

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Nermin ŞAKRU

***Echinococcus granulosus* ANTİJEN B**
POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Berrak ÇAKMAKÇI

EDİRNE-2023

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince edindiğim bilgi ve becerileri kazanmamdaki yardım ve katkıları için, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Nermin ŞAKRU'ya, Sayın Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU'na, Prof. Dr. Şaban GÜRCAN'a, Doç. Dr. Canan ERYILDIZ'a, Dr. Öğr. Üyesi İsmail DAVARCI'ya, her zaman desteklerini hissettiğim başta Uzm. Dr. Taner TARLADAÇALIŞIR, Dr. Ender ÇETİNKAYA ve Dr. Mehmet SOLAK olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma, bu günlere gelmemi sağlayan anneme, babama, çok sevdiğim biricik ablama, biricik hayat arkadaşım Aktuğ ÇAKMAKÇI'ya gönülden teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: TUBAP-2021/159.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
TARİHÇE	3
<i>ECHINOCOCCUS</i> CİNSİNİN SINIFLANDIRILMASI	4
MORFOLOJİ VE BİYOLOJİ ÖZELLİKLERİ	4
GENETİK ÇEŞİTLİLİK	6
<i>Echinococcus granulosus</i> 'un ANTİJENİK YAPISI	8
EPİDEMİYOLOJİ	10
TANI	15
TEDAVİ	24
GEREÇ VE YÖNTEM	27
BULGULAR	42
TARTIŞMA	67
SONUÇLAR	78
ÖZET	79
SUMMARY	80
KAYNAKLAR	81
EKLER	100

SİMGİ VE KISALTMALAR

BT: Bilgisayarlı Tomografi

CO1: Sitokrom C Oksidaz Subunit 1

DNA: Deoksiribonükleik Asit

mtDNA: Mitokondriyal Deoksiribonükleik Asit

rDNA: Ribozomal Deoksiribonükleik Asit

DDBJ: DNA Data Bank of Japan

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EgAgB: *Echinococcus granulosus* Antijen B

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay

H-E: Hematoksilen - Eozin

IHA: İndirekt Hemaglütinasyon

IFAT: İndirekt Floresan Antikor Test

ITS1: Internal Transcribed Spacer 1

KE: Kistik Ekinokokkozis (KE)

MALDI-TOF-MS: Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry

MRI: Manyetik Rezonans Görüntüleme

MRCP: Manyetik Rezonans Kolanjiopankreatografi

ND1: NADH Dehidrogenaz Subunit 1

dNTP: Deoksiribo Nükleozid Trifosfat

PAIR: Puncture, Aspiration, Injection, Reaspiration

PCR: Polymerase Chain Reaction / Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism / Restriksiyon Fragman Uzunluğu Polimorfizmi

12S rRNA: 12S Ribozomal Ribonükleik Asit

SSCP: Single Strand Conformation Polymorphism/ Tek Sarmal Konformasyon Polimorfizmi

TBE: Trisbase - Boric Acid - Ethylenediaminetetraacetic Acid

UV: Ultraviyole

GİRİŞ VE AMAÇ

Kistik Ekinokokkozis (KE), *Echinococcus* cinsi sestodların larva (metasestod) evrelerinin neden olduğu dünyadaki en önemli zoonotik hastalıklardan biridir (1). Erişkin parazitler, son konak köpekgillerin ince bağırsaklarında bulunmakta iken, parazitin larval (metasestod) formu ise tırnaklı hayvanlar ve insanların iç organlarına yerleşmektedir (2). Larval form ara konaklarda içi sıvı dolu uniloküler kist olarak gelişir ve kistik ekinokokkozise neden olur (1). Dünya Sağlık Örgütüne göre, endemik bölgelerde insanda hastalık insidansı >50/10.000'e ulaşabilmekte, özellikle Güney Amerika, Doğu Afrika, Orta ve Doğu Asya'nın bazı bölgelerinde prevalans %5-10 gibi yüksek seviyelerde seyredebilmektedir (3). Kistik Ekinokokkozis ülkemizde de yüksek oranda endemik ve bildirimi zorunlu C grubu bir hastalıktır (4). Ülkemizde insanlardaki insidansı $2.25 / 10^5$ ve prevalansı $60/10^5$ olarak saptanmıştır (5,6). Yapılan çalışmalarla *Echinococcus granulosus*'un G1-10 genotipleri olmak üzere on farklı genetik yapısı tanımlanmıştır (7). *Echinococcus granulosus* sensu stricto (G1 ve G3 genotipleri), dünya çapındaki küresel yükün çoğundan sorumludur (8). Türkiye'de yapılan farklı DNA tabanlı moleküler çalışmalar, insan KE'sinden sorumlu baskın tür olarak *Echinococcus granulosus* sensu stricto'yu bildirmiştir (5). Bölgemizde 2012 ve 2022 yıllarında yapılan çalışmalarda, G1 genotipinin baskın olduğu tespit edilmiştir (9,10).

Kist hidatik sıvısının iki temel antijeni; ısıya dayanıksız bir lipoprotein olan Antijen 5 ve ısıya dayanıklı bir protein olan Antijen B'dir. Bu antijenlerin kullanımı, ağırlıklı olarak bilimsel uygulamalarla sınırlıdır. Antijen B (AgB), *Echinococcus granulosus* larval evresinin en belirgin antijenik bileşenidir (11). Bu protein tipik olarak kist hidatik sıvısından saflaştırılan immünodominant antijenlerin yaklaşık %90'ını temsil eder ve hem kist germinal tabakası hem de protoskoleksler tarafından sentezlenir ve salgılanır (12).

Son yapılan moleküler çalışmalara göre, AgB en az 5 gen lokusu barındıran çoklu gen ailesi tarafından kodlanmaktadır (13). Bunlar; AgB1, AgB2, AgB3, AgB4 ve AgB5 olarak tanımlanmışlardır (13–17). Yapılan çalışmalarda; AgB1, AgB2 ve AgB4'ün parazitin diğer gelişim aşamalarına kıyasla, larva aşaması tarafından daha yüksek seviyelerde salgılandığı tespit edilmiştir. Özellikle insan kistleri incelendiğinde, en iyi tanısal performans gösteren alt birim AgB2 olarak bildirilmiştir. AgB3 geni, parazitin tüm evrelerinde eksprese edilir ve gelişimle birlikte seviyesi artar. Çeşitli ara konaklardan alınan hidatik kist numuneleri karşılaştırıldığında; EgAgB3, insan örneklerinde nispeten yüksek miktarda salgılanırken, sığır örneklerinde daha az bulunmaktadır. Sığır ve insan kistleri arasında AgB3 varlığına ilişkin gözlemlenen tutarsızlıklar, AgB genlerinin hem gelişimsel olarak düzenlendiğini, hem de konaklar arasındaki ekspresyonlarının da değişebildiğini düşündürmektedir. Agb5 alt birim ise erişkin parazit formuna özgü olup, bu sebeple hidatik sıvıda tespit edilememektedir (18,19).

Antijen B1, AgB kompleksi arasında ana bileşen olması; AgB2 ise yüksek tanısal değere sahip olması sebebiyle, polimorfizm çalışmalarında en sık kullanılan alt birimlerdir (13,20–24). Ülkemizde insan izolatlarında yapılan ilk EgAgB polimorfizm çalışması Şimşek ve ark. (25) tarafından 2012 yılında yapılmıştır. İlimizde 2022 yılında yapılan çalışmada ise; insan, sığır ve koyun izolatları kullanılmış olup; AgB1 ve AgB2 polimorfizmi incelenmiştir (10).

Bu çalışmada; insan kist hidatik materyallerinde, genotiplemenin yapılması ve farklı izolatlar içerisindeki antijenik polimorfizmin araştırılarak, genotip ile ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır. AgB1, AgB2 ve AgB4'ün, parazitin insanda bulunan larva aşaması tarafından yüksek seviyelerde salgılanması nedeniyle, bu çalışmada bu antijenlerin polimorfizmi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, oldukça ciddi ekonomik kayıplara yol açan KE hastalığının kontrol edilebilmesi hususunda bilimsel dayanak oluşturulması hedeflenmektedir.

GENEL BİLGİLER

TARİHÇE

Kistik ekinokokkoz çok eski çağlardan kalma, günümüzde de etkileri devam eden zoonotik bir enfeksiyondur. Hipokrat (MÖ 460-347) domuz ve sığırlarda hidatik kisti tespit etmiş ve insanda bulunan hidatik kisti de “su ile dolu kese” şeklinde tanımlamıştır. Aristoteles (MÖ 384-322) ise akciğer ve karaciğerde bulunan bu kesenin yıkıma sebebiyet verdiğini bildirmiştir (26). Galen (MÖ 129-200) bu kistin kesim hayvanlarında ortaya çıktığını gözlemlemiş ve ana yerleşiminin karaciğeri olduğunu vurgulamıştır (27). Hartmann (1648-1698) tarafından 1694’te köpekte parazitin erişkin şeklinin görüldüğü ilk kez bildirilmiştir (26). Batsch ise 1786’da otçul hayvanların ve insanların farklı organlarındaki bu kistler ile köpeğin bağırsağında bulunan ufak şerit türünün aynı parazitin farklı evreleri olduğunu kez tespit etmiş ve buna Hidatigena granulosa ismini vermiştir (26). Carl Asmund Rudolphi 1801 yılında hidatik kiste *Echinococcus* adını vermiştir (28).

Ülkemizde *Echinococcus*, ilk kez Osmanlı döneminde “Kist Hidatik multiloculare” olarak C.R.Katibian tarafından 1872’de bahsedilmiştir. İnsandaki ilk alveoler ekinokokkoz (AE) vakası da aynı yıl Katibian tarafından rapor edilse de 1939 yılındaki Kamile Aygün’ün bildirdiği ilk hidatik kist vakasına dek ekinokokkoz hastalığı dikkate alınmamıştır. Bu tarihten itibaren, ekinokokkoz ülkenin tüm bölgelerinden raporlanmıştır ve hastalık bildirimleri artmıştır (29). 1958 yılında Muhiddin Ülker ve meslektaşları tarafından Türk Hidatoloji Derneği kurulmuştur Nazmiye Altıntaş ve arkadaşları tarafından 1999 yılında multidisipliner bir yaklaşımla tekrardan canlandırılmıştır. Dernek kapsamında birçok bilimsel kongre düzenlenmiştir ve derneğin ana hedefi “Ekinokok Kontrol Programı” oluşturarak ülkemizdeki KE yaygınlığını azaltmaktır (29).

ECHINOCOCCUS CİNSİNİN SINIFLANDIRILMASI

Alem:	Platyhelminthes
Sınıf:	Cestoda
Alt Sınıf:	Eucestoda
Takım:	Cyclophyllidae
Aile:	Taeniidae (Ludwig, 1986)
Cins:	<i>Echinococcus</i> (Rudolphi, 1801)
Türler:	<i>Echinococcus granulosus</i> (Batsch, 1786) <i>Echinococcus multilocularis</i> (Leuckart, 1863) <i>Echinococcus oligarthus</i> (Diesing, 1863) <i>Echinococcus vogeli</i> (Raush ve Bernstein, 1972)

Echinococcus granulosus yassı, vücudu baş (skoleks) ve strobilalardan oluşan, hermafrodit sestodlardır. *Echinococcus* cinsine ait birçok tür ve alt tür tanımlanmış olsa da pek çok taksonomik gerekçelerle bu tanımlar geçersiz kılınmış, sonuç olarak görüş birliğine varılamamıştır. Günümüzde taksonomik olarak doğruluğu kabul edilen *E.granulosus*, *E.multilocularis*, *E.oligarthus* ve *E.vogeli* olmak üzere dört tür *Echinococcus* mevcuttur (30,31). Erişkin *Echinococcus* türlerinin enfekte ettiği kesin konaklar, esas olarak köpek ailesi (Canidae), daha az derecede kediler (Felidae) ve sırtlanlar (Hyaenidae) olmak üzere, yalnızca Carnivora takımının üyeleridir. Larval formları ya da bir başka bilinen ismiyle metasestod evreleri ise ara konaklar olan otçul memelilerin ve rastlantısal konak olan insanların değişik iç organlarına yerleşmektedir (32,33).

