



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI
VPR-YL-2012-001

AYDIN YÖRESİNDEKİ KÖPEKLERDE *Echinococcus granulosus* YAYGINLIĞININ POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE BELİRLENMESİ

Veteriner Hekim Buket BOĞA

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Süleyman AYPAK

AYDIN-2012

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI
VPR-YL-2012-001

**AYDIN YÖRESİNDEKİ KÖPEKLERDE *Echinococcus*
granulosus YAYGINLIĞININ POLİMERAZ ZİNCİR
REAKSİYONU İLE BELİRLENMESİ**

Veteriner Hekim Buket BOĞA

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Süleyman AYPAK

AYDIN-2012

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Parazitoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Buket BOĞA tarafından hazırlanan “Aydın Yöresindeki Köpeklerde *Echinococcus granulosus* Yaygınlığının Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Belirlenmesi” başlıklı tez, 18/07/2012 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı ve Soyadı :

Üniversitesi :

İmzası:

1- Prof.Dr.Hasan EREN


Adnan Menderes Üniversitesi

2- Doç.Dr.Feride KIRCALI SEVİMLİ

Afyon Kocatepe Üniversitesi

3- Yrd.Doç.Dr.Süleyman AYPAK

Adnan Menderes Üniversitesi



Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans Tezi Enstitü Yönetim Kurulunun..... Sayılı kararıylatarihinde onaylanmıştır.

Doç. Dr. Sacide KARAKAŞ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Echinococcus granulosus başta ruminantlar olmak üzere çoğu memeli türlerinde kist hidatik hastalığına sebep olan, dünya çapında yaygın, ekonomi ve halk sağlığını etkileyen zoonoz bir etkidir. Köpeklerde *E. granulosus* enfeksiyonunun tespiti, epidemiyolojik tarama ve kontrol programları için önemlidir.

Zoonoz hastalıklar içinde son derece önemli olan Echinococcosis'in kaynağı olan köpekler, sadece insanlar için değil, ara konak grubu içinde yer alan diğer hayvanlar açısından da risk oluşturmaktadır. Evcilleştirilen hayvanlar içinde, insanlarla en yakın olan köpeklerin, özellikle bu parazit açısından kontrolü önem taşımaktadır.

Köpek dışkılarında *E. granulosus* yumurtaları, bu parazitin bağlı olduğu Taenidae üst ailesinin yumurtalarından morfolojik olarak ayıramamakta, serolojik yöntemlerde ise alınan sonuçlar her zaman güvenilir olmamaktadır. Son yıllarda bu parazitin tanısında tercih edilen PCR metodları gerek spesifitelerinin, gerekse sensitivitelerinin yüksek olması nedeniyle hidatik kist hastalığı kontrol programlarında uygulanmaktadır. Parazit DNA'sının yumurtadan çıkarılabilmesi, halka ya da parazit hücrelerindeki DNA'nın PCR ile çoğaltılabilmesi, Copro PCR testini iyi bir alternatif yol olarak ortaya çıkartmıştır.

Bu çalışmanın amacı; son konağı köpek olan ve zoonoz olduğu için halk sağlığı açısından da önemli olan *E. granulosus*'un Aydın yöresindeki köpeklerde yaygınlığını PCR ile saptamaktır.

Çalışmamız, Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Ofisi tarafından VTF- 11034 kodlu proje olarak desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL VE ONAY	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. Sınıflandırma	2
1.2. <i>Echinococcus granulosus</i> 'un Genel Özellikleri	3
1.3. Yaşam Çemberi	6
1.4. Epidemiyoloji	8
1.5. Patojenite	12
1.6. Klinik Görünüm	12
1.7. <i>Echinococcus granulosus</i> Enfeksiyonunun Tanısı	13
1.7.1. Son Konaklarda Tanı	13
1.7.1.1. Canlı Hayvanlarda Tanı	13
1.7.1.1.1. Dışkı Bakısı	13
1.7.1.1.2. Arekolin Purgasyon Yöntemi	14
1.7.1.1.3. Serumda Antikorların Aranması	14
1.7.1.1.4. Dışkıda Kopraantijenlerin Aranması	15
1.7.1.2. Nekropsi ile Tanı	16
1.7.1.2.1. Bağırsakların Direkt Muayenesi	16
1.7.1.2.2. Sedimentasyon ve Sayım Tekniği	16
1.7.2. Ara Konaklarda Tanı	17
1.7.2.1. Klinik Tanı	17
1.7.2.2. Görüntüleme Teknikleri ile (Radyoloji ve Ultrasonografi) Tanı	17
1.7.2.3. İmmunolojik Tanı	18
1.7.2.3.1. Kompleman Fiksasyon Testi	18
1.7.2.3.2. İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHAT)	19
1.7.2.3.3. İndirekt Floresan Antikor Testi (IFAT)	19

1.7.2.3.4.	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	20
1.7.2.3.5.	Presipitasyon Testleri	20
1.7.2.3.6.	Western Blot (İmmunoblot)	21
1.7.2.4.	Nekropsi İle Tanı	21
1.7.2.5.	DNA Teknikleri	22
1.7.2.5.1.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	22
1.7.2.5.2.	Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)	23
1.7.2.5.3.	PZR-RFLP	24
1.7.2.5.4.	Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)-PZR	24
1.7.2.5.5.	PZR-Single Stranded Conformation Polimorphism (PZR-SSCP)	25
	Analizi	
1.8.	Sağaltım	26
1.9.	Korunma	26
2.	GEREÇ VE YÖNTEM	28
2.1.	Dışkı Örneklerinin Alınması	28
2.2.	Dışkı Örneklerinin İncelenmesi	28
2.2.1.	Dışkının Makroskopik ve Mikroskopik Bakışı	28
2.2.2.	Dışkının PCR Methodu ile İncelenmesi	30
2.2.2.1.	Dışkılarından DNA İzolasyonu	30
2.2.2.2.	PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)	32
3.	BULGULAR	34
4.	TARTIŞMA	36
5.	SONUÇ	40
	ÖZET	41
	SUMMARY	42
	KAYNAKLAR	43
	ÖZGEÇMİŞ	59
	TEŞEKKÜR	60

ÇİZELGELER

	Sayfa
Çizelge 1 Türkiye’de köpeklerde <i>E. granulosus</i> ’un yayılışı	9
Çizelge 2 Türkiye’de kasaplık hayvanlarda hidatik kistin yaygınlığı	10
Çizelge 3 Değişik ülkelerde kist hidatik ve son konaklarda <i>E. granulosus</i> ’un yayılışı	11
Çizelge 4 Türkiye’de 2001-2005 yılları arasında kistik ekinokokkozis	11
Çizelge 5 Dışkı örneği alınan bölgelerde hayvan sayısı ve cinsiyet dağılımı	29

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 1 <i>Echinococcus granulosus</i> 'un a: Erişkin formu b: Olgun halkası c: Gebe halkası	3
Şekil 2 <i>Echinococcus</i> spp. yumurtasının yapısı	4
Şekil 3 Kist hidatik'in yapısı	5
Şekil 4 <i>Echinococcus granulosus</i> suşunun yaşam çemberi	6
Şekil 5 Dışkı örneği alınan bölgelerin Aydın haritası üzerinde gösterimi	29

RESİMLER

	Sayfa
Resim 1 Köpek dışkısında saptanan <i>Taenia</i> . spp. yumurtası (X 40)	34
Resim 2 446 bp'lik <i>E. granulosus</i> bantları	35

1. GİRİŞ

Echinococcosis dünya çapında önemli helmint hastalıklarından biri olup zoonoz bir enfeksiyondur (Altıntaş 2003). *Echinococcus granulosus* başta olmak üzere diğer *Echinococcus* türleri de insanlarda ve hayvanlarda hastalık yaparlar ve büyük ekonomik kayıplara sebep olurlar (Torgerson ve ark 2001, Umur 2003, Eckert ve Deplazes 2004, Sarıözkan ve Yalçın 2009).

Unat (1991)'ın değişik yazarlara atfen bildirdiğine göre, İsa'dan önce 16. yüzyıldaki eski Mısır hekimliği hakkında bilgi içeren Ebers Papirusu'nda intestinal taeniosisden bahsedilmektedir. Yine İsa'dan önceki yıllarda kesimi yapılan koyun ve sığırların iç organlarında içi sıvı dolu keseler görülmüştür.

Bu paraziter hastalık, çok eski çağlardan beri Anadolu'da bilinmektedir (Unat, 1991). Ülkemizde *E. granulosus*'a ait ilk bilgiler eski Anadolu hekimleri (Hippocrates, Arataeus, Galenus) tarafından ortaya konmuştur (Tınar 2004).

Türkiye'de köpeklerde ilk *E. granulosus* taraması, İsmail Hakkı (Çelebi) tarafından 1928'de İstanbul'da yapılmış, nekropsisi yapılan 100 köpekten üçünde parazitin olgun şeklinin bulunduğu bildirilmiştir (Unat 1991, Tınar 2004). Ülkemizde insanlardaki ilk kist hidatik olgusunu ise 1939'da Kamile Aygün bildirmiştir (Altıntaş 2003).

Echinococcus granulosus, dünyanın pek çok ülkesinde önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır. *Echinococcus granulosus*'un larva formu kist hidatik, hem insan hem de kasaplık hayvanların sağlığını, iş gücünü ve verimini olumsuz yönde etkilemekte, ciddi boyutlara varan ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Saygı 1998, Umur 2003).

Son yıllarda halkın eğitimi, hijyen şartlarının iyileşmesi, düzenli anthelmintik ilaç uygulamaları, hazır köpek mamalarının yaygınlaşmasıyla birlikte gelişmiş ülkelerde hastalığın yayılışında azalmalar görülmüştür. Buna rağmen, kontrol çalışmalarının başarıyla yürütüldüğü ülke ve bölgeler dışında, dünyanın birçok bölgesinde hidatidosis insan ve hayvanlar için önemli bir paraziter hastalık ve sosyo-ekonomik problem olmaya devam etmektedir.

1.1. Sınıflandırma

Yapılan çalışmalarda *Echinococcus* cinsi içinde toplam 16 tür ve 13 alt türün bulunduğu ileri sürülmüştür. Fakat biyolojik olarak doğrulanamadığı için çoğunun geçersiz ya da birbirinin sinonimi olduğu bildirilmiştir (Tigin ve ark 1991, Üner 1991, Thompson 1995, Dubinsky ve ark 1998).

Bugün *Echinococcus* cinsinde taksonomik olarak doğrulanan 4 tür bulunmakta olup bunlar; *Echinococcus granulosus*, *E. multilocularis*, *E. vogeli* ve *E. oligarthrus*'tur (Eckert ve ark 1984, Tigin ve ark 1991, Üner 1991, Thompson 1995). Raush ve ark (1984), yaptıkları karşılaştırmalı çalışmada beşinci tür olarak ileri sürülen *Echinococcus cruzi*'nin *Echinococcus oligarthrus*'un sinonimi olduğunu bildirmişlerdir.

Echinococcus türlerinin sınıflandırmadaki yeri aşağıda olduğu gibidir.

Ülkealtı: Metazoa

Alem: Plathelminthes

Sınıf: Cestoda

Altsınıf: Eucestoda

Takım: Cyclophyllidea

Aile: Taeniidae (Ludwig, 1986)

Cins: *Echinococcus* (Rudolphi, 1801)

Tür: 1. *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786)

2. *Echinococcus multilocularis* (Leuckart, 1863)

3. *Echinococcus oligarthrus* (Diesing, 1863)

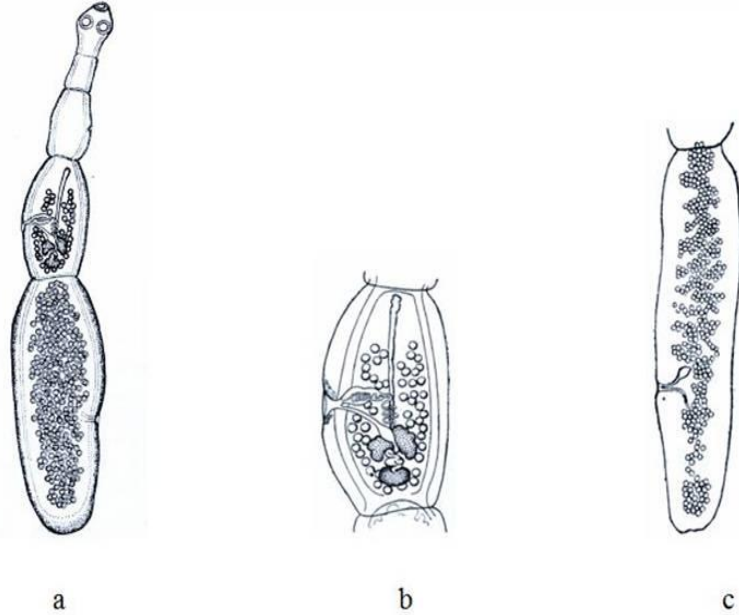
4. *Echinococcus vogeli* (Raush ve Bernstein, 1972)

Echinococcus cinsinde yer alan türler Taeniidae ailesindeki türlerin en küçüğüdür, bazı yazarlar *Taenia echinococcus* olarak da adlandırırılar. Genelde 3-5 halkadan oluşan bu türlerin uzunlukları 2-9 mm civarındadır. Skoleksleri küçük olup iki sıra çengel taşıyan bir rostelluma sahiptir. Halkalarda bir genital organ takımı bulunur (Ayaz ve Tınar 2006).

Son konakları karnivorlar, ara konakları başta otçullar olmak üzere tüm memelilerdir. Larva formları cyst=kist şeklinde olup, ara konakların başta karaciğer ve akciğer olmak üzere diğer organlarında gelişir. Türler bölgelere göre tüm ülkelerde geniş yayılış gösterirler. Olgunların tür ayrımı rostellumdaki çengel sayısı, genital deliğin pozisyonu, testis sayısı ve ovaryumun şekli dikkate alınarak yapılır. Kistik larva formları yapısal farklılık gösterir (Ayaz ve Tınar 2006).

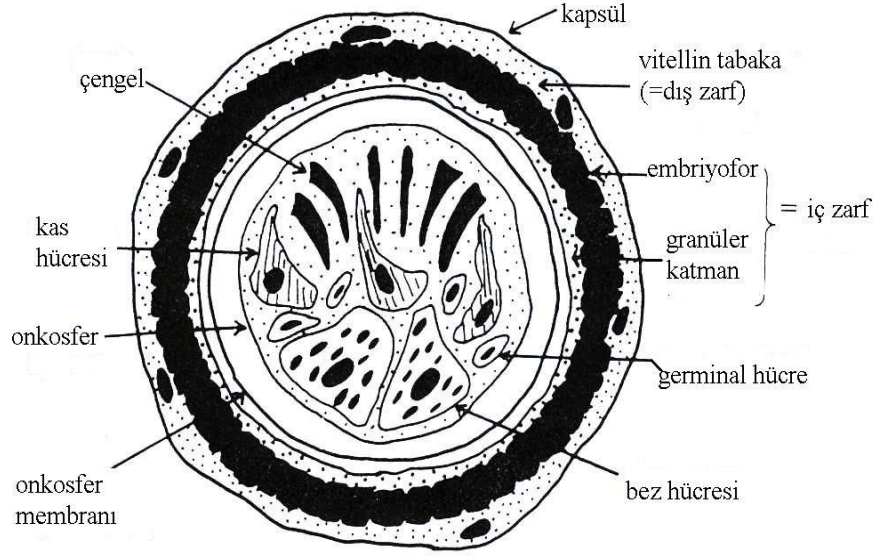
1.2. *Echinococcus granulosus*'un Genel Özellikleri

Genelde üç, nadiren dört halkadan oluşan parazitin uzunluğu 2-7 mm'dir. Bazen kopmayan halkalarla uzunluk 11 mm'yi bulmaktadır. Skoleksin çapı 260-360 µm olup, iki sıra halinde 34-38 adet çengel taşıyan rostelluma ve dört çekmene sahiptir. Büyük çengeller 25-49 µm, küçükler 17-31 µm uzunluktadır. Testisler 32-52 follikülden şekillenmiştir. Olgun halkalarda tek genital organ takımı bulunmaktadır. Genital delik halkanın ortasında veya arka yarısında yer alır. Ovaryum böbrek şeklinde olup, uterus lateral uzantılar vermektedir. Gebe halka 200-800 yumurta içermekte, uzunluğu parazitin tüm uzunluğunun yarısına yakın olduğu bildirilmektedir (Şekil 1) (Ayaz ve Tınar 2006).



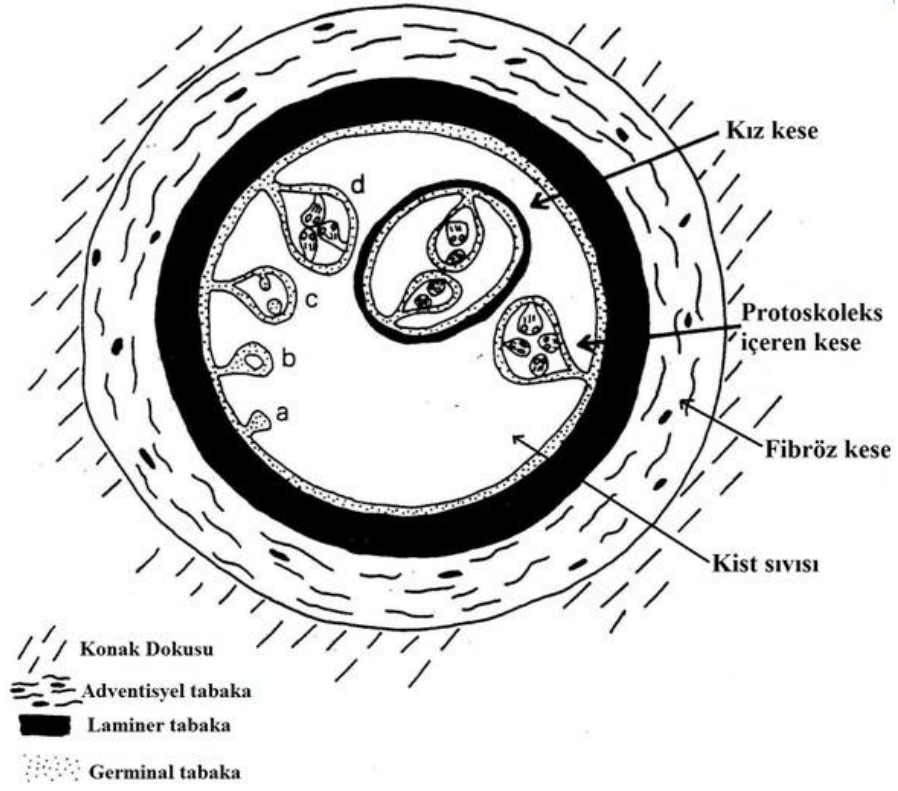
Şekil 1. *Echinococcus granulosus*'un a: Erişkin formu b: Olgun halkası c: Gebe halkası (Şenlik B ve Diker Aİ 2004)

Yumurtaları yuvarlak veya hafif oval olup, 22-36×25-50 µm çapındadır. Üç çift çengelli onkosfer taşır, embriyofor kalın olup radyal çizgilidir (Şekil 2) (Ayaz ve Tınar 2006).



