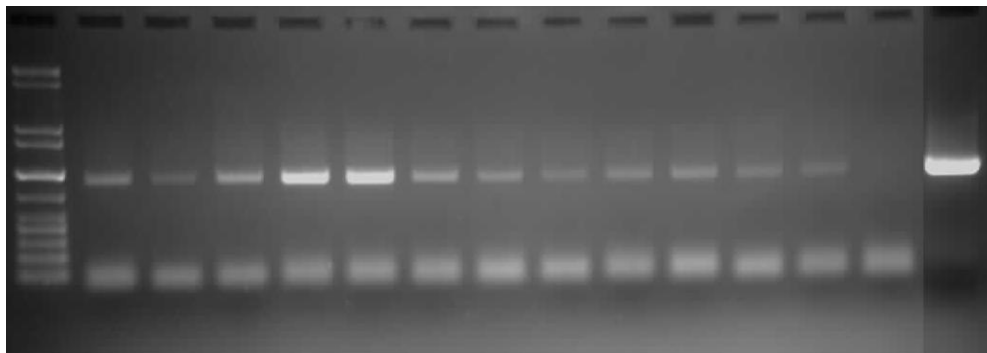
Tablo 3.2 COX1 PCR için karışım içeriği ve reaksiyon koşulları (Nakao2000).

Bileşenler		Koşullar
10X Tampon(MgCl ₂ , dNTP, Polimeraz)	25µl	94°C' de 5 dakika 94°C' de 30 saniye 52°C' de 45 saniye 72°C' de 1 dakika } 40 döngü
Forward Primer	0.25 µl	
Reverse Primer	0.25 µl	
H ₂ O	19.5 µl	
Kalıp DNA	5 µl	
Toplam hacim	50 µl	

3.5 Elektroforez

PCR ürünlerin görüntülenmesi için %1,5'lik agaroz jelde elektroforez yöntemi uygulanmıştır. Bunun için 1,5 gr agaroz 100 ml 1X Tris asetat -EDTA (TAE) [50x TAE: 242 gr Tris baz + 57.1 ml asetik asit + 100 ml 0.5M EDTA (pH: 8) + 600 ml distile su → pH 7.8'e ayarlandıktan sonra distile su ile 1000 ml'ye tamamlanmış ve 50 kat sulandırılarak kullanılmıştır] solüsyonu ile karıştırılıp mikrodalga fırında (Samsung CE292DN, Güney Kore) homojen şeffaf hale gelinceye kadar ısıtılmıştır. Tarakların yerleştirildiği jel tepsisine dökülmeden önce 5 µl etidyum bromür solüsyonu (10 mg/ml) eklenmiş, jel katılaşıncaya kadar oda ısısında bekletilmiş; daha sonra elektroforez tankına yerleştirilerek PCR örneklerinin yüklenmesine hazır hale getirilmiştir.

PCR işlemi tamamlanarak 4°C'de bekletilen örneklerden 5'er µl alınarak parafilm üzerinde 5 µl yükleme tamponu (Promega Blue/Orange 6X Yükleme Boyası, Madison, ABD) ile iyice karıştırılmıştır. Tankın kapağı kapatıldıktan sonra örnekler 100 Volt'luk doğru akımda (Owl Lightning Volt OSP-300, ABD) 30 dakika yürütülmüştür. Elektroforez sonrası jel görüntüleme cihazında (Geliance 600 Imaging System, Perkin Elmer, ABD) ultraviyole ışık altında incelenmiştir. PCR sonucu, yaklaşık 828 nükleotidlik ürünlerin izlendiği örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir (Şekil 3.1). Her reaksiyonda, pozitif ve negatif kontroller kullanılmış olup, pozitif kontrol DNA'ları, Istituto Superiore di Sanità, ISS, Avrupa Birliği Referans Parazitoloji Laboratuvarları'ndan temin edilmiştir.



Şekil 3.1 PCR ampikonlarının agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmesi (1: Moleküler ağırlık marker'ı "100 bp ladder", 2-13: pozitif örnekler, 14: negatif kontrol; 15: pozitif kontrol (828 bp)).

3.6 PCR Ürünlerinin Temizlenmesi

Hedeflenen ürünlerin saptandığı örneklerde amplikonlar, QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Almanya) ticari kiti kullanılarak temizlenmiştir. Uygulama üretici firma talimatlarına göre şu şekilde yapılmıştır:

1. PCR ürünün hacminin 5 katı PB tamponundan eklenerek, karıştırılmıştır.
2. Kit içerisinde bulunan 2 ml'lik QIAquick kolon tüplere karışım aktarılmıştır.
3. DNA'nın kolona tutunması için, 30-60 saniye 13000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Açığa çıkan sıvı kısmı atılmış ve kolon aynı tüpe geri yerleştirilmiştir.
4. Yıkama işlemi için, her bir örneğe 750 µl PE tamponu eklenmiş, 30-60 saniye 13000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Açığa çıkan sıvı kısmı atılmış ve kolon aynı tüpe geri yerleştirilmiştir.
5. Herhangi bir kimyasal eklenmeden QIAquick kolon, kalan tamponun gitmesi için bir kez daha 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
6. QIAquick kolonlar, yeni 1.5 ml'lik yeni bir tüpe yerleştirilmiştir.
7. DNA eldesi için, her bir örneğe 50 µl EB tamponundan eklenmiş, 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
8. Elde edilen DNA'lar steril yeni bir tüpe aktarılmıştır.

Elde edilen DNA'lar dizi analizi uygulamasına kadar -20 °C'de saklanmıştır.

3.7 DNA Dizi Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Her bir izolat için kromatogramlar, FinchTV (Geospiza Inc., Seattle, WA, USA) görüntüleyici kullanılarak pikler gözden geçirilmiştir. Nükleotid dizileri ProSeq 3.5 programı kullanılarak, manipüle edilmiş ve sonrasında MEGA 5 programıyla, dizi hizaları boşluklar ve okuma bölgelerinde stop kodonu varlığına karşın kontrol edilmiştir. Sonuçta her bir örnek için, COX1 gen dizisinin 828 bç'lik kısmı analiz edilmiştir. Amino asit dizileri, nükleotid dizilerinden yassı solucan mitokondriyal kod

(flatworm mitochondrial code) kullanılarak elde edilmiştir. Diziler ClustalX2 programında hizalandıktan sonra DnaSP 4.5 programında çalıştırılmıştır. Oluşturulan haplotiplerin her biri, BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) yoluyla tanımlanmıştır. Cox1 mitokondirial nükleotid dizileri için en uygun model, Akaike Bilgi Kriteri'ne (Akaike's information criterion (AIC)) göre MODELTEST 3.7 ve Paup 4.0 programları aracılığıyla seçilmiştir. Haplotip soyağaçları, HapView programı kullanılarak oluşturulmuştur. "Maximum likelihood trees", DNAML programı (PHYLIP) kullanılarak oluşturulmuş ve sonrasında HapView programında çalıştırılmıştır.

Arlequin 3.21 programı ile haplotip ve nükleotid farklılıklarını hesaplayarak genetik çeşitliliği belirlemede çalışılmıştır. Bu amaçla, Tajima's D ve Fu's Fs hesaplanmaları populasyonun geçmişteki genişlemesi veya darboğazı test etmede, ikili fiksasyon indeksi (Fst) de populasyondaki farklılaşma derecesini tahmin etmek amacıyla kullanılmıştır.

3.8 İstatistiksel Analiz

Bütün veriler, SPSS 11.5 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ile test edilmiştir. Kategorik veriler Ki-Kare testi ile, kantitatif değişkenlerin varyans analizi ise Kruskal-Wallis varyans analizi ile test edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 İncelenen Olguların Genel Özellikleri ve Dağılımlar

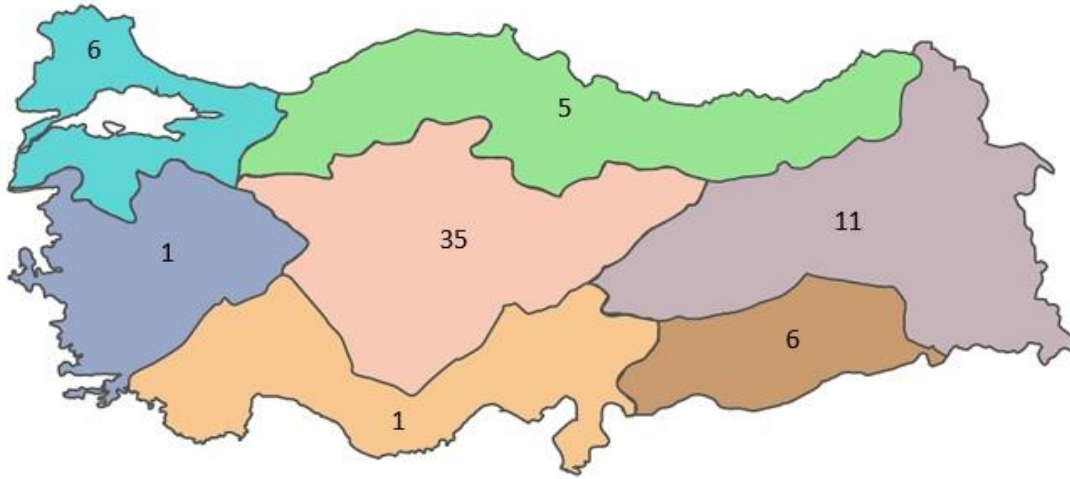
Kasım 2014 - Aralık 2016 tarihleri arasında, Hacettepe Üniversitesi Hastanesi, Radyoloji Anabilim Dalı, Non-Vasküler Girişimsel Radyoloji bölümünde Kistik Ekinokokkozis tanısı ile tedavi görmüş toplam 65 hastanın kist örnekleri çalışmaya dahil edilmiştir. Hastaların cinsiyete göre dağılımları, 37'sinin (%57) kadın ve 28'inin (%43) erkek olduğunu göstermektedir. Toplamda 65 olgunun, 13 tanesi çocuk, 52 tanesi erişkin hastalardan oluşmuştur. En küçük yaş 4, en büyük yaş 79 olarak kaydedilmiş, ortalama yaş ise 41 olarak hesaplanmıştır. Hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1 Hastaların cinsiyet ve yaşlarına göre dağılımları.

Yaş	Cinsiyet		Toplam
	Kadın	Erkek	
0-18	9	4	13
19-28	2	3	5
29-38	7	5	12
39-48	4	5	9
49-58	6	3	9
59-68	7	4	11
>68	3	3	6
Toplam	38	27	65

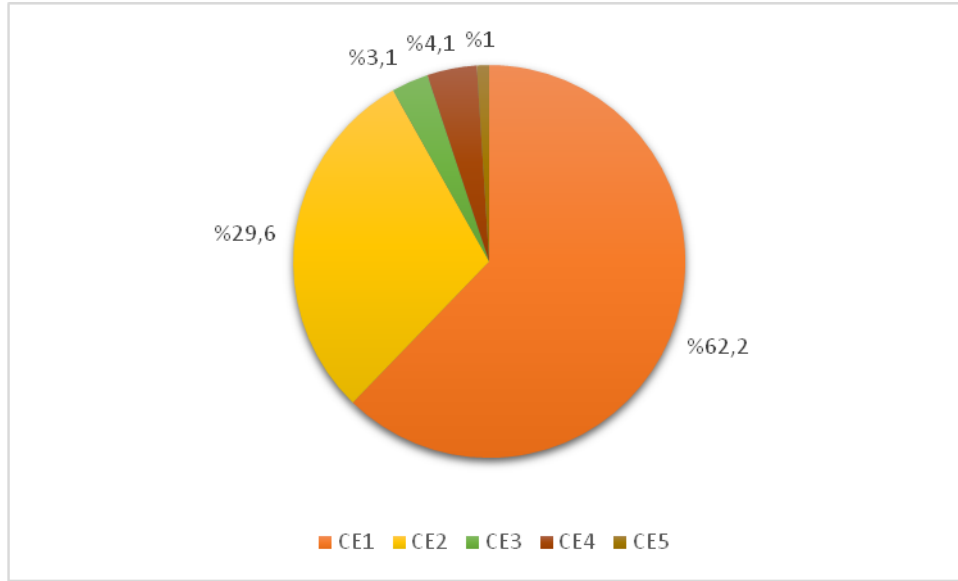
Olguların yaşadıkları bölgelere göre dağılımı incelendiğinde, 35'inin (%53,9) İç Anadolu Bölgesi'nden, 11'inin (%17) Doğu Anadolu bölgesinden, 6'sının (%9,2) Güney Doğu Anadolu bölgesinden, 6'sının (%9,2) Marmara bölgesinden, 5'inin (%7,7) Karadeniz bölgesinden geldiği, Ege ve Akdeniz bölgelerinden ise sadece birer hasta (%1,5) geldiği kaydedilmiştir. Şematik olarak olguların dağılımı Şekil 4.1'de gösterilmiştir. İç Anadolu bölgesinden kaydedilen 35 hastanın, 24'ü Ankara, 3'ü Yozgat, 2'si Aksaray ve birer tanesi Eskişehir, Çankırı, Kırıkkale, Karaman ve Sivas'tan, Doğu Anadolu bölgesinde ikamet eden hastaların, 3'er tanesi Van ve Kars'tan, 2'si Bitlis'ten ve birer tanesi Hakkari, Malatya ve Ağrı'dan gelmişlerdir.