MORFOLOJİ VE BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Erişkin Form

Son konak olan köpekgillerin ince bağırsağında yaşayan *E. granulosus* erişkininin vücudu, skoleks ve halkalardan oluşmaktadır ve 2-11 mm boyunda 0,6 mm enindedir (34) (Şekil 1). Skolekste 4 çekmen ve rostellumun üzerinde uzunlukları ve sayıları türlere göre farklılık gösteren, iki sıra halinde toplamda 28-50 adet çengel vardır. Boyun bölgesinde, kopan halkaların yerine yeni halkalar tomurcuklanma yolu ile oluşmaktadır (26). Gövde kısmı çoğunlukla üç veya dört halkaya sahiptir. Halkalardan başa en yakını genç, ortadaki olgun ve en sondaki halka da gebe halkadır. Genç halkada üreme organları gelişmemiştir. Olgun halkada üreme organları gelişmiş olup boyu eninin iki katıdır. Gebe halkalarda bulunan uterusun içi

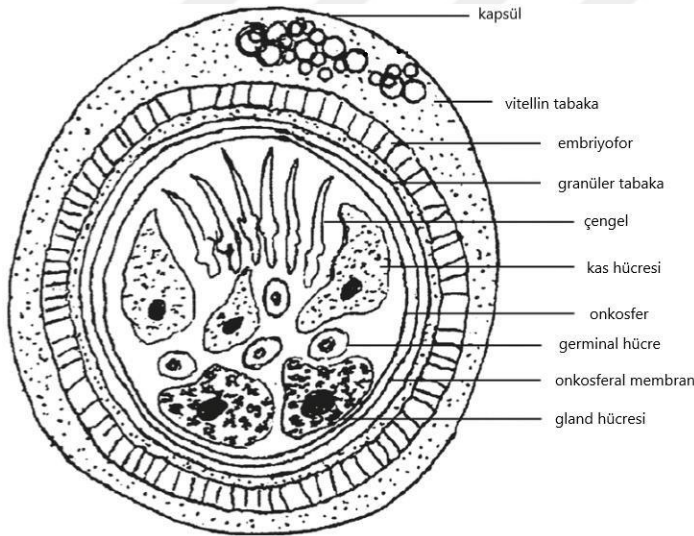
yumurta ile doludur. *Echinococcus granulosus*'un üreme döngüsü ortalama 3-4 haftadır. Yumurta üretimi türlere ve suşlara bağlı olup ortalama 28. günde başlamaktadır (35,36).



Şekil 1. *Echinococcus granulosus* erişkini (37).

Yumurta

Yumurtalar elipsoidal şekilde, 28-36 µm çapında, kahverengi, kalın çeperli olup içlerinde 6 çengelli embriyo (onkosfer) taşımaktadır (Şekil2). Bu yumurtalar *E. multilocularis* ve diğer *Taeniidae* türlerinin yumurtalarına benzemekte olup, morfolojik olarak ayırt edilemez (32). Onkosferi çevreleyen zarlardan biri olan embriyofor, embriyoyu korumak ile görevlidir. Geçirgen özelliği olmayan, keratin benzeri bir proteinden yapısındaki yumurtaya özgü ışınal çizgileri veren tabakaya embriyofor denilmektedir (38,39).

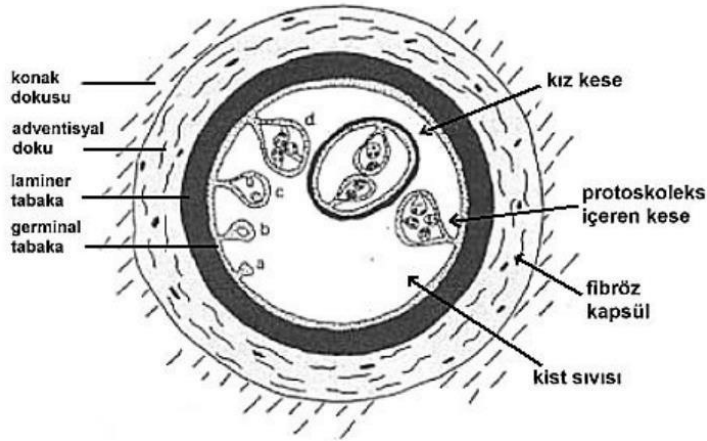


Şekil 2. *Echinococcus* spp. yumurtasının iç yapısı (40).

Metasestod (Hidatik Kist)

Ara konak *Echinococcus granulosus* yumurtalarını aldıktan sonra, bu yumurtalar ince bağırsakta açılır. Ardından embriyo serbestleşmekte ve bağırsak duvarından dolaşım ile yerleşeceği organa gitmektedir (41). Metasestod küre şeklinde, unilokuler, içi sıvı dolu kistik bir yapıdır. Kist; en içte germinal tabaka (endokist), hemen üstünde onu çevreleyen laminar

tabaka (ektokist) ve en dışta adventisiyel tabakadan (perikist) oluşmaktadır (32) (şekil 3). Protoskoleksler germinatif membranın iç duvarından gelişir (26,32). Laminer tabaka (ektokist); germinal tabakadan gelişir ve kistin etrafını sararak i basıncın oluşmasına destek olmaktadır. Bunun yanı sıra madde geçişine engel olarak kisti, konağın immun cevabından korumaktadır (26). Adventisiyel tabaka (perikist); konağa ait fibröz dokudur. Bu tabaka besinlerin geçişini ve artıkların atılımını sağlamaktadır (42,43). Protoskoleks; hidatik kistin içinde, germinatif membrandan doğan oval yapılarıdır. Erişkin şekillerin skoleksinden ayırt etmek için bu isim verilmiştir (43).



şekil 3. *Echinococcus granulosus*'un metasesod formu (44).

GENETİK EşİTLİLİK

1990'lı yıllarda nikotinamid adenin dinükleotit dehidrogenaz (NADH) subunit 1 (nad1) ve mitokondriyal sitokrom c oksidaz subunit 1 (cox1) gen dizilerinin incelenmesi, *Echinococcus* türlerinin tanımlanmasında oldukça faydalı olmuştur (45). Yapılan moleküler çalışmalar ile *E.granulosus* cinsine ait; evcil koyun suşu (G1), Tazmanya koyun suşu (G2), manda suşu (G3), at suşu (G4), sığır suşu (G5), deve suşu(G6), domuz suşu (G7), geyik suşu (G8), insan suşu (G9), Fennoscandian geyik suşu (G10) olmak üzere tanımlanan 10 suş bulunmaktadır (46).

Günümüzde *Echinococcus* türlerinin mitokondriyal gen analizi sınıflandırmada düzenlemeye neden olmuş ve *E.granulosus* türü içinde 4 değişik yapı bulunduğu tespit edilmiştir. *E. granulosus* sensu stricto olarak adlandırılan G1-G3 grubu, G4 olarak bilinen *E. equinus*, G5 *E. ortleppi*, G6-G10 *E. canadensis* olarak bildirilmiştir (47,48). *E. felidis*, Aslan suşu olarak bilinmekle birlikte, *E. granulosus*'un kardeş sınıfı olarak değerlendirilmiş; *E. shiquicus* ise, *E. multilocularis*'in kardeş türü olarak tanımlanmıştır (48).

Echinococcus granulosus sensu stricto (G1-G3)

1992'de *E.granulosus*'un mt-CO1 ve mt-NADH1 genleri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda G1, G2 ve G3 olmak üzere üç ayrı suş belirlense de güncel veriler ışığında bu suşlar *Echinococcus granulosus sensu stricto* ismiyle tek bir tür olarak adlandırılmaktadır (45). İnsanların diğer *Echinococcus* türlerinde olduğu gibi *E. granulosus sensu stricto* için de rastlantısal ara konak olduğu bildirilmektedir (49).

Echinococcus equinus (G4)

1963 yılında diğer suşlardan hem morfolojik hem biyolojik anlamda farklılıkları ortaya konularak tanımlanan bu tür, *Echinococcus granulosus*'un at suşu olarak bilinmektedir (50). *E. granulosus equinus* alttürü olarak bilinen bu suş (G4), günümüzde *E. equinus* olarak adlandırılmıştır. Bu tür Güney Afrika, Orta Doğu, Avrupa, Yeni Zelanda ve Amerika'da görülmekle birlikte kesin konağı köpeklerdir. Ara konak çeşitliliği ise dar olup, sadece tek tırnaklılar rapor edilmiştir. Atlarda metasestodlar en sık karaciğere, daha az oranda akciğer ve diğer iç organlara yerleşirken, insanlarda enfektiviteleri çok nadir bildirilmiştir (45,46,51).

Echinococcus ortleppi (G5)

1934'te Güney Afrika'da köpeklere ait izolatların tanımlanması ile bulunmuştur. İlerleyen yıllarda yapılan moleküler çalışmalarda bu parazit *E. granulosus ortleppi* olarak adlandırılmıştır (52). mt-DNA dizi analizleri ile ilgili yapılan çalışmalarda G5 suşu *E. ortleppi* adıyla farklı bir tür olarak değerlendirilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda son konak köpekler, ara konak ise sığırlar ve nadiren insan olan bu suşun larvalarının daha çok akciğere yerleştiği gözlemlenmiştir (51,52).

Echinococcus canadensis (G6-G10)

Yapılan moleküler çalışmalar, G6-G10 suşlarının farklı varyantları ve ara konakları olmasına rağmen, birbirlerinden net olarak ayıramadığını ortaya çıkarmaktadır. G6 ve G7 suşlarının mt-CO1 bölgelerinin dizi analizleri neticesinde yüksek oranda benzerlik gösterdikleri ve numunelerin spesifik genotiplere ayrıştırılamadığı, bunun sonucunda da G6/G7 suşu olarak adlandırıldığı belirtilmiştir (52). Ayrıca Arjantin'de G6 genotipi ile enfekte keçilerin izolatlarının mt-CO1 gen dizi analizlerinin hepsinde G6 genotipi, aynı suşla enfekte edilen domuzların izolatlarında ise G7 genotipi bulunmuştur. Avrupa'da domuzlar G7 suşu için ara konak olarak rapor edilmiştir (53). ABD'de geyiklerde G8 genotipi, Finlandiya ve İsviçre'deki geyiklerde ise G10 genotipi görülmüş, iki genotip birbirine benzese de ayrı suşlar olarak

tanımlanmıştır (52). Yerleştikleri konakların ve coğrafik dağılımlarının farklılıklarına bakılarak G6 ve G7 genotiplerinin farklı bir tür olarak ayrılmış ve *E.intermedius* olarak isimlendirilmiştir (54). Ancak mitokondriyal gen dizi analizlerine göre, G10 genotipi G6/7 genotipine G8'e oranla daha çok benzemektedir. Bu nedenle G8, G6/7/10 suşundan farklı bir suş olarak düşünülebilmektedir (52). Filogenetik çalışmalara göre geyik suşu (G8), Fennoscandian geyik suşu (G10), deve suşu (G6) ve domuz suşu (G7) oldukça yakın bir ilişkiye sahiptir. G9 genotipi ve bu beş genotip (G6-G10) bir grup olarak düşünülebilmektedir ve bu suşlar sınıflandırmada *E. canadensis* olarak yer almıştır (47,52).

***Echinococcus felidis* (Aslan suşu)**

Afrika'da av köpeği, aslan, çakal ve sırtlanlarda görülen bu suş için ara konak bazı vahşi çift tırnaklılardır. Kedigiller çoğunlukla *E. granulosus*'a duyarlı olmasa da yapılan bazı çalışmalarda vahşi kedilerde de bu suşa rastlanıldığı bildirilmiştir (46). İnsanda ve çiftlik hayvanlarında bildirilen bir çalışma henüz literatürde mevcut değildir. *E. granulosus* sensu stricto suşu ile mitokondriyal genomunun yüksek oranda benzemesi nedeniyle G1-G3 suşuna ait olabileceği de düşünülmektedir (52).

***Echinococcus granulosus*'un ANTİJENİK YAPISI**

E. granulosus'un değişik yaşam evrelerinde salgılanan antijenler farklılık göstermektedir. Kist sıvısı; birden çok protein ve karbonhidrat fraksiyonu içeren bir karışım olup, bileşenlerinden bir kısmı konaktan gelirken, geri kalan ürünler metasestodun metabolik aktivitesi sonucu oluşmaktadır. Bu sıvıda bulunan antijenler, insan KE'sinin immüno diyagnozu için ana kaynaktır (55). Bu amaçla en çok tercih edilen iki önemli antijen; ısıya dayanıksız bir lipoprotein olan Antijen 5 ve ısıya dayanıklı bir protein olan Antijen B'dir (11,12).

Antigen 5 (Ag5), *E. granulosus* kist sıvısının baskın antijenlerinden biridir. İndirgeyici koşullar altında 38 kDa ve 22-24 kDa olmak üzere 2 bileşene ayrılan 67 kDa'lık bir glikoproteindir (56). Ag5, protoskolekslerin tegumentlerinde, yumurtaların embriyonik zarında ve onkosferlerin yüzeyinde güçlü bir şekilde; parazitin erişkin evresinde ise zayıf bir şekilde ifade edilmektedir (57). 1960'ların sonlarında kist hidatik hastalığının bir belirteci olarak tanıtılmasından bu yana Ag5, en değerli *Echinococcus granulosus* antijenlerinden biri olarak kabul edilmiştir (58). Ouchterlony çift difüzyon testi veya immünoelektroforez gibi tekniklerde, özellikle doğrulayıcı bir tahlil olarak kullanılabilir. Bu bağlamda, Ag5'in enantijenik bileşeni olan 38 kDa alt biriminin immüno blot ile saptanması, hasta serumlarını Ag5'ekarşı test etmenin en çok tercih edilen yollarından biridir. Genel olarak, bu antijenin yüksek

duyarlılık göstermesi hakkında fikir birliği olmasına rağmen özgüllüğünün olmaması endişe konusu olarak belirtilmiştir (56,59,60). Çünkü *E. multilocularis* ve diğer helmantik enfeksiyonlardan elde edilen serumlarla yapılan çalışmalarda çapraz reaksiyonlar ortaya çıkmıştır (61,62).