Şekil 2. *Echinococcus* spp. yumurtasının yapısı (Şenlik B ve Diker Aİ 2004)

Parazitin larva formu (metacestod) kist hidatid (cyst hydatid) genelde uniloküler yapıda olup, nadiren ana kesenin dışında gelişen, her biri ayrı keseden oluşan kız keselerin şekillendirdiği multikistik yapı gösterebilir. Kistlerin içi, protoskoleksleri veya nadiren kız keseleri içeren, oldukça berrak bir sıvı ile doludur. En içte üreme özelliğine sahip germinal membran, onun hemen dışında yapışık olarak bulunan lamellöz yapı gösteren kütiküler tabaka yer alır, bunlar paraziter keseyi oluşturur. Kesenin etrafını ise konak tarafından oluşturulan, yangı hücrelerinin dejenerasyonu ile oluşan fibröz kapsül (adventisiyal tabaka) kuşatır (Şekil 3) (Ayaz ve Tınar 2006).

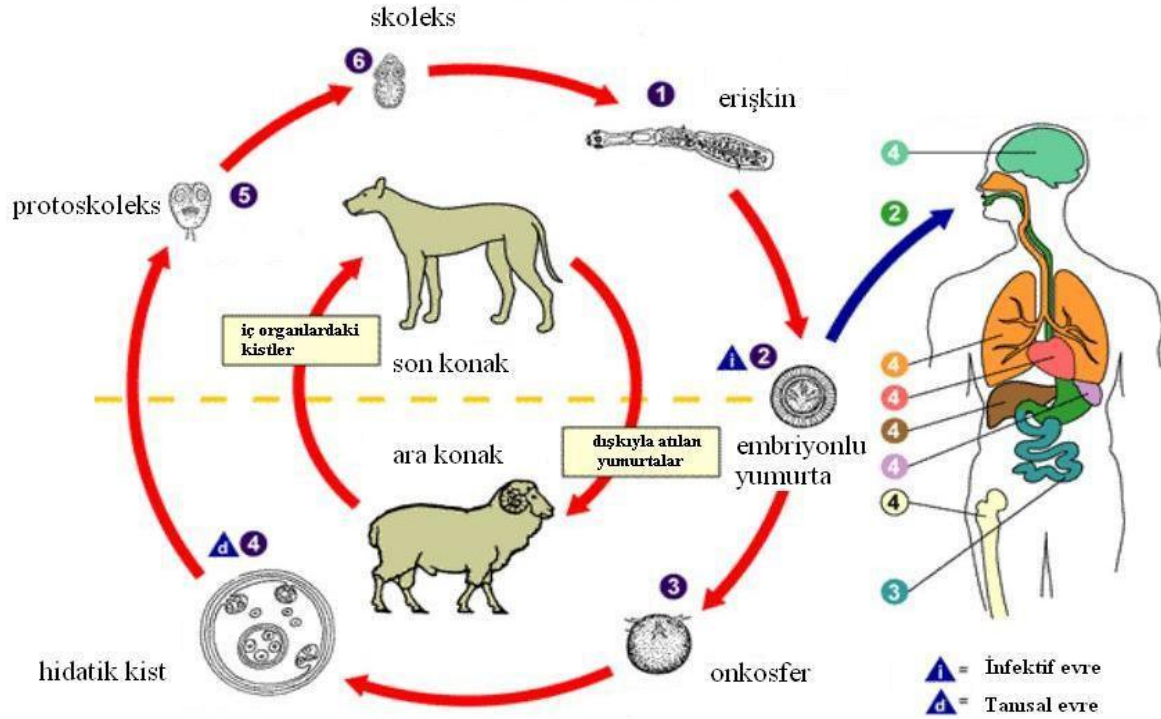


Şekil 3. Kist hidatik'in yapısı (Şenlik B ve Diker Aİ 2004)

İçinde üreme kapsülleri, protoskoleks ve kız keseler görülmeyen kistlere steril kist, protoskoleks taşıyanlara ise fertil kist denir. Yaşlı hayvanlar enfeksiyona daha az duyarlı olup, genelde steril kistler oluşturmaktadır. Koyunlarda bulunan kistler genelde fertil iken, sığırdakiler çoğunlukla sterildir (Altıntaş ve ark 2004).

1.3. Yaşam çemberi

Son konakları başta köpek olmak üzere yabani canideler (kırmızı tilki hariç), ara konakları ise insan dahil çeşitli omnivor ve herbivor hayvanlardır (Toparlak ve Tüzer 2005)



Şekil 4. *Echinococcus granulosus* suşunun yaşam çemberi

(http://www.phsource.us/PH/PARA/Diagnosing_Medical_Parasites.pdf)

Echinococcus granulosus'un gelişmesinde enfekte köpeklerin dışkıları ile dışarı çıkan yumurtalar, ara konaklar tarafından yem, su veya nadiren yumurtanın yapıştığı tozların solunumuyla alınmaktadır. Bunlar pepsin, pankreas, safra ve bağırsak salgılarının etkisiyle açılmakta serbest kalan onkosfer (hekzakant embriyo) ince bağırsak cidarını delerek kan ile birlikte karaciğere ulaşmaktadır. Embriyoların bir kısmı kılcal damardan zengin olan bu organda tutunmakta, tutunamayanlar ise sağ kalbe geçerek oradan akciğerlere ulaşmakta, akciğerlere tutunamayanlar sol kalbe dönüp büyük dolaşımla diğer organ ve dokulara ulaşmaktadır (Şekil 4) (Ayaz ve Tınar 2006).

Tutundukları organın parankimine yerleşen embriyo çıkardığı enzim ile çevresindeki dokuyu eriterek bir vezikül oluşturmaktadır. Bu vezikül dördüncü günde 40-50 µm'ye, yirminci günde 250 µm'ye ulaşır ve etrafında adventisiyal bir membran oluşturmaktadır. Beşinci ayda 1 cm çapa ulaşan kistin etrafında ikinci bir membran (germinatif membran) şekillenmekte, enfeksiyonun birinci yılından sonra kistlerin çapı 2 cm'yi geçerek içlerinde protoskoleksler oluşmaya başlamaktadır. Protoskoleksler germinatif membran hücrelerinin, membran proliferasyonu ile oluşan, başlangıçta sap ile membrana bağlı, çok sayıda çengel taşıyan rostellum taslağının invagine olduğu, kalsiyum granülleri bulunan hafif oval formlardadır. Germinatif membran ve protoskoleks oluşumu; kistin büyüklüğüne, konağa ve organa göre farklılık göstermektedir. Örneğin; koyunlardaki çoğu kistlerin içinde protoskoleks şekillenmişken (fertil kist), sığırlardakilerin çoğunda protoskoleks şekillenmemiştir (steril kist) (Ayaz ve Tınar 2006).

Bu kistler yumuşak ve hacimli dokudan yapılmış olan karaciğer ve akciğerlerde genellikle büyük halde görülmekte olup, küresel bir biçim göstermektedir. Daha sert dokularda ise kist hidatidler, mevcut boşluk ve aralıklara göre şekil almaktadırlar (Güralp 1981).

Fertil kistlerde protoskoleksler dışında genellikle kistin içine ya da nadiren dışına doğru gelişen kız ve ya torun kistler gelişebilmektedir. Çok sayıda kistin oluşturduğu bu yapılar multikist, polikist veya multiveziküler kist olarak adlandırılmaktadır (Ayaz ve Tınar 2006).

Son konak köpek ve kanideler, fertil kistleri yiyerek enfekte olmaktadır. Son konak bağırsağında evagine olan ve mukozaya yapışan skolekslerde, 11-14. günlerde kalsiyum granülleri kaybolup, boşaltı kanalları belirginleşmekte, 14-17. günlerde ilk halka, 17-20. günlerde ikinci halka, 33-37. günlerde üçüncü halka şekillenmektedir. Son konaktaki gelişim, enfeksiyonun alınmasından 6-8. haftada tamamlanarak dışkı ile gebe halkanın atılması başlamaktadır (Ayaz ve Tınar 2006).

1.4. Epidemiyoloji

Gençler yaşlılara göre enfeksiyona daha duyarlıdır, ancak kistlerin gelişimini uzun bir sürede tamamlaması nedeniyle bir yaşından küçük ara konak hayvanlarda kistlerin görülmesi enderdir (Ayaz ve Tınar 2006).

Enfeksiyonun yayılmasında;

- Paraziti taşıyan evcil veya yabani köpek, ruminant ve domuzların bölge içi veya bölgeler arası hareketleri,
- Parazitin halkalarının akarsu veya sellerle başka yerlere taşınması,
- Köpek dışkılarındaki halka veya yumurtaları yiyen kuşlar ya da koprofaj artropodlarla yumurtaların başka yerlere taşınması,
- Bitki yapraklarına yapışan yumurtaların rüzgar ya da hortumla taşınması önemli rol oynar (Ayaz ve Tınar 2006).

Echinococcus granulosus'un geniş konak türlerine adapte olması ve hayvanların hareketi, bu cestodun geniş alanlara yayılışına neden olmaktadır. Yayılıştaki bölgesel farklılıklar ve bulaşmadaki yollar; konak, çevre, insan davranışları gibi birçok faktörün etkisi altındadır (Akyol 2004). Türkiye'de *E.granulosus*'un köpeklerde dışkıdaki copro antijenlerine göre veya nekropsi bakısıyla yapılmış çalışmalarda % 0,94-54,5 (Çizelge 1), kasaplık hayvanlardaki kist hidatik yayılışı sığırlarda % 2,7-69,5 koyunlarda % 1,83-79,6 ve keçilerde % 1,6-74,40 bulunduğu kaydedilmiştir (Çizelge 2).

Echinococcus granulosus'un dünyadaki yayılışına bakıldığında hemen hemen bütün kıtalarda görüldüğü, en yüksek yayılışa Avrasya, Afrika, Avustralya ve Güney Amerika'nın bazı bölgelerinde rastlandığı bildirilmiştir. Enfeksiyonun endemik olarak görüldüğü bölgelerin yanında sporadik olarak da saptanabildiği, Grönland ve İzlanda'da ise parazite hiç rastlanmadığı kaydedilmiştir (Kilimcioğlu ve Ok 2004).

Çeşitli ülkelerde 1991-2011 yılları arasında yapılmış çalışmalarda *E. granulosus* köpeklerde % 0,012-56, ara konaklardaki kist hidatik sığırlarda % 4,3-16,4 koyunlarda %1,3-67 ve keçilerde % 0,13-18,1 bulunduğu Çizelge 3'te gösterilmiştir.

Türkiye'de 2001-2005 yılları arasında bölgelere göre yapılan çalışmalardaki insanlardaki kist hidatik oranları bölgelere göre Çizelge 4'te verilmiştir.

Çizelge 1: Türkiye’de köpeklerde *E. granulosus*’un yayılışı.

Şehir	Hayvan sayısı	Yöntem		Prevelans (%)	Referans
		Dışkı	Nekropsi		
İstanbul	22	-	+	22,72	Merdivenci (1963)
Elazığ	105	-	+	18,09	Güralp ve ark (1977)
Ankara	50	-	+	44	Doğanay (1983)
Elazığ	100	-	+	3,33	Taşan (1984)
İzmir	600	-	+	5,5	Üner (1989)
Bursa	36	-	+	36	Tınar ve ark (1989)
İstanbul	100	-	+	3	Unat (1991)
Ankara	33	-	+	54,5	Zeybek ve ark (1992)
Kayseri	50	-	+	24	Şahin ve ark (1993)
Sivas	25	-	+	16	Ataş ve ark (1997)
Konya	50	-	+	28,33	Aydenizöz (1997)
Ankara	106	-	+	0,94	Ayçiçek ve ark (1998)
Kars	42	-	+	40,5	Umur ve Arslan (1998)
Adana	271	+	-	24,72	Demirkazık ve ark (2007)
Muş	100	+	-	9	Acıöz (2008)
Antakya	79	+	-	8,86	Güzel ve ark (2008)
İstanbul	250	+	-	0,8	Öter ve ark (2011)

Çizelge 2: Türkiye’de kasaplık hayvanlarda hidatik kistin yaygınlığı

Şehir	Ara konak			Referans
	Sığır (%)	Koyun (%)	Keçi (%)	
Samsun	37,5	21,8		Zeybek (1973)
Sivas	39,7	-	-	Özçelik (1988)
Van	19,4	32,9	4,5	Toparlak ve Gül (1989)
Sivas	39,7	58,6	-	Özçelik ve Saygı (1990)
Ankara	31,8	42,4	9	Zeybek ve Tokay (1990)
Samsun	21,1	-	-	Celep ve ark. (1990)
Edirne	3,33	1,83	-	Özkan (1991)
Konya	11,2	51,98	-	Dik ve ark. (1992)
Konya	-	-	5,9	Cantoray ve ark. (1992)
Kars	24,65	48,35	-	Umur ve Aslantaş (1993)
Manisa	8,96	15,98	-	Çenet ve Taşçı (1994)
Konya	5,6	-	-	Çivi ve ark. (1995)
İzmir	56,5	22,5	-	Erkut ve Kahyaoğlu (1996)
Erzurum	46	71	-	Arslan ve Umur (1997)
Ankara	9,4	7,2	1,6	Öge ve ark. (1998)
Konya	-	79,6	-	Gözün ve Kıran (1999)
Van	37,8	68,7	32,6	Değer ve ark. (2001)
Burdur	13,5	26,6	22,1	Umur (2003)
Kars	31,25	63,85	-	Gıcık ve ark. (2004)
Bitlis	38,63	71,56	74,40	Değer ve Biçek (2005)
Kırıkkale	14,16	-	-	Yıldız ve Tunçer (2005)
Elazığ	59,9	-	-	Şimşek ve ark. (2005)
Malatya	54,1	-	-	
Muş	81,3	-	-	
Bingöl	64,6	-	-	
Van	69,5	-	-	
Erzincan	57,3	-	-	
Erzurum	43,9	-	-	
Kars	43,3	-	-	
Trakya *	11,6	3,5	-	Esatgil ve Tüzer (2007)
Afyonkarahisar	29,47	-	-	Köse ve Sevimli (2008)
Sivas	35,7	-	-	Acıöz ve ark. (2008)
Kayseri	3	28	-	Düzlü ve ark. (2010)
Erzurum	33,9	-	-	Şimşek ve ark. (2010)
Samsun Ordu Amasya	10,24	-	-	Beyhan ve Umur (2011)

* Tekirdağ, Lüleburgaz, Çorlu, Kırklareli, Keşan, Edirne, İstanbul

Çizelge 3: Değişik ülkelerde kist hidatik ve son konaklarda *E. granulosus*'un yayılışı

Ülke	Son konak	Ara konak			Referans
	Köpek (%)	Sığır (%)	Koyun (%)	Keçi (%)	
Azerbaycan	56	41	67	-	Chobanov ve ark (1991)
Irak	38	4,3	4,5	-	Dar ve Alkarmi (1997)
Ürdün	14	13,1	12,7	0,9	Dar ve Alkarmi (1997)
Kuveyt	23,1	-	-	-	Dar ve Alkarmi (1997)
S.Arabistan	15	7,3	-	-	Dar ve Alkarmi (1997)
Mısır	-	-	1,3	-	Dar ve Alkarmi (1997)
Libya	-	-	13,9	18,1	Dar ve Alkarmi (1997)
İran	36,19	-	-	-	Mehrabani ve ark. (1999)
Çin	-	4,7	5,4	-	He-Duo ve ark. (2001)
Arjantina	-	-	18	-	Larrieu ve ark. (2001)
İran	19,1	16,4	11,1	6,3	Dalimi ve ark. (2002)
Hindistan	-	13,7	-	2,2	Sarma ve ark (2002)
Libya	25,8	-	-	-	Buishi ve ark. (2005)
İran	13,25	-	-	-	Dalimi ve ark. (2006)
Yunanistan	-	-	30,4	14,7	Dakkak (2010)
Kıbrıs	0,012	6,61	1,53	0,13	Dakkak (2010)
İsrail	5,4	-	4,56	-	Dakkak (2010)
Pakistan	-	5,18	7,52	5,48	Latif ve ark. (2010)
Galler	10,6	-	-	-	Mastin ve ark. (2011)

Çizelge 4: Türkiye'de 2001-2005 yılları arasında insanlarda kistik ekinokokkozis (Yazar ve ark 2008)

Bölge	Hasta		Toplam	Prevelans †
	Erkek	Kadın		
Marmara Bölgesi *	1258	1277	2534	4,83
Ege Bölgesi **	915	1198	2114	3,55
Akdeniz Bölgesi ***	1292	1286	2578	5,25
İç Anadolu Bölgesi †	2379	3025	5404	5,47
Karadeniz Bölgesi ††	200	228	428	0,8
Doğu Anadolu Bölgesi †††	417	427	844	3,1
Güney Doğu Anadolu Bölgesi ††††	330	557	887	2,7

*Balıkesir, Bilecik, Bursa, Çanakkale, Edirne, İstanbul, Kırklareli, Kocaeli, Sakarya, Tekirdağ, Yalova

**İzmir, Denizli, Manisa, Afyon, Aydın, Uşak, Kütahya, Muğla

***Adana, Antalya, Burdur, Hatay, Isparta, İçel, Kahramanmaraş, Osmaniye

†Ankara, Çankırı, Eskişehir, Kayseri, Kırşehir, Konya, Nevşehir, Niğde, Sivas, Yozgat, Aksaray, Karaman, Kırıkkale

††Amasya, Artvin, Bolu, Çorum, Giresun, Gümüşhane, Kastamonu, Ordu, Rize, Samsun, Sinop, Tokat, Trabzon, Zonguldak, Bayburt, Bartın, Karabük, Düzce

†††Ağrı, Bitlis, Elazığ, Erzincan, Erzurum, Hakkari, Kars, Malatya, Van, Ardahan

††††Adıyaman, Batman, Diyarbakır, Gaziantep, Kilis, Mardin, Siirt, Şanlıurfa

† 100.000' de oran

Gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerin kırsal alanlarında bulunan çiftliklerde köpeklerin bulunması ve bunların kaçak kesimler sonucu koyun veya diğer ruminantların enfekte organlarıyla besleme alışkanlıklarının olması önemli rol oynar. Bu gibi durumlarda, tekrarlanan köpek enfeksiyonları parazitin yaygınlaşmasında, yaygınlığın artmasına ve doğanın cestod yumurtaları ile kirlenmesine neden olmaktadır (Akyol 2004).