Güney Doğu Anadolu bölgesinden kaydedilen hastaların, 5'i Şanlıurfa ve bir tanesi Diyarbakır'dan, Marmara bölgesinde ikamet eden hastaların 3'ü Balıkesir, 2'si İstanbul ve 1'i Edirne'den, Karadeniz bölgesinden kaydedilmiş olan 5 hastanın 3'ü Çorum, geri kalanları Tokat ve Samsun'dan gelmişlerdir. Ege ve Akdeniz bölgesinden kaydedilen birer hasta sırasıyla Kütahya ve Hatay'da ikamet etmektedir.



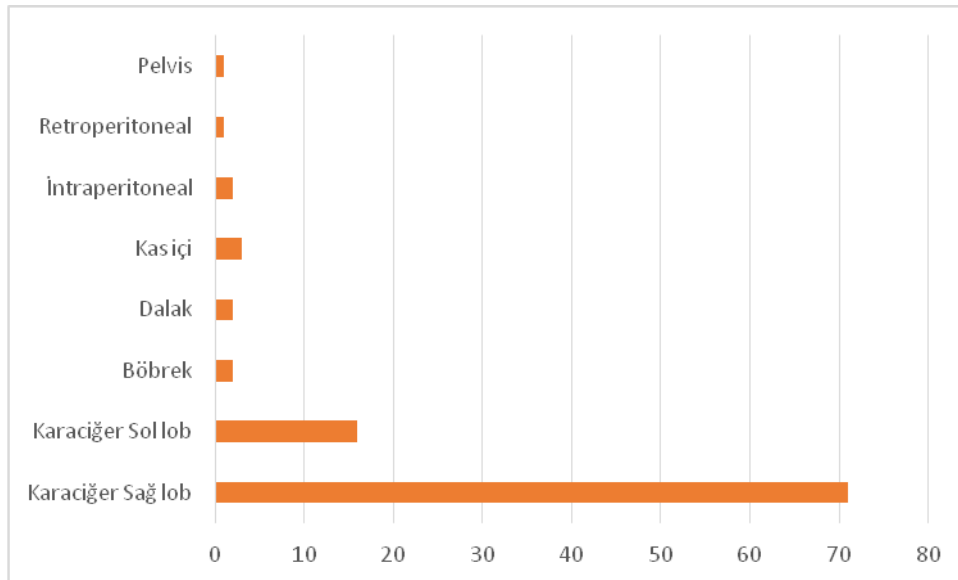
Şekil 4.1 Bölgelere göre hasta sayılarının dağılımı.

Hastalarda tespit edilen hidatik kist sayısı toplamda 98 olup, elde edilenlerden 77 tanesi kist sıvısı ve 16 tanesi membran olarak toplanmıştır. Kist tiplerine göre dağılımları incelendiğinde, 61 adet (%62,2) kist CE1, 29 adet (%29,6) kist CE2, 3 adet (%3,1) kist CE3, 4 adet (%4,1) kist CE4 ve 1 adet (%1) kist CE5 olarak kaydedilmiş, Şekil 4.2'de grafik olarak gösterilmiştir. Kist sayılarına göre olguların, 45'inde (%69,2) tek kist gözlemlenirken, 20'sinde (%30,8) ise birden çok kist varlığı kaydedilmiştir.



Şekil 4.2 Kist tiplerine göre kistlerin dağılımı

Kist tutulumu olan bölgelere göre en sık, 71 kist ile karaciğer sağ lobda yerleşim olduğu saptanmış, tutulum olan vücut bölgesine göre dağılımları Şekil 4.3'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3 Kist tutulumuna göre organ dağılımı

Kist boyutlarına göre gruplandırma yapıldığında, 5 cm çapında ve daha küçük olan 28 kist, 5 ile 10 cm arasında çapı olan 33 kist, 10 cm çapında ve daha büyük olan ise 37 kist kaydedilmiştir.

4.2 Kist Materyallerinin Mikrobiyolojik İncelenmesi

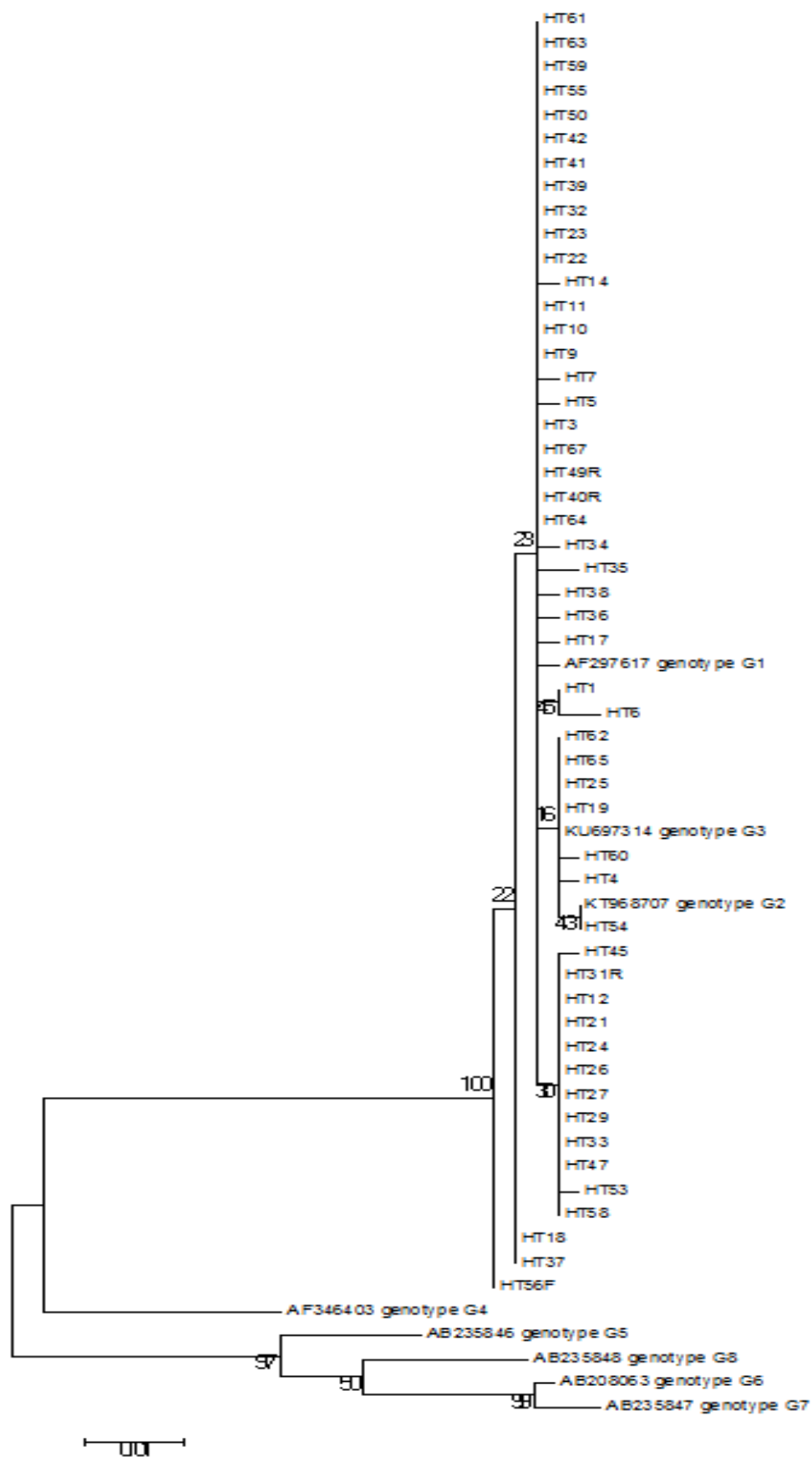
Kist materyallerinin PCR sonuçlarına göre 51 (%78,5) örnek pozitif, 14 (%21,5) örnek negatif olarak saptanmıştır. PCR pozitif örneklerden, 18 tanesinin rutin parazitolojik inceleme sırasında skoleks pozitif buna karşın 16 örnek skoleks negatif olarak değerlendirilmiştir. 1 örneğe ait serum İHA pozitif olarak değerlendirilirken, 2 örneğe ait serum ise İHA negatif olarak değerlendirilmiştir. 14 örnek ise rutin olarak herhangi bir taramaya tabii tutulmamıştır. 14 PCR negatif örneğin ise, 10 tanesinin rutin parazitolojik inceleme sırasında skoleks negatif olarak değerlendirildiği görülmüştür. Bir örneğe ait serum örneği İHA negatif olarak değerlendirilmiş, 3 örnek ise herhangi bir rutin taramadan geçirilmemiştir. Örneklerin PCR sonuçları ve rutin analizlerinin özeti Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.2 Örneklerin PCR ve rutin analiz sonuçlarının dağılımı.

	Skoleks (+)	Skoleks (-)	İHA (+)	İHA (-)	Taranmamış
PCR (+) n=51	18	16	1	2	14
PCR (-) n=14	0	13	0	1	0
n=65	18	29	1	3	14

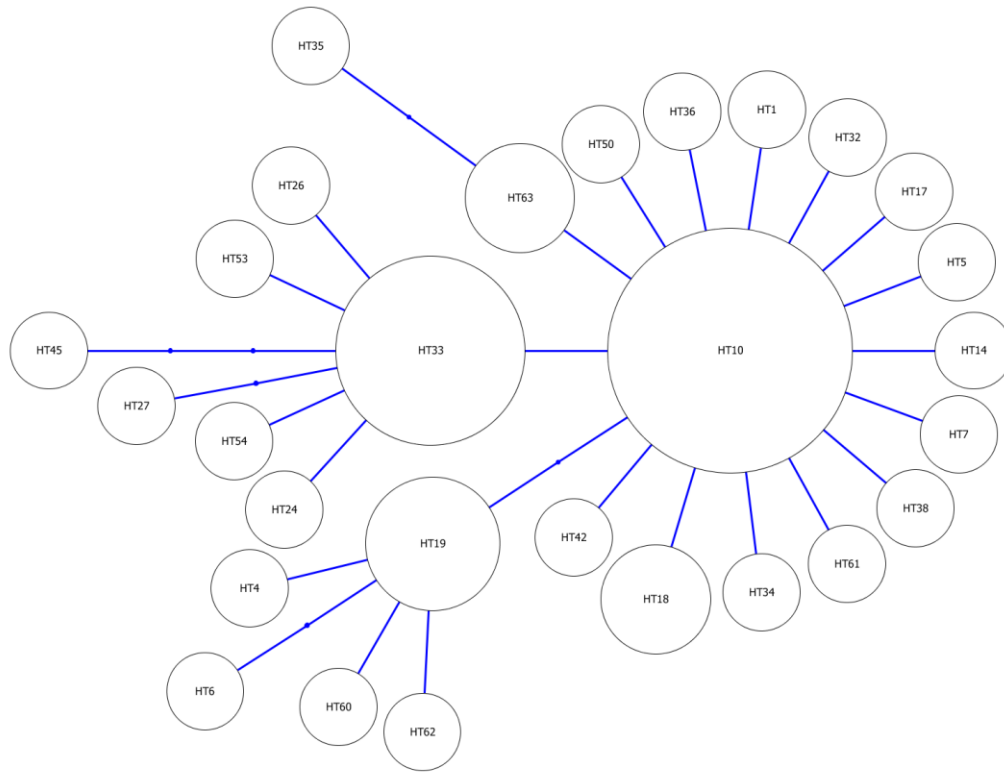
4.3 Genotiplerin Belirlenmesi ve Haplotip Analizi

Genotip analizleri, forward ve/veya reverse dizi analizinin BLAST veri tabanında sorgulanması sonucu 44 (%86,3) örneğin G1 ve 7 (%13,7) örneğin G3 genotipine ait diziler ile uyum gösterdiği saptanmıştır. Bu izolatlarda 27 tanesinin G1 GenBank’taki referans G1 suşu ile %100 uyum gösterdiği, buna karşın 17 örneğin G1 referans suşundan varyasyonlar gösterdiği saptanmıştır. Referans genotip dizileriyle örneklere ait dizilerin filogenetik analiz sonucu elde edilen genotip dağılımı Şekil 4.4’te gösterilmiştir.



Şekil 4.4 Referans genotip dizileri ve örneklerin filogenetik analizi.

51 pozitif örnekten, 5 tanesinin dizi analizi sonuçları, çift yönlü olarak düzgün okunamadığından haplotip analizine katılmamıştır. Haplotip analizleri, çift yönlü okumalar sonucu elde edilen, 828 bç'lik konsensus diziler sonucu 46 örnek ile yapılmıştır. Analizler sonucu, 28 haplotip olduğu ve yüksek genetik çeşitlilik gösterdiği (H_d 0.9372 ± 0.0246) tespit edilmiş, haplotip ağı Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Nötralite indekslerinin ikisi de negatif ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş (Tajima's D - 2.1263; $p < 0.01$; Fu's F_s -26.80; $p < 0.001$) ve Tablo 4.3'de gösterilmiştir.



Şekil 4.5 Haplotip ağı

Tablo 4.3 Cox 1 geni kullanılarak *E.granulosus* (s.s.) da çeşitlilik ve nötralite indeksleri.

No. of isolates	<i>hn</i>	<i>hd</i> ±SD	π d±SD	Tajima's <i>D</i>	Fu's <i>F_s</i>
46	28	0.9372±0.0246	0.002821±0.001743	-2.1263 ^a	-26.80 ^b

(^a*p*< 0.01; ^b*p*< 0.001)

Oluşturulan haplotip ağı kullanılarak, *E.granulosus* haplotipleri 3 ana grupta toplanmıştır. Buna göre, G1 genotipine ait izolatlarını içeren “G1 Grubu”, G3 genotipine ait izolatları içeren “G3 Grubu” ve G1 genotipinden farklılık gösteren izolatları içeren “GX Grubu” şeklinde 3 grup oluşturulmuştur.