Antijen B (AgB), *E. granulosus*'un larval dönemlerinde hem kistin germinal membranından hem de protoskolekslerden salgılanan önemli bir antijendir. 1971'deki ilk tanımından bu yana AgB, parazit biyolojisindeki rolü nedeniyle en çok çalışılan *E. granulosus* proteini olmuştur (11,63,64). AgB'nin, proteaz inhibisyonu, lipid bağlanması ve immünomodülasyon gibi ara konakta parazit oluşumunu ve hayatta kalmasını destekleyen birkaç konak-parazit etkileşim mekanizmasında yer aldığı tarif edilmiştir (14,65,66). Ayrıca AgB, insan enfeksiyonlarında oldukça immünojeniktir ve KH için yüksek bir tanı değeri sunar (19,55).

Hidatik kist sıvısında en bol bulunan parazitik antijenlerden biri olan EgAgB, Kistik Ekinokokkoz tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. AgB'yi kodlayan genler yüksek derecede polimorfizm gösterip, üretilen üretilen B antijenlerini değiştirebilir. Bu durumda KE tanısında kullanılan serodiagnostik testlerin geçerlilikleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), hastalığın endemik olduğu bölgelerde doğal antijen B'lerin hazırlanıp teşhis amaçlı kullanılmasını önermektedir. Ayrıca parazit protoskolekslerinin tamamını temsil eden antijenik yapıların araştırıldığı yeni ELISA yöntemlerinin geliştirilmesi gerektiğini belirtmektedir (67).

Moleküler çalışmalar, AgB'nin beş ana gen kümesi olan AgB1, AgB2, AgB3, AgB4 ve AgB5'i içeren bir gen ailesi tarafından kodlandığını göstermiştir (13–17). EgAgB kompleksinde EgAgB1 esas bileşen olup, 8 ila 16 kDa arasında 24 molekül içermektedir. Yapılan çalışmalarda AgB1 alt biriminin, analiz edilen tüm örneklerde iyi temsil edildiği gözlenmiştir. Birbirlerine %70 oranında aminoasit sekansı benzerliği gösteren ve ortak epitopları bulunan AgB2 ve AgB4 alt birimleri ise; sığır ve insan örneklerinde iyi temsil edilmektedir (68). Farklı konakçılar arasında değişken oranda bulunan AgB3 alt birimi, sığır örneklerinde AgB3 daha az salgılanırken, insan örneğinde görece yüksek oranda salgılanmaktadır. Ayrıca kist hidatikli insanlarda yapılan bir çalışmada da; AgB3'ün AgB1 ve AgB2'ye göre daha az antijenik olduğu belirlenmiştir (19). AgB5 alt birimi ise, temel olarak parazitin erişkin döneminde eksprese edilmektedir (69).

Antijen B1 alt birimler arasında yüksek oranda salgılanmakta, EgAgB2 ise yüksek tanısal değerde olup farklı ara konaklarda benzer sonuçlar göstermektedir. Bu nedenle EgAgB polimorfizmi ile ilgili yapılan çalışmalarda en sık bu iki alt birimler kullanılmaktadır (13,20–

24,70). EgAgB1 alt birimini kodlayan cDNA dizilerindeki ilk nükleotid polimorfizmleri Frosch ve ark.(70) tarafından tanımlanmıştır. Pan ve ark. ise (69) EgAgB1 alt biriminde PCR-SSCP ve DNA dizi analizi yöntemini kullanarak polimorfizm çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. EgAgB2 alt biriminde polimorfizm araştırılan çalışmaların birinde yine PCR-SSCP ve DNA dizi analizi yöntemi kullanılırken, bir diğerinde PCR-RFLP ile birlikte DNA dizi analizi uygulanmıştır (21,23).

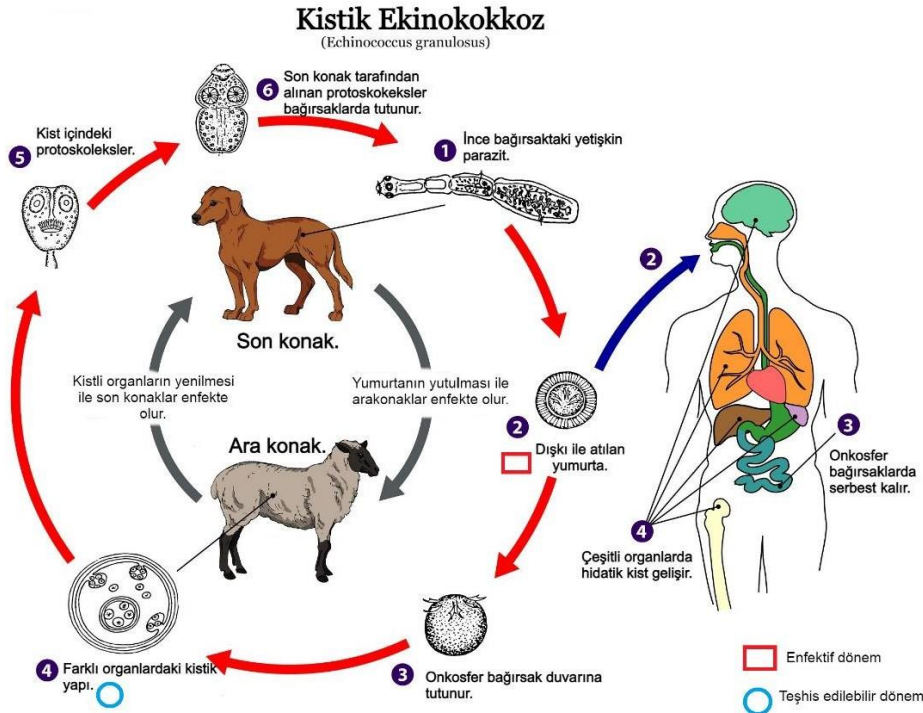
Ülkemizde yapılan bir çalışmada insan, koyun ve sığır izolatlarında EgAgB1 alt biriminde SSCP ve DNA dizi analizi yöntemi kullanılarak polimorfizm araştırılmıştır(25). Bir başka çalışmada ise koyun ve sığır izolatlarında EgAgB1 alt biriminde DNA dizi analizi yöntemi ile polimorfizm çalışması gerçekleştirilmiştir (22).

İlimizde yapılan bir çalışmada ise, insan, koyun ve sığır izolatlarında hem EgAgB1 hem de EgAgB2 alt birimlerinde SSCP ve DNA dizi analizi yöntemi kullanılarak polimorfizm araştırılmıştır (10).

EPİDEMİYOLOJİ

Yaşam Döngüsü, Patogenez ve Bulaşma Yolları

Echinococcus granulosus yaşam döngüsünü kesin konak olan etçiller ile ara konak olan otçul hayvanlar arasında sürdürmektedir. Kesin konağın bağırsağındaki erişkin *E. granulosus*'lardan oldukça fazla yumurtaya sahip gebe halkalar veya serbest yumurtalar dışkı yoluyla atılmaktadır. Ara konaklara yumurtalar sıklıkla ağız yoluyla, daha az oranda dasolunum ve deri yoluyla bulaşmaktadır. Tesadüfi konak olan insanlarda enfeksiyon; köpeklerindışkısıyla enfekte olmuş çiğ sebzeleri yemekten ve enfekte köpeklerle doğrudan temastan kaynaklanır. Yumurtalar, enfekte köpeklerin tüylerine takılır; insanların parmaklarına iletilir veyautulur. Ara konaklar tarafından alınan yumurtalar, bağırsak duvarından geçer ve kan akışı yoluyla çoğunlukla karaciğer olmak üzere farklı organlara göç ederek birkaç ay veya yıl içindekistlere dönüşürler. Zamanla bu kist genişler, protoskoleksler ve yavru kistler üretir. Tek bir kist içinde her biri seksüel olarak olgun bir erişkin sestoda dönüşme yeteneğine sahip birkaç bin protoskoleks bulunabilir. Kesin konaklar, ara konağa ait protoskoleks içeren larvaların olduğu organları yiyerek enfeksiyona yakalanmaktadırlar. Alınan protoskoleksler son konaklarda evagine olup bağırsak mukozasına tutunur ve 5-8 hafta içinde erişkin forma dönüşüp, içi dolu gebe halkaları dışkı ile atmaktadırlar (1,44,71) (Şekil 4).



Şekil 4. *Echinococcus granulosus* G1 suşunun yaşam döngüsü (72).

Dünyada Kistik Ekinokokkoz

Echinococcus granulosus dünyanın her yerinde geniş bir coğrafyaya dağılmıştır. Prevalansın en yüksek olduğu bölgeler; Afrika, Avrasya, Avustralya ve Güney Amerika'nın da dahil olduğu ılıman iklim kuşağındaki ülkelerdir. Kanada, Alaska ve İskandinav ülkelerinde ormanlık alanlar fazla olduğu için enfeksiyon sıklıkla kurtlar ve yabani memeliler arasında gelişmekte olup insan enfeksiyonları nadir görülmektedir (33).

Güney Amerika'da yılda ortalama 2000 yeni KE vakası cerrahi yöntemle tedavi edilmektedir. Yapılan çalışmalara göre, bu vakaların 464'ü Arjantin, 367'si Uruguay, 573'ü Şili ve 244'ü Peru'dan kaynaklanmaktadır. Fakat bu rakamların gerçeklerle örtüşmediği düşünülmektedir (34). Şili, KE'nin endemik olduğu yerlerden biridir. 2000 yılından sonra kontrol önlemlerinin alınması sonucunda koyun, sığır ve köpeklerde prevalans azalsa da insanlardaki insidans 2005'te $6-20/10^5$, hatta bazı bölgelerinde 162'ye kadar yükselmiştir (73).

Kuzey ve Doğu Afrika ülkelerinde özellikle koyun yetiştiriciliği yapılan bölgelerde KE açısından yüksek prevalans düzeyleri saptanmıştır. İnsanlarda yıllık insidans oranları ortalama $5-10/10^5$ olmakla birlikte, yüksek düzeyde endemik bölgelerde bildirilen maksimum oran $25/10^5$ 'tir (74). Tunus ve Libya'nın koyun yetiştirilen bölgelerinde insanlardaki prevalans %2 olarak tespit edilirken, Kenya'nın Turkana bölgesinde bu oran %7.5'tir (75).

Kuzey ve Orta Avrupa'da nadir olmasına rağmen, İzlanda, İrlanda ve Danimarka dışındaki tüm Avrupa ülkeleri CE'ye sahiptir. Akdeniz bölgesi, yıllık $4-8/10^5$ insidansla Avrupa'da KE'nin en yaygın olduğu yerdir. Sırbistan ve Karadağ'da insan enfeksiyonlarına ilişkin yeterli veri bulunmamakla birlikte, hayvanlardaki sıklığı %4,6-57,6 aralığındadır. Orta Yunanistan'da yapılan bir araştırma, koyunlarda görülme sıklığının 2006'da %39,3'e yükseldiğini, 2007'de yapılan bir başka çalışma ise insanlarda görülen insidansın $0,122/10^5$ olduğu belirledi. Tüm ülke için genel bir istatistik olmamasına rağmen, her yıl 800 KE vakasının teşhis edildiği ve bunların 300 ila 400'ünün cerrahi müdahale gerektirdiği düşünülmektedir (73).

Çin'in batısındaki Qinghai Eyaletinde ekinokokkoz üzerine yapılan epidemiyolojik bir araştırmada sırasıyla %8,0 (124/1,549) morbidite ve %25,8 (287/1,113) seroprevalans tespit edildi (76). Suudi Arabistan'da yapılan bir çalışmada ise deve, sığır, keçi ve koyunlarda %6.6 - %32.9 oranlarında pozitiflikler saptandığı belirtildi (77).

Yapılan çalışmalara göre KE prevalansının yaşla birlikte arttığı ve kadınlarda daha yüksek olduğu bilinmektedir. Bunun olası bir açıklaması olarak, kadınların yemek pişirmeyi, hayvanları beslemeyi ve köpeklerle yakınlaşmayı içeren işleri daha çok sevmesidir (78).

Kistik Ekinokokkozis'in Dünyadaki Moleküler Epidemiyolojisi

İnsanlarda en yüksek kist hidatik prevalansı koyun yetiştiriciliği yapılan toplumlarda bulunmaktadır. Bu nedenle köpek-koyun döngüsü ve *E. granulosus*'un koyun suşu halk sağlığı açısından oldukça önemlidir (2,4,5). Koyunlardan izole edilen G1 genotipi, dünya çapında insan ekinokokkozuna en çok neden olan ve insanlarda en yaygın görülen genotiptir (79,80).

Arjantin'de yapılan araştırmalarda, insanlarda yaygın koyun suşu (G1), Tazmanya koyun suşu (G2), deve suşunun (G6) varlığı tespit edilmiştir (81,82). Nepal'de hayvanlarda *E. granulosus*'un koyun (G1), sığır (G5) ve deve (G6) suşları belirlenmiştir, incelenen iki insan izolatında ise deve suşu (G6) rapor edilmiştir (83).

Avustralya'da yapılan detaylı moleküler çalışmalar sonucu yaygın koyun suşunun (G1) baskın olduğu belirtilmiştir (84,85).

Kenya'da oldukça yüksek prevalansta koyun (G1) ve deve (G6) suşlarının varlığı gösterilmiştir (86). Libya'da mt-CO1 gen bölgesinin dizi analizi yapılmış; 10 koyun, 5 deve, 12 sığır ve 3 insana ait toplam 30 izolatın hepsinin yaygın koyun suşu (G1) olduğu bildirilmiştir (87).