1.5. Patojenite

Karaciğer ve akciğer gibi hayati organlarda şekillenen kistler mononükleer hücre infiltrasyonu ile karakterize şiddetli yangı oluşturmaktadır. Kistler buldukları organa göre büyüklükleri arttıkça çevre dokulara basınç uygulamakta ve atrofilere yol açmaktadır. Karaciğere yerleşenler safra akışının engellenmesine sonuçta ikterusa, akciğere yerleşenler solunum gücüne yol açmaktadır. Kist hidatikler damarlarda kan akışını engelleyerek organların nekroze olmasına neden olurlar. Ayrıca organ kanallarına yakın olan kistlerin yırtılması ile ince kanallar tıkanabilmektedir. Kistlerin yırtılması ile vücuda yayılan kist sıvıları sekonder kistlerin oluşumuna yol açmakta, toksikasyon ve alerji hatta anafilaktik şok sonucu ölüme neden olmaktadır (Ayaz ve Tınar 2006).

1.6. Klinik Görünüm

Kist hidatikle enfekte hayvanlarda hastalık belirtileri; kistin yerleştiği organa, organ üzerinde yerleştiği bölgeye, kistin büyüklüğüne ve sayısına, enfekte hayvanın yaşına, fizyolojisine ve beslenme durumuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Kistin zarar verecek boyutlara ulaşması uzun yıllar sürdüğü için genç hayvanlarda hidatidozise daha seyrek ve daha hafif enfeksiyonlar şeklinde rastlanmaktadır. Yaşlı hayvanlarda ise gelişen ve büyüklüğü artan kistlere bağlı olarak enfeksiyon daha ağır seyretmektedir (Gönenç ve ark 2004)

Hidatik kistle enfekte hayvanlarda gelişim bozukluğu ve buna bağlı olarak genel bozukluklar dikkati çekmektedir. Hastalık belirtileri ile tanı koymak mümkün değildir. Çünkü görülen belirtiler en çok tüberkülozis, bulaşıcı olmayan karaciğer, sindirim ya da solunum sistemi hastalıklarıyla karıştırılmaktadır. Hidatik kist enfeksiyonunda genellikle ateş görülmemektedir. Kimi zaman yemden kesilme (iştah azalması), çevreye ilgisizlik, yavaş gelişen güçsüzleşme, zayıflama ve ruminantlarda düzensiz ruminasyon görülebilmektedir. Koyunlarda şekillenen kronik enfeksiyona bağlı olarak yapağı kalitesi bozulabilmektedir (Merdivenci ve Aydınöglu 1982, Gönenç ve ark 2004).

1.7. *Echinococcus granulosus* Enfeksiyonunun Tanısı

1.7.1. Son Konaklarda Tanı

Son yıllarda özellikle *E. granulosus* enfeksiyonlarının tanısı amacıyla geliştirilmiş olan birçok yeni yöntem bulunmaktadır (Eckert ve ark 1984, Eckert ve ark 2002, McManus ve ark 2003, Zhang ve ark 2003).

1.7.1.1. Canlı Hayvanlarda Tanı

Köpeklerde *E. granulosus*'un tanısı amacıyla kullanılan başlıca antemortem metotlar dışkı muayenesi, arekolin purgasyon yöntemi, serumda spesifik antikorların saptanması ve bunlara göre daha pratik ve güvenilir olan dışkıda antijenlerin aranmasıdır (Eckert ve ark 1984, Jenkins ve ark 2000, Eckert ve ark 2002).

1.7.1.1.1. Dışkı Bakısı

Dışkı bakısı ile kanidelerde *E. granulosus* enfeksiyonlarının saptanması oldukça zor olmaktadır. Rutin flotasyon teknikleriyle yapılan muayenelerde veya perineal bölgeye uygulanan selofan bantın mikroskopta incelenmesiyle yumurtalar tespit edilebilmesine rağmen bu yumurtaları diğer Echinococcus türlerinden *E. multilocularis* ve diğer *Taenia* türlerinden morfolojik olarak ayırmak mümkün değildir. Konakta bulunan parazitten kopan halkalar, dışkı ile dışarı atılmakta ve çoğunlukla dışkı örneklerinin yüzeyinde bulunmaktadır. Bu nedenle tanı amacıyla dışkıda bulunan parazite ait karakteristik halkalar da aranabilir ve eğer halkaların yapısı bozulmamışsa doğru bir morfolojik tanı yapılabilmektedir. Ancak oldukça küçük olan bu halkaların muayene sırasında gözden kaçırılabilceği unutulmamalıdır (Jenkins ve ark 2000, Eckert ve ark 2002).

1.7.1.1.2. Arekolin Purgasyon Yöntemi

Echinococcus granulosus enfeksiyonunun tanısında kullanılan standart bir metot olan bu yöntemde, köpeklere arekolin uygulandıktan sonra purgasyon neticesinde atılan dışkı, incelenerek parazitler aranmaktadır (Eckert ve ark 1984, 2002). Arekolin hidrobromid 1,75 mg/kg-3,5 mg/kg arasında değişen dozlarda kullanılmaktadır (Şenlik 2004, Ayaz ve Tınar 2006).

Sıvı ya da tablet şeklindeki ilaç ağız yoluyla verildiği gibi rektumdan da uygulanabilmektedir. Uygulamaya başlamadan önce köpekleri aç bırakmaya gerek olmayıp, tercihen 12 saat öncesine kadar yiyecek verilebilir. Kusma riskini attırıp purgasyonu azaltması nedeniyle hayvanların midesi dolu iken ilaç uygulaması önerilmemektedir. Bu test gebelerde, yaşlılarda, genç yavrularda ve kardiyak bozukluğu olan köpeklerde uygulanmamalıdır (Eckert ve ark 1984, 2002).

Purgasyondan sonra atılan mukus örneği 100 ml çeşme suyu ile sulandırılır ve üzeri 1 ml kadar gaz yağı ile ince bir tabaka halinde kaplanır, alevde 5 dakika kaynatılır. Örnekler direkt olarak ya da flotasyon, sedimentasyon vb. gibi yöntemlerle incelenir (Eckert ve ark 1984, 2002, Şenlik 2004).

1.7.1.1.3. Serumda Antikorların Aranması

Son konaklarda *E. granulosus* enfeksiyonlarında serumdaki spesifik antikorların saptanmasına yönelik serolojik yöntemlerin bireysel olarak hastalığın tanısında güvenilir olmadığı, fakat populasyon düzeyinde hastalığın belirlenmesinde kullanılabileceği bildirilmektedir (Gasser ve ark 1992, Craig ve ark 1995, Eckert ve ark 2002).

Yapılan değişik çalışmalarda protoskoleks, onkosfer ve parazitin ekskresyon/sekresyon antijenleri kullanılarak ELISA yöntemi ile spesifik antikorlar saptanmaya çalışılmıştır (Burgu ve ark 2010). ELISA ile yapılan çalışmalarda hayvandaki parazit sayısı ile serum antikor düzeyleri arasında bir korelasyonun bulunmadığı bildirilmektedir (Gasser ve ark 1988, 1992, 1993, Jenkins ve Richard 1986).

Benito ve ark (2006), 754 köpeğin serum örneğinde serum antikor ELISA ile *E. granulosus*'a ait spesifik antikorları % 9,1 oranında belirlemişlerdir. Bu çalışma ile Serum antikor ELISA ile sensitifite % 80,5 ve spesifite ise % 92,1 bulunmuştur.

1.7.1.1.4. Dışkıda Koproantijenlerin Aranması

Koproantijenlerin saptanmasında kullanılan en pratik ve en iyi testin ELISA olduğu bildirilmekte, bu amaçla Western blot, Countercurrent immunoelectrophoresis (CCIEP) ve Immunodot tekniklerinin kullanıldığı bildirilmektedir (Şenlik 2004).

Kopro ELISA yönteminin diğer yöntemlere göre birçok önemli avantajları bulunmaktadır. Bu yöntem için örnek toplanması kolay olup, daha az personel ile hızlı bir şekilde uygulanabilmekte ve uygulayıcı için daha güvenli olmaktadır. Bunların yanında arekolin purgasyon testinde olduğu gibi köpekleri özel yerlerde toplamaya gerek olmayıp, sahadan toplanan dışkı örnekleri de bu yöntemle incelenebilmekte ve toplanan örnekler derin dondurucu ya da buzdolabında birkaç gün saklanabilmektedir (Eckert ve ark 2002, Lopera ve ark 2003, Acosta-Jamett ve ark 2010). Ayrıca bu yöntem ile kopro antijenler enfeksiyonun erken dönemlerinde saptanabilmektedir (Deplazes ve ark 1992, Ahmad ve Nizami 1998, Jenkins ve ark 2000).

Kopro ELISA yönteminde *E. granulosus*'un somatik ya da ekskresyon/sekresyon antijenlerine karşı geliştirilmiş poliklonal veya monoklonal antikorlar kullanılarak, dışkıdaki spesifik Echinococcus antijenleri saptanabilmektedir. Somatik ekstraktların elde edilmesi kolay olup, parazitin yaşatılması için bir in vitro ortama gerek olmamakla birlikte spesifikliği ekskresyon/sekresyon antijenlerine göre daha düşük bulunmuştur (Malgor ve ark 1998, Eckert ve ark 2002, Elayoubi ve ark 2003). Kopro ELISA yöntemiyle enfekte köpeklerde nadiren Taenia hydatigena ve Diphyliidium caninum enfeksiyonları ile çapraz reaksiyonlar görülebilmektedir. (Lightowers ve Gottstein 1995, El Shebabi ve ark 2000, Christofi ve ark 2002).

Echinococcus granulosus için 75 köpeğin post mortem muayenesinde coproantijen ELISA sonuçlarının değerlendirilmesi ile % 100 sensitivite ve % 98 spesifite saptanmıştır (Buishi ve ark 2005).

Coproantijen ELISA yöntemi ile 721 köpeğin fekal süpernatantınının 101 (%14)'inde pozitif *E. granulosus* coproantijenleri belirlenmiştir. Coproantijen ELISA'da sensitivite % 78,4 ve spesifite % 93,3 bulunmuştur (Benito ve ark 2006).

Echinococcus granulosus tanısı için geliştirilmiş çift katlı antikor sandiviç ELISA yöntemiyle yapılan çalışmalarda sensitivite % 78,4; % 100 ve spesifite % 93,3; % 96,94 olarak saptanmıştır (Benito ve Carmena 2005, Prathiush ve ark 2008).

1.7.1.2. Nekropsi ile Tanı

Echinococcus granulosus enfeksiyonlarının son konaklarda tanısı amacıyla uygulanan nekropsi işleminde, konağın ölümünden sonra ince bağırsaklar hemen çıkarılarak iki ucundan bağlanmalı ve numaralı plastik ya da metal kaplara konularak mümkün olan en kısa sürede laboratuara ulaştırılmalıdır. *Echinococcus granulosus* yumurtalarının inaktivasyonu amacıyla alınan materyal muayene edilinceye kadar -70 °C veya -80 °C 'de saklanabilir. Eğer materyal uzak bir yere götürülecekse buz içine konularak nakledilmelidir. Materyalin preservasyonu amacıyla bağırsaklar tespit solüsyonu içine konabilir veya bağırsak lumenine % 4-10'luk formalin enjekte edilebilir. Ancak bu son işlem daha sonra yapılacak olan muayeneleri zorlaştırabileceğinden tavsiye edilmemektedir. Bu nedenle eğer mümkünse taze materyal kullanılmalı ve tespit edilmemiş materyal mümkün olan en kısa sürede muayene edilmelidir. Çünkü parazitler 24 saat içinde parçalanmaya başlamaktadır (Eckert ve ark 1984, 2002).

1.7.1.2.1. Bağırsakların Direkt Muayenesi

Bu yöntemde bağırsak çok sayıda bölümlere ayrılır ve metal kaplara konur. Daha sonra bir makasla açılarak 37 °C'deki serum fizyolojik içine alınır ve bağırsak mukozasına yapışmış olan parazitler bir lup ya da stereo mikroskop yardımıyla toplanır. Ancak bu yöntemde bir ya da iki halkadan oluşan bazı parazitler gözden kaçırılabilir (Eckert ve ark 1984, 2002).

1.7.1.2.2. Sedimentasyon ve Sayım Tekniği

Daha kesin sonuçların elde edildiği bu yöntemde taze ve tespit edilmemiş bağırsak üç ya da daha fazla parçaya ayrılır, her parça bir makas yardımıyla boydan boya açılarak içinde 37 °C serum fizyolojik bulunan geniş kaplara alınır ve 30 dakika süre ile aynı sıcaklıktaki etüvde bekletilir. Daha sonra bağırsak duvarı bir spatula yardımıyla sıyrılır ve bütün materyal kaynatılır ve eleklerden süzülerek yıkanır. Yıkanmış olan bağırsak içeriği ve kazıntısı siyah bir zemin üzerine alınarak bir lup veya stereo mikroskop ile parazitler sayılır (Eckert ve ark 1984, 2002).

Bu yöntemde eğer bağırsaklar nekropsiden sonra muayene edilecekse ve parazitler canlı ise serum fizyolojik içindeki 30 dakikalık bekleme süresinden sonra bağırsak parçaları uzaklaştırılarak sedimentte parazitlerin sayılması önerilmektedir. Zira yarım saatlik süre sonunda parazitlerin büyük bir kısmı bağırsak duvarından ılık serum fizyolojik içine geçeceğinden bağırsak mukozasının sıyrılmasına gerek kalmamaktadır (Eckert ve ark 1984, 2002).

1.7.2. Ara Konaklarda Tanı

Echinococcus enfeksiyonlarında uygulanan kontrol programlarının başarıya ulaşması açısından hastalığın ara konak hayvanlardaki tanısı büyük önem taşımaktadır. Hidatidoz'un eradike edildiği ülkelerde bile ithal edilen enfekte hayvanlar hastalığın yayılmasında potansiyel bir risk oluşturmaktadır. Bu nedenle bu gibi hayvanların hastalık açısından izlenmesi mücadelede oldukça önemlidir. (Kittelberger ve ark 2002, Dueger ve ark 2003)

1.7.2.1. Klinik Tanı

Ara konak hayvanlarda çok önemli klinik belirtiler oluşmamakta ve tanıya yardımcı olacak karakteristik bir semptom tespit edilememektedir. Kistin bulunduğu organa bağlı olarak sarılık, hırıltılı solunum, öksürük v.b. gibi bazı belirtiler dikkati çekmekte ancak bunların hiçbirisi kesin tanı için yeterli olmamaktadır. Bu nedenle klinik tanı hemen hemen imkansızdır (Tınar ve Çoşkun 1991, Eckert ve ark 2002, Dueger ve ark 2003).

1.7.2.2. Görüntüleme Teknikleri (Radyoloji ve Ultrasonografi) ile Tanı

Hidatik kistlerin canlı hayvanlarda tanısı amacıyla radyoloji (Mohammed 1980, Wyn Jones ve Clarksen 1984) ve ultrasonografi (Maxon ve ark 1996, Sage ve ark 1998, Guarnera ve ark 2000, 2001, Deplazes ve Eckert 2001) gibi görüntüleme tekniklerinden faydalanılabilesine rağmen bu yöntemlerin kullanımı oldukça sınırlıdır. Koyunlarda toraks bölgesinin radyografik muayenesi ile aktif enfeksiyonun saptanabileceği bildirilmekle birlikte (Wyn Jones ve Clarkson 1984) bu yöntemin tanı amacıyla kullanımı bilimsel çalışmalarla sınırlı kalmıştır.

Ultrasonografi'nin koyun ve keçilerde hidatik kistlerin tanısında hızlı, non-invaziv ve zahmetsiz bir teknik olduğu bildirilmesine rağmen, sensitivitesi düşük olup *Cysticercus tenuicollis* ile hayvanlarda yanlış pozitif sonuçlar alınabilmektedir. (Maxon ve ark 1996, Sage ve ark 1998).

1.7.2.3. İmmunolojik Tanı

Hastalığın ara konak hayvanlarda ucuz, hassas ve spesifik serolojik testlerle tanısı şüphesiz kontrol çalışmalarına büyük katkılar sağlayacaktır. Ara konak hayvanlarda hidatidoz'un immunolojik tanısında güvenilir ve doğru testlerin geliştirilmesi amacıyla 1970'lerde ve 1980'lerin başında uluslararası düzeyde önemli çabalar sarfedilmiş, son yıllarda bu alandaki çalışmalar daha sınırlı düzeylerde kalmıştır (Lightowers ve Gottstein 1995).

Hayvanlarda immunolojik tanı amacıyla yapılan çalışmalar daha çok *E. granulosus* nedeniyle oluşan enfeksiyonlar üzerinde yoğunlaşmış, bu çalışmaların büyük bir çoğunluğu da dünyanın birçok bölgesinde bu parazitin başlıca ara konağı olan koyunlarda gerçekleştirilmiştir (Lightowers 1990, Lightowers ve Gottstein 1995).

Hidatik kistlerin, ara konak hayvanlarda immunolojik tanısı amacıyla yapılan çalışma sayısı, insanlarla karşılaştırıldığında daha sınırlıdır. Ayrıca insanlarda serolojik testler, etkili bir şekilde kullanılırken bu testlerin ara konak hayvanlarda kullanımı yeterli düzeyde değildir (Lightowers ve ark 1986, McManus ve ark 2003, Zhang ve ark 2003).

Tanı amacıyla kullanılan serolojik testler konağın metacestoda karşı gösterdiği hücresel ve humoral immun yanıtın ortaya konması esasına dayanmaktadır. Ara konak hayvanlarda hidatik kistlerin immunolojik tanısında dolaşımdaki antijenlerin tespit edilmesine yönelik testler uygun değildir (Eckert ve ark 2002).

1.7.2.3.1. Kompleman Fiksasyon Testi

Kompleman fiksasyon testi, spesifik antikörlerle antijenin birleşmesi sonucu serbest komplemanı absorbe etme özelliği göstermektedir. Test sonucunun kolay görünür hale konması için özel indikatör sisteminden (% 3 koyun alyuvar süspansiyonu ve hemolitik amboseptör) yararlanılmaktadır (Kuman ve Altıntaş 1996).

Çok daha hassas tanı yöntemleri bulunduğundan bugün için nadiren yararlanılan bir teknik olduğu bilinmektedir (Kuman 1997a).

1.7.2.3.2. İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHAT)

İndirekt Hemaglutinasyon tekniklerinde alyuvarların yüzeyi ve antijen proteinleri arasında kuvvetli bir bağ oluşturan kimyasal bir maddeden yararlanılmakta, bu kimyasal madde ile işleve tutulmuş eritrositlerin (koyun alyuvarları veya 0 grubu Rh- insan alyuvarları) üzerine antijenler tespit edilmektedir (Kuman 1997b).