4.4 Genetik Çeşitlilik ile Hastaların Demografik Özellikleri Arasındaki İlişkinin İncelenmesi

Genetik gruplar ve cinsiyet, yaş ve hastaların ikamet ettikleri bölgeler gibi demografik özellikler arasındaki muhtemel ilişki incelenmiştir. Genetik grupların, cinsiyete göre dağılımları incelendiğinde, G1 grubunun çoğunluğu (20/27, %74,1) kadın hastaların örneklerinden oluşmaktayken G3 grubunun çoğunluğu (4/7, %57,1) erkek hastalardan oluştuğu saptanmıştır. Pediatrik yaş grubunda (yaş<18), G1 grubu (8/10,%80) daha sık izlenmiştir. Buna rağmen, demografik özellikler ile genetik çeşitlilik arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Genetik gruplara göre, cinsiyet, yaş grupları ve hastaların ikamet ettikleri bölgeler Tablo 4.4'de verilmiştir.

Tablo 4.4 Genetik gruplara göre demografik özelliklerin dağılımı.

Demografik Özellikler		Genetik Gruplar			Toplam
		G1	G3	GX	
YAŞ	≤ 17	8	1	1	10
	>17	19	6	11	36
Cinsiyet	Kadın	20	3	6	29
	Erkek	7	4	6	17
Bölge	İç Anadolu	15	4	7	26
	Akdeniz	1	0	0	1
	Güney Doğu Anadolu	1	1	2	4
	Doğu Anadolu	5	1	1	7
	Karadeniz	3	0	1	4
	Marmara	2	1	0	3
	Ege	0	0	1	1

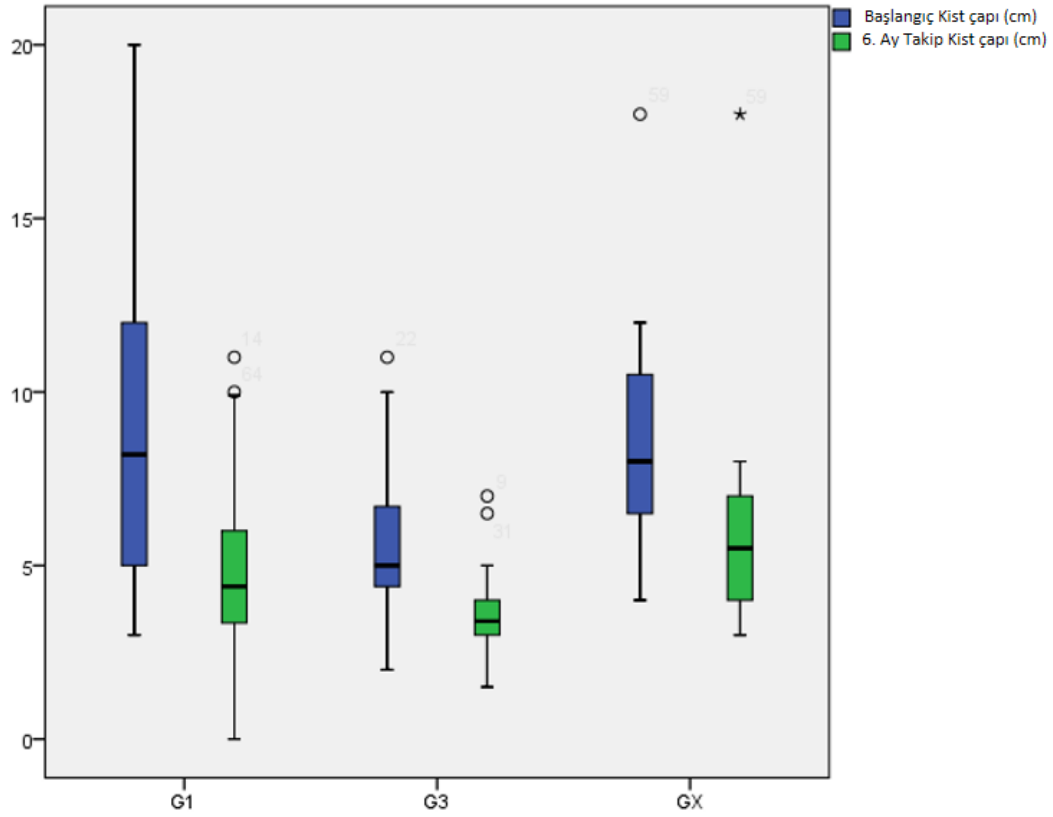
4.5 Genetik Çeşitlilik ile Hastaların Klinik Özellikleri Arasındaki İlişkinin İncelenmesi

Öncelikle, kist sayısı ve genetik çeşitlilik arasındaki ilişki araştırılmıştır. Kist sayısı tek ve birden çok kisti olma durumuna göre 2 gruba ayrılmıştır. G1 grubu her iki grupta da daha sıklıkla görülmüştür. Ayrıca kist tiplerinde de CE1 tim genetik gruplarda baskın olarak izlenmiştir. Hidatik kistler çoğunlukla karaciğer sağ lobda kaydedilmiştir. Buna rağmen genetik çeşitlilik ve bu kist özellikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Genetik gruplara göre, kist sayısı, tipi ve yerleşimi Tablo 4.5’de verilmiştir.

Tablo 4.5 Genetik gruplara göre kist özelliklerinin dağılımı.

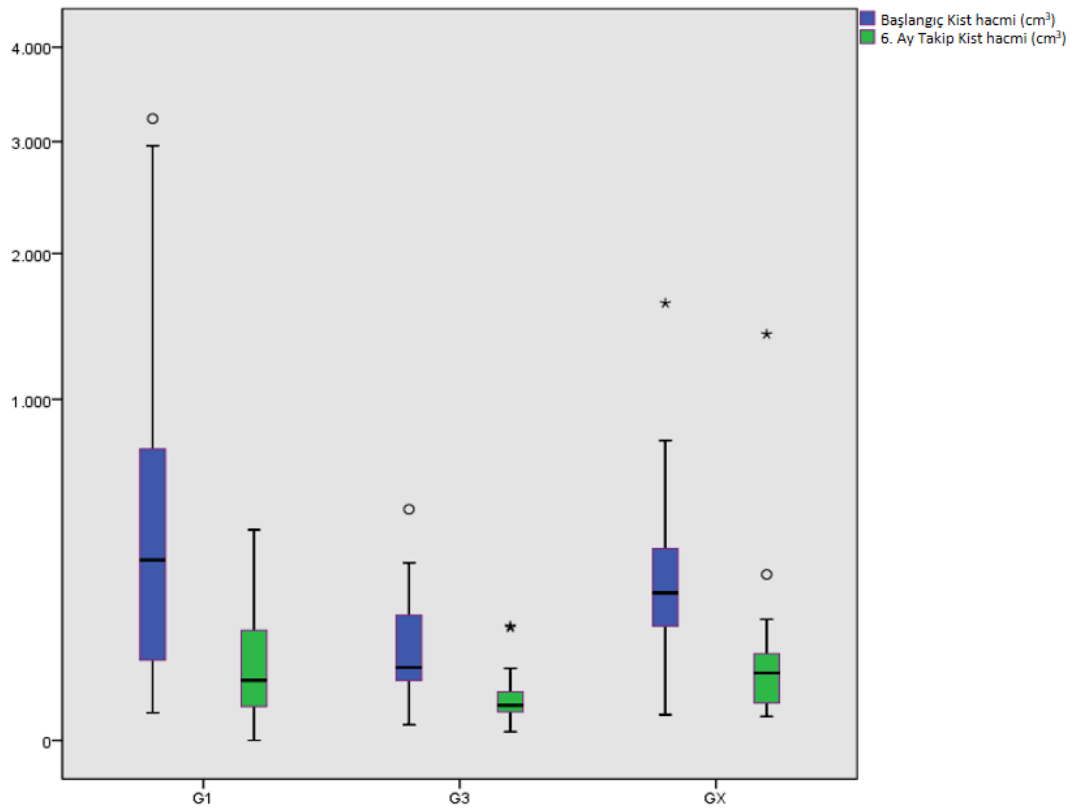
Klinik Özellikler		Genetik Gruplar			Toplam
		G1	G3	GX	
Kist Sayısı	1	17	2	9	28
	>1	10	5	3	18
Kist Tipi	CE1	25	11	9	45
	CE2	13	5	6	24
	CE3	0	2	1	3
Kist Yerleşimi	Karaciğer Sağ lobe	30	15	10	55
	Karaciğer Sol lob	6	1	3	10
	Böbrek	0	2	0	2
	Dalak	1	0	0	1
	Retroperitoneal	1	0	0	1
	Intraperitoneal	0	0	2	2
	Intramuscular	0	0	1	1

Diğer yandan, ilk tanı sırasında kaydedilen kist çapları, diğer genetik gruplar ile kıyaslandığında G3 grubunda kist çapının istatistiksel olarak anlamlı derecede küçük olduğu saptanmıştır ($p=0,006$). Benzer şekilde, tedaviden 6 sonraki kist çapı ölçümleri de yine G3 grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuş ($p=0,015$) ve şematik olarak Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



Şekil 4.6 Başlangıç ve tedavi sonrası kist çaplarının genetik gruplara göre dağılımı

Kist hacimleri incelendiğinde, başlangıç hacimlerinin ve tedaviden 6 ay sonra kaydedilen hacimlerin, G3 grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu kaydedilmiş ($p=0,003$, $p=0,03$) ve şematik olarak Şekil 4.7’de gösterilmiştir.



Şekil 4.7 Başlangıç ve tedavi sonrası kist hacimlerinin genetik gruplara göre

dağılımı

5. TARTIŞMA

Kistik Ekinokokkozis (KE), *Echinococcus* cinsi parazitlerin larva formunun insanlarda neden olduğu zoonotik bir hastalıktır. KE dünya genelinde en yaygın zoonotik hastalıklardan biri olup, özellikle kırsal kesimlerde besi hayvanları ve köpeklerle yakın temasta olan kişilerde görülmektedir. Eski çağlardan beri bilinen hastalık, özellikle karaciğerde yerleşmiş olan kistlere dair ilk gözlemler, M.Ö 4. yy'da Hipokrat, M.S. 1. yy'da Aretaeus ve M.S. 2.yy'da Galen gibi hekimlerin içi sıvı dolu keselerin varlığını farketmesine dayanmaktadır. Metasestod formu ve erişkin formu yıllar içerisinde birçok isim almasına karşın, bugün de kullandığımız cins ismi C.A.Rudolphi tarafından 1801'de, kist içerisinde küçük, yuvarlak, dikenli protoskolekslerin varlığını belirterek, *Echinococcus* cins ismini yayınlamış, 1808'de ise insanlardaki ekinokokkozis için ilk defa "Hidatik kist" terimini kullanmıştır. Tıp literatüründe ilk kist hidatik bildirim, 1821'de Bresmer tarafından yapılmıştır (2,3). Hastalığın kliniğinin tam olarak anlaşılması ise 1900'lerin başlarını bulmuştur.

Echinococcus cinsinin sınıflandırması günümüzde hala bir tartışma konusudur. Cins içerisinde eski bilgilere dayanarak, temel olarak *E. granulosus*, *E. multilocularis*, *E. oligarthrus* ve *E. vogeli* olmak üzere 4 türün varlığı kabul edilmektedir (2). Moleküler yöntemlerin kullanımının yaygınlaşmasıyla, dizi analizleri yapılmış ve sonucunda, özellikle *E. granulosus*'un yüksek derecede genetik çeşitlilik gösterdiği saptanmış; bu çeşitliliğin parazitin yaşam döngüsü, konak özgüllüğü, morfolojik özellikler, biyolojik gelişim evreleri, hastalığın kliniği ve coğrafi dağılım gibi özellikler ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Güncel verilere göre, *E. granulosus* s.l tür kompleksi olarak tanımlanmakta fakat bu kompleks içerisinde yer alan türler daha önce uzunca süre kullanılan, *E. granulosus*'un 10 genotipinden (G1-G10), bazı genotip ve/veya genotip gruplarının tür düzeyine çıkarılması önerilmesiyle kullanıma girmiştir (5, 72). Bu türler, mitokondriyal DNA dizilerine göre; *E. granulosus* sensu stricto (genotip G1-G3), *E. equinus* (G4), *E. ortleppi* (G5) ve *E. canadensis* (G6-G10) olarak gruplandırılmaktadır (8, 15, 73). *E. granulosus* (s.s.) içerisinde, G1-Evcil koyun suşu, G2-Tazmanya koyun suşu ve G3-Manda suşu dünya genelinde en geniş yayılım gösteren genotipler olarak

tanımlanmaktadır (18). *E.granulosus* türü içerisindeki intra spesifik farklılıkların, hastalığın kliniğine etkisi olup olmadığı hala merak konusu olmaktadır.