Güney Yunanistan'da, koyun ve keçiler üzerinde yapılan bir genotipleme ve prevalans araştırması, koyunların G1 (koyun suşu), G3 (manda suşu) ve G7 ile (domuz suşu) enfekte

olduklarını bildirmiştir. İspanya’da G1, G4 ve G7 en yaygın genotipler olarak rapor edilmiştir (73).

Yapılan moleküler analizler sonucu Çin’in kuzeybatısında *Echinococcus granulosus*’un en baskın suşunun yaygın koyun suşu (G1) olduğu bildirilmiştir (88,89). İran’da yapılan kapsamlı moleküler bir çalışmada ise izolatların tümünde yaygın koyun suşu (G1) belirlenmiştir (90).

Kistik Ekinokkozisin Türkiye’deki Yaygınlığı

Hayvancılıkla uğraşan diğer ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de KE önemli bir halk sağlığı problemidir. Ülkemizde Sağlık Bakanlığı’ndan elde edilen veriler enfeksiyonun gerçek prevalansını tam olarak yansıtmamaktadır. Bu verilere göre; 1861-1922, 1923-1972, 1975-1994 tarihleri arasında sırasıyla: 39, 2.086 ve 40.242 olgu bildirilmiştir. Ancak ülkemizde çok sayıda araştırmacı tarafından yapılan çalışmalar, enfeksiyonun yaygınlığına ilişkin daha gerçekçi bilgiler sağlamaktadır (26,91).

Yapılan bir çalışmada, 2001-2005 tarihleri arasında Türkiye’nin yedi bölgesinde farklı hastaneler, il Sağlık Müdürlükleri ve Sağlık Bakanlığından alınan verilere göre ameliyatla kanıtlanmış 14789 KE vakası tespit edilmiştir. İç Anadolu Bölgesi’nde en yüksek oran (%38,57) saptanırken, Ege, Akdeniz, Marmara, Doğu Anadolu, Karadeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde bu oranlar sırasıyla: %16,94, %16,09, %13,13, %6,8, %5,7 ve %2,75 olarak bulunmuştur (92). 1991 yılında Türkiye’de KE yaygınlığını belirlemeye yönelik yapılan bir çalışmada, 10⁵’de 585 seropozitiflik saptandığı bildirilmiştir (93).

İzmir ve çevresinde yapılan sero-epidemiolojik çalışma sonuçlarına göre seropozitiflik oranı %3,45 olarak bulunmuştur (34,94). Ege bölgesinde yılda ortalama; Manisa’da 1995-2000, Aydın’da 1986-1995 ve İzmir’de 1997-2001 yılları arasındaki olgu sayısı sırasıyla 21,11 ve 210 bildirilmiştir. Olguların büyük çoğunluğunda kistler karaciğer yerleşimli olup, kadınların enfeksiyona daha sık rastlandığı tespit edilmiştir (95,96). Marmara bölgesinde Edirne, Kırklareli ve Tekirdağ illerinde 1991’de insanlarda Casoni yöntemi ile % 9.2, IHA testi ile %12 seropozitiflik bildirmiştir (97). Elazığ, Şanlıurfa ve Malatya’da yapılan çalışmalarda yılda ortalama sırasıyla 15, 38 ve 40 olgu saptandığı ve bu olgulardaki en sık yerleşim yerinin karaciğer olduğu bildirilmiştir. Ayrıca kadınlarda enfeksiyona daha sık rastlandığı da tespit edilmiştir (98–100). Kars’ta 511 insan serumunun IHAT ve IFAT ile incelendiği araştırmada, %34.6 oranında sero-pozitiflik saptanmıştır (101). Sivas’ta 1996-2001 yılları arasında 117 olgu bildirilmiştir (102). Sağlık Bakanlığı kayıtlarına bakıldığında 1996-2000 yılları arasında Adana

ve Mersin’de KE tanısı alan olguların sayısının sırasıyla 1073 ve 289 olduğu görülmektedir (103).

Kistik Ekinokokkozis’in Türkiye’deki Moleküler Epidemiyolojisi

E. granulosus’un etkeni olduğu kist hidatik hastalığı ülkemizde de endemiktir (104,105). Moleküler çalışmalar Türkiye’deki insanlarda ve hayvanlarda *E. granulosus* sensu stricto’nun (G1-G3) baskın ve en yaygın suş olduğu göstermektedir (9,104,105). Ülkemizde şimdiye kadar yapılan çalışmalarda G1, G2, G3, G4, G5, G6 ve G7 genotipleri tespit edilmiştir (10,106–108).

2008 yılında Diyarbakır, Erzurum, Elazığ ve Malatya’dan elde edilen 208 izolatın yer aldığı bir çalışmada, ribozomal ITS-1 gen bölgesi PCR-RFLP analizi ile incelenmiş, ardından yapılan mt-CO1 sekans analizi ile sadece yaygın koyun suşu (G1) bulunduğu bildirilmiştir (105). Aynı araştırmacılar tarafından yapılan başka bir çalışmada ise; bir dağ keçisinin akciğerinde tespit edilen hidatik kist materyalinde PCR uygulanarak mt-CO1 gen bölgesi dizilenmiş, yaygın koyun suşu (G1) olduğu bulunmuştur (109). Erzurum’da yapılan bir başka çalışmada 220 sığıra ait hidatik kist materyalinin 12S rRNA gen bölgesi PCR ile çoğaltmış, ardından örneklerin mt-CO1 bölgesine dizi analizi uygulanmıştır. 12S rRNA gen bölgesi analizine göre 147 örnek G1-G3 complex (*E. granulosus* sensu stricto) olarak bulunmuştur. DNA sekans analizi sonucu kalan 73 örneğin 7’sinde G3 suşu belirlemişlerdir (110). Şimşek ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise; Erzurum ve Elazığ illerinden elde edilen 31 koyun ve 23 sığır hidatik kist materyaline; 12S rRNA geni ile PCR ve mitokondriyal CO1 geni ile PCR-SSCP analizi uygulanmış, izolatların tümü her iki çalışma sonucunda, G1–G3 kompleksi (*E. granulosus* sensu stricto) olarak tanımlanmıştır. Bu çalışma Türkiye’de SSCP ile *E. granulosus* izolatlarının genotiplendirilmesine ilişkin yapılan ilk çalışmadır (107). 2011 yılında, aynı araştırmacılar KE olduğu histolojik olarak teyit edilmiş 70 hastaya ait örneklerden DNA izolasyonu yapıp, 12S rRNA gen bölgesini PCR ile çoğaltmış, 26’sında *E. granulosus* sensu stricto (G1-G3) belirlemişlerdir. Kalan 44 örneğin mt-CO1 gen bölgesinin DNA dizi analizi ile genotiplendirme yapmışlardır ve bir örnekte G3 ve iki örnekte de G6 suşunu belirlemişlerdir (106). 2009 yılında ise, Türkiye’de ilk kez bir yaban koyununa ait hidatik kist materyali mt-CO1 sekans analizi ile incelenmiş ve koyun suşu (G1) olduğu saptanmıştır (111). Kilis’te 19 koyundan elde edilen 28 hidatik kist izolatının hepsi *E. granulosus* sensu stricto (G1-G3) olarak belirlenmiştir (112). Elazığ’da yapılan bir çalışmada bir katırın karaciğerindeki hidatik kist materyali moleküler çalışmalar ile G4 suşu olarak tanımlanmış, bu çalışma ile Türkiye’de katırlarda ilk kez G4 bildirilmiştir (108).

2009 yılında İzmir ve Manisa illerinden elde edilen 12 koyun ve 10 insan izolatında mt-CO1, atp6, nad1,rrnS sekans analizleri yapılmış ve Türkiye’de ilk kez domuz suşu (G7) saptanmıştır (113). Manisa ilinde 2010-2012 yılları arası toplanan toplam 18 sığır izolatının hepsinin *E. granulosus* sensu stricto (G1-G3) olduğu tespit edilmiştir (114).

Kırıkkale’de 24 koyuna ait hidatik kist örnekleri RAPD-PCR ile incelenmiş ve hepsi G1 suşu olarak belirlenmiştir. Yine Kırıkkale’de 20 sığır hidatik kist örneğine mt-CO1 dizi analizi yapılmış, tüm izolatlar *E. granulosus* sensu stricto (G1-G3) olarak bulunmuştur (115). 2008 yılında mt-CO1 sekans analizi ile incelenen 100 koyun ve 12 sığır izolatında, 98 koyun ile 9 sığır izolatının G1, 2 koyun ve 3 sığır izolatının da G3 olduğu tespit edilmiştir (116). 2009 yılında yapılan bir çalışmada protosklokslerde *E. granulosus* actin genleri analiz edilmiş ve EgactI geninin EgactII geninden daha polimorfik olduğu belirlenerek EgactI geninin üç alleli tanımlanmıştır. Bütün örneklerde parsiyal EgactI geninin 6. pozisyonunda nükleotid değişikliği tespit edilmiş ve bu Anadolu haplotipi olarak adlandırılmıştır (117).

Karadeniz bölgesinde mandalarda KE’nin moleküler karakterizasyonunu belirlemek amacıyla yapılan çalışmada 9 manda izolatı incelenmiş ve bu izolatların 6’sında yaygın koyun suşu (G1), diğer 3 izolatta ise *E. granulosus* sensu stricto (G1-G3) belirlenmiştir (118).

İstanbul’da hidatik kistli 46 insan izolatında genotipik karakterizasyon amacıyla mt-CO1 gen bölgesinin dizi analizi yapılmış ve tüm izolatlarda yaygın koyun suşu (G1) tespit edilmiştir (118).

Trakya bölgesinde PCR-RFLP ve PCR-SSCP metotları kullanılarak 42 insan, 13 sığır ve 3 koyun izolatında yapılan bir çalışmada ITS-1 ve NAD1 gen bölgelerinin dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda koyun ve sığır izolatlarının hepsinde yaygın koyun suşu (G1), insan izolatlarında ise G1 ve G7 suşları belirlenmiştir. Bu çalışma ile bölgedeki ilk G7 suş bildirimi gerçekleştirilmiştir (9). 2022 yılında yapılan bir başka çalışmada ise; insan, koyun ve sığır izolatlarında DNA dizi analizi yöntemi kullanılarak yapılan genotipleme sonucu Türkiye’deki ilk G2 genotipi tespit edilmiştir (10).

TANI

İnsanlarda hidatik kistlerin tanısında epidemiyolojik veriler ve klinik bulgular yardımcı olmakla birlikte, tanı için görüntüleme yöntemleri, serolojik ve moleküler teknikler kullanılır. Eğer kist akciğere, safra ve idrar yollarına veya bağırsaklara açılıyorsa ameliyatla elde edilen materyaller histopatolojik veya mikroskopik olarak incelenip; zarlar, protoskoleksler ve kız veziküller gösterilerek doğrudan tanı konulabilir (119).

Klinik Tanı

Kistik ekinokokkoziste klinik belirtiler kistin yerleştiği organa, büyüklüğüne ve hastanın bağışık direncine bağlı olarak değişebilmektedir. Etkenin alınması ile klinik belirtilerin ortaya çıkması arasındaki süre birkaç yılı bulabilir. Kistlerin ortalama %60'ı karaciğer, %25'i akciğer yerleşimlidir. Hastaların %20'sinde multipl tutulum gözlenmektedir. Kistler spontan veya travmaya bağlı rüptüre olup hastada; ateş, kaşıntı, ürtiker, anafilaktik şok ve ölüme neden olabilmektedir. Bakterilerin kiste girmesi ile kiste piyogenik apse gelişebilir (120).

İntraabdominal yerleşimli kistlerde bası etkisine bağlı olarak kronik ağrılar, kolestaz, bilier siroz, portal hipertansiyon gibi bulgular gözlemlenirken; akciğerde oluşan kistlerde hastalar; öksürük, balgam çıkartma, göğüs ağrısı, solunum zorluğu, hemoptizi ile doktora başvurmaktadırlar (1,121). Serebral kistler, artmış kafa içi basıncı ve fokal epilepsi kliniği oluşturabilir. Renal kistler bel ağrısı veya hematüri gibi nonspesifik bulgularla kendini gösterebilir. Kemik kistleri patolojik kırıklar meydana gelinceye kadar genellikle semptom vermezler (122,123). Hiçbir klinik bulgu tek başına tanı koymak için yeterli değildir. Bu nedenle farklı tanı yöntemleri birlikte değerlendirilmelidir (44).

Türkiye'de en sık yerleşim yeri karaciğer (%47,6-79.8) olmakla birlikte, ikinci sırada akciğer (%9.0-45,2) bulunmaktadır (9,124-126).