Hidatik kistlerin hayvanlarda tanısı amacıyla İndirekt Hemaglutinasyon Testi, indirekt aglutinasyon testleri arasında en fazla denenen serolojik test olup, sensitivite ve spesifitesi kullanılan antijene, antijenin eritrositlere bağlanması için uygulanan işlemlere ve diğer faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Şenlik 2004).

1.7.2.3.3. İndirekt Floresan Antikor Testi (IFAT)

Çalışma prensibi, değişik sulandırılmaları yapılmış şüpheli serumların daha önceden lamalar üzerine fikse edilmiş parazitin kendisinin veya kesitlerinin üzerine konup, inkubasyon ve yıkama işleminden sonra antijen-antikor reaksiyonunun meydana gelip gelmediğinin ve test edilen serumlar içinde antijene karşı oluşmuş antikorların bulunup bulunmadığının flouresceine isotiocyanate ile işaretli spesifik anti antikorlar yardımıyla gösterilmesine dayanmaktadır. Spesifik olmayan flouresans veya yeşil ışığı maskelemek için Evans blue gibi karşıt boyama yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Test, immunfloresans mikroskopunda değerlendirilmekte, genellikle parazitin çevresinde oluşan yeşil-sarı flouresans ışımaya pozitifliği göstermektedir. Buna karşın negatif olgularda parazitler az çok kırmızı renkte görünmektedir (Özcel ve ark 1997).

Doğanay ve ark (2003), koyunlarda IFAT uygulayarak protoskoleks kesit antijenlerini kullanıp testin sensitivite ve spesifitesini % 90 olarak belirlemişlerdir.

1.7.2.3.4. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Esas olarak, oluşturulan antijen-antikor kompleksine enzim ile işaretli antiglobulinin ilave edilmesi ve sonra substratın eklenmesi ile eğer antijen veya antikor varsa renk oluşumunun gözlenmesi esasına dayanmaktadır. Kimyasal bir olay olan renk oluşumu enzimin aktivitesine bağlıdır. Enzimle etkilenen substratın spektrofotometrik ölçümü, yöntemde araştırılması gereken antijen ya da antikor konsantrasyonu ile orantılıdır (Herlow ve Lane 1988, Stites ve Terr 1991).

Değişik antijenik fraksiyonların kullanıldığı çeşitli ELISA teknikleri hayvanlarda hidatik kistlerin immunodiagnozu amacıyla test edilmiştir. Bu testler sürü bazında enfeksiyonun tanısı amacıyla uygun olmakla birlikte hayvan bazında spesifik tanı amacıyla uygun değildirler (Lightowers ve Gottstein 1995, Kittelberger ve ark 2002, Zhang ve ark 2003). Deneysel enfekte koyunlarda enfeksiyondan sonraki 4-6. haftalarda hidatik antijenlere karşı şekillenen antikorlar bu yöntem ile saptanabilmesine rağmen oluşan çapraz reaksiyonlar ham parazit antijenlerinin kullanıldığı ELISA ile hidatik kistlerinin spesifik tanısını güçleştirmektedir (Kittelberger ve ark 2002, Zhang ve ark 2003, Burgu ve ark 2010).

1.7.2.3.5. Presipitasyon Testleri

Hamel ve Ris (1982), *E. granulosus* yumurtası ile deneysel olarak enfekte edilen ve kist hidatikle doğal enfekte koyunlarda immunoelektroforezis (IEP) de kullanılan 'katodik antijene'e karşı oluşan antikorların saptanmasının tanıda kullanışlı olabileceğini, ancak bu antijene karşı yanlış pozitif ve yanlış negatif reaksiyonların şekillendiğini bildirmektedirler.

1.7.2.3.6. Western Blot (İmmunoblot)

Ayrıştırılan proteinlerin jellerden membranlara transfer yöntemlerinin geliştirilmesi, proteinlerin elektroforetik analizi için yeni bir devir açılmasına neden olmuştur. İmmunoblotting veya Western blotting adı verilen bu immunokimyasal yöntemler bir membran üzerine sabitleştirilmiş proteinleri tanımlamada kullanılmaktadır. B transfer yöntemi 'blotting' diye adlandırılır, çünkü elektroforez ile jel içinde ayrıştırılan proteinlerin transfer edildikleri nitroselüloz membran üzerindeki bant örnekleri, orijinal jel üzerindeki örneklerin tam anlamıyla kopyasıdır. Proteinlerin membranlara transferi 'Western blotting', DNA izolasyonu için kullanılan yöntem 'Southern blotting', RNA izolasyonu için kullanılan yöntem ise 'Northern blotting' olarak isimlendirilmiştir (Altıntaş ve Yazar 1997, Şenlik 2004).

Doğanay ve ark (2000), yaptıkları çalışmada SDS-PAGE ve Western blot kombinasyonu kullanarak, koyun karaciğer kist hidatik protoskolekslerinin protein bantları ortaya çıkarmış, daha sonra da koyunlar için spesifik kist hidatik protein bantları belirlemiştir. Çalışma sonuçlarına göre; koyunlarda kist hidatik hastalığı için spesifik protein bantlarının 68,24 ve 8 kDa olduğu belirlenmiştir.

Şimşek (2003), Elazığ yöresindeki koyunlarda yaptığı çalışmada Western blot'ın sensitivitesini % 88, spesifitesini % 84 olarak belirlemiş, organ lokalizasyonuna bağlı olarak testin sensitivitesini karaciğeri kistli koyunlarda % 84,2, akciğeri kistli koyunlarda % 80,2, hem karaciğeri hem de akciğeri kistli koyunlarda % 92,3 olarak tespit etmiştir. Çalışmada testin sensitivitesi fertil kistlerde % 92,8, steril kistlerde % 75, kalsifiye kistlerde % 100 ve yeni gelişmeye başlayan kistlerde % 84,6 olarak saptanmıştır.

1.7.2.4. Nekropsi İle Tanı

Ara konak hayvanlarda larval ekinokokkozun en kesin tanısı nekropside organlardaki kistlerin makroskopik olarak görülmesiyle yapılmaktadır (Eckert ve ark 1984, Lahmar ve ark 2007).

Nekropside normal kistler; kist cidarının kalın ve opak oluşu, delinince fişkıracak derecede basınçlı kist sıvısı içermesi ve protoskolekslerin bulunması ile kist hidatik olmayan diğer kistlerden kolayca ayrılır. Ayrıca hem fertil hem steril kistlerin cidarı suya bırakıldığında boru gibi kıvrılmaktadır (Tınar ve Coşkun 1991).

İrinleşmiş ve kireçlenmiş kistlerin teşhisi ise oldukça zordur. İrinleşmiş veya peynirleşmiş içerikte membran artığı veya fertil kistlerde çengel artıklarının mikroskopta görülmesi teşhisi kolaylaştırır. Ancak kalsifiye kistlerde bu karakteristik elementlerin kaybolması nedeni ile tanı hemen hemen imkansızlaşmaktadır (Tınar ve Coşkun 1991).

Organlardaki yüzeysel kistler kolaylıkla saptanabilirken, parenkime gömülü olanlar ya palpasyonla veya kesitler yapılarak belirlenmektedir (Ayaz ve Tınar 2006). Özellikle yaşa bağlı prevalans çalışmalarında genç hayvanların karaciğer ve akciğerleri 2 mm kalınlığında parçalara ayrılarak bütün lezyonlar boyanmalı ve mikroskopta incelenmelidir. Laminer tabakanın PAS (+) özelliği Echinococcus metacestodları için karakteristik bir özellik olarak kabul edilmektedir. Nekropside tespit edilen larval cestodların özellikle küçük ve atipik lezyonların ayırıcı tanısı için histolojik muayene ve protoskoleks morfolojisinin incelenmesinin yanında monoklonal antikolarla yapılan immunohistokimyasal teknikler, DNA hibridizasyon teknikleri ve PCR'dan da yararlanılabilmektedir (Eckert ve ark 1984, 2002).

1.7.2.5. DNA Teknikleri

Ara konaklardan elde edilen metacestod materyalini kullanarak Echinococcus türlerinin ve *E. granulosus* suşlarının identifikasyonuna imkan sağlayan bir çok DNA tekniği bulunmaktadır (Thompson ve McManus 2001, Eckert ve ark 2002, Boufana ve ark 2008).

1.7.2.5.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Tekniğin prensibini, izole edilen veya patolojik materyalde bulunan hedef genetik materyallerin (DNA, RNA), spesifik kısa zincirli oligonükleotid primerler yardımı ile, enzimatik olarak çoğaltılması oluşturmaktadır. Reaksiyon başlıca denaturasyon, primerlerin bağlanması (annealing) ve amplifikasyon (extension) olmak üzere üç aşamada gerçekleşmektedir. Polimeraz Zincir Reaksiyonu'nun üç aşamadan oluşan ilk amplifikasyon aşamasının, 25-30 kez tekrarlanması sonucunda, hedef DNA'nın milyonlarca kopyası oluşmaktadır. Amplifikasyon aşamasından sonra elde edilen ürünler, agaroz jel veya poliakrilamid jel elektroforezis ile ayrıştırılmakta, ethidium bromide ile boyanarak veya Southern blot analizi ile görünür hale getirilebilmektedir (Ütük 2008).

Parazitin DNA'sını taşıyan halka ya da yumurtaların dışındaki varlığı durumlarında pozitif sonuç veren bu metot bazı deneysel çalışmalarda henüz yumurta üretiminin yapılmadığı 21-31 (Lahmar ve ark 2007), 25 ya da 33. günlerde de (Naidich ve ark 2006) parazite ait DNA'nın varlığını göstermiştir.

Dinkel ve arkadaşları (2004) PZR'yi diğer araştırmacılar farklı olarak tiplendirme amacıyla kullanmışlardır. Yaptıkları çalışmada; *E. granulosus*'un G1, G5, G6/G7 suşları için spesifik ve duyarlı PZR/semi nested PZR sistemi uygulamışlar, G1 suşunun ve G5/G6/G7 suşlarının "tanısında klasik PZR, G5 ile G6/G7 suşlarının ayırımında ise semi-nested PZR yöntemini kullanmışlardır. *Echinococcus multilocularis*, *E. equinus*, *E. ortleppi* ve *E. granulosus*'un G1, G6 ve G7 suşlarının da dahil olduğu 16 türün izolatlarının değerlendirildiği bu çalışmada PZR analizinin spesifitesi % 100 olarak bulunmuştur. Bu PZR analizi yaklaşımı ile elde edilen sonuçlar ile ilk kez Batı Afrika'da insanlarda G6 suşu ile enfeksiyon ortaya konulmuştur. Ayrıca Kenya ve Sudan'da çiftlik hayvanlarında G5 suşu belirlenmiştir.

1.7.2.5.2. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

Restriksiyon enzimleri (RE), çift iplikçikli DNA'da spesifik bölgelerden kesim yaparak, DNA'dan bir genin veya gen taşıyan bir DNA segmentinin çıkarılmasında etkin fonksiyonları olan enzimlerdir. DNA'nın, bu enzimlerden bir veya birkaçı ile kesime uğratıldıktan sonra agaroz jel elektroforezine tabi tutulması ve sonra ethidium bromid ile boyanan jelde oluşan DNA bandlarının yeri ve sayısı kıyaslanarak elde edilen çeşitliliğe Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) adı verilmektedir (Ütük ve ark 2005).

Çin'in dört bölgesinden toplanan *E. granulosus* izolatlarından elde edilen DNA'nın RFLP ve Southern blot analizi ile incelenmesi sonucunda, bu dört bölgedeki koyunlardan toplanan izolatlar ile yak ve koyun izolatları arasında genetik bir varyasyon belirlenmemiştir (Xue ve ark 1993).

RFLP, PZR-RFLP ve mitokondrial genom analizi tekniklerinin kombine olarak kullanıldığı bir çalışmada, Çin'in kuzeybatısında insanların da dahil olduğu birçok ara konaktan elde edilen 117 izolat incelenmiş ve bu izolatlar arasında genetik bir varyasyon bulunamamıştır (McManus ve ark 1994).

1.7.2.5.3. PZR-RFLP

Bu yöntemde bilinen RFLP'den farklı olarak, genomik DNA'nın belirli bir bölgesi, spesifik primerler kullanılarak çoğaltılmaktadır. Elde edilen ürünler bir veya daha fazla sayıda restriksiyon enzimi ile kesilmekte, agaroz jel elektroforez ile ayrılmakta, jel ethidium bromide ile boyanmakta ve son olarak ultraviyole ışık altında görüntüleme işlemi yapılmaktadır. PZR-RFLP, *Echinococcus* izolatlarının ya da öteki parazit gruplarının ayırımında kullanılan oldukça basit, duyarlı ve hızlı bir yöntemdir (Ütük ve ark 2005).

PZR-RFLP tekniği ile İspanya'nın çeşitli bölgelerinden elde edilen 53 izolat incelenmiş, *E. granulosus*'un *E. multilocularis*'ten ayrımı yapılmış, *E. granulosus*'un farklı suşları tanımlanmış, ve *E. granulosus*'un domuz izolatu içerisinde iki farklı genotipin bulunduğu belirlenmiştir (Gonzalez ve ark 2002).

PZR-RFLP, RAPD (Random Amplified Polimorphic DNA)-PZR ve DNA dizileme teknikleri birlikte kullanılarak Meksika'da G5 suşunun insan enfeksiyonlarına neden olduğu belirlenmiştir (Maravilla ve ark 2004).

PZR-RFLP ve DNA dizileme tekniklerinin kombine olarak kullanıldığı çalışmalarda *E. granulosus*'un sığır suşunun insan enfeksiyonlarına neden olduğu; Tunus'ta insan, sığır ve koyun kistlerinin sebebinin G1 suşu olduğu, sığırların G1 suşu için rezervuar konak olarak önemli rol oynadığı ve ayrıca bu ülkede G6 suşunun bulunduğu belirlenmiştir (M'rad ve ark 2005).

İran'da G1 ve G6 suşlarının bulunduğu, G6 suşunun insanlar için enfektif olduğu ve bu suşun hem koyunları hem de sığırları enfekte ettiği belirlenmiştir. PZR-RFLP ve çengel morfolojisinin birlikte kullanıldığı bir çalışmada yine İran'da G1 ve G6 suşları teşhis edilmiştir (Harandi ve ark 2002, Ahmadi ve Dalimi 2006).

1.7.2.5.4. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)-PZR

Arbitrary primed PCR (AP-PCR) olarak da adlandırılan Random Amplified Polymorphic DNA-PCR (RAPD-PZR), genomik DNA'nın rastgele seçilmiş bir veya daha fazla primer ile çoğaltılması prensibine dayanmaktadır. Kullanılan primerler genellikle 9-10 bazlık kısa primerler olup G-C bakımından zengindir (Ütük ve ark 2005).

Bu teknikte primerlerin bağlanma ısı 40-50°C'ye düşürülmüştür. Düşük sıcaklık derecesinde gerçekleştirilen bağlanma aşamasında, seçilen primerler kromozom üzerinde hem kendilerine özgü bölgelere, hem de özgü olmayan bölgelere bağlanmaktadır. Primerlerin bağlanma yerleri arasındaki uzaklık farklılıkları agaroz jelde saptanabilen farklı sayı ve uzunluktaki bandların oluşumuna neden olmaktadır. Aynı tür içerisindeki farklı suşlarda primerlerin bağlanma yerlerinin sayısı ve birbirine olan uzaklıkları değişik olacağından, agaroz jel elektroforezinde, amplifiye edilen parçaların sayı ve büyüklüğü de farklılık göstermektedir (Ütük ve ark 2005).

Bu teknik kullanılarak yapılan çalışmalarda; *E. granulosus*'un İsveç ve İspanyol izolatlarının karakteristik band özelliği gösterdiği, İspanya'da *E. granulosus*'un üç farklı suşunun bulunduğu, *E. granulosus*'un manda ve sığır suşunun genetik olarak farklı olduğu, İtalya'da koyun izolatlarında suş içi farklılıkların bulunduğu, Slovakya'da domuz izolatlarında belirgin farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Tekniğin *Echinococcus* cinsine bağlı türlerin tiplendirilmesinde uygun olduğu ancak RAPD-PZR tekniğinin diğer moleküler tekniklerle doğrulanması gerektiği ifade edilmiştir (Siles-Lucas ve ark 1994, Ortona ve ark 1996, Siles-Lucas ve ark 1996, Reddy ve ark 1998, Turcekova ve ark 2003).

1.7.2.5.5. PZR-Single Stranded Conformation Polimorphism (PZR-SSCP) Analizi

Single Stranded Conformation Polimorphism (SSCP); sekans farklılığı gösteren DNA örneklerinin belirlenmesinde kullanılan ucuz, kolay, duyarlı ve güvenilir bir yöntemdir. Bu metodun prensibini tek iplikçikli DNA'nın şekil ve büyüklüğüne bağlı olarak, denature olmayan jel içerisindeki elektroforetik hareketi oluşturmaktadır. Bu teknik PZR ürünlerini görüntülemek, incelenen genlerde yeterli polimorfizmin olup olmadığını ortaya koymak, polimorfizmin çok olduğu gen bölgelerini belirlemek, çok kopyalı genlerde polimorfizm olup olmadığını tespit etmek ve intraspesifik varyasyonları belirlemek amacıyla kullanılmaktadır (Ütük ve ark 2005).

Bu teknik kullanılarak yapılan çalışmalarda; Echinococcus cinsi içerisinde bulunan farklı suşların rahatlıkla belirlenebileceği ortaya konmuş, Arjantin’de *E. granulosus*’un beş farklı suşunun bulunduğu, Türkiye’den elde edilen bazı izolatların G1-G3 aralığında olduğu, *E. multilocularis*’in genotipleri arasındaki nükleotid farklılığının, *E. granulosus*’un farklı suşları arasındaki nükleotid farklılığından 10 kat daha düşük olduğu ve *E. granulosus*’un farklı suşlarının SSCP profillerine göre DNA sekans analizinden önce tanınarak Echinococcus izolatlarının rutin laboratuvar tanısında kullanılabilmesi belirtilmiştir (Gasser ve ark 1998, Haag ve ark 1998, Zhang ve ark 1999, Kamanetzky ve ark 2002).

1.8. Sağaltım

Son konakların tedavilerinde uzun yıllar arekolin hidrobromid kullanılmıştır. Arekolin, parazitlerin dışarı atılmalarını sağlayarak aynı zamanda teşhise de yardımcı olmuştur. Bu ilacın şeritleri öldürücü etkisi yoktur. İki aşamalı etkisi bulunmaktadır. İlki, şeritte reversibl bir paralizasyon neden olmak, ikincisi parasempatomimetik etkisiyle bağırsak peristaltisini artırarak parazitin dışarı atılmasını sağlamaktır. Köpeklere 1,75-3,5 mg/ kg dozda oral yolla uygulanmaktadır. Arecolin uygulanacak köpekler ilaç verilmeden 12 saat önce aç bırakılmalıdır (Parada ve ark 1995, Çırak 2004).