Echinococcus cinsinin yaşam döngüsü içerisinde temel olarak evcil/ vahşi etobur ve otobur hayvanlar bulunmakta olup, insan bu döngüde rastlantısal konak olarak yer almaktadır. Parazitin erişkin formu köpek, kurt vb etoburların ince bağırsağına yerleşmekte ve dışkıları ile dış ortama yumurtaları yayılmaktadır. Enfektif yumurtaların ağız yoluyla ara konaklar tarafından alınmasıyla döngü devam etmekte ve larvası çoğunlukla karaciğer olmak üzere böbrek, dalak, kas ve beyin gibi organlara yerleşmekte ve hidatik kist oluşturmaktadır (27). Metasestod formu, esas olarak hücre bulunmayan bir tabaka ve tomurcuklanma sonucu meydana gelen çimlenme kapsüllerini oluşturan çekirdekli germinal tabakadan oluşmuş kese biçimindeki larval formu tanımlamaktadır (23). Metasestod, gelişim evreleri ve yapı bakımından *Echinococcus* türleri arasında farklılık göstermektedir (19). Türler göre, metacestod formların ara konaklarda neden oldukları hastalıklar farklı adlandırılmaktadır. *Echinococcus granulosus* etken ise kistik ekinokokkozis, *Echinococcus multilocularis* etken ise alveolar ekinokokkozis, *Echinococcus oligarthrus* veya *Echinococcus vogeli* etken ise hastalığa polikistik ekinokokkozis adı verilmektedir (23). *E.granulosus*'un metasestod formu "hidatik kist" olarak da adlandırılmakta ve diğer türlerin metasestod formlarına göre daha basit bir yapı göstermektedir. Oluşan kistler genellikle uniloküler yapıda olmakla birlikte multiveziküler yapı olarak da görülebilmektedir (23,26). Uniloküler yapıdaki kistler her zaman tek bir kese yapısı göstermekte olup, içerisinde kız kistler bulundurabilmektedir. Multiveziküler yapıdaki kistlerin farklılığı ise kistin dışı doğru (ekzojen) kız keseler oluşturması ve sonucunda birbirine bağlı çok sayıda küçük kistin oluşturduğu bir yapı haline gelmeleridir (23).

Enfeksiyon başlangıçta her zaman asemptomatik olup, sonrasında yavaş büyüyen kistler ile meydana gelmektedir. KE için klinik semptomlar çeşitlilik göstermekle birlikte patognomonik olmayıp, yıllarca asemptomatik kalabilmektedir. Birkaç ay veya yıl gibi belirsiz bir inkübasyon süresi sonunda, kistlerin komşu doku üzerindeki baskıyı arttırmaları veya diğer patolojik olaylar sonucu enfeksiyon semptomatik hale geçebilmektedir. Asemptomatik seyreden bir kistin aniden belirti vermesi genellikle spontan ya da travmatik kist rüptürü sonucunda görülmektedir.

KE, kozmopolitan bir yayılım göstermekte ve bazı bölgelerde ciddi halk sağlığı problemi yaratmakta olup, dünya çapında yaklaşık 1.5 milyon kişiyi etkilemektedir. Tedavi masrafları ve çiftlik hayvanlarında üretim kayıpları yaşanması sonucu sağlık problemlerinin yanı sıra ekonomik olarak da ciddi sıkıntılara yol açan bir hastalıktır. Endemik olarak bulunduğu bölgeler, Peru, Şili, Arjantina, Uruguay, Brezilya'nın güneyi, Akdeniz bölgesi, Orta Asya, Çin Halk Cumhuriyeti'nin kuzeybatısı ve Doğu Afrika olarak kabul edilmektedir. Antartika'da hiç bulunmadığı ve geniş çaplı eradikasyon programları ile İzlanda, Yeni Zelanda ve Tazmania'da elimine edildiği bildirilmiştir (60). *E.granulosus*'un yaşam döngüsünün, ara konak olarak yer alan hayvanların coğrafik dağılımına göre, Avrupa'da İspanya, İtalya, eski Yugoslavya coğrafyası, Yunanistan ve Türkiye'de çoğunlukla köpek-koyun arasında gerçekleştiği görülmekteyken, Batı Avrupa ve İrlanda'da köpek-at arasında, Belçika, Almanya ve İsviçre'de çoğunlukla köpek-sığır arasında gerçekleşmektedir. Polonya, Macaristan gibi Doğu Avrupa ülkelerinde ise çoğunlukla köpek-domuz arasında olduğu görülmektedir (27).

Ülkemizde ekinokokkozis, en önemli helmantik enfeksiyonların başında gelmekte ve eski çağlardan bu yana varlığını sürdürmektedir. İnsan ve hayvan olgularına dair ilk veriler Osmanlı dönemine ait olup, sonrasında ilk olgu bildirimini, 1939 yılında Kamile Aygün tarafından yapılmış ve ardından hemen hemen her bölgeden olgu bildirimleri gelmiştir. Hayvanlarda KE görülme oranlarına dair güncel veriler, mezbaalarda yapılan taramalar sonucu, prevalans değerlerinin koyunlarda %7 ila 70, sığırlarda ise %6 ila 38 arasında olduğu bildirilmiştir (75-77). Türkiye'de insanlardaki insidansının ve prevalansının sırasıyla 2/100,000 ve 50/100,000 olarak bildirilmektedir (4, 71). Türkiye'deki epidemiyolojik veri çoğunlukla hastane kayıtlarına dayanmakta olup, bu değer aslında gerçek prevalansı göstermemektedir. Sağlık Bakanlığı verilerine göre, 1955-1972 yılları arasında, Türkiye'de 12206 vaka kaydedilmiştir (4). 1975-1994 yılları arasında ise cerrahi tedavi uygulanan 40242 vaka bildirilmiştir. 2001-2005 yılları arasında, bölgelere göre KE vakaları, Marmara bölgesinde 2534 (%13,13), Ege bölgesinde 2114 (%16,94), Akdeniz bölgesinde 2578 (%16,09), İç Anadolu bölgesinde 5404 (%38,57), Karadeniz bölgesinde 428 (%5,70), Doğu Anadolu bölgesinde 844 (%6,80), Güneydoğu Anadolu bölgesinde 887 (%2,75) olmak üzere toplam 14789

olarak bildirilmiştir (71). Türkiye’de hastalığın bu kadar sık görülmesine karşın insan kaynaklı kist materyalinde genetik çeşitliliğin araştırıldığı kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Bizim çalışmamızda toplamda 65 hasta dahil edilmiş olup, bunlardan 38’i kadın 27’si erkek hastalardan oluşmuştur. KE, her iki cinsiyette de görülebilmeye rağmen karaciğer kist hidatiklerine kadınlarda daha sık rastlandığı bilinmekte olup, bizim çalışmamızda literatür ile uyum göstermektedir (21). Hastaların çoğunluğu 30 yaşın üzerinde bireylerden oluşmuş, yalnızca 13 hasta pediatrik yaş grubundan kaydedilmiştir. Merkezimizin Ankara’da olmasından dolayı, olguların çoğunluğu İç Anadolu Bölgesinden gelmiş olmasına karşın her bölgeden hasta kaydedilmiştir. Hastalarda tespit edilen hidatik kist sayısı toplamda 98 olup, elde edilenlerden 77 tanesi kist sıvısı ve 16 tanesi membran olarak toplanmıştır.

Kist tiplerine göre dağılımları incelendiğinde, çoğunluğun CE1 (61/98, %62,2) kist olduğu, takiben CE2 (29/98, %29,6), CE3 (3/98,%3,1), CE4 (4/98, %4,1) ve CE5 (1/98,%1) olduğu saptanmıştır. Olgularımızın çoğunluğunun CE1 veya CE2 kist tipine sahip olmaları, WHO-IWGE önerilerindeki gibi sadece CE4 ve CE5 tiplerinde kiste sahip olan hastalarda tedavisiz izlem uygulamasından kaynaklandığı şeklinde yorumlanmıştır. Kist tutulumu olan bölgelere göre en sık, karaciğer sağ lobda (71/98, %72,5) yerleşim olduğu saptanmış, bunu karaciğer sol lob (16/98, %16,4), kas içi (3/98, %3,1), böbrek (2/98, %2), dalak (2/98,%2), intraperitoneal (2/98, %2), retroperitoneal (1/98, %1) ve pelvis (1/98, %1) takip etmiştir. Literatürde hidatik kistlerin organlarda dağılım yüzdeleri; karaciğerde %58 (46-76), akciğerde %27 (11-37), diğer organlarda ise %15 (12-23) olarak bildirilmiştir (31, 33, 78-92). Kist sayılarına göre olguların, 45’inde (%69,2) tek kist gözlemlenirken, 20’sinde (%30,8) ise birden çok kist varlığı kaydedilmiştir. Kist boyutlarına göre gruplandırma yapıldığında, 5 cm çapında ve daha küçük olan 28 kist, 5 ile 10 cm arasında çapı olan 33 kist, 10 cm çapında ve daha büyük olan ise 37 kist kaydedilmiştir. Hastalığın semptomatik hale gelmesinde önemli olan özellikler, kistin yerleşim yeri, büyüklüğü ve sayısıdır (93-95). Hidatik kistler genellikle asemptomatik seyretmekte ve 5 cm çapa ulaşıncaya kadar belirti göstermemekte olup, genelde hastaların %40-60’ı herhangi bir şikayeti olmadan yaşamlarını devam ettirmektedir (96). Hidatik kistlerin büyüme hızı insanlarda, yılda yaklaşık 1 cm olarak

bildirilmekte olup, bazı çalışmalarda yıllık 4-5 cm'e varan büyüme oranları bildirilmiştir (95). Bu yavaş büyüme oranları nedeniyle, özellikle uniloküler kistlerin uzun süre asemptomatik kalabildikleri belirtilmiştir (95, 97). Bizim olgularımızın da çoğunluğunun kist büyüklüğü 5 cm'in üzerinde olduğu görülmekte ve uzun süre asemptomatik kaldıklarına dair hipotezi destekler niteliktedir.

İşlem sonrası rutin protoskoleks incelemesine gönderilen 47 örnekten, yalnızca 18 tanesinde protoskoleks saptanmıştır. 4 hastanın kan örneğinde ise rutin serolojik tarama sonucu 3 tanesinin negatif olduğu tespit edilmiştir. Genotiplendirme çalışmaları için yapılan PCR'da cox1 gen bölgesinde yaklaşık 828 bç'lik bir alan hedeflenmiştir. 65 izolattan 51 tanesinde PCR pozitifliği tespit edilmiştir. Protoskoleks pozitif olarak raporlanan tüm örnekler PCR'da da pozitif olarak bulunmasının yanı sıra, protoskoleks negatif olarak raporlanan 16 örnek de PCR pozitif olarak tespit edilmiştir. Kist sıvısında protoskoleks görülme oranı literatürde, %31-34 olarak belirtilmiş olup, incelenecek materyalin miktarı ve uygun koşullarda saklanması mikroskopik olarak incelemeyi etkileyebileceği belirtilmiştir (98, 99). Literatürde %50'in altında bir protoskoleks pozitifliği saptanmış olsa da, yapılan bir çalışmada insanlardaki karaciğer yerleşimli kistlerde fertilitite oranını %57,1 olarak, ve bu protoskolekslerin canlılık oranını %42 olarak buldukları bildirilmiştir (100).

Rutin serolojik tarama yapılan ve negatif bulunan 2 örnek ve pozitif bulunan 1 örnek de yine PCR pozitif olarak saptanmıştır. Serolojik testlerin tanı konusundaki etkinlikleri değişken olmasının yanı sıra radyolojik tanıyı desteklemek açısından faydalı olabilmektedir. Fakat negatif sonuç vermiş olan serolojik testlerin tanıyı dışlatmadığı bilinmektedir (101, 102). Hastanemizde rutin serolojik tarama amacıyla İHA testi uygulanmaktadır. Bu testin özgüllük oranı %66 ila 100 arasında olmasına rağmen duyarlılığı %30 civarında bildirilmektedir (103). Her örneğin PCR pozitifliği vermemesi kist sıvısı içerisinde düşük DNA konsantrasyonuna bağlı olabileceği düşünülmüştür. Kinkar ve ark. yaptığı çalışmada da, toplam 250 örnek incelemeye alınmış ve bunların sadece 106 tanesi PCR ile hedef bölge amplifikasyonu yapılabilmemiş, ve amplifiye edilemeyen örnekler için DNA miktarının düşük olabileceği yorumu yapılmıştır (104).

Çalışmamızda, PCR pozitif olan tüm örnekler, DNA dizi analizine alınmış ve BLAST algoritmasına göre, tüm örnekler *E.granulosus* (s.s.) olarak tanımlanmıştır. Bunlardan 44 örneğin G1 genotipi ile uyum gösterdiği, 7 tanesinin ise G3 genotipi ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. G2 genotipinin bu çalışmada saptanmamış olması, G2 genotipinin iyi tanımlanmamasından kaynaklandığı hatta bazı çalışmalarda, G2 genotipinin, G1 ve G3 genotiplerinin mikro varyantı olarak kabul edilmesi gerektiği savunulmuştur (50, 105).

Dünya genelinde, insanlardaki KE vakalarında, elde edilen hidatik kist materyalinin genotiplendirmesi sonucu; % 88,44 oranıyla en sık enfeksiyon etkeni *E. granulosus* (s.s.) (G1-G3) olarak saptanmış ve bunu, % 11,07 ile *E.canadensis* (G6/G7), % 0,36 ile *E.ortleppi* (G5), % 0,06 ile *E.canadensis* (G8) ve % 0,06 ile *E.canadensis* (G10) takip ettiği belirlenmiştir.