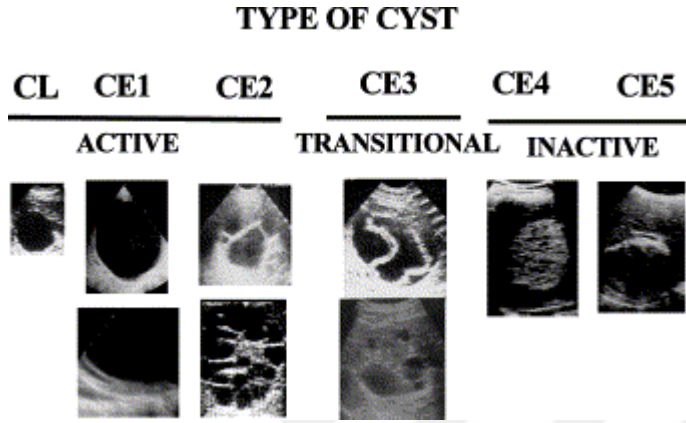
Görüntüleme Yöntemleri

Kistik ekinokokkozisin tanısı amacıyla kullanılan görüntüleme yöntemleri ultrasonografi (USG), bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ve daha az yaygın olarak radyografi ve ürogravidir. Görüntüleme bulguları ilgili organa, konak reaksiyonuna ve kistin gelişim aşamasına bağlıdır. Bulgular saf kistik lezyonlardan katı görünümlü kitlelere kadar değişebilir. Kistler soliter veya çoklu, uniloküler veya multiveziküler ve kalsifikasyonlu veya kalsifikasyonsuz olabilir. Kist içinde kız vezikül ve zarların varlığı, periferik kist duvarı veya internal matriks kalsifikasyonu KE ayırıcı tanısında önemli bulgulardır (127).

Direkt grafi: Başta akciğerler hidatik kistlerinin tanısı için uygundur. Kist intakt (rüptür olmamış) ise yuvarlak veya oval, düzgün sınırlı ve homojen dansite şeklinde görülür (128).

Ultrasonografi (USG): Kolay uygulanabilirliği, maliyet etkin olması ve radyasyon yan etkisinin olmaması nedeniyle tercih edilen bir tarama ve tanı yöntemidir. Tedavinin etkinliğini izlemek için de kullanılabilir. Kistin içindeki hidatik kumu, dalgalanan membranları ve kız

vezikülleri açıkça gösterir (128). Başta karaciğer için kullanılmakla birlikte periferik yerleşen akciğer kistleri ve diğer bölgelerdeki kistler için de kullanılabilir. Taşınabilir cihazlar ile saha taramaları da yapılmaktadır (129). 2003 yılında Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) ekinokokoz çalışma grubu (IWGE), ultrason yorumunun standart olması için kistleri başlıca 6 tipe ayırmıştır. CL (kistik lezyon), CE1 ve CE2 tipleri aktif formu, CE3 ara formu, CE4 ve CE5 inaktif formdaki kisti tanımlamaktadır (Şekil 5) (130).



Şekil 5. CE'nin doğal seyrini takip eden aktif, ara ve inaktif formdaki kist tipleri (130).

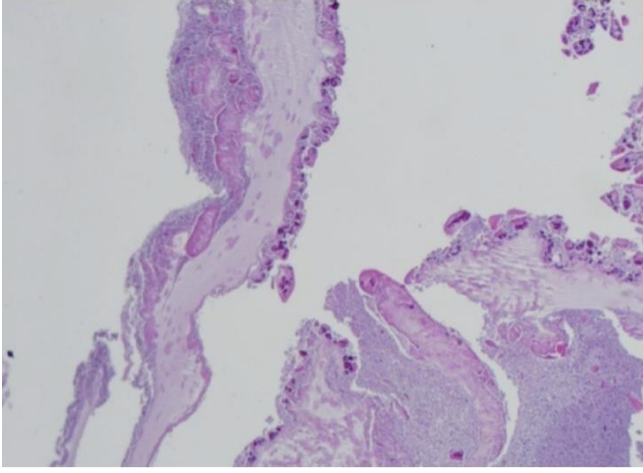
Bilgisayarlı Tomografi (BT): BT, kist duvarı veya septal kalsifikasyonun saptanmasında, kalsifikasyon sonrası internal kistik yapının gösterilmesinde, komplikasyonların değerlendirilmesinde, kemik lezyonlarının gösterilmesinde ve USG'nin kısıtlı olduğu durumlarda (obezite, aşırı barsak gazları, karın duvarı deformiteleri ve geçirilmiş cerrahi) önemli bir tanı yöntemidir. KE için yüksek duyarlılığa ve özgüllüğe sahiptir (131).

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG): Yumuşak dokudaki kistlerin tanısında çok iyi sonuç verdiği ancak kalsifikasyonlar için uygun olmadığı bildirilmiştir. kist duvarı defekti ve biliyer sızıntıyı göstermek için üstündür (131). Son zamanlarda, MRG'nin difüzyon ağırlıklı sekans kullanarak karaciğer hidatik kistlerini diğer basit kistlerden ayırt etmede önemli olduğu gösterilmiştir (132).

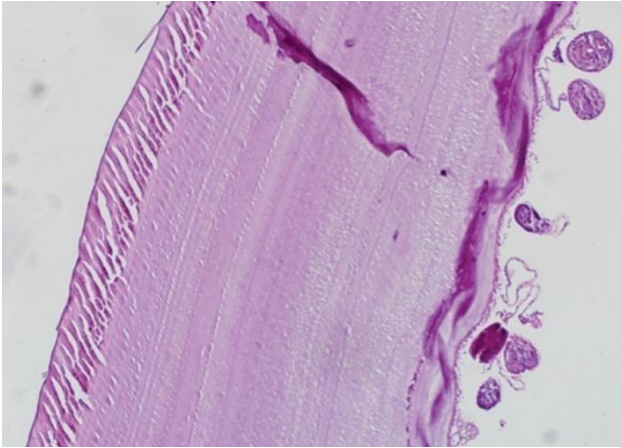
Patolojik Tanı

Patoloji laboratuvarına gönderilen örnekler makroskopik ve mikroskopik açıdan incelenir. Makroskopik olarak; kistler membranöz yapıda ve gri-beyaz renkte olup bütünlüğü bozulmamış vakalarda kistlerin içinde berrak bir sıvı bulunur. Mikroskopik olarak yapılan

incelemelerde ise Hematoksilen - Eozin Boyama (H-E) ve Periyodik Asit Schiff (PAS) ile boyanmış preparatlar incelenir. Bu preparatlarda içte çimlenme zarı, laminar tabaka ve en dışta fibröz dokudan oluşan psödokapsül ile iltihabi granülasyon dokusu gözlenir (Şekil 6). Bazı vakalarda lümen içerisinde protoskoleksler izlenebilmesine karşın kistin evresine veya az sayıda örneklem yapılmasına bağlı olarak her zaman görülmeyebilir (Şekil 7) (133). Patolojik tanı laminar tabaka ve parazite ait protoskoleks gibi elemanların görülmesi ile konmaktadır. İnceleme esnasında komşu dokularda nekroz, yabancı cisim reaksiyonu, eozinofil ve lökosit infiltrasyonunun bulunması da mümkündür (134).



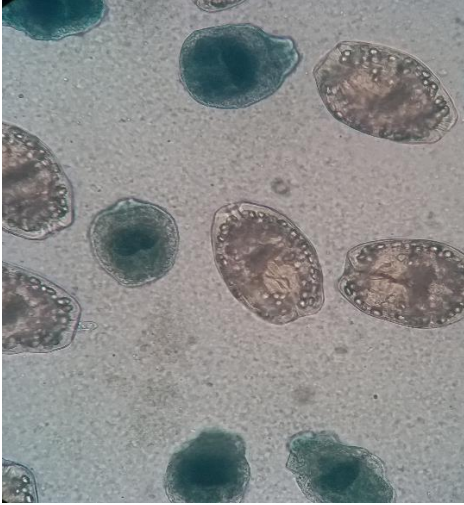
Şekil 6. Kist hidatiğin asellüler lamellöz membranı ve çevre dokuda nekroz ile iltihabi granülasyon dokusu (H&E, 40x) (133).



Şekil 7. Lamellöz membran ve ilişkili protoskoleksler (H&E, 100x) (133).

Kist Materyalinin Mikroskopik İncelenmesi

Manyetik rezonans spektroskopisi, cerrahi operasyon veya perkutanöz olarak alınan kist sıvısında protoskoleks ve çengellerin aranmasıdır. Protoskolekslerin çeşitli boyalarla mikroskopik olarak incelenmesi parazitin yapısı ve canlılığı hakkında bilgi verir (30). Bazen balgamda veya bronkoalveolar lavaj örneklerinde protoskoleksler saptanabilmekte, Ehrlich Ziehl Neelsen (EZN) boyama yapılarak aside dirençli çengeller görülebilmektedir (80). Ponksiyon aspirasyon injeksiyon reaspirasyon (PAIR) sırasında uygulanan skolosidal ajanın etkinliğini belirlemek amacıyla; metilen mavisi, eozin gibi boyalar ile kist aspirasyon materyalinde canlılık testi yapılmaktadır. Protoskoleksler canlılıklarını kaybettiklerinde boyayı hücre duvarlarından geçirerek mavi boyanırlar. Canlı protoskoleksler ise boyayı içerlerine geçirmezler. Canlılığını kaybetmiş protoskolekslerin oranı skolosidal ajanın etkinliğinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (135) (Şekil 8).



Şekil 8. *Echinococcus granulosus* protoskolekslerinin canlılık boyaları ile boyanma görüntüleri: Cansız protoskoleksler (mavi boyalı), canlı protoskoleksler (boyanmamış) 40x, metilen mavisi (orijinal).

Serolojik Tanı

Günümüzde, KE tanısında radyolojik yöntemler tercih edilmekle beraber; kistlerin tümör, apse, basit kist gibi diğer yer kaplayan olgularla ayırıcı tanısının yapılabilmesi ve operasyon sonrası nükslerin daha sağlıklı değerlendirilebilmesi için, serolojik tanı yöntemlerinden yararlanılmaktadır (136–138). Serolojik testlerde kullanılan antijen kaynakları

sıklıkla kist sıvısı, protoskoleks ve kist membranından elde edilip, karmaşık yapıda birçok antijenik bileşim içermektedir (139). Bu sebeple *Echinococcus* türleri için spesifik değildir. En çok tercih edilen hidatik kist sıvısı antijenleri; Antijen 5 ve Antijen B lipoproteinleridir (140). Kistlerin yapısı, lokalizasyonu, canlılığı, büyüklüğü, sayısı, kişinin bağışıklık aktivitesi, kullanılan antijenin cinsi gibi birçok faktör serolojik testlerin duyarlılık ve özgüllüğünü değiştirebilmektedir. Birden fazla serolojik yöntem birlikte kullanıldığında duyarlılık yükseltmektedir (119).

İndirekt hemaglutinasyon testi (IHA): Bu testte kullanılan eritrositler tannik asitler vasıtasıyla antijene karşı duyarlılaştırılır. Antijenle kaplı eritrositler, hasta serumunda bulunan özgül antikorlarla karşılaşınca aglutinasyon meydana gelmektedir. Testin duyarlılığı kullanılan antijenin cinsine ve hazırlanış şekline bağlı olarak değişiklik göstermektedir (141,142).

İndirekt floresans antikor testi (IFAT): Floresan bileşikler ile işaretli antikorlar ve serumda bu antikorlara karşı gelişen spesifik antijenlerin birbirlerine bağlanarak floresans mikroskop altında görülebilir hale gelmeleri esasına dayanan bir yöntemdir. Bu yöntemde antijen olarak germinatif membran kesiti ve protoskoleks kullanılmaktadır. Sınır değerlerin diğer yöntemlerle doğrulanması gerekmektedir (143). IFAT ile duyarlılığın ve özgüllüğün %90 olduğu bildirilmiştir (144).

Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA): Antijen kaplı elisa plaklarına bağlanan spesifik antikorlar üzerine enzim işaretli immunoglobulinlerin bağlanması ve enzimin substrat ile renk vermesi temeline dayanmaktadır. Yüksek duyarlılık göstermesi, kesin kantitatif sonuca imkan vermesi ve kısa sürede fazla sayıda örneğin işlenebilmesi açısından KEtanısında; rutin kullanıma uygun, duyarlı, özgül ve ekonomik bir yöntemidir (145).

Western blot (immunoblotting) yöntemi: Bir membran üzerine sabitleştirilmiş proteinleri tanımlamak ve daha sonra bu proteinlerin immunolojik yöntemlerle görüntülenmesini sağlamak amacıyla kullanılmaktadır (146). Diğer serolojik yöntemler ile birlikte kullanılması durumunda duyarlılığın %100'e yükseldiği tespit edilmiştir (147).

Moleküler Tanı

Parazit genomunu doğrudan inceleyen DNA temelli yöntemler; çevresel faktörlerden veya yaşam evrelerinden etkilenmemeleri sebebiyle tür ve genotip identifikasyonunda son

derece kullanışlıdır. Genetik varyasyon, mitokondriyal veya nükleer genomda araştırılabilir. Mitokondriyal DNA (mtDNA), evrim hızı daha fazla olduğu için yakından ilişkili organizmaları ayırt etmede kullanılabilir. Ayrıca mtDNA'nın rekombinasyon özelliğinin olmaması değerlendirmeyi kolaylaştırır. Ribozomal DNA (rDNA) tekrar birimi, çeşitli hızlarda gelişen farklı bölgelere sahip olmakla birlikte taksonomik varyasyon ve filogeni çalışmalarında yaygın olarak kullanılmıştır (148).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR): Polimeraz zincir reaksiyonu, “Polymerase Chain Reaction”(PCR) tekniğın prensibi, izole edilen genetik materyallerin, spesifik oligonükleotid primerler, deoksiribonükleotit trifosfat (dNTP) ve ısıya dayanıklı polimeraz enzimleri (Taq) yardımıyla çoğaltılmasıdır. Reaksiyon başlıca denaturasyon, primerlerin bağlanması (annealing) ve amplifikasyon (extension) olmak üzere üç aşamada gerçekleşmektedir. Amplifikasyon aşamasının, 25-30 kez tekrarlanması ile, hedef DNA'nın milyonlarca kopyası oluşmaktadır. Reaksiyon sonunda elde edilen ürünler, agaroz jel veya poliakrilamid jel elektroforezi ile ayrıştırılıp, ethidium bromide ile boyanarak görünür hale getirilmektedir. Dinkel ve arkadaşları, Echinococcus'te çoğunlukla tanı amacıyla kullanılan bu yöntemi tiplendirme yapmak için kullanmışlardır (149). Yaptıkları çalışmada 12S rRNA geni kullanılarak yapılan PCR yöntemiyle, *E. granulosus*'un G1, G5 ve G6/G7 suş ayırımını gerçekleştirmişlerdir (150).