Günümüzde ise tedavide kullanılacak ilaçlar arasındaki ilk seçenek praziquantel’dir. Peros veya subcutan olarak uygulanabilir. Köpek ve kedilere oral 5 mg/kg, subcutan 5,5 mg/kg dozda uygulanmaktadır (Güralp ve ark 1976, Çırak 2004).

1.9. Korunma

Parazitin (*Echinococcus granulosus*) biyolojik çemberinin kırılması hastalığın kontrolünde en önemli noktalardan biridir (Esatgil 2008)

- Köpeklerin kistli organları yemesi engellenmeli, hiçbir şekilde çiğ et yedirilmemelidir. Verilecek gıdaların çok iyi pişirilmesi gerekmektedir (Esatgil 2008).

- Köpeklerde erişkin Őeride karşı ilaç kullanılmalıdır. Parazitin köpeklerdeki prepatent süresi en kısa 5 haftadır. Yani köpek kistli bir organı yedikten en erken 5 hafta geçtikten sonra dıŐkısıyla gebe halkaları çıkarmaya başlamaktadır. Bu nedenle köpek çiğ et veya sakatat yiyorsa ya da bu durum kesin olarak bilinemiyorsa 5 haftayı geçmeyen periyotlarla ilaçlama yapılmalıdır (Merdivenci 1963, Unat ve ark 1995, Toparlık ve Tüzer 2005).
- Tedavide köpeklerin çıkardıkları dışkı ve Őeritler madeni maŐa ile madeni kovalara toplanarak yakılmalı ya da derin g m melidir.  zerine gaz ya da katran dökülerek yakılırlar; gömülecek ise üzerine kreolin, taze s nd r lm Ő ya da söndürülmemiŐ kireç dökülür, sonra toprak ile kapatılır. DıŐkılama yapılan yerlere saman ya da kuru ot atılarak yakılır; Beton zeminler basınçlı gaz ya da benzin lambasıyla yakılır ( zdemir 2005)
- Yapraklı sebze ve meyvelerin çok iyi yıkanarak tüketilmesi gerekmektedir. Zira hayvancılıkla uĐraŐmayan, Şehir merkezinde oturan, hatta hiç köpek beslemeyen kiŐilerde de hidatik kist enfeksiyonunun g r ld Ği bildirilmiştir (Ertuğ ve ark 2007).
- Mezbahalar ıslah edilmeli, veteriner kontrolünde hastalıklı organlar imha edilmelidir (Esatgil 2008).
- Yoğun ve kontrolsüz kesimlerin yapıldığı kurban bayramlarından önce topluma hastalık hakkında bilgi verilerek özellikle kistli sakatatların imhası sağlanmalıdır (Esatgil 2008).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Dışkı Örneklerinin Alınması

Çalışmada incelenecek dışkı örnekleri, Aydın ve yöresinde bulunan yaşları 6 ay-16 yaş aralığında değişen, 25'i ♀, 75'i ♂ olmak üzere toplam 100 köpek dışkısı üzerinde yürütülmüştür. Köpekler sahipli olup, dışkıları taze ve temiz olmak koşuluyla yerden alınmıştır.

Dışkı örnekleri; Aydın merkeze bağlı 2, Söke, Koçarlı, Çine, Bozdoğan ve Kuyucak ilçelerine bağlı 11 köy olmak üzere toplam 13 köyden alınmış (Şekil 5), hayvanların yaşı, cinsiyeti, ırkı ve adres bilgileri yazılarak kaydedilmiştir. Çalışmanın yapıldığı bölgeler göre köpek sayıları ve cinsiyetlerine ait bilgiler Çizelge 5'te verilmiştir.

2.2. Dışkı Örneklerinin İncelenmesi

Alınan dışkıları aynı gün içinde laboratuvara getirilerek miktarına göre porsiyonlanarak çalışılincaya kadar, yumurtaların inaktivasyonu amacıyla -80°C'de saklanmıştır.

2.2.1. Dışkının Makroskobik ve Mikroskobik Bakışı

Dışkıların makroskobik bakışı, yeterli ışık altında dışkı kitlesinin önce görünen dış yüzeyi daha sonra bir baget yardımıyla parçalanarak iç kısımları cestod halkalarının varlığı yönünden incelenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Daha sonra dışkılarıdaki helmint yumurtalarının varlığını saptamak amacıyla tuzlu su flotasyon yöntemi uygulanmıştır. Her hayvana ait dışkıdan ceviz büyüklüğünde (3 gr) alınan örnek doymuş tuzlu su ile (özgül ağırlığı 1,18) bir kaptan cam bagetle karıştırılmış, bir süzgeç yardımıyla başka bir kaba süzölmüştür. Daha sonra süzöntünün bulunduğu kaba taşmayacak kadar tekrar doymuş tuzlu su ilave edilmiş ve üzerine iki lamel atılmıştır. Otuz dakika sonra bir pens yardımıyla lamel, altındaki damla düşürölmeden bir lam üzerine alınmış ve mikroskopta helmint yumurtaları yönünden incelenmiştir (Thienpont ve ark 1986).

Polimeraz zincir reaksiyonu ile pozitif bulunan dışkı örneğinin saklanan diğer porsiyonları kullanılarak makroskobik ve mikroskobik muayeneleri 3 kez daha tekrarlanmıştır.

Şekil 5. Dışkı örneği alınan bölgelerin Aydın haritası üzerinde gösterimi (kırmızı bölgeler)



Çizelge 5. Dışkı örneği alınan bölgelerde hayvan sayısı ve cinsiyet dağılımı

Bölge	Köy	Toplam Köpek Sayısı	Erkek ♂	Dişi ♀
Merkez	Işıklı	18	13	5
	Kuyulu	5	3	2
Söke	Burunköy	12	8	4
Koçarlı	Haydarlı	13	11	2
Çine	Merkez	1	1	-
	Karakollar köyü	1	1	-
	Doğanyurt	8	5	3
	Eski Çine	3	-	3
	Kuruköy	4	3	1
	Çaltı	3	3	-
Bozdoğan	Alamut	19	16	3
Kuyucak	Gencelli	10	8	2
	Gencellidere köyü	3	3	-

2.2.2. Dışkının PCR Methodu ile İncelenmesi

Dışkı muayenesinde *Taenia* spp. yumurta görülüp görülmemesine bakılmaksızın tüm dışkılarda hazır ticari kit kullanılarak ekstraksiyon yapılmış ve DNA örnekleri PCR aşamasına kadar -20 °C’de saklanmıştır. DNA ekstraksiyonu ticari kit kullanılarak (QIAGEN®) firmanın bildirdiği prosedüre göre yapılmıştır. Mikroskopik olarak pozitif veya negatif bütün örnekler PCR uygulanmıştır. Pozitiflik daha önce sekans analizi belirlenen Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalından sağlanan örnekteki amlifikasyon ürünü ile kıyaslanarak belirlenmiştir.

2.2.2.1. Dışkıdan DNA İzolasyonu

Köpek dışkısından DNA izolasyonu için QIAGEN firmasına ait “QIAamp DNA Stool Mini Kit” (Ürün Kodu: 51 504) hazır kiti kullanılmıştır.

“QIAamp DNA Stool” kitinin çalışma kılavuzuna göre aşağıdaki sıra takip edilerek dışkıdan DNA izole edilmiştir.

- Dışkılar oda sıcaklığında (20-25 °C) çözdürülmüştür.
- Her örnek için 250 mg dışkı tartılıp falcon tüplere konulmuş ve tüpler buz üzerine yerleştirilmiştir.
- Her tüpe dışkı örneklerinin üzerine 2 ml Buffer ASL eklenmiştir.
- Tüpler dışkı örnekleri tamamen homojenize olana kadar iyice vortexlenmiştir.
- Her bir tüpten 1,6 ml dışkı-buffer karışımı mikrosantrifüj tüplerine konulduktan sonra 90 °C’de 5 dakika ısıtılmıştır.
- 15 saniye vortekslenip 20 000 g (14 000 rpm) hızda 1 dakika santrifüj edilmiştir.
- Süpernatantın 1,2 ml’si yeni bir mikrosantrifüj tüpüne alınıp, pelet uzaklaştırılmıştır.
- Her bir tüpün üzerine 1 adet InhibitEX Tablet eklenmiş ve ara vermeden tablet tamamen homojenize olana kadar vortexlenmiştir. Tüpler 1 dakika oda sıcaklığında inkube edilmiştir.
- Örnekler 20 000 g (14 000 rpm) hızda 3 dakika santrifüj edilmiştir.
- Tüm süpernatant yeni bir mikrosantrifüj tüpüne alınmış ve pelet uzaklaştırılmıştır.
- Mikrosantrifüj tüpü 20 000 g (14 000 rpm) hızda 3 dakika santrifüj edilmiştir.

- Bu arada 15 µl proteinaz K yeni bir mikrosantrifüj tüpüne konulmuştur.
- Proteinaz K içeren mikrosantrifüj tüpünün içine, santrifüjden çıkan tüpteki süpernatanttan 200 µl konulmuştur.
- Daha sonra da 200 µl Buffer AL eklenmiş ve 15 saniye vortexlenmiştir.
- Mikrosantrifüj tüpleri 70 °C’de 10 dakika inkube edilmiştir.
- Bu süre sonunda 200 µl ethanol (% 96-100) eklenmiş ve vortexlenerek karıştırılmıştır.
- 2ml toplama tüpü içine yerleştirilmiş yeni bir QIAamp santrifüj tüpüne karışımın tamamı konulmuş ve 1 dakika 20 000 g (14 000 rpm) hızda santrifüj edilmiştir. Yeni bir toplama tüpü içine QIAamp santrifüj tüpü yerleştirilmiş ve süzüntü içeren önceki toplama tüpünden pelet uzaklaştırılmıştır.
- Dikkatlice QIAamp santrifüj tüpü açılmış ve 500 µl Buffer AW1 eklenip, kapağı kapatılmıştır. QIAamp santrifüj tüpü 1 dakika 20 000 g (14 000 rpm) hızda santrifüj edilmiştir. Süzüntü içeren toplama tüpü atılıp QIAamp santrifüj tüpü yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
- Dikkatlice QIAamp santrifüj tüpü açılmış ve 500 µl Buffer AW2 eklenip, kapağı kapatılmıştır. QIAamp santrifüj tüpü 3 dakika 20 000 g (14 000 rpm) hızda santrifüj edilmiştir. Süzüntü içeren toplama tüpü atılıp QIAamp santrifüj tüpü yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
- Önerilen; 2 ml’lik yeni bir toplama tüpü içine QIAamp santrifüj tüpü yerleştirilmiştir ve 20 000 g (14 000 rpm) hızda 1 dakika santrifüj edilmiştir.
- En son olarak; QIAamp santrifüj tüpünü 1,5 ml’lik mikrosantrifüj tüplerine yerleştirilmiş ve kapağı açılıp QIAamp membran üzerine 200 µl Buffer AE direk konulmuştur. QIAamp santrifüj tüpü 1 dakika oda sıcaklığında inkube edilmiş ve 1 dakika 20 000 g (14 000 rpm) hızda santrifüj edilmiştir.
- Elde edilen 200 µl DNA örneği PCR aşamasında kullanılıncaya kadar -20 °C’de saklanmıştır.
- Elde edilen DNA örneklerinin spektrofotometre ile DNA miktar ölçümü yapılmış ve kayıt altına alınmıştır.

2.2.2.2. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

Echinococcus granulosus türüne ait pozitif kontrol örneği Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalından sağlanmıştır. PCR aşaması için *E. granulosus*'un CO1 mitokondrial DNA geninin 446 bp büyüklüğündeki bölgesini çoğaltan primerler daha önce bildirildiği şekilde kullanılmıştır (JB3 primers (5'-TTT TTT GGG CAT CCT GAG GTT TAT-3') JB4,5 primers (5'-TAA AGA AAG AAC ATA ATG AAA ATG-3') (Bowles ve ark 1992). Primerler, MedSan Tek (İstanbul) firmasından sağlanmıştır. Liyofilize halde gelen primerlerden JB3 primerine 347 µl, JB4,5 primerine 339 µl DNase-RNase içermeyen su eklenip, 1 µl sinde 100 pmol olacak şekilde sulandırılmışlardır.

Ardından, pmol/µl değeri bilinen stok primerlerden, çalışmada kullanmak üzere 20 pmol/µl yoğunluğunda yeni primer sulandırmaları elde edilmiştir. Hem stok hem de sulandırma primerler (20 pmol/µl) -20 °C'de muhafaza edilmiştir. PCR reaksiyon karışımı toplam 50 µl reaksiyon sıvısında; 1 X PCR buffer (100 mM Tris-HCl pH: 8,8 25 °C'de, 500 mM KCl 0,8% (v/v) Nonidet P40) (Fermentas), 1,25 U Taq polimeraz (Fermentas), 2,5 mM MgCl₂ (Fermentas), 250 µM her bir dATP, dCTP, dGTP, dTTP (Fermentas), 20 pmol forward ve reverse primerleri (MedSantek/İstanbul) olacak şekilde DNase-free ependorf tüplerinde hazırlanmıştır. PCR kabininde öncelikle -20 °C'de saklanan yukarıdaki malzemeler çözündürülmüştür. Tüpler pozitif, negatif kontrol tüpü ve örnek tüpleri olmak üzere numaralandırılmıştır. Bu reaksiyon karışımından 45 µl alınarak üzerine 5 µl DNA örneği eklenmiştir. Tüpler thermal cycler (TECHNE TC-512) cihazına yerleştirilene kadar buz üzerinde bekletilmiştir.

PCR cihazı; 5 dakika 95 °C (Ön Denaturasyon)
 50 saniye 94 °C (Denaturasyon) }
 50 saniye 45 °C (Annealing) } 35 siklus
 50 saniye 72 °C (Extensiyon) }
 10 dakika 72 °C (Son Ekstensiyon)

Program bittikten sonra PCR ürünleri jelde yürütülünceye kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Elde edilen PCR ürününün jel elektroforezde yürütülmesi amacıyla %1,5'lük agaroz jel hazırlanmıştır. Bu amaçla, 1,5 g agaroz tartılıp, 100 ml 1xTAE (Tris-Asetat-EDTA) buffer içerisine eklenmiştir. Karışım mikrodalga fırında ısıtılarak çözdürülmüş ve jel haline getirilmiştir. Daha sonra dışarı alınan jelin 2-3 dk soğuması beklenmiştir. Jel üzerine 5 µl Safe view™ (abm) solüsyonu ilave edilip hafifçe çalkalanarak jelde dağılması sağlanmıştır. Jelin soğuması için 1-2 dk daha beklendikten sonra elektroforez tankına uygun taraklar yerleştirilmiştir. Hava kabarcığı oluşturmayacak biçimde, tankın bir kenarından jel yavaşça dökülmüştür. Yaklaşık 20-25 dk jelin donması beklendikten sonra taraklar çıkarılmıştır. Tank 1xTAE buffer ile, jelin tamamı sıvı içinde kalacak şekilde doldurulmuştur. Örneklerden 10 µl alınıp, 2 µl loading dye (Fermentas) ile karıştırılarak yatay elektroforez tankına (THERMO Scientific OWL EASYCAST™ B1) yerleştirilen jelin kuyucuklarına yüklenmiştir. Her jelde ilk kuyucuğa bantların bp değerlerini belirlemek amacıyla 100 bp'lik DNA marker yüklenmiştir.

Yine her jelin birer kuyucuğuna pozitif ve negatif kontroller yüklenmiştir. Elektroforez güç kaynağında (EC1000-90 THERMO Electron corporation) 120 voltta 60 dk yürütülmüştür.

Elektroforez işlemi sonunda UV ışığı altında jel görüntülenmiş ve 446 bp bant görüntüsü verenler pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3. BULGULAR

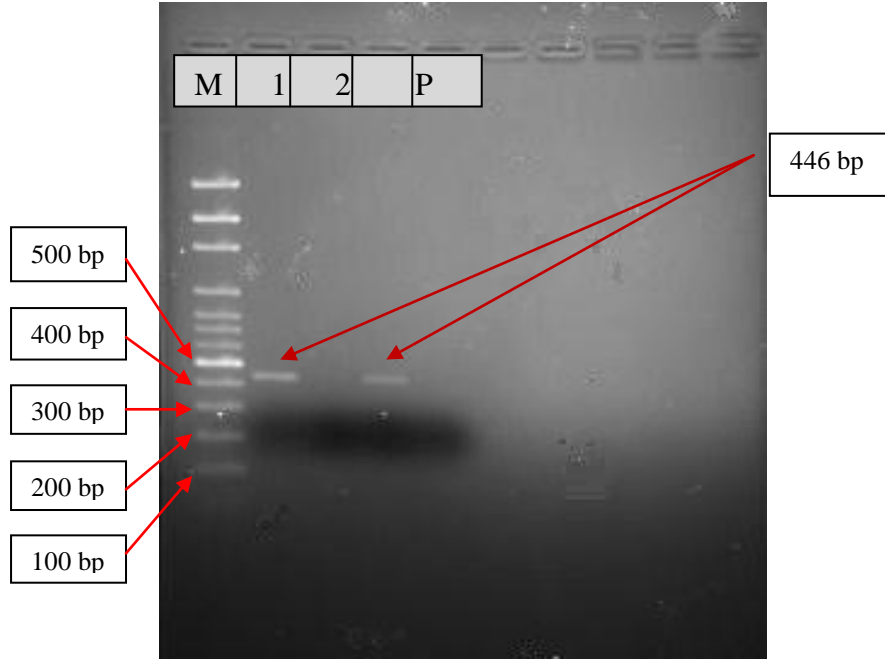
Çalışmamızda Aydın yöresindeki köpeklerde *E. granulosus*'un yaygınlığı araştırılmıştır. 100 köpekten toplanan dışkılarda *Taenia* spp. yumurtalarını araştırmak amacıyla flotasyon yöntemi kullanılmış ve 2 dışkı örneğinde *Taenia* spp. yumurtaları tespit edilmiştir (Resim 1).

Yapılan flotasyon yönteminde *Taenia* spp. yumurtalarından başka 11 köpekte *Toxocara canis*, 3 köpekte *Ancylostoma caninum* ve 1 köpekte *Capillaria* spp. yumurtalarına rastlanmıştır.