Türkiye’de *E.granulosus* s.l.’nin genetik çeşitliliğinin araştırıldığı çalışmalar genellikle insan dışındaki ara konaklarda yoğunlaşmıştır. Vural ve ark’larının yapmış olduğu kapsamlı çalışmada, Tekirdağ, Afyon, Yozgat, Ardahan, Erzurum, Siirt, ve Kars illerinden toplanan, 112 hidatik kist izolatının (100 koyun, 12 sığır) genetik çeşitliliği, *cox1* gen bölgesi hedefli PCR sonrası, dizi analizi sonucunda, 107 izolat G1, 5 tanesi G3 genotipi ile uyumlu olarak saptanmıştır (106). Yapılan bir çalışmada, Anadolu yaban koyununda (*Ovis gmelinii anatolica*) hidatik kist materyalinde, yine *cox1* gen bölgesi hedefli PCR sonrası, dizi analizi yapılmış ve G1 genotipi olduğunu tespit edilmiştir. Bu, Anadolu yaban koyununda *E. granulosus*’un varlığınının bildirildiği ve genetik tiplendirilmesinin yapıldığı ilk rapordur (107). 1758 sığırın KE açısından incelenmesi sonucu 539/1758, %33,9’unda KE tespit edilmiştir. Elde edilen 220 hidatik kist materyali incelendiğinde, 175 tanesinin *E.granulosus* s.s. ile uyumlu patern gösterdiği, geri kalan örneklerin amplifiye edilemediği bildirilmiştir (108). Kırıkkale’de sığırlarda karaciğer (n=15) ve akciğerlerinden (n=5) elde edilen toplam 20 hidatik kist materyali, *cox1* geni hedefli PCR sonucu dizi analizi yapılarak bütün izolatların *E.granulosus* (s.s.) olduğu bildirilmiştir (109). Yine Kırıkkale’de yapılan bir çalışmada, koyunlardan elde edilen 24 adet hidatik kist materyali, RAPD-PCR metodu ile incelenmiş ve tüm izolatların G1 genotipi ile uyumlu patern gösterdiği belirtilmiştir (110). Karadeniz bölgesinde incelenen 166 mandanın 17 tanesinde KE varlığı tespit

edilmiş ve 10 örneğin moleküler analiz sonucu *E.granulosus* s.s. olduğu bildirilmiştir (110). Türkiye'nin de arasında bulunduğu 7 ülkeden (Yunanistan, Arnavutluk, İtalya ve İspanya, Romanya, Finlandiya) toplanan hidatik kist materyalleri incelenmiştir. Türkiye'den Doğu Anadolu bölgesinden gönderilen 69 izolata, 38'i sığır ve 31'i koyunlardan elde edilmiştir. Yapılan dizi analizleri sonucu izolatların hepsi G1 genotipi ile uyumlu bulunmuştur (103).

Türkiye'de özellikle insan kaynaklı hidatik kist materyalinden yapılan genetik çeşitlilik araştırmalarının kısıtlı sayıda olmasına rağmen literatür ile uyumlu şekilde G1 genotipinin en sık enfeksiyon etkeni olduğu görülmüştür. Bowles ve McManus'un 1992 yılında yayınladığı çalışma da, çeşitli ülkelerden gelen *E.granulosus* izolatlarını rRNA ITS1 bölgesi hedefli PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Bu izolatlar arasında, 2 tanesi Türkiye'den gönderilmiş olup, her ikisi de koyun suşu olarak tanımlanmıştır (111). Schneider ve ark. yaptığı çalışmada, 1978-2005 yılları arasında, toplamda 80 adet formalin ile fikse edilmiş parafine gömülü (FFPE) örneklerde patolojik olarak konfirme 76 *E.granulosus* (s.l.) izolataının çeşitliliği, NAD1 geni hedeflenerek araştırılmıştır. Örneklerin 64 tanesi PCR ile çoğaltılabilmiş ve 38 tanesi (%47.5) G1, 26'sı (%32,5) G5, G6 veya G7 genotipleri ile uyumlu olarak tanımlanmıştır. Örneklerden 20 tanesi Türkiye'de yaşayan hastalara ait olup, bu izolatların G1 genotipi ile uyumlu olduğu gösterilmiştir (112). Türkiye'de çeşitli ara konaklarda 208 izolat ile yapılan bir çalışmada, Elazığ, Malatya, Erzurum, Van, Diyarbakır ve Şanlıurfa illerinden toplanan izolat dağılımları, 179 koyun, 19 sığır, 7 keçi, 1 deve, 1 köpek ve 1 insan şeklindedir. Bu çalışmada izolatlar, restriksiyon enzimlerinin kullanıldığı PCR-RFLP yöntemi ile incelenmiş olup, tüm izolatların G1 genotipi ile uyumlu sonuç gösterdiği bildirilmiştir (113). 2009 yılında Ege Bölgesi'nde çeşitli ara konaklardan elde edilen 22 izolata, 12'si koyun ve 10 tanesinin insan kaynaklı olduğu belirtilmiştir. Yapılan analizler sonucu 9 tanesinin (4 koyun, 5 insan) G1 genotipi ile uyumlu olduğu, 8 izolata (4 koyun, 4 insan) G1 genotipinin mikrovaryantı olduğu belirlenmiştir. 2 koyundan elde edilmiş izolata G3 genotipi, 3 izolata (2 koyun, 1 insan) ise *E.canadensis* (G7 genotipi) olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma ile birlikte Türkiye'de domuz suşu olarak da bilinen *E.canadensis* (G7 genotipi) ilk defa rapor edilmiştir (104). Bir başka çalışmada, Ege bölgesi dışında her bölgeden insan kaynaklı 46 hidatik kist izolataının incelenmiştir.

Olguların çoğunda kist yerleşimi karaciğerde olup yalnızca 2 olguda akciğerde kist olduğu kaydedilmiştir. Çalışmada *cox1* geni hedeflenerek yapılan genetik analizlerde 446 bç'lik bölge BLAST algoritmasına göre yorumlanmış ve tüm izolatların G1 genotipi ile uyumlu olduğu bildirilmiştir (114). 70 adet FFPE izolatının incelendiği ve 29 tanesinin, 12S rRNA ve *cox1* genlerini hedefleyen PCR'lar ile çoğaltılabildiği bildirilmiştir. Bu 29 izolattan, 27'sinin *E.granulosus* (s.s.) (G1-G3 genotipi) ile uyumlu olduğu, 2 izolatın ise *E.canadensis* (G6 genotipi) ile uyumlu olduğu gösterilmiştir (115). Trakya bölgesinde, toplamda 58 hidatik kist materyallerinin elde edildiği konak dağılımı 42 insan, 13 sığır ve 3 koyun şeklinde belirtilmiştir. Bu çalışmada, genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla PCR-RFLP, PCR SSCP ve bazı örnekler DNA dizi analizi yöntemi uygulanmıştır. Sonuçta 58 izolattan 47'si PCR-RFLP analizlerinde G1 genotipi ile uyumlu patern göstermiş, 3 izolat ise farklı paternler göstermiştir. İnsan kaynaklı olan izolatların sadece 1 tanesi *E.canadensis* (G7 genotipi) geri kalanların ise G1 genotipi olarak bildirilmiştir (116). 10 pediatrik KE hastasının incelendiği bir çalışmada, tüm izolatlar *E.granulosus* (s.s.) (G1-G3 genotipleri) olarak tanımlanmıştır (117). Adana ilinde insandan elde edilmiş 20 hidatik kist materyali incelenmiş ve G1 genotipi ile uyum gösterdiği bildirilmiştir (118). Çeşitli ara konakların incelendiği bir çalışmada, toplamda 41 izolat incelenmiş olup, bunların 25'i insan, 8'i sığır, 6'sı koyun ve 2'si keçilerden elde edilmiştir. Cox 1 bölgesinin hedeflendiği PCR sonucu, dizi analizi yapılmış ve bütün izolatlar G1 genotipi ile uyumlu bulunmuştur (119). Yapılan bu çalışmaların çoğunda, mitokondriyal bir gen olan *cox1* bölgesi hedeflenmiş olup, çoğaltılan alanın yaklaşık 400 bç olduğu görülmüştür. Bir kısmında ise RFLP çalışılarak genotip tayini gerçekleştirilmiştir.

Bizim çalışmamızda da ağırlıklı olarak G1 genotipinin bulunması, genel Türkiye literatürü ile uyum içerisindedir. G7 genotipinin bulunmaması, örnek grubunun küçük olmasından kaynaklanmış olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Çalışmamızda kullanılan PCR ve Sanger dizi analizi metodu, genetik çeşitliliğin belirlenmesinde en duyarlı ve en güvenilir araçtır. Çoğunlukla mitokondriyal genlerin hedeflenmesinin nedeni, nükleer genlere kıyasla görece hızlı mutasyon oranlarına sahip olmaları olarak belirlenmiştir (121). En sık kullanılan mitokondriyal protein kodlayan genler *cox1* ve *nad1* *E. granulosus* s.l. içindeki intraspesifik varyasyonları göstermek

açısından çok değerlidir (122). Cox1 geninde görülen dizi farklılıkları, *Echinococcus* türleri arasında % 6 ila 11,5 iken; *E.granulosus* s.l. içerisinde %4,6 ila 9,3'tür (123). Güncel çalışmalarda, *E.granulosus* s.l. tür kompleksinin filogenetik analizleri için sıklıkla cox1, nad1 ve ATP6 genleri ile nüklear rDNA ITS1 genleri kullanılmaktadır. Ayrıca hedeflenen gen bölgesinin büyüklüğüne göre, genetik çeşitlilik farklılık göstermektedir (124). Bizim çalışmamızda, Türkiye'de yapılan diğer çalışmaların aksine yaklaşık 828 bç'lik bir alan hedeflenmiş ve Türkiye'den insan kaynaklı KE genetik çeşitliliği en uzun baz çifti baz alınarak incelenmiştir.

Haplotip analizlerine, 5 örnek DNA dizi analizi sonucu çift yönlü okumaları iyi olmadığı için katılmamıştır. Toplamda 46 örnek ile gerçekleştirilen haplotip analizleri sonucu, 28 haplotipin varlığı gösterilmiş ve yüksek çeşitlilik gösterdikleri saptanmıştır (Hd 0.9372 ± 0.0246). Buna karşın görülen düşük nükleotit çeşitliliği saptanmıştır (π 0.002821 ± 0.001743). Populasyon analizlerinde kullanılan nötralite indekslerinden, her ikisi de negatif ve istatistiksel olarak anlamlı olan Tajima's D ve Fu's Fs (Tajima's D -2.1263; $p < 0.01$; Fu's Fs -26.80; $p < 0.001$) populasyonun genişleme/yayılma gösterdiği sonucunu desteklemektedir.

Oluşturulan haplotip ağı kullanılarak, *E. granulosus* haplotipleri 3 ana gruba ayrılmıştır, "G1 grubu" (*E. granulosus* G1 izolatlarını içermektedir), "G3 grubu" (*E. granulosus* G1 izolatlarını içermektedir) ve "GX grubu" (*E. granulosus* G1 izolatlarından farklılık gösteren izolatları içermektedir). Örnekler genetik çeşitliliklerine göre 3 gruba ayrıldıktan sonra, demografik ve klinik veriler ile herhangi bir korelasyon gösterip, göstermediği irdelenmiştir. Genetik grupların, cinsiyete göre dağılımları incelendiğinde, G1 grubunun çoğunluğu (20/27, %74,1) kadın hastaların örneklerinden oluşmaktayken G3 grubunun çoğunluğu (4/7, %57,1) erkek hastalardan olduğu saptanmıştır. Pediatrik yaş grubunda (yaş<18), G1 grubu (8/10,%80) daha sık izlenmiştir. Buna rağmen, demografik özellikler ile genetik çeşitlilik arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Klinik özellikler ile genetik çeşitlilik arasındaki ilişki çok az sayıda irdelenmiştir. Farklı genotiplerin özellikle silvatik yaşam döngüsüne sahip olan genotiplerin etken olduğu Kanada ve Alaksa'daki KE vakalarının patolojileri

incelendiğinde, diğer KE vakalarındaki patolojilerden daha hafif olduğu saptanmıştır (125, 126). Buna karşın 2002’de yayınlanan Alaska orijinli, şiddetli klinik bulguları olan 2 vakanın incelendiği çalışmada moleküler analizler sonucu *E.canadensis* (G8) olarak belirlenmiştir. Bu vakaların sıradışı olabileceği, nadir görülen komplikasyonlar seyredilmiş olabileceği belirtilmiştir (127). Bütün bu incelemelere rağmen sivatik döngüsü olan genotipler ile klinik seyir arasındaki ilişki hala belirsizliğini korumaktadır. Retrospektif olarak yapılan bir çalışmada, 104 hasta örneğinin, 69 tanesi FFPE örneğinden ve 35 tanesi yeni elde edilmiş kist materyalinden oluşmuştur. Örneklerin moleküler analizleri sonucu, 68 tanesinin G1 genotipi (*E.granulosus* s.s.), 33 tanesinin G7 genotipi (*E.canadensis*) ve 3 tanesinin de G6 (*E.canadensis*) genotipi ile uyumlu olduğu gösterilmiştir. Geriye yönelik yapılan taramada, hastaların anamnezleri ve klinik kayıtları incelenerek, G7 genotipinin (*E.canadensis*), insanlarda en sık enfeksiyon etkeni olan G1 genotipine (*E.granulosus* s.s.) kıyasla daha küçük boyutta kistler oluşturduğu belirlenmiştir (128). Arjantina’da insan kaynaklı 41 hidatik kist materyalinin incelendiği bir çalışmada, 19 örnek G1 genotipi, 15 örnek G6 genotipi, 6 tanesi G2 genotipi ve 1 tanesi G5 genotipi olarak belirlenmiştir. Hastaların klinik özellikleri incelendiğinde, G6 genotipinin etken olduğu KE vakalarında, kistlerin daha hızlı oranda büyüdüğü gösterilmiştir (129). 10 tane serebral KE olgusunun incelendiği bir çalışmada ise ağırlıklı olarak G6 (*E.canadensis*) genotipinin etken olarak izlendiği bildirilmiştir (130).