Restriksiyon fragman uzunluğu polimorfizmi (RFLP): Restriksiyon endonükleazlar (RE), DNA'da spesifik bölgelerden kesim yaparak, DNA'dan bir genin veya gen taşıyan segmentin çıkarılmasını sağlayan enzimlerdir (151). DNA, bu enzimler ile kesildikten sonra agaroz jel elektroforezinde yürütölüp ethidium bromid ile boyanır. Jelde oluşan DNA bandlarının yeri ve sayısı kıyaslanarak elde edilen çeşitliliğe RFLP adı verilmektedir (152).

Polimeraz zincir reaksiyonu - Restriksiyon fragman uzunluğu polimorfizmi (PCR-RFLP): Klasik RFLP'den farklı olarak; genomik DNA'nın belirli bir bölgesi, o bölgeye özgü oligonükleotid primerler aracılığıyla çoğaltılmaktadır. Elde edilen ürünler bir ya da daha fazla sayıda restriksiyon enzimi ile kesilip, agaroz jel elektroforezde yürütölümekte, ethidium bromide ile boyanarak ultraviole ışık altında görüntülenmektedir. PCR-RFLP, *Echinococcus* izolatlarının suş ve türlerinin ayırımında kullanılan oldukça basit, duyarlı ve hızlı bir yöntemdir (153,154).

Random amplified polymorphic DNA - Polimeraz zincir reaksiyonu (RAPD-PCR):

Genomik DNA'nın G-C bakımından zengin 9-10 bazlık kısa primerler ile çoğaltılması prensibine dayanan bu teknikte primerlerin bağlanma ısısı 40-50°C'ye düşürülmüştür. Bu derecede gerçekleştirilen bağlanma aşamasında, primerler kromozom üzerinde hem kendilerine özgü olan hem de özgü olmayan bölgelere bağlanmaktadır. Agaroz jelde saptanabilen farklı sayı ve uzunluktaki bantlar değerlendirilerek aynı bant profili sergileyen izolatlar "epidemiolojik olarak ilişkili" şeklinde yorumlanmaktadır. Bu yöntem, *Echinococcus* türlerinin tiplendirilmesinde uygun olmakla birlikte diğer moleküler tekniklerle doğrulanmalıdır (155–158).

Polimeraz zincir reaksiyonu - Tek sarmal konformasyon polimorfizmi (PCR-SSCP): Polimeraz zincir reaksiyonu - tek sarmal konformasyon polimorfizmi, "polymerase chain reaction - single stranded conformation polymorphism" (PCR-SSCP); sekans farklılığı gösteren tek sarmal yapısındaki genomik DNA'nın tanımlanmasında kullanılır. Tekniğin prensibi tek iplikli DNA'nın şekil ve büyüklüğüne bağlı olarak, nötral poliakramid jel içerisindeki elektroforetik hareketin incelenmesidir. Çift iplikli DNA'nın jeldeki hareketi nükleotid farklılıklarından fazla etkilenmezken, tek iplikçikli DNA'nın hareketi yüzlerce nükleotid içerisindeki tek bir nükleotid farklılığından dahi etkilenir. Tek iplikçikli DNA, jeldeki elektroforetik göçü esnasında, nükleotidler arası baz çiftleşmesi sonucu sekonder ve tersiyer yapılar kazanmaktadır. Bu yapılar; DNA ipliğinin uzunluğuna, baz çiftleşmelerinin sayısına ve yerine bağlıdır. Nötral poliakrilamid jel elektroforezinde DNA'nın yapısındaki tek baz farklılığında dahi farklı örnekler farklı bant paternleri sergilerler (159–161). SSCP analizinin duyarlılığı; DNA konsantrasyonu, fragmentlerin uzunluğu, elektroforez ısısı, jel bileşimi, tampon solüsyonu ve pH gibi oldukça çeşitli değişkenlerden etkilenebilir. Bu teknik sayesinde çok sayıda PCR örneği eş zamanlı olarak değerlendirilebilmektedir. Ayrıca incelenen genlerde yeterli polimorfizmin olup olmadığı, polimorfizmin çok olduğu gen bölgeleri, çok kopyalı genlerde polimorfizm olup olmadığı tespit edilebilmekte ve intraspesifik varyasyonları belirlenebilmektedir (162–164). Yapılan çalışmalarda; *E.granulosus*'un farklı suşlarının SSCP profillerine göre DNA dizi analizinden önce tanınabileceği gözlemlenmiştir (165).

Dideoxy fingerprinting: Nükleik asitlerin jel elektroforezi boyunca kazandığı fiziksel özellikleri inceler ve PCR ile çoğaltılan DNA bölümlerindeki tek baz ve diğer dizi değişikliklerinin varlığını tespit edebilir. Bu yöntemle dizi uzunluğu 150-250 bp olan genlerdeki tek bir mutasyon bile belirlenebilmektedir (166).

DNA dizi analizi (DNA sequencing): DNA dizi analizi, herhangi bir DNA fragmanında bulunan bazların (A, G, T, C) nükleotid dizisinin belirlenmesi metoduna dayanan, moleküler teknikler arasında yaygın olarak kullanılan güvenilir bir yöntemdir (158). Günümüzde Sanger ve Maxam-Gillbert dizi analizi yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerde, dizisi saptanacak DNA iplikçığının komplementlerini sentezlemek amacıyla Tag DNA polimeraz, reverse transkriptaz veya sekans enzimlerinden birisi kullanılmaktadır (155). Sanger dizi analizi daha çok tercih edilmektedir. Bu yöntem, reaksiyonda OH grubu taşımayan dideoksinükleosittrifosfatların (ddNTP) kullanılması prensibine dayanmaktadır. Reaksiyon karışımına, DNA polimeraz ve dNTP'lere ek olarak dört reaksiyon tüpünün her birine substrat olarak farklı ddNTP'ler de eklenir. DNA sentezlenirken ipliğe dNTP eklendiği zaman uzama devam ederken, ddNTP eklenmesi durumunda zincir sonlanmaktadır. Reaksiyon sonucunda, her bir tüpte farklı uzunluklarda DNA parçaları elde edilmektedir. Bu DNA parçalarını incelemek amacıyla jel elektroforezi kullanılmaktadır. Dizi analiz sonuçları; radyoaktif madde, kimyasal ışınlar veya floresan veren boyalarla işaretlenerek görüntülenmektedir (155,167).

Kesin Konaklarda Tanı

Kesin konaklarda enfeksiyonun erken tanısı, kontrol programları ve hastalığın yaygınlığı bakımından oldukça önemlidir (168). Ekinokok türleri ile enfekte kesin konaklar genellikle klinik bulgu vermemekle birlikte son yıllarda canlı hayvanlarda tanı amacıyla çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler başlıca; dışkı bakışı, arekolin pürgasyon yöntemi, serumda antikor ve dışkıda antijen aranması şeklindedir (119). Dışkı ile çoğu zaman parazitin halkaları atılır ve bu nedenle dışkı bakışında yumurtaları görmek zordur. Halkaları aramak için, dışkı sulandırıldıktan sonra çıplak gözle veya stereomikroskop altında incelenmelidir. Yumurtaları tespit edebilmek amacıyla, dışkı flotasyon yöntemi ile incelense de bu yumurtalar *Taenia* spp. yumurtalarından morfolojik olarak ayırt edilemez (169). Arekolin pürgasyon yöntemi ile köpekler arekolin uygulandıktan sonra pürgasyon vasıtasıyla atılan dışkıda parazit aranmaktadır (170). Kesin konaklardaki bir diğer teşhis yöntemi olan serumda spesifik antikorların aranması bireysel olarak enfeksiyonun tanısında güvenilir olmamakla birlikte popülasyon taramalarında kullanılabilmektedir (120,171,172). Köpeklerde *E.granulosus* tanısındaki en pratik yöntem dışkıda koproantijenlerin aranması amacıyla uygulanan ELISA yöntemidir. Bu yöntem parazitin erken dönem teşhisi açısından oldukça önemlidir. Western blot tekniği ile de dışkıda koproantijenler aranabilmektedir (119). Bütün bu yöntemlerin yanında en güvenilir yöntem nekropsi yapılarak bağırsakların direk muayenesi, sedimentasyon ve sayım tekniği ile parazitin teşhis edilmesidir (170).

TEDAVİ

Cerrahi yöntemlerle kistlerin çıkarılması sağaltımda en etkili yöntem olmakla birlikte, KE tedavisinde perkütan ve medikal tedaviler de uygulanabilmektedir. Hastanın asemptomatik olması halinde ise, hastaya yaklaşımda "bekle ve izle" yöntemi kullanılabilir (2,173,174).

Cerrahi Tedavi

Endikasyonları: Yüzeysel ve yırtılabilecek yapıdaki büyük karaciğer kistleri, enfekte kistler, hayati anatomik lokalizasyonda (akciğer, beyin, böbrek) ya da komşu organlara bası etkisinde bulunan kistlerin cerrahi yöntemlerle alınması uygundur (175).

Kontrendikasyonları: Cerrahi tedaviyi reddeden, yaşlı ve ya hamile hastalar, kardiyak, renal veya karaciğer hastalığı olanlar, diyabet, hipertansiyon gibi kronik hastalıkları olanlar ve multipl, ulaşılması zor, kalsifiye ya da çok küçük kistlere sahip hastalarda cerrahi girişim yapılamamaktadır (175).

Cerrahi teknikler: KE tedavisinde radikal cerrahi, konservatif cerrahi ve palyatif cerrahi uygulanmaktadır (173). Cerrahi girişim öncesinde uygulanan albendazole ile inrakistik basınç düşmekte ve bunun sonucunda karaciğer kistlerinin canlılığı azalmaktadır (175). Günümüzde cerrahi girişim esnasında tercih edilen % 70'lik etanol, %20'lik hipertonik tuz veya %0.5'lik setrimid solüsyonu, etkili ve güvenli bir protoskolisidal ajandır (173). Cerrahi girişim esnasında canlı parazit materyalinin yayılmasına bağlı olarak olguların %2-25'inde sekonder KE gelişirken, operasyon sonrası mortalite oranı %0.5-4 olarak bildirilmiştir (176).

Ponksiyon Aspirasyon İnjesiyon Reaspirasyon (PAIR)

Bu yöntemde ultrason eşliğinde kist perkutan delinmekte ve kist sıvısının %25-50'si aspire edilmektedir. Ardından bu sıvının hacminin yaklaşık %20'si kadar protoskolisidal madde enjekte edilip, 15-20 dakika sonra kist içeriği tekrar aspire edilmektedir. Bu yöntem özellikle karaciğerdeki multipl kistlerde oldukça başarılı olmakla birlikte; böbrek, dalak ve kemik kistleri için de kullanılabilir (177).

Medikal Tedavi

Benzimidazol bileşikleri (albendazol ve mebendazol) kistik ekinokokkozis için antiparaziter tedavinin temel taşıdır (177). Cerrahi girişim öncesi uygulanan medikal tedavi, kistleri yumuşatıp intrakistik basıncı azaltarak endokistin daha kolay çıkarılmasını sağlamaktadır. Medikal tedavi cerrahi girişim sonrası uygulandığında ise nüks oranını

azaltmaktadır. Bu nedenle albendazol tedavisinin operasyondan 4 gün önce başlanması ve operasyon sonrası 1 ay sürdürülmesi önerilmektedir (173).

Bekle ve İzle Yaklaşımı

Dünya Sağlık Örgütü tarafından tariflenen inaktif kist hidatiklerde (CE 4 ve CE 5) asemptomatik olmaları halinde tedavi endikasyonunun olmadığı belirtilmiştir. Bu kistlerin US ile takibi önerilmektedir (174,178). İnaktif kistlerin bazı semptomlarına bağlı oluşturabileceği komplikasyonlarda tedavi endikasyonu ortaya çıkmaktadır (178).