DNA'sı çıkarılan örneklerden yapılan PCR yönteminde 100 köpek dışkısından 1'inde *E. granulosus* varlığına rastlanılmıştır (Resim 2). Enfekte köpeğin Merkez Işıklı Köyü'nde, 10 yaşında erkek bir köpek olduğu belirlenmiştir. Pozitif bulunan dışkı örneğinin gerek ilk muayenesi, gerekse sonradan 3 kez tekrarlanan makroskobik ve mikroskobik muayenelerinde herhangi bir parazitolojik oluşuma rastlanmamıştır.



Resim 1. Köpek dışkısında saptanan *Taenia*. spp. yumurtası (X 40)



Resim 2. 446 bp'lik *E. granulosus* bantları- M: 100 bp'lik marker; 1: *E. ganulosus* pozitif örnek; 2: *E. granulosus* negatif örnek; P: *E. granulosus* pozitif kontrol; N: *E. granulosus* negatif kontrol

4. TARTIŞMA

Echinococcosis dünya çapında, önemli helmint hastalıklarından biri olup, zoonoz bir enfeksiyondur (Altıntaş 2003). *Echinococcus granulosus* başta olmak üzere diğer *Echinococcus* türleri de insanlarda ve hayvanlarda hastalık yapmakta ve büyük ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (Torgerson ve ark 2001, Eckert ve Deplazes 2004). *Echinococcus granulosus*'un larval şekli, insanların ve kesim hayvanlarının sağlığını, iş gücünü ve verimini olumsuz yönde etkilemekte bunun yanısıra ciddi boyutlara varan ekonomik kayıplara da yol açmaktadır (Özkan 1991, Saygı 1998, Umur 2003).

Türkiye'de köpeklerde bu parazitin varlığına ilişkin yapılan çalışmalar incelendiğinde, bu çalışmaların 1963-1998 yılları arasında otopsiye dayalı, 2007 yılından sonra dışkıların serolojik ya da moleküler tekniklerle incelenmesine dayalı yöntemler oldukları gözlenmiştir. Çalışmamızda köpeklerde tespit ettiğimiz % 1'lik *E. granulosus* oranı; Bursa'da % 36 (Tınar ve ark 1989), İzmir'de % 5,5 (Üner 1989), Kayseri'de % 24 (Şahin ve ark 1993), Ankara'da %44 (Doğanay 1983), Elazığ'da %3,33 (Taşan 1984), Kars'ta % 40,5 (Umur ve Arslan 1998), Muş'ta % 9 (Acıöz 2008), Adana'da % 24,72 (Demirkazık ve ark 2007) ve Antakya'da % 8,86 (Güzel ve ark 2008) illerinde yapılan çalışmalardan daha düşük, İstanbul'da % 0,8 (Öter ve ark 2011) ve Ankara'da % 0,94 (Ayçiçek ve ark 1998) illerinde yapılan çalışmalardan daha yüksek bulunmuştur. Yayılıştaki farklılıkların yapılan çalışmaların ağırlıklı olarak sahipsiz sokak köpeklerinde gerçekleştirilmiş olması, bu çalışmada ise köpeklerin tamamının sahipli olması ve genellikle bağlı tutulmasıyla ilişkili olabileceğini düşünülmektedir. Yanı sıra yapılan çalışmalarda çalışmanın yapıldığı dönem, bölge, yöntem, hayvan sayısı gibi pek çok faktör de etkili olmaktadır.

Dışkı örneklerinin toplanması sırasında hayvan sahipleriyle yapılan görüşmelerde, düzenli bir antelmentik kullanımı olmasa da çiğ et ya da sakatat yedirilmemesi konusundaki genel yaklaşım, enfeksiyon oranının düşük kalmasındaki en önemli neden olmaktadır. Enfeksiyon tespit edilen köpeğin uzun yıllardır sık sık çiğ sakatat tüketiyor olması bu durumu desteklemektedir.

Çeşitli ülkelerde *E. granulosus* yaygınlığını araştıran çalışmalar bulunmaktadır. Güney Brezilya'da copro antijen ELISA yöntemiyle % 27,69, arekolin yöntemiyle % 11,36 oranında *E. granulosus* belirlenmiştir (Farisa ve ark 2004). Urugay'da arekolin yöntemiyle % 22,7, nekropsi ile % 4 oranında bulunmuştur (Oku ve ark 2004). Peru'da copro antijen ELISA yöntemiyle % 82, arekolin yöntemiyle % 34 (Lopera ve ark 2003), Libya'da nekropsi ile % 25,8, copro antijen ELISA yöntemiyle % 21,6 (Buishi ve ark 2005), İran'da % 13,25 (Dalimi ve ark 2006), Kıbrıs'ta % 0.012 (Dakkak 2010) oranında köpeklerde *E. granulosus* tespit edilmiştir. Çalışmamızda köpeklerde bulduğumuz *E. granulosus* oranı; Güney Brezilya (% 27,69-11,36), Urugay (% 22,7-4), Peru (% 82-34), Libya (% 25,8-21,6), İran (% 13,25) gibi ülkelerde bildirilen oranlardan düşük iken, Kıbrıs'taki % 0,012 yayılım oranından yüksektir. Zoonoz enfeksiyonların yaygınlık durumu, ilgili bölge ya da ülkedeki sosyal, kültürel, ekonomik durum yanında halkın ve yöneticilerin farkındalık durumları ile son derece ilişkilidir. Kıbrıs uzun yıllardır sürdürdüğü eradikasyon programlarının sonuçlarını almış ve yayılışı son derece geriletmiştir. Hükümetlerin *E. granulosus* gibi tehlikeli zoonozlar için oluşturdukları politikaların ciddi ve sürdürülebilir olması son derece önemlidir. Bu oluşturulan politikalar içinde halkın bilinçlendirilmesi şüphesiz en önemli unsurdur. Hastalıklarla direkt karşı karşıya olan insanların bilinçli yaklaşımı enfeksiyonların önüne geçmenin ve zamanla eradikasyonun olmazsa olmaz koşuludur.

Köpeklerde *E. granulosus*'un teşhisinde birçok yöntem kullanılmaktadır. Bunlar içinde tanı amacıyla kullanılan en güvenilir yöntem son konaklarda erişkin parazitin, ara konaklar da ise larva şeklinin nekropsi ile ortaya konmasıdır (Şenlik 2004). Canlıların yaşama hakları konularında geleneksel bilinç seviyesi, çok gerekmedikçe bilimsel araştırmalarda hayvanların öldürülmesini hoş görmemektedir. Birçok ülkede olduğu gibi ülkemizde de epidemiyolojik araştırmalar için otopsiye dayalı yöntemler artık etik kurullar tarafından onaylanmamaktadır.

Köpeklerde *E. granulosus*'un teşhisinde kullanılan arekolin purgasyon yönteminin birçok avantajı vardır. Çapraz reaksiyon görülme riski yoktur ve direkt parazitin erişkinini görme esasına dayanır. Köpeklerin barınaklarda toplanması, etrafa yayılan yumurtaların halk sağlığı yönünden risk oluşturması, ilaç uygulanan köpeklere titreme kusma, bilinç kaybı ve gebelerde kullanılmaması yöntemin dezavantajları arasındadır (Acıöz 2008).

Copro-antijen ELISA yönteminde, *E. granulosus*'un somatik, ekstraksiyon veya sekresyon antijenlerine karşı geliştirilmiş poliklonal ya da monoklonal antikorlar kullanılmaktadır. Dışkıdaki spesifik *E. granulosus* antijenleri bu yöntemle saptanır. Yöntemin avantajı örneklerin toplanmasının kolay olması, az personele ihtiyaç duyulması, hızlı sonuç alma, uygulayıcı için daha güvenli olması, köpeklerin özel bir yere toplanmasının gerekmemesi, enfeksiyonun erken dönemlerde saptanabilmesidir. Yöntemin dezavantajı ise; *Taenia hydatigena* ve *Diphylidium caninum* ile enfekte köpeklerde çapraz reaksiyon görülebilmektedir. Farias ve ark (2004), köpeklerde yaptıkları çalışmada *E. granulosus* oranını arekolin purgasyon yöntemi ile % 11,36, copro-antijen ELISA yöntemi ile % 27,69 olarak tespit etmişlerdir. Peru'da Lopera ve ark (2003), yaptıkları çalışmada copro-antijen ELISA yöntemiyle % 82, arekolin purgasyon yöntemiyle % 34 oranında *E. granulosus* tespit etmişler ve copro-antijen ELISA yönteminin duyarlılığını % 88, arekolin yöntemin özgüllüğünü ise % 95 olarak belirlemişlerdir. Benito ve ark (2006), yaptıkları çalışmada; köpeklerde *E. granulosus* tanısında copro-antijen ELISA yönteminin duyarlılığını % 78,4 olarak belirlemişlerdir. Coproantijen ELISA yöntemi kolay uygulanabilir olmasına rağmen hatalı pozitiflik oranlarına neden olabilmektedir. Bu durumun çapraz reaksiyondan kaynaklandığı konusunda birçok görüş bulunmaktadır.

Köpeklerde *E. granulosus*'un teşhisinde son zamanlarda kullanılmaya başlanan PCR yönteminin avantajları arasında kolay uygulanabilir olması, fazla miktarda örneğin çalışılabilmesi sayılabilir. Lahmar ve ark (2007), yaptıkları çalışmada PCR yönteminin echinococcosisde özgüllüğün % 100 olduğunu belirlemişlerdir. Bu yöntem yüksek duyarlılık ve özgüllüğü, çok sayıda örneğin kısa bir zamanda taranabilmesi gibi avantajları nedeniyle özellikle prevalans çalışmalarında tercih edilebilir.

Dışkıda *E. granulosus* yumurtaları diğer *Taenia* spp yumurtalarıyla mikroskopik olarak ayırt edilememektedir. PCR yöntemi dışkıdan izole edilen DNA'ların uygun bantları oluşturması sonucu *E. granulosus* teşhisinde kullanılmaktadır. Deneysel enfeksiyonların oluşturduğu çalışmalarda Echinococcosis, Lahmar ve ark (2007) tarafından henüz yumurta üretiminin başlamadığı 21-31 gün, Naidich ve ark (2006) tarafından 25 veya 33. günde PCR yöntemiyle tespit edilmiştir. Yumurta üretimi olmamasına rağmen erken dönem tespitin muhtemelen dışkıyla atılmakta olan parazite ait doku parçaların

yakalanmasıyla gerçekleştiği düşünülmektedir. Ayrıca yöntemin echinococcosisde yüksek oranda duyarlılık ve özgüllük gösterdiğini vurgulamışlardır.

Abrasi ve ark (2003), yaptıkları çalışmada kesin olarak *E. granulosus* tespit edilmiş 30 köpek dışkısı PCR yöntemiyle incelenmiştir. Pozitif 30 köpeğin tamamında parazitin DNA'sını bulmuşlar ve yöntemin duyarlılığını % 100 olarak belirlemişlerdir.

Stefanik ve ark (2004), yaptıkları çalışmada *Taenia* spp. yumurtaları olan dışkıdan elde ettikleri DNA'lara PCR yapıp sonuçta yöntemin duyarlılığın % 100 olduğu vurgulamışlardır.

Çalışmamızda köpek dışkılarının flotasyon yöntemiyle incelenmesiyle 100 köpek dışkısından 2'sinde (% 2) *Taenia* spp. yumurtaları tespit edilmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda köpeklerde *Taenia* spp. yaygınlığı farklı oranlarda bildirilmiştir. Ünlü ve Eren (2007), yaptıkları çalışmada Aydın'da köpeklerde % 7,5 oranında *Taenia* spp. yumurtası tespit etmişlerdir. Orhun ve Ayaz (2006) yaptıkları çalışmada Van ilinde köpeklerde % 14,8 oranında *Taenia* spp. yumurtası saptamışlardır. Ankara'da yapılan çalışmada % 14,2 oranında *Taenia* spp. yumurtası belirlenmiştir (Ayçiçek ve ark 1998). Muş'ta yapılan çalışmada % 28 oranında *Taenia* spp. yumurtası belirlenmiştir (Acıöz 2008). Çalışmamızda saptadığımız *Taenia* spp. oranı; Aydın (% 7,5), Van (% 14,8), Muş (% 28), Ankara (% 14,2) illerinden bildirilen orandan düşük bulunmuştur. Bu durumun da yine köpeklerin sahipli olması ve çığ sakatat ya da et yedirmeme konusunda ki genel yaklaşıma bağlı olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızın önemli sonuçlarından biri Taeniid tip yumurta göremediğimiz bir dışkı örneğinde *E. granulosus* varlığının tespit edilmesidir. Dışkının kalan porsiyonlarında tekrarlayan makroskobik ve mikroskobik bakılara rağmen herhengi bir parazitik oluşuma rastlanamaması, hastalığın erken dönem tespiti olabileceği gibi, az sayıda parazitin varlığı durumunun, PCR için kullanılan dışkı bölümünde yakalanması olarak da açıklanabilir. Laboratuvarlarda makroskopik ya da mikroskopik methodlarla yapılan dışkı incelemelerinde genellikle Taeniid tip yumurta görüldüğü zamanlarda akla gelen "*E. granulosus* olma riskinin" herhangi bir yumurta ya da halka görülmediği durumlarda da varlığını sürdürdüğü unutulmamalıdır.

5. SONUÇ

Bu çalışmada Aydın yöresindeki köpeklerde dışkı muayenesi ile *E. granulosus* varlığı PCR yöntemi kullanılarak % 1 oranında tespit edilmiştir.

Çalışmamızda tespit edilen *E. granulosus*'un mikroskopik olarak Taeniid tip yumurta tespit ettiğimiz dışkılarda değil, makroskopik ya da mikroskopik olarak herhangi bir parazitolojik yapıya rastlanmayan dışkıda tespit edilmiş olması önemlidir. Bu durum hayvan sahipleri, veteriner hekimler ve parazitoloji laboratuvarı çalışanları için köpek dışkılarının her zaman potansiyel tehlike oluşturduğu gerçeğinin altını çizmektedir. Dışkıda halka ya da yumurta görülme de köpeğin yaşam biçimi ve beslenme şekli dikkate alınarak belirlenen rutin aralıklarla antelmentik uygulamalarının mutlaka yapılması halk sağlığı açısından çok önemlidir.

Echinococcosis'e yönelik epidemiyolojik çalışmalar ya da hidatik kontrol programları araştırmalarında, gerek erken dönemde teşhis gerekse yüksek spesifite ve sensitivitesi nedeniyle, arekolin purgasyonla birlikte uygulanacak PCR teşhis metotlarının diğer metotlara göre daha üstün olduğu düşünülmektedir.

Echinococcus granulosus gibi son derece tehlikeli ve önemli bir parazit için aynı dönemde ve aynı metodun kullanıldığı, bölge bazında daha yüksek sayıda örneklemelerin yapıldığı bir risk haritalamasına ihtiyaç vardır.

ÖZET

Aydın yöresindeki köpeklerde *Echinococcus granulosus* yaygınlığının polimeraz zincir reaksiyonu ile belirlenmesi

Echinococcosis dünya çapında önemli helmint hastalıklarından biri olup zoonoz bir enfeksiyondur. *E. granulosus* başta olmak üzere diğer *Echinococcus* türleri de insanlarda ve hayvanlarda hastalık yaparlar ve büyük ekonomik kayıplara sebep olurlar.

Yapılan çalışmada Aydın ve yöresindeki *E. granulosus* yaygınlığını belirlemek amacı ile yapılmıştır. Çalışmada kullanılacak materyal, Aydın ve yöresinde bulunan, 6 aydan büyük, sahipli 100 köpekten taze ve temiz olmak koşuluyla yerden toplanmıştır. Örnekler Aydın merkez ve 5 ilçe (Söke, Koçarlı, Çine, Bozdoğan, Kuyucak) ile birlikte 6 bölge olmak üzere toplam 13 köyden alınmıştır. Dışkı örneği alınan köpeklerin 25'i dişi, 75'i erkek olup yaşları 6 ay-16 yaş aralığındadır.

Köpeklerdeki *E. granulosus* varlığı PCR yöntemiyle araştırılmış ve 1 hayvanda (%1) enfeksiyona rastlanmıştır. Moleküler teknikler uygulamadan önce dışkılar makroskopik olarak ve tuzlu su flotasyon yöntemiyle incelenmiş ve 11'inde (%11) *Toxocara canis*, 3'ünde (%3) *Ancylostoma caninum*, 2'sinde (%2) *Taenia* spp., ve 1'inde (%1) *Capillaria* spp. yumurtalarına rastlanılmıştır.

Toplam 100 hayvandan 1'inde *E. granulosus* varlığı Türkiye'nin diğer bölgelerinde yapılan çalışmaların çoğuna göre düşük bulunmuştur. Gerek makroskopik gerekse mikroskopik bakıda herhangi bir parazitolojik oluşuma rastlanmayan dışkıda *E. granulosus* tespit edilmesi hayvan sahipleri, veteriner hekimler ve parazitoloji laboratuvarı çalışanları için köpek dışkılarının her zaman potansiyel tehlike oluşturduğu gerçeğinin altını çizmektedir.

Anahtar: Aydın, *Echinococcus granulosus*, Köpek, Yayılış

SUMMARY

Prevalence of *Echinococcus granulosus* determined with polymerase chain reaction in dogs in Aydın district

Echinococcosis is one of worldwide zoonotic diseases. *E. granulosus* and the other Echinococcus species cause diseases in human and animals leading to huge economical losses.

In this study, it was aimed to determine prevalence of *E. granulosus* in Aydın district. Clean and fresh feces samples at ground were collected from owned dogs (n=100; 25 female, 75 male) with the range of 6-16 months old. These feces samples were obtained at 13 villages from five different locations (Center, Söke, Çine, Bozdoğan, Kuyucak) of Aydın district. Prevalence of *E. granulosus* was investigated with PCR, and presence of this disease was determined in only one dog (%1; 1/100). Prior to applications of molecular techniques, feces samples were investigated with macroscopic and flotation methods, and these procedures reveal the presence of *Toxocara canis* (%11), *Ancylostoma caninum* (%3), *Taenia* spp. (%2) and *Capillaria* spp. (%1) eggs.

Current prevalence (%1) of *E. granulosus* in this study is lower than the other studies conducted at different parts of Turkey. Determination of *E. granulosus* with PCR in feces without determining any parasites with neither macroscopical nor microscopical examinations could indicate the potential risk of dog feces for animal owners, veterinarians and parasitology laboratory technicians.

Key words: Aydın, *Echinococcus granulosus*, dog, prevalence

6. KAYNAKLAR

Abrasi I, Branzburg A, Campos-Ponce M, Hafez SKA, Raoul F, Craig PS, Hamburger J. Copro-diagnosis of *Echinococcus granulosus* infection in dogs by amplification of a newly identified repeated DNA sequence. The American Journal of Tropical Medicine Hygiene 2003;69(3):324-330.