Bizim çalışmamızda, çeşitli klinik özellikler ile genetik gruplar arasındaki korelasyon incelendiğinde, öncelikle, kist sayısı ve genetik çeşitlilik arasındaki ilişki araştırılmıştır. Kist sayısı bir ve birden çok kisti olma durumuna göre 2 gruba ayrılmıştır. G1 grubu her iki grupta da daha sık görülmüştür. Ayrıca kist tiplerinde de CE1 kist tipinin tüm genetik gruplarda baskın olarak izlendiği saptanmıştır. Hidatik kistler çoğunlukla karaciğer sağ lobda kaydedilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu, genetik çeşitlilik ve bu kist özellikleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Diğer yandan, ilk tanı sırasında kaydedilen kist çapları, diğer genetik gruplar ile kıyaslandığında G3 grubunda kist çapının istatistiksel olarak anlamlı derecede küçük olduğu saptanmıştır ($p=0,006$). Benzer şekilde, tedaviden 6 ay sonraki kist çapı

ölçümleri de yine G3 grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p=0,015$). Kist hacimleri incelendiğinde ise, yine başlangıç hacimlerinin ve tedaviden 6 ay sonra kaydedilen hacimlerin, G3 grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu kaydedilmiştir ($p=0,003$, $p=0,03$).

Literatürde daha önce farklı genotiplerin (G1 ve G7 genotipleri arasında) farklı kist boyutlarına neden olduğu bir çalışmada gösterilmiştir (128). Bizim çalışmamızda da, ilk defa G3 genotipinin G1 ve G1 mikrovaryantlarına göre daha küçük boyutta kistler oluşturduğu gösterilmiştir. İncelenen diğer parametreler ile anlamlı bir ilişki olmaması nedeniyle kist çapı ve hacimlerinin genetik farklılık nedeniyle gruplar arası fark gösterdiği anlaşılmıştır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Kist hidatik, Türkiye’de çok eski zamanlardan beri varlığı bilinen bir hastalıktır. Buna rağmen konu ile ilgili ülkemizde yeterli düzeyde, güncel ve süreklilik gösteren epidemiyolojik ve genetik bilgi bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda, Türkiye’nin her bölgesinden, merkezimize başvuran hastalarda kistik ekinokokkozis’in parazitolojik açıdan varlığını doğrulamak, moleküler olarak karakterizasyonunu yapmak ve genetik farklılıklar ile klinik özellikler arasındaki ilişkinin ortaya konması amaçlanmıştır.

Bu doğrultuda, Kasım 2014 ile Aralık 2016 tarihleri arasında, Hacettepe Üniversitesi Hastanesi, Radyoloji Anabilim Dalı, Non Vasküler Girişimsel ünitesinde kist hidatik tanısı almış olan 65 hastanın kist materyalleri incelenmiştir. Bu 65 hastanın kist materyallerine genotiplendirme amacıyla, DNA ekstraksiyonu, PCR, elektroforez işlemleri sırasıyla uygulanmış ve pozitif olan örnekler dizi analizine gönderilmiştir. 65 hastadan, 51’inin örnekleri PCR pozitifliği göstermiş olup, hepsi dizi analizine gönderilmiştir. Örneklerin hepsi *E.granulosus* (s.s.) olarak tanımlanmış olup, 44 tanesi G1 genotipi ile uyumlu, 7 tanesi ise G3 genotipi ile uyumlu bulunmuştur. Dizi analizi sonucu, 46 örneğin çift yönlü okumaları düzgün olup, haplotip analizi uygulanmıştır.

Haplotip analizi sonucu, örnekleri 3 ana genetik gruba ayırmak mümkün olmuş ve bu genetik grupların hastaların demografik ve klinik özellikleri ile korelasyon gösterip, göstermediği araştırılmıştır. Hastaların cinsiyet, yaş ve ikamet ettikleri coğrafi bölge gibi demografik özellikler ile genetik gruplar arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır. Kist tipi, kist sayısı, kistin yerleşim gösterdiği organ ve tedavi yöntemi ile genetik gruplar arasındaki ilişki de incelenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Bizim çalışmamızda gösterilen bu ilişkiler, gelecekte yapılacak daha büyük örneklem sayısına sahip çalışmalar ile doğrulanmalı ve Türkiye’de insan kaynaklı kistik ekinokokkozisin genetik karakterizasyonu yapılacak çalışmalar ile güncellenmelidir.

KAYNAKLAR

1. Cox F. E. G. History of human parasitology. *Clinical Microbiology Reviews*. 2002; 15(4): 595–612.
2. Tınar R. Echinococcosis. İzmir: Hidatidoloji Derneği Yayınları; 2004; 1: 1-9.
3. Kenneth L. F, Putnam J.B. Advanced Therapy in Thoracic Surgery. B.C Decker Inc. 2005; 19: 241-247.
4. Altıntaş N. Past to present: echinococcosis in Turkey. *Acta Tropica*. 2003; 85: 105-112.
5. Romig T, Ebi D, Wassermann M. Taxonomy and molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus sensu lato*, *Veterinary Parasitology*. 2015; 213: 76-84.
6. Thompson R.C.A, Lymbery A.J. Lets not forget the thinkers. *Trends in Parasitology*. 2013; 29: 581-584.
7. Xiao N, Qiu J, Nakao M, Li T, Yang W, Chen X. et al. *Echinococcus shiquicus* sp., a taeniid cestode from Tibetan fox and plateau pika in China. *International Journal for Parasitology*. 2005; 35: 693-701.
8. Nakao M, McManus D.P, Schantz P.M, Craig P.S, Ito A. A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus* inferred from complete mitochondrial genomes. *Parasitology*. 2007; 134: 713–722.
9. Hüttner M, Nakao M, Wassermann T, Siefert L, Boomker J.D.F, Dinkel A. et al. Genetic characterization and phylogenetic position of *Echinococcus felidis* Ortlepp, 1937 (Cestoda: Taeniidae) from the African lion. *International Journal for Parasitology*. 2008; 39: 861-868.
10. Kumaratilake L.M, Thompson R.C.A, Hydatidosis/echinococcosis. *Helminthology*. 1982; 51: 233-252.
11. Thompson R.C.A, McManus D. Aetiology: parasites and life cycles. Eckert J, Gemmell MA, Meslin FX, Pawlowski ZS. WHO/OIE Manuel on Echinococcosis in humans and animals. Paris: World Organisation for Animal Health (OIE) and World Health Organization (WHO); 2001.

12. Bowles J, Blair D, McManus D.P. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 1992; 54: 165-174.
13. Bowles J, McManus D.P, Molecular variation of *Echinococcus*. *Acta Tropica*. 1993; 53: 291-305.
14. Bowles J, Blair D, McManus D.P. Molecular genetic characterization of the cervid strain ('northern form') of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology*. 1994; 109: 215-221.
15. Scott J.C, Stefaniak J, Pawlowski Z.S, McManus D.P. Molecular genetic analysis of human cystic hydatid cases from Poland: identification of a new genotypic group (G9) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology*. 1997; 114: 37-43.
16. Lavikainen A, Lehtinen M.J, Meri T, Hirvela-Koski V, Meri S. Molecular genetic characterization of the Fennoscandian cervid strain, a new genotyping group (G10) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology*. 2003; 127: 207-215.
17. Thompson R.C.A, McManus D.P. Towards a taxonomic revision of the genus *Echinococcus*. *Trends in Parasitology*. 2002; 18: 452-457.
18. Ütük A.E, Şimşek S. *Echinococcus* ve suş kavramı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 2008; 32 (1): 35-41.
19. Thompson RCA. *Biology and Systematic of Echinococcus*. Thompson RCA, Lymbery AJ. *Echinococcus and Hydatid Diseases*. Wallingford: CAB International; 1995.
20. Poyraz A.S. *Kliniğimizde Yatarak Tedavi Gören Akciğer Hidatik Kistli Vakaların Retrospektif Değerlendirilmesi [Uzmanlık tezi]*. Konya: T.C. Selçuk Üniversitesi; 2002.
21. Yazar S. *Karaciğer Kist Hidatiklerinde Perkütan Drenaj ve Açık Cerrahi Sonrası Kist Poşunun Ultrasonografi ve Bilgisayarlı Tomografi ile Takibi [Uzmanlık tezi]*. Şanlıurfa: T.C. Harran Üniversitesi; 2006.
22. Eryıldız C. *Echinococcus granulosus* izolatlarının genotiplendirilmesi [Uzmanlık tezi]. Edirne: T.C. Trakya Üniversitesi; 2012.

23. Şenlik B. Echinococcosisde Hayvanlarda Tanı. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Echinococcosis. İzmir: Hidatidoloji Derneği Yayınları; 2004.
24. Yuncu G, Sevinç S. Akciğer Hidatik Kistleri. Ökten İ, Güngör A. Göğüs Cerrahisi. 2. Ankara: Türk Göğüs Cerrahisi Derneği; 2003.
25. Şenlik B, Diker A.İ. Echinococ'ların Taksonomisi ve Morfolojisi. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Echinococcosis. İzmir: Hidatidoloji Derneği Yayınları; 2004.
26. Thompson R.C.A. Echinococcosis. S.H. Gillespie, R.D. Pearson. Principles and practice of clinical parasitology. Chichester: John Wiley; 2001.
27. Özcel MA. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. İzmir: Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri; 2007.
28. Reyhan G. Tek ve Çoğul Tutulumlu Akciğer Kist Hidatik Olgularında Morbiditeyi Etkileyen Faktörler [Uzmanlık tezi]. Edirne: T.C. Trakya Üniversitesi; 2010.
29. Boğa B. Aydın Yöresindeki Köpeklerde Echinococcus granulosus Yaygınlığının Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Belirlenmesi [Yüksek lisans tezi]. Aydın: T.C. Adnan Menderes Üniversitesi; 2012.
30. Uysal EB. Hidatidozun Tanısında Ticari İFA ve İHA Testleri ile Laboratuvarımızda Kendi Hazırladığımız İndirekt Flöresan Antikor Testinin Karşılaştırılması [Uzmanlık tezi]. Konya: T.C. Selçuk Üniversitesi; 2008.
31. Markell EK, John DT. Medical Parasitology. 7. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1992.
32. Hacıhanefioğlu H. Akciğer patolojisi. İstanbul: Çeliker Matbaacılık Sanayii ve Ticaret Kollektif Şirketi; 1979.
33. Ayaz E, Tınar R. Cestoda. Tınar R. Helmintoloji. Ankara: Nobel Yayın; 2006.
34. Pawłowski Z.S, Eckert J, Vuitton D.A, Ammann R.W, Kern P, Craig P.S. et al. Echinococcosis in humans: clinical aspects, diagnosis and treatment. Eckert J, Gemmell MA, Meslin FX, Pawłowski ZS. WHO/OIE Manuel on Echinococcosis in humans and animals. Paris: World Organisation for Animal Health (OIE) and World Health Organization (WHO); 2001.
35. Sayek İ. Kist Hidatik Hastalığı Klinik Yönleri. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Echinococcosis. İzmir: Hidatidoloji Derneği Yayınları; 2004.

36. Doğanay M, Altıntaş N. Zoonozlar Hayvanlardan İnsanlara Bulaşan Enfeksiyonlar. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2009.
37. Brunetti E, Kern P, Vuitton DA. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta Tropica*, 2010; 114(1): 1-16.
38. Sever A, Elmas A. Echinococcosisde görüntüleme yöntemleri. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Echinococcosis. İzmir: Hidatidoloji Derneği; 2004.
39. Sayek I. Temel Cerrahi. 4. Baskı, Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri; 2013.
40. McManus DP, Zhang W, Li J, Bartley PB. Echinococcosis. *Lancet* 2003; 362(9392), 1295-1304.
41. Moro PL, Nakao M, Ito A, Schantz PM, Caverio C, Cabrera L. Molecular identification of Echinococcus isolates from Peru. *Parasitology International* 2009; 58(2): 184-186.
42. Gonzalez-Hernandez A, Santivanez S, Garcia HH, Rodriguez S, Munoz S, Ramos G ve ark. Improved Serodiagnosis of Cystic Echinococcosis Using the New Recombinant 2B2t Antigen. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012; 6 (7): 1-9.
43. Manzano-Roman R, Ovejero-Sanchez C, Gonzalez-Hernandez A, Casulli A, Lucas-Siles M. Serological Diagnosis and Follow-Up of Human Cystic Echinococcosis: A New Hope for the Future? *BioMed Research International*. 2015; 1-9.
44. Altıntaş N, Yazar S. Kistik Ekinokokkozis’de İmmun Tanı. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Echinococcosis. İzmir: Hidatidoloji Derneği; 2004.
45. Ütük AE, Şimşek S, Koroğlu E. Echinococcus Cinsinin Moleküler Genetik Karakterizasyonu. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 2005; 29(3): 171-176.
46. Christofi G, Deplazes P, Christofi N, Tanner I, Economides P, Eckert J. Screening of dogs for Echinococcus granulosus coproantigen in a low endemic situation in Cyprus. *Vet Parasitol*. 2002; 104(4): 299-306.
47. Boufana B, Campos-Ponce M, Naidich A, Buishi I, Lahmar S, Zeyhle E ve ark. Evaluation of three PCR assays for the identification of the sheep strain (genotype 1) of Echinococcus granulosus in canid feces and parasite tissues. *Am J Trop Med Hyg*. 2008; 78(5): 777-783.

48. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. İnsan Moleküler Genetiği için Araçlar. Thompson and Thompson. Tıbbi genetik. Ankara: Güneş Kitabevi; 2005.
49. Alvarez Rojas C.A., Romig, T., Lightowers, M.W., Echinococcus granulosus sensu lato genotypes infecting humans – review of current knowledge. International Journal for Parasitology. 2014; 44: 9–18.
50. Gasser RB, 1999. PCR-based technology in veterinary parasitology. Vet Parasitol., 84: 229-258.
51. Aydın-Öz S. RAPD Belirleyicileri ve Bitki Sistematiği. Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 2004; 6: 113-130.
52. Orita M, Iwahana H, Kanazawa H, Hayashi K, Sekiya T. Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. Proc Natl Acad Sci USA 1989;86(8):2766-70.
53. Leung KH, Yip SP. Single strand conformation polymorphism. In: Walker JM, Rapley R (Eds.). Molecular biometrics handbook. 2nd ed. New Jersey: Humana Pres; 2008.p.117-31.
54. Morris DL, Richards KS. Hydatid disease. Oxford: Butterworth Heinemann Ltd; 1992.
55. World Health Organization (WHO) – Guidelines for treatment of cystic and alveolar echinococcosis. WHO Informal Working Group on Echinococcosis. Bull. WHO. 1996; 74: 231-242.
56. Schantz PM. Larval cestodiasis. Hoeprich PD, Jordan MC, editors. Infectious diseases. 4th ed. Philadelphia: J. B. Lippincott Co; 1989.
57. King CH. Cestodes (Tapeworms). Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone; 2005.
58. Sever A, Elmas A. Echinococcosisde görüntüleme yöntemleri. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A (Editörler). Echinococcosis. İzmir: Hidatidoloji Derneği Yayınları; 2004.
59. Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review. Int J Infect Dis 2009;13(2):125-

60. Tamarozzi F, Mariconti M, Covini I, Brunetti E. Rapid diagnostic tests for the serodiagnosis of human cystic echinococcosis. *Bulletin De La Societe De Pathologie Exotique*. 2017; 110(1): 20-30.
61. Beyhan YE, Babür C, Mungan M, Özkan AT. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvarı'na 2009-2013 Yılları Arasında Başvuran Kistik Ekinokokkozis Şüpheli Hastaların Değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitol Derg*. 2015; 39: 17-21.
62. Torgerson PR, Budke CM. Echinococcosis – an international public health challenge. *Res Vet Sci*. 2003; 74(3): 191-202.
63. Romig T. Epidemiology of echinococcosis. *Langenbecks Arch Surg* 2003;388(4):20917.
64. 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.
65. Zhenghuan W, Xiaoming W, Xiaoqing L. Echinococcosis in China, a Review of the Epidemiology of Echinococcus spp. *Ecohealth* 2008;5(2):115-26.
66. Economides P, Christofi G. Evaluation of control programmes for echinococcosis/hydatidosis in Cyprus. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*. 2000; 19 (3): 784-792.
67. Zhang T, Zhao W, Yang D, Piao D, Huang S, Mi Y et al. Human cystic echinococcosis in Heilongjiang Province, China: a retrospective study. 2015; 15:29-34.
68. Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review. *International Journal of Infectious Diseases*. 2009; 13: 125-133.
69. Craig PS, Larrieu E. Control of Cystic Echinococcosis/Hydatidosis: 1863-2002. *Advances in Parasitology*. 2006; 61: 443-509.
70. Yazar S, Ozkan AT, Hökelek M, Polat E, Yilmaz H, Özbilge H, et al. Cystic Echinococcosis in Turkey from 2001-2005. *Turkish Journal of Parasitology*. 2008; 32(3): 208-220.

71. Altıntaş N, Karababa AO. Echinococcosisde korunma ve kontrol. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A (Editörler). Echinococcosis'de. İzmir: Hidatidoloji Derneği;2004.s.355-68.
72. Casulli A. ve ark. Genetic variability of Echinococcus granulosus sensu stricto in Europe inferred by mitochondrial DNA sequences. Infection, Genetics and Evolution. 2012, 12, 377–383.
73. Thompson R.C.A. The taxonomy, phylogeny and transmission of Echinococcus. Exp. Parasitol. 2008, 119, 439–446.
74. Başpınar S, Kaplan M, Keleştemur N. The Prevalance of Cystic Echinococcosis in live stock slaughtered between 2008-2012. FÜ Sağ Bil Vet Derg. 2014; 28(2): 89-92.
75. Değer S, Biçek K. Larval Cestodiosis in Sheep, Goats and Cattle Slaughtered in Tatvan Abattoir. YYÜ Vet Fak Derg. 2005; 16(1): 45-47.
76. Oğuz B, Değer S. Van Belediye Mezbahasında Kesilen Sığır ve Koyunlarda Taenia hydatigena Sistiserkozusu ve Kistik ekinokokkozis. Türkiye Parazitoloj Derg. 2013; 37: 186-189.
77. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. (Editörler) Echinococcosis. İzmir: Hidatidoloji Derneği Yayın No: 1, 2004 s.önsöz.
78. Tunçözgür B, Elbeyli L. Pediyatrik Akciğer Hidatik Kistlerinin Cerrahi Tedavisi. Yüksel M, Kaptanoğlu M (Editörler) Pediyatrik Göğüs Cerrahisi İstanbul: Turgut Yayıncılık A.Ş. 2004. s.319-34.
79. Gülgösteren M. Akciğer Kist Hidatiklerinde Preoperatif Perforasyonun ve Süpürasyonun Cerrahi Tedaviye ve Morbiditeye Etkileri [Uzmanlık tezi]. Gaziantep: T.C. Gaziantep Üniversitesi; 2006.
80. Nart D. Cystic ve Alveolar Echinococcosis Patogenezi Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. (Editörler) Echinococcosis. İzmir: Hidatidoloji Derneği Yayın No: 1, 2004 s. 149-57.
81. Sırmalı M. Akciğer Kist Hidatikleri ve Cerrahi Tedavisi. Tıp Araştırmaları Dergisi 2005;3:46-9.

82. Shehatha J, Alizzi A, Alward M, Konstantinov I. Thoracic Hydatid Disease;A Review of 763 Cases. *Heart, Lung and Circulation* 2008;17:502-4.
83. Arinc S, Kosif A, Ertugrul M, Arpag H, Alpay L, Ünal Ö et al. Evaluation of pulmonary hydatid cyst cases. *International Journal of Surgery* 2009;7:192-5.
84. Sırmalı M. Akciğer kist hidatikleri cerrahi tedavisi. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2005;3: 46-9
85. Önen A, Şanlı A, Avcı BY. Akciğerin Dev Kist Hidatiği: 10 Olgu Sunumu. *Toraks Dergisi* 2004; 5(2):106-9.
86. Demirhan R, Onan B, Kırıl H, Yalçınkaya İ. Çocukluk çağı akciğer dev kist hidatiklerinde cerrahi tedavi. *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg* 2010;18(2):121-5.
87. Topuzlar M Eken C, Ozkurt B, Khan F. Possible Anaphylactic Reaction Due to Pulmonary Hydatid Cyst Rupture Following Blunt Chest Trauma:A Case Report and Review of the Literature. *Wilderness and Environmental Medicine* 2009;19:119-23.
88. Khanfar N. Hydatid disease: a review and update. *Current Anaesthesia & Critical Care* 2004;15:173-83.
89. WHO Informal Working Group on Echinococcosis. Guidelines fot treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Bulletin of the World Health organisation* 1996;74(3):231-42.
90. Rahman A, Yücel A, Yılmaz M. Sekonder Yerleşimli Bir Perikardiyak Kist Hidatik Olgusu ve Kist Hidatik Skoleks ve Çengellerinin Bazı Boya Solüsyonları ile Boyanması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 2008; 32(1): 31-4.
91. Özlen B,Özdemir L,Yörük Y, Altıay G, Tabakoğlu E, Hatipoğlu ON. Aktif Akciğer Tüberkülozunu Taklit Eden Üst Lob Yerleşimli Patlamış Kist Hidatik Olgusu. *Trakya Univ Tıp Fak Derg* 2007;24(2):146-9.
92. Yazar, S. : Cystic Echinococcosis (CE)'in tanısında SDS-PAGE ve Western blot yönteminin diğer serolojik tanı yöntemleri ile karşılaştırılması [Doktora tezi]. İzmir: T.C. Ege Üniversitesi, 1998.
93. Brehm K, Koziol U. Echinococcus-Host Interactions at Cellular and Molecular Levels. *Adv Parasitol.* 2017; 95: 147-212.

94. Beyrouiti MI, Beyrouiti R, Abes I, Kharrat M et al. Acute rupture of hydatid cysts in the peritoneum: 17 cases. *Presse Med.* 2004; 33(6): 378-384.
95. Karaman Ü, Daldal N, Atambay M, Aycan Ö. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 1999-2002 tarihleri arasında incelenen hidatik kist ön tanılı olguların serolojik sonuçları. *İNönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.* 2002; 9(4): 233-235.
96. Canda M.S., Canda T. : Ekinokokkozis: 47 Olgunun Sunumu ve Türkiye'nin Ekinokokkozis Sorunu. *T Parazitoloj Derg* 19(1), 64-82, 1995
97. Hasanoğlu A., Bülbüloğlu E., Baysal T., Şahin M., Ertaş E. : A huge hydatid Cyst of Liver: A case report. *Journal of Turgut Özal Medical Center* 3, (2), 127-9, 1996
98. Özçelik S., Saygı G. : Kist hidatik tanısında indirekt hemaglutinasyon deneyinin duyarlılığı ve özgüllüğü. *T Parazitoloj Derg* 14, (1), 21-26, 1990
99. Manterola C, Vial M, Melo A, Oberg C, Fonseca F. Viability and fertility of human hepatic hydatid cysts. *World J Surg* 2006;30(2):227-32.
100. Tor M, Atasalihli A, Altuntas N, Sulu E, Senol T, Kir A et al. Review of Cases with Cystic Hydatid Lung Disease in a Tertiary Referral Hospital Located in an Endemic Region: A 10 Years' Experience. *Respiration* 2000;67:539-42.
101. Gönlügür U, Gönlügür TE, Akkurt İ. Kist Hidatik Tanısında Serolojik Testlerin Değeri Derleme. *Akciğer Arşivi:* 2004;5:158-61.
102. Sırmalı M. Akciğer kist hidatikleri cerrahi tedavisi. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2005;3: 46-9.
103. Kinkar L, Laurimae T, Simsek S, Balkaya I, Casulli A, Manfredi MA ve ark. High-resolution phylogeography of zoonotic tapeworm *Echinococcus granulosus sensu stricto* genotype G1 with an emphasis on its distribution in Turkey, Italy and Spain. *Parasitology.* 2016; 143(13): 1790-1801.
104. Snabel V, Altintas N, D'Amelio S, Nakao M, Romig T, Yolasiğmaz A ve ark. Cystic echinococcosis in Turkey: genetic variability and first record of the pig strain (G7) in the country. *Parasitol Res.* 2009; 105: 145–154.
105. Vural G, Unsal Baca A, Gauci CG, Bağcı O, Gıcık Y, Lightowers 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. *Veterinary Parasitology* 2008;154(3-4):347-50.
106. Simsek S, Eroksuz Y. Ocurrence and molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in Turkish mouflon (*Ovis gmelinii anatolica*). *Acta Tropica* 2009;109(2):1679.
107. Simsek S, Balkaya I, Koroglu E. Epidemiological survey and molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in cattle in an endemic area of eastern Turkey. *Veterinary Parasitology*. 2010; 172: 347-349.
108. Gökpınar S, Değirmenci R, Yıldız K. Kırıkkale’de kesilen sığırlarda *Echinococcus granulosus*’un moleküler olarak genotiplendirilmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*. 2017; 64: 51-54.
109. Yıldırım-Budak AF, Yıldız K, Çakır Ş, Gazyağcı AN. Kırıkkale Bölgesinde Koyun Kökenli *Echinococcus granulosus* İzolatlarının Moleküler Karakteri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 2010; 16(2): 245-250.
110. Beyhan YE, Umut S. Molecular characterization and prevalence of cystic echinococcosis in slaughtered water buffaloes in Turkey. *Veterinary Parasitology*. 2011; 181: 174-179.
111. Bowles J, McManus DP. Rapid discrimination of *Echinococcus* species and strains using a polymerase chain reaction-based RFLP method. *Mol Biochem Parasitol* 1993;57(2):231-40.
112. Schneider R, Gollackner B, Edel B, Schmid K, Wrba F, Tucek G et al. Development of a new PCR protocol for the detection of species and genotypes (strains) of *Echinococcus* in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Int J Parasitol*. 2008; 38(8-9): 1065-1071.
113. Utuk AE, Simsek S, Koroglu E, McManus DP. Molecular genetic characterization of different isolates of *Echinococcus granulosus* in east and southeast regions of Turkey. *Acta Tropica*. 2008; 107: 192-194.
114. Ergin S, Saribas S, Yuksel P, Zengin K, Midilli K, Adas G et al. Genotypic characterisation of *Echinococcus granulosus* isolated from human in Turkey. *African Journal of Microbiology Research*. 2010; 4 (7): 551-555.