KORUNMA VE KONTROL

Kistik ekinokokkoz dünyanın pek çok yerinde olduğu gibi Türkiye’de de önemli bir halk sağlığı sorunu olup ciddi ekonomik ve iş gücü kayıplarına neden olmaktadır (179). İzlanda, Yeni Zelanda, Tazmania, ve Kıbrıs gibi ada ülkelerinde parazitin eradikasyonu amacıyla yapılan kontrol programları başarılı sonuçlanırken; Şili, Arjantin ve Uruguay’da uygulanan kontrol programlarında aynı başarı gözlemlenememiştir (44,180). Kenya’nın Turkana bölgesinde insanlarda prevalans %7.5 iken, takip edilen kontrol çalışmaları ile 10 yılda %3.1’e düşürülmüştür (75). Kıbrıs’da KE’e karşı 1971 yılında kontrol programı uygulanmaya başlanmış, sonraki yıllarda enfeksiyona düşük oranlarda da olsa tekrar rastlanıldığı tespit edilmiştir. Bunun üzerine 1993 yılında ikinci bir kontrol programı uygulamaya konulmuştur (181). Bulgaristan’da 1950-1962 yıllarında 6469 KE vakası saptanmış, enfeksiyonun yüksek oranda endemik olmasından dolayı ($6.5/10^5$) kontrol programı başlatılmıştır. 1971-1982 tarihleri arasında yıllık insidans insanlarda $2/10^5$ ’e gerilemiştir (182).

Etkin bir korunma ve kontrol üç başlık altında incelenebilmektedir.

1. Parazitlerin yaşam döngüsünün anlaşılması ile kesin konak ve ara konak arasındaki zinciri kırmak,
2. kesin konakların tedavisi,
3. Halkın bilgilendirilmesi (183,184)

Parazitin yaşam döngüsü, enfekte iç organların kesin konak olan Canidae’lere çiğ olarak yedirilmemesi ile kırılabilir. Bu döngünün kırılması için, kesimhane dışında yapılan kaçak kesimler önlenmeli ve enfekte organlar metoduna uygun bir şekilde imha edilmelidir. Kistik ekinokokkoz eradikasyonu amacıyla kesin konak olan köpekler için uygulanabilecek çeşitli adımlar mevcuttur. Bu amaçla köpekler kayıt altına alınmalı ve antiparaziter tedavileri rutin olarak yapılmalıdır (149). Halkın bilgilendirilmesi tüm hastalıklarda olduğu gibi KE’de

de korunmanın temel prensibidir. İnsanların KE ile ilgili bilgilendirilmesi için çeşitli basın organları aracılığıyla özellikle hayvancılıkla uğraşan kesimin, bununla birlikte kesim yerlerinde çalışan personelin, kasapların, çiftçilerin ve çobanların eğitiminin sağlanması, yine okullarda öğrencileri bilinçlendirmek amacıyla çeşitli eğitim programları düzenlenmesi uygun olacaktır (185). KE'den korunmak ve hastalığın kontrol altına alınması amacıyla yapılan en önemli çalışmalardan birisi de aşı geliştirme çalışmalarıdır. Taeniidae familyasına bağlı türlerin larvalarına karşı geliştirilen aşılar, onkosfer antijenleri daha iyi seviyede koruma sağladığı için, kist sıvısı, germinatif membran ya da protoskoleks antijenlerine tercih edildiği bildirilmiştir (186,187). Parazitin çiftlik hayvanlarındaki *E. granulosus* s.s. ile enfeksiyonunu önleyebilen EG95 aşısı, onkosferden klonlanan bir aşı olup, immunitiyi yüksek düzeyde uyarmakta ve kistleri %90-100 oranında azaltmaktadır (186). Yeniden enfekte olunmadığı durumlarda bağışıklık 1 yıl boyunca devam etmekte ve doğumdan önce aşılanmış gebe koyunlardaki yüksek antikor seviyeleri kolostrum yoluyla yavrulara geçmektedir (188).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma; 2009-2022 yılları arasında parazitoloji laboratuvarımıza gelen hasta materyallerinden, gerekli incelemeler yapıldıktan sonra ayrılıp, -80 derecede muhafaza edilen numuneler kullanılarak, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı ve Biyofizik Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Yapılan bu çalışma için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu (TUTF-BAEK) 2021/344 nolu protokol onayı (Ek-1) alınmıştır ve çalışmamız Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (TÜBAP) tarafından 2021/159 numaralı proje ile desteklenmiştir (Ek-2).

ÇALIŞMA PLANI

1. Örneklerin toplanması
2. Deoksiribonükleik Asit izolasyonu
3. PCR yöntemiyle Mitokondriyal 12S rRNA gen bölgesinin çoğaltılması
4. PCR-SSCP yöntemi ile EgAgB1, EgAgB2 ve EgAgB4 gen bölgelerinin değerlendirilmesi
5. Filogenetik analiz
6. Haplotip analizi

Çalışmada Kullanılan Cihazlar

1. Santrifüj cihazı (Nüve NF-200, Türkiye)
2. Işık mikroskobu (Olympus CX41RF, Japonya)
3. Isı bloğu (Thermo Scientific, Çin)
4. Mikrosantifüj cihazı (Hettich Micro, Almanya)

5. Hassas terazi (Kern EMB600-2, Almanya)
6. pH metre (Jenco 6173, Kanada)
7. Vorteks cihazı (Combi-Spin FVL-2400N, Letonya)
8. Yatay elektroforez cihazı (Thermo scientific OWL EASYCAST B2, Çin)
9. Mikrodalga fırın (Arçelik MD500, Türkiye)
10. Dikey elektroforez cihazı (Cleaver Scientific, İngiltere)
11. Güç kaynağı (Thermo Scientific EC 300 XL, Çin)
12. Çalkalamalı benmari (Nüve ST402, Türkiye)
13. Termal döngü cihazı (BioRad iCycler, ABD)
14. Derin dondurucu ve Soğutucu (Bosch, Almanya)
15. Ultraviyole lamba ve görüntüleme cihazı (BioRad, Almanya)
16. Manyetik karıştırıcı (Schott-Geräte GmbH, Almanya)
17. Etüv (Nüve EN500, Türkiye)
18. Mikro spektrofotometre (Allsheng Nano-200, Çin)

1. Örneklerin Toplanması

A. Kullanılan kimyasallar:

1. %70 etil alkol: 100 ml etil alkol absolut (Honeywell, Almanya) ve 39 ml distile su kullanılarak yapıldı.

B. Örneklerin toplanması:

2009 ile 2022 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde opere edilen veya PAIR işlemi uygulanan hastaların parazitolojik inceleme için gönderilen hidatik kist materyalleri kullanılmıştır. Toplamda; 97 insana ait 101 kist materyali (kist sıvıları ve membran örnekleri) %70'lik etil alkol içeren tüplere konularak çalışma yapılana kadar -80 °C'de saklanmıştır.

2. Deoksiribonükleik Asit izolasyonu

DNA izolasyonu için germinatif membran ve/veya kist sıvısı kullanıldı.

A. Kullanılan kimyasallar:

1. Fosfat tampon solüsyonu (PBS):

KCL : 0,2 g

NaCl : 8,0 g

Na₂HPO₄ : 1,44 g

KH₂PO₄ : 0,24 g

Karışımın pH'ı 7.4'e ayarlandı ve hacmi distile su kullanılarak 1000 ml'ye çıkarıldı.

2. 1x TBE tampon çözeltisi: 10x TRIS borat-EDTA tampon çözeltisi (Visent, Kanada) 1/10 oranında distile su ile seyreltilerek elektroforez çözeltisi olarak kullanıldı.
3. %1 agaroz jel: 0.5 g agaroz (Prona, İspanya), 50 ml 1x TBE tampon çözeltisi içinde çözüldü. Karışım mikrodalgada kaynatıldıktan sonra soğumaya bırakıldı. Daha sonra 2.5 µl etidyum bromür (10 mg/ml Biomatik, Kanada) karışıma ilave edildi.
4. 6x yükleme boyası (A.B.T., Türkiye)
5. Etanol %96 (Honeywell, Almanya)

B. Yöntem ve değerlendirme: -80 °C'de bulunan numuneler oda sıcaklığında çözüldükten sonra üretici firmanın talimatları doğrultusunda Genomik DNA Saflaştırma Kiti (Thermo Scientific GeneJET K0721) kullanılarak DNA izolasyonu yapılmıştır. Bu amaçla:

1. 25 mg germinal membran örneği PBS ile 5 defa yıkandı ve steril bistüri yardımıyla küçük parçalara ayrıldı ya da kist sıvısının dibinde bulunan çöktelden 25 mg alındı.
2. 25 mg numune 1.5 ml kilitli ependorf tüplerine konulduktan sonra her numune için 180 µl digestion solüsyonu eklenip vortekslendi ve ardından 20 µl Proteinaz K (Thermo) eklendi. Karışımı homojenleştirmek için tekrar vorteks kullanıldı.
3. Alınan numuneye bağlı olarak, doku örneği tamamen eriyene kadar 55 °C'de 15 dakikada bir vortekslenerek 2-8 saat bekletildi.
4. İnkübasyon işlemi tamamlandıktan sonra üzerine 20 µl RNase A (Thermo) eklendi ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
5. Lysis solüsyonundan 200 µl eklendi ve karışımın homojenleşmesi sağlanana kadar 15 saniye vortekslendi.
6. %96'lık etil alkolden 400 µl eklendi, pipetleme veya vortekslleme ile karıştırıldı.
7. Bir GeneJET Genomik DNA Saflaştırma Kolonu bir toplama tüpüne yerleştirildi ve hazırlanan lizat daha sonra buna aktarıldı. Kolon, 6000 g'de 1 dakika santrifüjlendi. Akış çözeltisini içeren toplama tüpünü atıldı. GeneJET Genomik DNA Saflaştırma Kolonu, yeni bir 2 mL toplama tüpüne yerleştirildi.

8. Kolon tüpüne 500 µl yıkama tamponu I (alkol ilaveli) eklendi ve bir dakika 8000 g'de santrifüjlendi. Oluşan sıvı boşaltıldıktan sonra, filtre edilen kısım tekrar mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi.

9. İkinci yıkama adımı için 500 µl yıkama tamponu II (alkol ilaveli) eklendikten sonra, numune 14800 g'de üç dakika santrifüjlendi. Tüpler boşaltıldıktan sonra hiçbir solüsyon ilave edilmeden tekrar 1,5 dakika en yüksek hızda santrifüj edildi.

10. Kolon 1.5 ml'lik bir mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi ve ardından 50 µl elüsyon tamponu ilave edildi. Oda sıcaklığında 2 dakika süren inkübasyonun ardından 1 dakika boyunca 8000 g'de santrifüj edildi.

11. Kolon uzaklaştırıldı ve mikrosantrifüj tüpünde bulunan materyal DNA olarak, çalışılacağı zamana kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

1 µl yükleme boyası ve 5 µl izolasyon ürünü karıştırıldı ve örneklerdeki DNA'nın varlığını test etmek için %1 agaroz jel kuyucuklarına yüklendi. Elektroforez tampon solüsyonu olarak 1x TBE tampon çözeltisi kullanıldı ve elektroforez cihazı bir saat boyunca 100 voltta çalıştırıldı. Ardında tanktan çıkarılan jel, UV transilluminatörde bantların varlığı yönünden incelendi ve çalışmanın geri kalanında, UV ışığı altında belirgin bir bant oluşturan numuneler değerlendirildi.

3. PCR yöntemiyle Mitokondriyal 12S rRNA gen bölgesinin çoğaltılması

Bu amaçla *E. granulosus*'un sadece G1-G3 genotipini (*E. granulosus* sensu stricto) çoğaltan ve genomda mitokondriyal 12S rRNA genini hedefleyen primerler kullanılarak PCR kuruldu (150).

Polimeraz zincir reaksiyonu ve PCR-SSCP uygulamalarının tümünde pozitif kontrol olarak Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD'de görevli Doç. Dr. Canan ERYILDIZ'dan temin edilen, daha önce DNA dizi analizi yapılarak G1 genotipine sahip olduğu belirlenen izolatın DNA'sı, negatif kontrol olarak da steril distile su kullanıldı. Tablo 1, PCR uygulamalarında kullanılan tüm primerleri ve nükleotit dizilerini göstermektedir.

A. Kullanılan kimyasallar:

1. 25 mM MgCl₂ (Thermo Scientific, Litvanya)
2. 2 mM deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP) karışımı: 92 µl distile su üzerine her bir dNTP (100 mM; abm, Kanada)'den 2 µl alınıp ilave edildi.

3. 1x TBE tampon çözeltisi: 10x TRIS borat-EDTA tampon çözeltisi (Visent, Kanada) 1/10 oranında distile su ile seyreltilerek elektroforez çözeltisi olarak kullanıldı.

4. Primerler: E.g.ss1.fw ve E.g.ss1.rev (Oligomer, Türkiye). Her bir primer için verilen nmol değerlerine göre distile su eklenerek 100 µM'lık konsantrasyon elde edildi. Daha sonra distile su ile 1/4 oranında seyreltilerek 25 µM konsantrasyona ulaşıldı.

5. 10x PCR tamponu (Thermo Scientific, Litvanya): KCl : 500 mM
Tris HCl pH:8.8 : 100 mM
Nonidet P40 : %0.8

6. %1,4 agaroz jel: 0.7 g agaroz (Prona, İspanya), 50 ml 1x TBE tampon çözeltisi içinde çözüldü. Karışım mikrodalgada kaynatıldıktan sonra soğumaya bırakıldı. Daha sonra 2.5 µl etidyum bromür (10 mg/ml Biomatik, Kanada) karışıma ilave edildi.