Acıöz M. Muş ve yöresinde *Echinococcus granulosus* yaygınlığının PCR yöntemi ile araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Sivas, 2008.

Acıöz M, Çeliksöz A, Özçelik S, Değerli S. Sivas'ta Nisan-Mayıs 2005 tarihleri arasında kesilen sığırlarda kist hidatik yaygınlığı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2008;32(3):205-207.

Acosta-Jamet G, Cleaveland S, Bronsvoort BM, Cunningham AA, Bradshaw H, Craig PS. *Echinococcus granulosus* infection in domestic dogs in urban and rural areas of the Coquimbo region. North-central Chile, Veterinary Parasitology 2010;169:117-122.

Ahmad G, Nizami WA. Coproantigens: Early detection and suitability of an immunodiagnostic method for echinococcosis in dogs. Veterinary Parasitology 1998;77:237-244.

Ahmadi N, Dalimi A. Characterization of *Echinococcus granulosus* isolates from human, sheep and camel in Iran. Infection, Genetics and Evolution 2006;6:85-90.

Akyol ÇV. *Echinococ* Türlerinin Epidemiyoloji. Editörler: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A, Echinococcosis. Hidatidoloji Derneği, İzmir, 2004. p. 259-283.

Altıntaş N, Yazar S. Western blot (Immunoblotting). Ed: Özcel MA, Altıntaş N, Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, No:15, İzmir, 1997. p. 343-372.

Altıntaş N. Past to present: Echinococcosis in Turkey. Acta Tropica 2003;85:105-112.

Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Echinococcosis. Hidatidoloji Derneği, Yayın No:1, Ege Üniversitesi matbaası, Bornova, İzmir, 2004.

Arslan MO, Umur S. Prevalence and economic importance of hydatidosis in slaughter sheep and cattle at Erzurum abattoir. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 1997;3(2):167-171.

Ataş AD, Özçelik S, Saygı G. The occurrence of helminth species in stray dogs, their prevalence and significance to public health in Sivas. *Acta Parasitol Turcica* 1997;21(3):305-309.

Ayaz E, Tınar R. Cestoda. Ed. Tınar R *Helmintoloji*. Fen ve Biyoloji Yayınları Dizisi, Nobel Yayın No:965, 2006. p. 167-180.

Ayçiçek H, Sarımehtetoğlu HO, Tanyüksel M, Özyurt M, Gün H. Distribution and public health importance of intestinal helminths in stray pups in Keçiören area, Ankara. *Acta Parasitol Turcica* 1998;22(2):156-158.

Aydenizöz M. Helminthological investigations of dogs in Konya province. *Acta Parasitol Turcica* 1997;21(4):429-434.

Benito A, Carmena D. Double-antibody sandwich ELISA using biotinylated antibodies for the detection of *Echinococcus granulosus* coproantigens in dogs. *Acta Tropica* 2005;95:9-15.

Benito A, Carmena D, Joseph L, Martinez J, Guisantes JA. Dog echinococcosis in northern Spain: Comparison of coproantigen and serum antibody assays with coprological exam. *Veterinary Parasitology* 2006;142:102-111.

Beyhan YE, Umur Ş. Molecular characterization and prevalence of cystic echinococcosis in slaughtered water buffaloes in Turkey. *Veterinary Parasitology* 2011;181:174-179.

Boufana BS, Campos-Ponce M, Naidich A, Buishi I, Lahmar S, Zeyhle E, Jenkins DJ, Combes B, Wen H, Xiao N, Nakao M, Ito A, Qiu J, Craig PS. Evaluation of three PCR assay for the identification of sheep strain (Genotype 1) of *Echinococcus granulosus* in canid feces and parasite tissues. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2008;78(5):777-783.

Bowles J, Blair D, McManus DP. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1992; 54:165-174.

Buishi IE, Njoroge EM, Bouamra O, Craig PS. Canine echinococcosis in northwest Libya: Assessment of coproantigen ELISA, and a survey of infection with analysis of risk-factors. *Veterinary Parasitology* 2005;130:223-232.

Burgu A, Sarımehmetoğlu O, Göneneç B, Doğanay A, Öge H, Öge S, Şahin G, Aypak S, Avcıoğlu H, Bölükbaş C, Araz E. Purification of specific proteins from hydatid cyst fluids of sheep liver and application to ELISA. *Revue de Medecine Veterinaire* 2010;161(1):10-15.

Cantoray R, Aytakin H, Güçlü F. Konya yöresinde keçilerde helmintolojik araştırmalar. *Veterinarium* 1992;3(2):27-30.

Celep A, Açııcı M, Çetindağ M, Coşkun SZ, Gürsoy S. Helminthological studies on cattle from the Samsun region. *Etlık Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* 1990;6(6):117-130.

Chobanov RE, Salekhov AA, Iskenderov VS, Alieva TI, Dzhafarova IA. Epidemiology of echinococcosis under conditions of transhumant husbandry in Azerbaijan. *Veterinariya Moskva* 1991;12:33-34.

Christofi G, Deplazes P, Chiristofi N, Tanner I, Economides P, Eckert J. Screening of dogs for *Echinococcus granulosus* coproantigen in a low endemic situation in Cyprus. *Veterinary Parasitology* 2002;299-306.

Craig PS, Gasser RB, Parada L, Cabreda P, Parietti S, Borgues C, Acutis A, Agulla J, Snowden K, Paolillo E. Diagnosis of canine echinococcosis: comparison of coproantigen and serum antibody tests with arecoline purgation in Uruguay. *Veterinary Parasitology* 1995;56(4):293-301.

Cuomo MJ, Noel LB, White DB. Diagnosing Medical Parasites: A Public Health Officers Guide to Assisting Laboratory and Medical Officers. http://www.phsource.us/PH/PARA/Diagnosing_Medical_Parasites.pdf. Erişim tarihi: 24.06.2012.

Çenet O, Taşçı S. Manisa Et ve Balık Kurumu'nda (EBK) 1986-1993 yılları arasında kesilen kasaplık hayvanlarda kesim sonrası görölen hastalıkların araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 1994;18(4):511-516.

Çırak VY. Hayvanlarda Erişkin ve Larver Echinococcosisin Tedavisi. Editörler: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A, Echinococcosis. Hidatidoloji Derneği, İzmir, 2004. p. 317-324.

Çivi S, Güler S, Kesici S. Konya Et Balık Kurumu ve Konet Tesisleri kayıtlarına göre kist hidatik nedeniyle oluşan ekonomik kayıplar. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 1995;19(2):237-242.

Dakkak A. Echinococcosis/hydatidosis: A severe threat in Mediterranean countries. *Veterinary Parasitology* 2010;174:2–11.

Dalimi A, Motamedib Gh, Hosseini M, Mohammadian B, Malaki H, Ghamari Z, Ghaffari Far F. Echinococcosis/hydatidosis in western Iran. *Veterinary Parasitology* 2002;105:161–171.

Dalimi A, Sattari A, Motamedi Gh. A study on intestinal helminthes of dogs, oxes and jackals in the western part of Iran. *Veterinary Parasitology* 2006;142:129–133.

Dar FK, Alkarmi T. Public health aspects of cystic echinococcosis in the Arab countries. *Acta Tropica* 1997;67:125-132.

Değer S, Ayaz E, Gül A, Biçek K, Eraslan E. Van yöresinde kesilen sığır, koyun ve keçilerde hidatidozun yayılışı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2001;7(1-2):37-40.

Değer S, Biçek K. Tatvan Belediye Mezbahasında kesilen koyun ve keçilerde karaciğer trematodlarının yaygınlığı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2005;16(1):41-43.

Demirkazık M, Koltaş İS, Aktaş H, Kocaçiftçi İ. Adana ili sokak köpekleri dışkısında *Echinococcus granulosus* antijen varlığının araştırılması. 15. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 18-23 Kasım, Kayseri ve Ürgüp. *Bildiri Özetleri* 2007. p. 237.

Deplazes P, Gottstein B, Eckert J, Jenkins DJ, Ewald D, Jimenez-Palacios S. Detection of *Echinococcus coproantigen* by enzyme linked immunosorbent assay in dogs, dingoes and foxes. *Parasitology Research* 1992;78:303-308.

Deplazes P, Eckert J. Veterinary aspects of alveolar echinococcosis-a zoonosis of public health significance. *Veterinary Parasitology* 2001;98:65-87.

Dik B, Cantoray R, Kandemir E. Konya Et ve Balık Kurumu Kombinasında kesilen küçük ve büyükbaş hayvanlarda hidatidozun yayılışı ve ekonomik önemi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 1992;16(3-4):91-99.

Dinkel A, Njoroge EM, Zimmermann A, Walz M, Zeyhle E, Elmahdi IE, Mackenstedt U, Romig T. A PCR system for detection of species and genotypes of the *Echinococcus granulosus*-complex, with reference to the epidemiological situation in eastern Africa. *International Journal for Parasitology* 2004;34:645-653.

Doğanay A. Ankara köpeklerinde görölen helmint türleri, bunların yayılışı ve halk sağlığı yönünden önemi. Ankara Üniversitesi Veteriner Faköltesi Dergisi 1983;30(4):550-561.

Doğanay A, Burgu A, Gönenç B, Sarımehmetoğlu O. Koyun kökenli kist hidatik protoscolekslerinin antijenik yapısının SDS-PAGE metoduyla analizi ve Western blot metoduyla protein yapısındaki spesifik antijenlerin saptanması. Ankara Üniversitesi Veteriner Faköltesi Dergisi 2000;47(1):63-72.

Doğanay A, Burgu A, Sarımehmetoğlu O, Tanyüksel M, Gönenç B, Kozan E, Yıldırım A. Diagnosis of hydatidosis in human beings and sheep by indirect fluorescence antibody technique. Indian Vet S. 2003;80:1230-1233.

Dubinsky P, Stefancikova A, Tuncckova L, Macko JK, Soltys J. Development and morphological variability of *Echinococcus granulosus*. Parasitology Research 1998;84:221-229.

Dueger EL, Verastagui M, Gilman RH. Enzyme-Linked immunoelectrotransfer blot (EITB) for ovine hydatidosis relative to age and cyst characteristics in naturally infected sheep. Veterinary Parasitology 2003;114:285-293.

Düzlü Ö, Yıldırım A, Sariözkan S, İnci A. Kayseri yöresinde üç farklı mezbahada kesilen koyun ve sığırlarda kistik Echinococcosis'in ekonomik önemi. Erciyes Üniversitesi Veteriner Faköltesi Dergisi 2010;7(1):7-11.

Eckert J, Gemmel MA, Matyas Z, Soulsby EJJL. Guidelines for surveillance, prevention and control of Echinococcosis/Hydatidosis. WHO. VPH/81,28, Geneva 1984. p. 5-35.

Eckert J, Deplazes P, Craig PS, Gemmell MA, Gottstein B, Heath D, Jenkins DJ, Kamiya M, Lightowers M. Echinococcosis in animals: clinical aspects, diagnosis and treatment, In: Eckert J, Gemmell MA, Meslin F-X, Pawlowski Z, Eds. WHO/OIE Manuel on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. World Organisation for Animal Health and World Health Organisation, Paris 2002. p.72-99.

Eckert J, Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. Clinical Microbiology Reviews 2004;1(17):107-135.

El Shebabi FS, Kamhawi SA, Schantz PM, Craig PS, Abdel Hafez SK. Diagnosis of canine echinococcosis: comparison of coproantigen detection with necropsy in stray dogs and red foxes from northern Jordan. *Parasite* 2000;7(2):83-90.

Elayoubi FA, Fraser A, Jenkins DJ, Craig PS. Partial characterisation of carbohydrate-rich *Echinococcus granulosus* coproantigens. *International Journal for Parasitology* 2003;33:1553-1559.

Erkut MH, Kahyaoğlu T. İzmir, Buca ve Bornova mezbahalarında yapılan helmintolojik araştırma ve bölgemizde *Fasciola gigantica*'nın durumu. *Bornova Veteriner Araştırma Enstitüsü Dergisi* 1996;13:19-23.

Ertuğ S, Ertabaklar H, Karadam SY, Dayanır Y. Kist hidatik: Aile enfeksiyonu. 15. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 18-23 Kasım 2007, Kayseri ve Ürgüp. Bildiri Özetleri, 2007. p. 234.

Esatgil MU, Tüzer E. Prevalence of hydatidosis in slaughtered animals in Thrace, Turkey. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2007;31(1):41-45.

Esatgil MU. Türkiye'de Hidatidozis (Ekinokokkozis) sorunu. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2008;34(2):33-48.

Farisa LN, Malgor R, Cassaravilla C, Brangança C, De La Rue ML. Echinococcosis in Southern Brazil: efforts toward implementation of a control program in Santana do Livramento, Rio Grande do Sul. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 2004;46(3):153-156.

Gasser RB, Lightlowers MW, Oberdorf DL, Jenkins DJ, Rickard MD. Evaluation of serological test system for the diagnosis of natural *Echinococcus granulosus* infection in dogs using *Echinococcus granulosus* protoscolex and oncosphere antigens. *Australian Veterinary Journal* 1988;65:369-373.

Gasser RB, Jenkins DJ, Heat DD, Lawrence SB. Use of *Echinococcus granulosus* worm antigens for immunodiagnosis of *Echinococcus granulosus* infection in dogs. *Veterinary Parasitology* 1992;45:89-100.

Gasser RB, Jenkins DJ, Paolillo E, Parada L, Cabrera P, Craig PS. Serum antibodies in canine echinococcosis. *International Journal for Parasitology* 1993;23:579-586.

Gasser RB, Zhu X, McManus DP. Dideoxy fingerprinting: application to the genotyping of *Echinococcus*. *International Journal for Parasitology* 1998;28:1775-1779.

Gıcık Y, Arslan MÖ, Kara M, Köse M. Kars ilinde kesilen sığır ve koyunlarda kistik ekinokokkozisin yaygınlığı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2004;28(3):136-139.

González LM, Daniel-Mwambete K, Montero E, Rosenzvit MC, McManus DP, Gárate T, Cuesta-Bandera C. Further molecular discrimination of Spanish strains of *Echinococcus granulosus*. *Experimental Parasitology* 2002;102:46-56.

Gönenç B, Doğanay A, Öge H. Echinococcosisin Patojenitesi ve Kliniği. Editörler: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A, Echinococcosis. Hidatidoloji Derneği, İzmir, 2004. p. 285-294.

Gözün H, Kıran MM. Pathological studies of hepatic lesions in sheep slaughtered at Konya abattoirs. *Veterinarium*, 1999;10(1):1-19.

Guarnera EA, Zanzottera EM, Pereyra H, Franko AJ. Ultrasonography: its application in the control of echinococcosis. *Revista de Medicina Veterinaria Buenos Aires* 2000;81(6):424-427.

Guarnera EA, Zanzottera EM, Pereyra H, Franko AJ. Ultrasonographic diagnosis of ovine cystic echinococcosis. *Veterinary Radiology Ultrasound* 2001;42(4):352-354.

Güralp N, Dinçer Ş, Kemer R, Cantoray R, Taşan E. Elazığ yöresi köpeklerinde görülen gastro-intestinal helmint türleriyle bunların yayılış oranı ve halk sağlığı yönünden önemleri. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1977;24(2):241-249.

Güralp N, Tiğın Y, Oğuz T, Tınar R, Burgu A. The effect of Droncit on dog and cat tapeworms. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1976;23(1-2):171-174

Güralp N. Helmintoloji, İkinci baskı, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları:368, Ankara Üniversitesi Basımevi 1981.

Güzel M, Yaman M, Koltas IS, Demirkazık M, Aktas H. Detection of *Echinococcus granulosus* coproantigens in dogs from Antakya province, Turkey. *Helmintologia* 2008;45(3):153.

Haag KL, Araújo AM, Gottstein B, Zaha A. Selection, recombination and history in a parasitic flatworm (*Echinococcus*) inferred from nucleotide sequences. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 1998;93(5):695-702.

Hamel KL, Ris DR. The use of cathodic antigen in the immunoelectrophoretic serodiagnosis of *Echinococcus granulosus* in sheep. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1982;3:419-425.

Harandi MF, Hobbs RP, Adams PJ, Mobedi I, Morgan-Ryan UM, Thompson RCA. Molecular and morphological characterization of *Echinococcus granulosus* of human and animal origin in Iran. *Parasitology* 2002;125:367-373.

He-Duo L, Wang H, He DL, Wang H. A report on the epidemiological evaluation of hydatid disease in Zeku Country, Qinghai Province. *End Dis Bull* 2001;16:(4)36-38.

Herlow ED, Lane D. *Antibodies, A Laboratory Manuel.* Cold spring Harbor Laboratory 1988;561-599.

Jenkins DJ, Rickard MD. Specific antibody responses in dogs experimentally infected with *Echinococcus granulosus*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1986;35(2):345-349.

Jenkins DJ, Fraser A, Bradshaw H, Craig PS. Detection of *Echinococcus granulosus* coproantigens in Australian canids with natural or experimental infection. *Journal Parasitology* 2000;86(1):140-145.

Kamenetzky L, Gutierrez AM, Canova SG, Haag KL, Guarnera EA, Parra A, García GE, Rosenzvit MC. Several strains of *Echinococcus granulosus* infect livestock and humans in Argentina. *Infection Genetics and Evolution*, 2002;2:129-136.

Kilimcioğlu A, Ok ÜZ. İnsanda *Echinococcus* Türlerinin Epidemiyolojileri, Coğrafi Yaygınlık ve Türkiye'deki Durum. Editörler: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A, *Echinococcosis. Hidatidoloji Derneği, İzmir, 2004. p. 129-140.*

Kittelberger R, Reichel MP, Jenner J, Heath DD, Lightowlers MW, Moro P, Ibrahim MM, Craig PS, O'Keefe JS. Evaluation of three enzyme-linked immunosorbent assay (ELISAs) for the detection of serum antibodies in sheep infected with *Echinococcus granulosus*. *Veterinary Parasitology* 2002;110:57-76.

Köse M, Sevimli FK. Prevalence of cystic echinococcosis in slaughtered cattle in Afyonkarahisar. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2008;32(1):27-30.

Kuman HA, Altıntaş N. *Protozoon Hastalıkları.* Ege Üniversitesi Yayınevi Bornova, İzmir, 1996;34-90-137.