115. Simsek S, Kaplan M, Ozercan IF. A comprehensive molecular survey of *Echinococcus granulosus* in formalin-fixed paraffin-embedded tissues in human isolates in Turkey. *Parasitol Res.* 2011; 109: 411–416.
116. Eryildiz C, Şakru N. Molecular Characterization of Human and Animal Isolates of *Echinococcus granulosus* in the Thrace Region, Turkey. *Balkan Med J.* 2012; 29: 261-267.
117. Bakal U, Simsek S, Kazez A. Surgical and Molecular Evaluation of Pediatric Hydatid Cyst Cases in Eastern Turkey. *Korean J Parasitol.* 2015; 53(6): 785-788.
118. Eroglu F, Genc A, Koltas IS. The genotyping of *Echinococcus granulosus* isolates with PCR-RFLP Methods in Adana Province. *Zirve Medical Journal.* 2016; 1(1): 22-25.
119. Erdoğan E, Özkan B, Mutlu F, Karaca S, Şahin İ. Farklı Konaklardan Elde Edilen *Echinococcus granulosus* İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu. *Mikrobiyol Bul.* 2017; 51(1): 79-86.
120. McManus DP. Molecular discrimination of taeniid cestodes. *Parasitol Int* 2006;55:317.
121. McManus DP. The molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus* and cystic hydatid disease. *Trans S Soc Trop Med Hyg* 2002;96(1):151-7.
122. Bowles J, McManus DP. NADH dehydrogenase 1 gene sequences compared for species and strains of the genus *Echinococcus*. *Int J Parasitol* 1993;23(7):969-72.
123. Thompson RCA. The taxonomy, phylogeny and transmission of *Echinococcus*. *Exp Parasitol* 2008;119(4):439-46.
124. Alvarez-Rojas CA, Ebi D, Paredes R, Acosta-Jamett G, Urriola N, Roa JC et al. High intraspecific variability of *Echinococcus granulosus sensu stricto* in Chile. *Parasitology International.* 2017; 66: 112–115.

125. Meltzer H, Kovaks V, Orford T, Matas M. Echinococcosis in North American Indians and Eskimos. *Can Med Assoc J.* 1956; 75(2): 121-127.
126. 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): 1-15.
127. Castrodale LJ, Beller M, Wilson JF, Schantz PM, McManus DP, Zhang LH et al. Two atypical cases of cystic echinococcosis (*Echinococcus granulosus*) in Alaska, 1999. *Am J Trop Med Hyg.* 2002; 66(3): 325-327.
128. Schneider R, Gollackner B, Schindl M, Tucek G, Auer H. *Echinococcus canadensis* G7 (Pig Strain): An Underestimated Cause of Cystic Echinococcosis in Austria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2010; 82(5): 871–874.
129. Guarnera EA, Parra A, Kamenetzky L, Garcia G, Gutierrez A. Cystic Echinococcosis in Argentina: evolution of metacestode and clinical expression in various *Echinococcus granulosus* strains. *Acta Tropica.* 2004; 92: 153-159.
130. Sadjjadi SM, Mikaeili F, Karamian M, Maraghi S, Sadjjadi FS, Shariat-Torbaghan S et al. Evidence that the *Echinococcus granulosus* G6 genotype has an affinity for the brain in humans. *International Journal for Parasitology.* 2013; 43: 875-877.

EKLER

EK-1: Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul İzni



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 -642

06 Haziran 2014

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 04.06.2014 ÇARŞAMBA
Toplantı No : 2014/09
Proje No : GO 14/293 (Değerlendirme Tarihi 14.05.2014)
Karar No : GO 14/293 - 37

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Okan AKHAN ve Prof.Dr.Devrim AKINCI'nın sorumlu araştırmacıları oldukları, Doç.Dr.Türkmen ÇİFTÇİ ve Uzm.Dr.Burcu AKPINAR ile birlikte çalışacakları GO 14/293 kayıt numaralı ve "Merkez Bölgede ve Doğu Bölgesinde İnsanlarda Görülen Kistik Ekinokokkozis Araştırması. (Kısa Adı:HERACLES)" başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

- | | |
|----------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| 1. Prof. Dr. Nurten Akarsu (Başkan) | 9 Prof. Dr. Melahat Görduysus (Üye) |
| 2. Prof. Dr. Nüket Ornek Buken (Üye) | GÖREVLİ
10. Prof. Dr. Cansın Saçkesen (Üye) |
| 3. Prof. Dr. M. Yılmaz Sara (Üye) | 11. Prof. Dr. R. Köksal Özgül (Üye) |
| 4. Prof. Dr. Sevda F. Müftüoğlu (Üye) | 12. Prof. Dr. Ayşe Lale Doğan (Üye) |
| 5. Prof. Dr. Cenk Sökmenster (Üye) | 13 Doç. Dr. S. Kutay Demirkan (Üye) |
| GÖREVLİ
6. Prof. Dr. Volga Bayrakçı Tunay (Üye) | 14. Prof. Dr. Leyla Dinç (Üye) |
| 7. Prof. Dr. Songül Vaizoğlu (Üye) | 15. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev Turnagöl (Üye) |
| GÖREVLİ
8. Prof. Dr. Yılmaz Selim Erdal (Üye) | 16. Av. Meltem Onurlu (Üye) |

ÖZGEÇMİŞ



KİŞİSEL BİLGİLER:

Adı Soyadı: Serra ÖRSTEN

Doğum Yeri: Ankara

Doğum Tarihi: 22.04.1988

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

Medeni Durumu: Bekar

Telefon: +90 535 856 34 36

Yazışma adresi: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı, Morfoloji Binası 3. kat, 06100, Sıhhiye, Ankara

E-posta: serraorsten@gmail.com

Yabancı Dil: İngilizce 86,25/100 YDS (2014)

EĞİTİM:

Lisans: Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2006-2011)

Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji

Anabilim Dalı (2011-2013)

Doktora: Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı (2013-)

Yüksek Lisans Tezi: Ankara bölgesinde Batı Nil virusu ve Toskana virus
vektörlerinin araştırılması

Proje Desteği: Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi
Proje No. 012 D11 101 006

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Koray Ergünay

YAYINLAR (SCI, SCI-EXP):

1. Ergunay K, Gunay F, Oter K, Kasap OE, **Orsten S**, Akkutay AZ, Erdem H, Ozkul A, Alten B. Arboviral surveillance of field-collected mosquitoes reveals circulation of West Nile virus (WNV) Lineage 1 strains in Eastern Thrace, Turkey. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 2013; 3(10):744-52.
2. **Orsten S** and Ocal M, Inkaya AC, Yetim E, Acar NP, Alp S, Erisoz Kasap O, Gunay F, Arsava EM, Alten B, Ozkul A, Us D, Niedrig M, Ergunay K. Ongoing Activity of Toscana Virus Genotype A and West Nile Virus Lineage 1 Strains in Turkey: A Clinical and Field Survey. Zoonoses and Public Health. 2014; 61(7):480-91.
3. Ergunay K, Erisoz Kasap O, **Orsten S**, Oter K, Gunay F, Akkutay ZA, Dincer E, Alten B, Ozkul A. Phlebovirus and *Leishmania* detection in sandflies from eastern Thrace and northern Cyprus. Parasites and Vectors. 2014; 12(7):575.
4. Ergünay K, Litzba N, Brinkmann A, Günay F, Kar S, Öter K, **Örsten S**, Sarıkaya Y, Alten B, Nitsche A, Linton YM. Isolation and genomic characterization of culex theileri flaviviruses in field-collected mosquitoes from Turkey. Infection, Genetics and Evolution. Infection, Genetics and Evolution. 2016; 46: 138-147.

5. Ergünay K, Brinkmann A Litzba N, Günay F, Kar S, Öter K, **Örsten S**, Sarıkaya Y, Alten B, Nitsche A, Linton YM. A novel rhabdovirus, related to Merida virus, in field-collected mosquitoes from Anatolia and Thrace. *Archives of Virology*; 2016; 162(7): 1903-1911.
6. Ergünay K, Litzba N, Brinkmann A, Günay F, Sarıkaya Y, Kar S, **Örsten S**, Öter K, Erisoz Kasap O, Ozkul A, Mitchell L, Nitsche A, Alten B, Linton YM. Co-circulation of West Nile virus and distinct insect-specific flaviviruses in Turkey. *Parasites and Vectors*; 2017, 10(1):149.

POSTER ve SUNUMLAR:

1. Ergunay K, Gunay F, Oter K, Kasap OE, **Orsten S**, Erdem H, Ozkul A, Alten B. Cross-sectional Flavivirus surveillance reveal West Nile Virus Lineage 1 strains in *Culex pipiens* sensu lato and *Ochleratatus caspius* mosquitoes (Diptera:Culicidae) from Eastern Thrace Region, Turkey. 23. European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Berlin, Germany, 2013; p:2334
2. **Orsten S**, Kasap OE, Gunay F, Ocal M, Alten B, Us D, Ergunay K. Investigation for West Nile Virus and Phlebovirus vectors in Ankara province, Central Anatolia, Turkey. 5th European Congress of Virology, Lyon, France, 2013; p:282
3. Ergunay K, Oter K, **Orsten S**, Kasap OE, Günay F, Akkutay AZ, Ozkul A, Alten B. Molecular detection of Salehabad / Adria Virus in sandflies and West Nile Virus in mosquitoes from Eastern Thrace, Turkey. 24. European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Barcelona, Spain, 2014; p:0450
4. Ergunay K, Gunay F, Kar S, Oter K, **Orsten S**, Sarıkaya Y, Erisoz Kasap O, Alten B, Linton YM. First Reporting of Chikungunya Virus as well as West Nile virus and Mosquito-specific Flaviviruses in Field-Collected Mosquitoes from Mediterranean, Aegean, and Thrace regions, Turkey. 26. European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Amsterdam, Netherlands, 2016; p.047.

5. Ergünay K, Litzba N, Brinkmann A, Günay F, Kar S, Öter K, **Örsten S**, Sarıkaya Y, Alten B, Linton YM. Characterization of a Culex theileri flavivirus variant in field-collected mosquitoes from Turkey. International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance (IMED), Vienna, Austria, 2016; p.20-072.
6. Ergünay K, Brinkmann A, Litzba N, Günay F, Kar S, Öter K, **Örsten S**, Sarıkaya Y, Alten B, Nitsche A, Linton YM. A metagenomic survey reveals rhabdo and negevirus sequences in mosquito pools from Turkey. International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance (IMED), Vienna, Austria, 2016; p.20-073.
7. Akhan O, Akinci D, Ciftci T, Akpınar B, Tamarozzi F, Brunetti E, Casulli A, **Orsten S**. Experience from HERACLES Project: ultrasound screening for CE in Turkey in 2014. THE XXVI-th World Congress On Echinococcosis, Bucharest, Romania, 2015.
8. **Orsten S**, Boufana B, Ciftci T, Akinci D, Karaagaoglu E, Ozkuyumcu C, Casulli A, Akhan O. Correlation Between Clinical Features and Genetic Diversity of Echinococcus granulosus Sensu Stricto (S.S.) in Turkey-Preliminary Findings. 8th National and 1st International Congress of Hydatidology, Çorum, Turkey, 2017.
9. **Orsten S**, Ciftci T, Akinci D, Casulli A, Tamarozzi F, Brunetti E, Akhan O. Experience from HERACLES Project: Ultrasound Screening for Cystic Echinococcosis in Turkey in 2015. 8th National and 1st International Congress of Hydatidology, Çorum, Turkey, 2017.

BİLİMSEL AKTİVİTELER:

- 2. Ulusal HPV ve Kanser Sempozyumu, Ankara, Türkiye, 2012
- 7.Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, Ankara, Türkiye, 2012
- Real-Time PCR (RT) Uygulamaları Kursu, Ankara, Türkiye, 2012
- 23. European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases(ECCMID), Berlin, Almanya, 2013

- 24. European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases(ECCMID),
Barselona, İspanya, 2014
- THE XXVI-th World Congress On Echinococcosis, Bükreş, Romanya, 2015
- The Eleventh Workshop of National Reference Laboratories for Parasites, Roma,
İtalya, 2016
- 37. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, Türkiye, 2016
- 9. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, Türkiye, 2016
- International Symposium on Parasitic Zoonoses, Antalya, Türkiye, 2016
- 8th National and 1st International Congress of Hydatidology, Çorum, Türkiye, 2017

YURT DIŞI ARAŞTIRMA DENEYİMİ:

- 4 ay süreyle Konuk Araştırmacı; WHO Collaborating Centre for the epidemiology,
detection and control of cystic and alveolar echinococcosis; European Union Reference
Laboratory for Parasites; ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ, Roma, İtalya

ÜYE OLUNAN TOPLULUKLAR:

- European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases
- Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti
- Ankara Mikrobiyoloji Derneği
- Türk Hidatidoloji Derneği
- Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk İlgi ve Etkinlik Klübü
- Hacettepe Üniversitesi Mağara Araştırma Topluluğu

KAZANILAN BURSLAR:

- 2214 TÜBİTAK Yurt Dışı Doktora Sırası Araştırma Bursu (2016)