- Kuman HA.** Kompleman Fiksasyon Reaksiyonu. Ed: Özcel MA, Altıntaş N, Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, No:15, İzmir, 1997a. p. 183-192.
- Kuman HA.** İndirekt Hemaglütinasyon. Ed: Özcel MA, Altıntaş N, Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, No:15, İzmir, 1997b. p. 193-223.
- Lahmar S, Lahmar S, Boufana B, Bradshaw H, Craig PS.** Screening for *Echinococcus granulosus* in dogs: Comparison between arecoline purgation, coproELISA and coproPCR with necropsy in pre-patent infections. *Veterinary Parasitology* 2007;144:287-292.
- Larrieu E, Costa MT, Cantoni G, Alvarez R, Cavagion L, Labanchi JL, Bigatti R, Araya D, Herrero E, Alvarez E, Mancini S, Cabrera P** Ovine *Echinococcus granulosus* transmission dynamics in the province of Rio Negro, Argentina, 1980-1999. *Veterinary Parasitology* 2001;98:263-272.
- Latif AA, Tanveer A, Maqbool A, Siddiqi N, Kyaw-Tanner M, Traub RJ.** Morphological and molecular characterisation of *Echinococcus granulosus* in livestock and humans in Punjab, Pakistan. *Veterinary Parasitology* 2010;170:44-49.
- Lightowers MW, Rickard MD, Honey RD.** Serum antibody response following paranteral immunization with hydatid cyst fluid in sheep infected with *Echinococcus granulosus*. *The American Journal of Tropical Medicine Hygiene* 1986;35(4):818-823.
- Lightowers MW.** Cestode infections in animals: Immunological diagnosis and vaccination. *Rev Sci Off Int Epiz* 1990;9(2):662-663.
- Lightowers MW, Gottstein B.** Echinococcosis/Hydatidosis: antigens, immunological and molecular diagnosis. In: Thompson RCA, Lymbery AJ, Eds. *Echinococcus and Hydatid diseases*. CAB International, Wallingford, 1995. p. 355-410.
- Lopera L, Moro PL, Chavez A, Montes G, Gonzales A, Gilman RH.** Field evaluation of coproantigen enzyme linked immunosorbent assay of canine echinococcosis in rural Andean village in Peru. *Veterinary Parasitology* 2003;117:37-42.
- Malgor R, Nonaka N, Basmadjian I, Sakai H, Carambula B, Oku Y, Carmona C, Kamiya M.** Coproantigen detection in dogs experimentally and naturally infected with *Echinococcus granulosus* by monoclonal antibody-based enzyme linked immunosorbent assay. *International Journal of Parasitology* 1998;27:1605-1612.

- M'rad S, Fiisetti D, Oudni M, Mekki M, Belguith M, Nouri A, Sayadi T, Lahmar S, Candolfi E, Azaiez R, Mezhoud H, Baba H.** Molecular evidence of ovine (G1) and camel (G6) strains of *Echinococcus granulosus* in Tunisia and putative role of cattle in human contamination. *Veterinary Parasitology* 2005;129:267-272.
- Maravilla P, Thompson RCA, Palacios-Ruiz JA, Estcourt A, Ramirez-Solis E, Mondragon-De-La-Peña C, Moreno-Moller M, Cardenas-Mejia A, Mata-Miranda P, Aguirre-Alcantara MT, Bonilla-Rodriguez CB, Flisser A.** *Echinococcus granulosus* cattle strain identification in an autochthonous case of cystic echinococcosis in Central Mexico. *Acta Tropica* 2004;92:231-236.
- Mastin A, Brouwer A, Fox M, Craig P, Guitián J, Li W, Stevens K.** Spatial and temporal investigation of *Echinococcus granulosus* coproantigen prevalence in farm dogs in South Powys, Wales. *Veterinary Parasitology* 2011;178:100-107.
- Maxon AD, Wachira TM, Zeyhle EE, Fine A, Mwangi TW, Smith G.** The use of ultrasound to study the prevalence of hydatid cysts in the right lung and liver of sheep and goats in Turkana, Kenya. *International Journal of Parasitology* 1996;26(11):1335-1338.
- McManus DP, Ding Z, Bowles J.** A molecular genetic survey indicates the presence of a single, homogeneous strain of *Echinococcus granulosus* in north-western China. *Acta Tropica* 1994;56(1):7-14.
- McManus DP, Zhang W, Li J, Bartley PB.** Echinococcosis. *Lancet* 2003;362:1295-1304.
- Mehrabani D, Oryan A, Sadjjadi SM.** Prevalence of *Echinococcus granulosus* infection in stray dogs and herbivores in Shiraz, Iran. *Veterinary Parasitology* 1999;86:217-220.
- Merdivenci A.** İstanbul sokak köpeklerinde *Echinococcus granulosus* (Batsch,1786) Rudolphi, 1805. *Mikrobioloji Dergisi* 1963;16(1):23-28.
- Merdivenci A, Aydınoğlu K.** Hidatidoz (Hidatik Kist Hastalığı). İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayın No:2972. Fatih Gençlik Vakfı Matbaa İşletmesi. İstanbul, 1982.
- Mohammed MSDM.** A radiographic report and observation on hydatidosis in cows and goat. *Cheiron* 1980;9(1):33-37.

Naidich A, Mc Manus DP, Canova SG, Gutierrez AM, Zhang W, Guarnera NE, Rosenzvit MC. Patent and pre patent detection of *Echinococcus granulosus* geno tıyel in the definitive host. *Molecular and Cellular Probes* 2006;20:5-10

Oku Y, Malgor R, Benavidez V, Carmona C, Kamilya H. Control program against hydatidosis and the decreased prevalence in Uruguay. *International Congress Series* 2004; 1267:98-104.

Orhun R, Ayaz E. Van yöresi köpeklerinde bulunan endo parazitler ve halk sağlığı önemi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2006; 22(2):156-158

Ortona E, Margutti P, Rigano R, Siracusano A. Genetic variability in Italian sheep isolates of *Echinococcus granulosus*. *Applied Parasitology* 1996;3:205-208.

Öge H, Gıcık Y, Kalınbacak F, Yıldız K. The prevalence of some metacestodes (Hydatid cyst, *Cysticercus tenuicollis*, *Cysticercus bovis*) in sheep, goat and cattle slaughtered in Ankara province. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1998;45(1):123-130.

Öter K, Bilgin Z, Tınar R, Tüzer E. Tapeworm infections in stray dogs and cats in İstanbul, Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2011;17(4):595-599.

Özcel MA, Üner A, Ertuğ S. İmmunofloresans Yöntemi. Ed: Özcel MA, Altıntaş N, *Parazit Hastalıklarında Tanı*. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, No: 15, İzmir, 1997. p. 215-239.

Özçelik S. Sivas'ta köpeklerde *E. granulosus* yaygınlığı, hidatidozun epidemiyolojisi, tanısı ve tedavisi üzerine çalışmalar. Doktora Tezi. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Programı, Sivas, 1988.

Özçelik S, Saygı G. Sivas mezbahasında kesilen koyun ve sığırlarda kist hidatid görülme oranları. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 1990;14(1):41-44.

Özdemir A. Adana ve çevresinde yaşayan insanlarda kistik ekinokokkoz (hidatidoz) antikorların serolojik yöntemlerle araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 2005.

Özkan MC. Edirne ve çevresinde kist hidatidğin casoni ve indirekt hemaglutinasyon testleri ile sıklığının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Klinik Bakterioloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Edirne, 1991.

Parada L, Cabrera P, Burges C, Acuna A, Barcelona C, Laurenson MK, Gulland FM, Agulla J, Parietti S, Paolillo E (1995). *Echinococcus granulosus* infections of dogs in the Durazno region of Uruguay. *Veterinary Record* 1995;136:389-91

Prathiush PR, D'Souza PE, Gowda AKJ. Diagnosis of *Echinococcus granulosus* infection in dogs by a coproantigen sandwich ELISA. *Veterinary Archives* 2008;78(4):297-305.

Raush RL, D Alessandro A, Ohbayashi M. The taxonomic status of *Echinococcus cruzi* Brumpt and Joyeux, 1924 (Cestoda: Taeniidae) from an agouti (Rodentia: Dasyproctidae) in Brazil. *The Journal of Parasitology* 1984;70:295-302.

Reddy YA, Rao JR, Butchaiah G, Sharma B. Random amplified polymorphic DNA for the specific detection of the bubaline *Echinococcus granulosus* by hybridization assay. *Veterinary Parasitology* 1998;79:315-323.

Sage AM, Wachira TM, Zeyhle EE, Weber EP, Njoroge E, Smith G. Evaluation of diagnostic ultrasound as a mass screening technique for the detection of hydatid cysts in the liver and lung of sheep and goats. *International Journal for Parasitology* 1998;28:349-353.

Sarıözkan S, Yalçın C. Estimating the production losses due to cystic echinococcosis in ruminants in Turkey. *Veterinary Parasitology* 2009;163:330-334.

Sarma MD, Deka DK, Borkakoty MR. Occurrence of hydatidosis and porcine cysticercosis in Guwahati city. *Journal of Veterinary Parasitology* 2002;14(2):173-174.

Saygı G. Temel Tıbbi Parazitoloji. Esnaf Ofset Matbaacılık, Sivas, 1998;158-163.

Siles-Lucas M, Felleisen R, Cuesta-Bandera C, Gottstein B, Eckert J. Comparative genetic analysis of Swiss and Spanish isolates of *Echinococcus granulosus* by southern hybridization and random amplified polymorphic DNA technique. *Applied Parasitology* 1994;35:107-117.

Siles-Lucas M, Benito Mc, Cuesta-Bandera C. *Echinococcus granulosus*: Genomic and isoenzymatic study of spanish strains isolated from different intermediate hosts. *Veterinary Parasitology* 1996;63:273-282.

Stefanik S, Shaikenov BS, Deplazes p, Dinkel A, Torgerson PR, Mathi A. Polymerase chain reaction for detection of patent infections of *Echinococcus granulosus* (“sheep strain”) in naturally infected dogs. Parasitology Research 2004;92(4):347-351.

Stites DP, Terr AI. Basic & Clinical Immunology. A Lange Medical Book. Prentice-Hall International Inc 1991;258.

Şahin İ, Ekinci N, Şen İ, Özcan M, Gödekmerdan A. Kayseri yöresi köpeklerinde *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) ve diğer parazitlerin yayılışı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 1993;17(3-4):69-76.

Şenlik B. Echinococcosisde Hayvanlarda Tanı. Editörler: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A, Echinococcosis. Hidatidoloji Derneği, İzmir, 2004. p. 295-316.

Şenlik B, Diker Aİ. Echinococ’ların Taksonomisi ve Morfolojisi. Editörler: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Echinococcosis. Hidatidoloji Derneği, İzmir, 2004. p. 13-30.

Şimşek S. Elazığ yöresi koyunlarında kist hidatiğin yayılışı ve koyun kökenli kist sıvısının antijenik özelliklerinin araştırılması. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 2003.

Şimşek S, Köroğlu E, Dumanlı E, Aktaş M, Şaki CE, Altay K, Ütük AE. Seroprevalence of cattle hydatidosis in some districts in the East Anatolian Region of Turkey. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences 2005;29:1305-1310.

Şimşek S, Balkaya I, Köroğlu E. Epidemiological survey and molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in cattle in an endemic area of eastern Turkey. Veterinary Parasitology 2010;172:347–349.

Taşan E. Elazığ kırsal yöre köpeklerinde helmintlerin yayılışı ve insan sağlığı yönünden önemi. Doğa Bilim Dergisi 1984;8(2):160-167.

Thienpont D, Rochette F, Vanparijs, OFL. Diagnosing helminthiasis by coprological examination. 2nd Ed. Belgium. Janssen Research Foundaton, 1986.

Thompson RCA. Biology and systematics of *Echinococcus*. In: Thompson, RCA, Lymberry AJ, Eds. *Echinococcus and hydatid diseases*. CAB International, Wallingford 1995. p. 1-50.

Thompson RCA, Mc Manus DP. Aetiology: Parasites and life cycles. In: Eckert J, Gemmell MA, Meslin FX, Pawlowski ZS. Eds. WHOI/OIE Manuel on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern, Paris. World organisation for animal health and World health organisation 2001. p. 1-19.

Tınar R, Coşkun ŞZ, Doğan H, Demir S, Akyol ÇV, Aydın L. Bursa yöresi köpeklerinde görülen helmint türleri ve bunların yayılışı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 1989;13(3-4):113-120.

Tınar R, Coşkun ŞZ. Hayvanlarda kist hidatik (Echinococcosis). In: Unat ve ark. Eds. İnsanlarda ve hayvanlarda kist hidatik (Echinococcosis). Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları No:10, Ege Üniversitesi Ofset Basımevi, Bornova İzmir, 1991. p. 157-196.

Tınar R. Echinococcus Türlerinin Tarihçesi. Editörler: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Echinococcosis. Hidatidoloji Derneği, İzmir, 2004. p. 1-12.

Tigin Y, Burgu A, Doğanay A. Hayvanlarda Echinococ türleri (Echinococcosis sp.). In: Unat ve ark. Eds. İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik (Echinococcosis). Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:10, Ege Üniversitesi Ofset Basımevi, Bornova-İzmir, 1991, p.129-155.

Toparlık M, Gül Y. Prevalence of hydatidosis in slaughtered animals in the local abattoir in Van, Turkey. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 1989;36(1):129-137.

Toparlık M, Tüzer E. Veteriner Helminтологи. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, 2005. p. 50-55.

Torgerson PR, Dowling PM, Abo-Shehada MN. Estimating the economic effects of cystic echinococcosis. 3. Jordan, a developing country with lower-middle income. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 2001;95:595-603.

Turčeková L, Šnábel V, D'amelio S, Busi M, Dubinský P. Morphological and genetic characterization of *Echinococcus granulosus* in the Slovak Republic. Acta Tropica 2003;85:223-229.

Umur S, Arslan MO. The prevalence of helminths in stray dogs in Kars district. Acta Parasitol Turcica 1998;22(2):188-193.

Umur S, Aslantaş O. Prevalence and economic importance of hydatidosis in ruminants slaughtered in Kars municipality slaughterhouse. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 1993;17(2):27-34.

Umur S. Prevalence and economic importance of cystic echinococcosis in slaughtered ruminants in Burdur, Turkey. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 2003;50(5):247–252

Unat EK. Ekinokok'ların ve enfeksiyonlarının tarihçesi. Editörler: Unat ve ark. İnsanlarda ve hayvanlarda kist hidatik (Echinococcosis). *Türkiye Parazitoloji Derneği, Ege Üniversitesi, İzmir*, 1991. p. 1-12.

Unat EK, Yücel A, Atlas K, Samastı M. Unat'ın Tıp Parazitolojisi (5. Baskı). Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Vakfı Yayın No: 15, İstanbul, 1995.

Üner A. İzmir ve civarında köpeklerde *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) Rudolphi üzerindeki araştırmalar. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 1989;13(3-4):103-112.

Üner A. Ekinokokların sistematigi ve biyolojisi. In: Unat ve ark. Eds. İnsanlarda ve hayvanlarda kist hidatik (Echinococcosis). *Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:10, Ege Üniversitesi Ofset Basımevi, Bornova-İzmir*, 1991. p. 13-28.

Ünlü H, Eren H. Aydın yöresi sokak köpeklerinde dışkı bakısına göre saptanan mide ve bağırsak helmintleri. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2007;31(1):46-50

Ütük AE, Şimşek S, Köroğlu E. Echinococcus cinsinin moleküler genetik karakterizasyonu. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2005;29(3):171-176.

Ütük AE. *Echinococcus granulosus*'un Doğu ve Güney Doğu Anadolu Bölgesi izolatlarının moleküler ayrımı. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Elazığ, 2008.

Wyn Jones G, Clarkson MJ. Radiologic detection of ovine hydatidosis. *Veterinary Radiology* 1984;25(4):182-186).

Xue HC, Qiu LS, Zhu CW. RFLP analysis of DNA from *Echinococcus granulosus* collected from four provinces/autonomous region in China. *Chinese Journal of Parasitology & Parasitic Diseases* 1993;11(3):201-203.

Yazar S, Taylan-Özkan A, Hökelek M, Polat E, Yılmaz H, Özbilge H, Üstün Ş, Koltaş İS, Ertek M, Şakru N, Alver O, Çetinkaya Z, Koç Z, Demirci M, Aktaş H, Parsak CK, Özerdem D, Sakman G, Taş-Cengiz Z, Özer A, Keklik K, Yemenici N, Turan M, Daştan A, Kaya E, Sönmez-Tamer G, Girginkardeşler N, Türk M, Sınırtaş M, Evcı C, Kılıçturgay S, Mutlu F, Artış T. Türkiye'de 2001-2005 yılları arasında kistik ekinokokkozis. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2008;32(3):208-220.

Yıldız K, Tunçer Ç. Kırıkkale'de sığırlarda kist hidatik'in yayılışı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2005;29(4):247-250.

Zeybek H. Samsun bölgesinde insanlarda görülen hydatique olayları ve alınması gereken koruyucu tedbirler. *Türk Hidatidoloji Dergisi* 1973;19:76-84.

Zeybek H, Tokay A. Ankara yöresinde evcil ve yabani canidaelerde *Echinococcus* türlerinin yayılışı, cyst şekillerinin ensidansı ve kontrol olanaklarının araştırılması. *Etlık Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* 1990;6(6):1-19.

Zeybek H, Tatar M, Tokay A. Parasites and their prevalence in rural dogs in the Ankara regio. *Etlık Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* 1992;7(2):17-27.

Zhang L, Gasser RB, Zhu X, McManus DP. Screening for different genotypes of *Echinococcus granulosus* within China and Argentina by single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1999;93:329-334.

Zhang W, Li J, McManus DP. Concepts in immunology and diagnosis of hydatid disease. *Clinical Microbiology Reviews* 2003;16(1):18-36.

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Balıkesir’de doğdu. İlköğretim ve lise öğrenimini İstanbul, Kıbrıs ve Edirne’de tamamladı. 2004 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi’ne girip, 2009 yılında mezun oldu. 2009 yılında Parazitoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansım boyunca her zaman her konuda konuşabildiğim, pekçok bilgisinden yararlandığım, desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen, bu süreçte oldukça emeği geçen danışmanım Yrd.Doç.Dr. Süleyman AYPAK'a

Tez çalışmam boyunca oldukça büyük emeği geçen, hem çalışmamla ilgili yardımda bulunan hem de bu süreçte bana destek olan hocam Yrd.Doç.Dr. Nuran AYSUL'a

Yüksek lisansım ve tezim boyunca yanımda olamasa da uzaklardan bana destek olan ve bir çok yardımı dokunan bitanecik nişanlım Araş.Gör. Mushap KURU'ya

Yüksek lisans eğitimim boyunca çeşitli konularda yardımları olan anabilim dalımızdaki hocalarıma,

Tezim boyunca yanımda olan desteklerini esirgemeyen kürsü arkadaşlarıma,

Her zaman yanımda olan, beni bugünlere getiren, yardımlarını hiç esirgemeyen ve her konuda destek olan canım aileme; anneme, babama, biricik kardeşime sabırlarından ve verdiği emeklerden dolayı çok ama çok teşekkür ediyorum.