7. Taq DNA polimeraz, 5U/µl (Thermo Scientific, Litvanya)

8. 6x yükleme boyası (ABT, Türkiye)

9. DNA boyut markırı (100 bp DNA Ladder; abm, Kanada)

Tablo 1. *Echinococcus granulosus*'un PCR analizinde kullanılan primerler

Primer	Gen Bölgesi	Nükleotid Dizisi	Kaynak
E.g.ss1.fw	12S rRNA	5'- GTATTTTGTAAAGTTGTTCTA - 3'	(150)
E.g.ss1.rev	12S rRNA	5'- CTAAATCACATCATCTTACAAT - 3'	
MS1	ND1	5'- CGTAGGTATGTTGGTTTGTGTTGGT- 3'	(107)
MS2	ND1	5'- CCATAATCAAATGGCGTACGAT -3'	
JB3	CO1	5'-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3'	(45)
JB4.5	CO1	5'-TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG-3'	
AgB1.fw	AgB1	5'-CGTGATCCGTTGGGTCAG-3'	(70)
AgB1.rev	AgB1	5'-GGCACCTCTATTACCTTCA-3'	
AgB2.fw	AgB2	5'GGATCCTTCGTGGCCGTCGTTCAAGC3'	(15)
AgB2.rev	AgB2	5'TCGACAAATCATGTGTCCCGACGCA3'	
AgB4.fw	AgB4	5'TTGCTCTCGTGGCTTTCGTG3'	(13)
AgB4.rev	AgB4	5'GTGTCCCGACGCATGACTTA3'	

A. Yöntem ve değerlendirme: Toplam 25 µl'lık hacimde olacak şekilde gerçekleştirilen PCR karışımı:

- 10x PCR tamponu :2,5 µl
- dNTP :3 µl

- $MgCl_2$:2,5 μl
- Primer E.g.ss1.fw : 0,5 μl
- Primer E.g.ss1.rev :0,5 μl
- *Taq* DNA polimeraz :0.25 μl
- genomik DNA :100 ng

Distile su ile 25 μl 'ye tamamlandı.

Amplifikasyon: Termal döngü cihazı mitokondriyal 12S rRNA gen bölgesini çoğaltmak için aşağıdaki şekilde çalıştırıldı:

95 °C'de 3 dakika ön denatürasyon	}	40 döngü
94 °C'de 30 saniye denatürasyon		
57 °C'de 1 dakika bağlanma		
72 °C'de 40 saniye sentez		
72 °C'de 5 dakika son uzama		

10 μl PCR ürünü ile 2 μl yükleme boyası karıştırılarak jelde bulunan kuyucuklara yüklendi. Elektroforez tampon solüsyonu olarak 1x TBE tampon çözeltisi kullanıldı ve elektroforez cihazı bir saat boyunca 100 voltta çalıştırıldı. Ardında tanktan çıkarılan jel, UV transilluminatörde bantların varlığı yönünden incelendi ve çalışmanın geri kalanında, UV ışığı altında belirgin bir bant oluşturan numuneler kullanıldı.

4. PCR-SSCP yöntemi ile EgAgB1, EgAgB2 ve EgAgB4 gen bölgelerinin değerlendirilmesi

Daha önce tanımlanmış olan PCR-SSCP analizi (160,165,189,190) ve gümüş boyama (191,192) prosedürleri modifiye edilerek uygulandı.

A. Kullanılan kimyasallar:

1. 1. 2 mM deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP) karışımı: 92 μl distile su üzerine her bir dNTP (100 mM; abm, Kanada)'den 2 μl alınıp ilave edildi.

2. 1x TBE tampon çözeltisi: 10x TRIS borat-EDTA tampon çözeltisi (Visent, Kanada) 1/10 oranında distile su ile seyreltilerek elektroforez çözeltisi olarak kullanıldı.

3. Primerler: AgB1.fw, AgB1.rev, AgB2.fw, AgB2.rev, AgB4.fw ve AgB4.rev (Oligomer, Türkiye). Tablo 1, Her bir primer için verilen nmol değerlerine göre distile su eklenerek 100 µM'lık konsantrasyon elde edildi. Daha sonra distile su ile 1/4 oranında seyreltilerek 25 µM konsantrasyona ulaşıldı.

4. 10x PCR tamponu (Thermo Scientific, Litvanya) : KCl :500 mM
Tris HCl pH:8.8 :100 mM
Nonidet P40 : %0.8

5. %2 agaroz jel: 1 g agaroz (Prona, İspanya), 50 ml 1x TBE tampon çözeltisi içinde çözüldü. Karışım mikrodalgada kaynatıldıktan sonra soğumaya bırakıldı. Daha sonra 2.5 µl etidyum bromür (10 mg/ml Biomatik, Kanada) karışıma ilave edildi.

6. %1,5 agaroz jel: 0,75 g agaroz (Prona, İspanya), 50 ml 1x TBE tampon çözeltisi içinde çözüldü. Karışım mikrodalgada kaynatıldıktan sonra soğumaya bırakıldı. Daha sonra 2.5 µl etidyum bromür (10 mg/ml Biomatik, Kanada) karışıma ilave edildi.

7. 1.5 M Tris pH:8.8: 18,17 g Tris (hydroxymethyl) aminomethane (Vicent, Kanada) 90 ml distile su ile karıştırıldı. pH 8.8'e ayarlanıp son hacim 100 ml'ye tamamlandı.

8. 1 M Tris pH:6.8: 6.05 g Tris(hydroxymethyl)aminomethane (Vicent, Kanada) 40 ml distile su ile karıştırıldı. pH 6.8'e ayarlanıp son hacim 50 ml'ye tamamlandı.

9. %40 akrilamid/bisakrilamid: 49:1 akrilamid/bisakrilamid: 39,2 g Acrylamide (Sigma Aldrich, ABD), 0,8g N,N'-Methylenebisacrylamide (Sigma Aldrich, ABD) distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

10. %10 amonyum persülfat: 1g Ammonium persulfate (Sigma Aldrich, ABD) üzerine son hacim 10 ml olacak şekilde distile su eklendi.

11. 1 M NaOH: 0.4 g Sodium hydroxide (İsolab, Almanya) üzerine son hacim 10 ml olacak şekilde distile su eklendi.

12. %2.5 bromfenol mavisi: 0.25 g Bromophenol Blue (AFG Bioscience LLC, ABD) üzerine son hacim 10 ml olacak şekilde distile su eklendi.

13. %2.5 ksilen siyanol: 0.25 g Xylene Cyanol FF (Carl Roth, Polonya) üzerine son hacim 10 ml olacak şekilde distile su eklendi.

14. Denatürasyon tamponu: 950 µl formamid (Sigma Aldrich, ABD)'e, 10 µl 1 M NaOH, 20 µl %2.5 ksilen siyanol ve 20 µl %2.5 bromfenol mavisi, eklendi.

15. %10 etanol + %5 asetik asit: 25 ml saf etanol (Honeywell, Almanya) ile 12.5 ml asetik asit (Sigma-Aldrich, ABD) üzerine son hacim 250 ml olacak şekilde distile su eklendi.

16. %0.1 gümüş nitrat solüsyonu: 0.25 gr gümüş nitrat (Carlo Erba, İspanya) bir miktar distile su içinde çözüldükten sonra tekrar distile su eklenerek 250 ml'lik son hacme ulaşıldı.

17. %1.5 sodyum hidroksit solüsyonu: 3.75 g NaOH (İsolab, Almanya) bir miktar distile su içinde çözüldükten sonra tekrar distile su eklenerek 250 ml'lik son hacme ulaşıldı.

18. %0.75 sodyum karbonat solüsyonu: 1.875 g Na₂CO₃ (AFG Bioscience LLC, ABD) bir miktar distile su içinde çözüldükten sonra tekrar distile su eklenerek 250 ml'lik son hacme ulaşıldı.

19. *Taq* DNA polimeraz, 5U/μl (Thermo Scientific, Litvanya)

20. 25 mM MgCl₂ (Thermo Scientific, Litvanya)

21. Gliserol (İsolab, Almanya)

22. TEMED (N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine) (Biomatik, Kanada)

23. Etil alkol absolut (Honeywell, Almanya)

24. Formaldehit solüsyonu (≥%36; Sigma, ABD)

25. Deoksiribonükleik asit boyut markırı (100 bp DNA Ladder; abm, Kanada)

26. 6x yükleme boyası (A.B.T., Türkiye)

B. Yöntem ve değerlendirme: EgAgB1 gen bölgesi için toplam 50 μl hacimde hazırlanan PCR karışımı;

- 10x PCR tamponu :5 μl
- dNTP :6 μl
- MgCl₂ :5 μl
- Primer AgB1.fw :0,5 μl
- Primer AgB1.rev :0,5 μl
- *Taq* DNA polimeraz :0.25 μl
- genomik DNA :80 ng

Distile su ile 50 μl'ye tamamlandı.

Amplifikasyon: Termal döngü cihazı EgAgB1 gen bölgesini çoğaltmak için aşağıdaki şekilde çalıştırıldı:

95 °C’de 10 dakika ön denatürasyon	
95 °C’de 30 saniye denatürasyon	
55 °C’de 45 saniye bağlanma	} 35 döngü
72 °C’de 90 saniye sentez	
72 °C’de 5 dakika son uzama	

EgAgB2 ve EgAgB4 gen bölgeleri için toplam 50 µl hacimde hazırlanan PCR karışımı;

- 10x PCR tamponu : 5 µl
- dNTP : 5 µl
- MgCl₂ : 5 µl
- Primer AgB2.fw : 1 µl
- Primer AgB2.rev : 1 µl
- Taq DNA polimeraz : 0.25 µl
- genomik DNA :80 ng

Distile su ile 50 µl’ye tamamlandı.

Amplifikasyon: Termal döngü cihazı EgAgB2 gen bölgesini çoğaltmak için aşağıdaki şekilde çalıştırıldı:

95 °C’de 3 dakika ön denatürasyon	
95 °C’de 60 saniye denatürasyon	
55 °C’de 60 saniye bağlanma	} 35 döngü
72 °C’de 90 saniye sentez	
72 °C’de 10 dakika son uzama	

Amplifikasyon: Termal döngü cihazı EgAgB4 gen bölgesini çoğaltmak için aşağıdaki şekilde çalıştırıldı:

95 °C’de 3 dakika ön denatürasyon	
95 °C’de 60 saniye denatürasyon	
55 °C’de 60 saniye bağlanma	} 35 döngü
72 °C’de 90 saniye sentez	
72 °C’de 5 dakika son uzama	

10 µl PCR ürünü ile 2 µl yükleme boyası karıştırılarak jelde bulunan kuyucuklara yüklendi. Elektroforez tampon solüsyonu olarak 1x TBE tampon çözeltisi kullanıldı ve elektroforez cihazı bir saat boyunca 100 voltta çalıştırıldı. Ardında tanktan çıkarılan jel, UV transilluminatörde bantların varlığı yönünden incelendi ve çalışmanın geri kalanında, UV ışığı altında belirgin bir bant oluşturan numuneler kullanıldı.

Tek sarmal konformasyon polimorfizmi yönteminde kullanılacak olan gen bölgelerinin saflaştırılması amacıyla, kit üreticisinin önerileri doğrultusunda GeneJET Gel Extraction Kit (Thermo Scientific, Litvanya) kullanıldı.

Jel Pürifikasyon Yönteminin uygulanması:

1. Saflaştırılmak istenilen uygun boyuttaki DNA parçasını içeren jel dilimi alındı. Jel dilimini önceden tartılmış 1,5 mL'lik tüpe yerleştirildi ve tartılarak ağırlığı kayıt edildi.
2. Jel dilimine 1:1 hacim Binding Buffer eklendi.
3. Jel karışımı 50-60 °C'de 10 dakika veya jel dilimi tamamen eriyene kadar enkübe edildi. Eritme işlemini kolaylaştırmak için tüp birkaç dakikada bir ters çevrilerek karıştırıldı.
4. Çözündürülmüş jel çözeltisine 1 jel hacmi %100 izopropanol (Sigma, ABD) eklendi ve iyice karıştırıldı.
5. 800 µL'ye kadar çözünmüş jel solüsyonu GeneJET saflaştırma kolonuna aktarıldı. Oda ısısında mikrosantrifüjde maksimum hızda 1 dakika santrifüj edildi.
6. Toplama tüpü boşaltıldı. GeneJET saflaştırma kolonuna 700 µL Wash Buffer eklendi. Oda ısısında mikrosantrifüjde maksimum hızda 1 dakika santrifüj edildi.
7. Toplama tüpü boşaltıldı. Rezidü Wash Buffer'ı uzaklaştırmak amacıyla boş GeneJET saflaştırma kolonu oda ısısında mikrosantrifüjde maksimum hızda 1 dakika santrifüj edildi.
8. GeneJET saflaştırma kolonu temiz bir 1,5 mL mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. Saflaştırma kolonu zarının merkezine 30 µL Elution Buffer eklendi. Oda ısısında mikrosantrifüjde maksimum hızda 1 dakika santrifüj edildi.
9. GeneJET saflaştırma kolonu atıldı ve saflaştırılmış PCR ürünü kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklandı.

Poliakrilamid jelin hazırlanması:

%12'lik denatüre edici olmayan jel (ayırma jeli)

Distile su : 14 ml

Tris pH: 8.8 : 10 ml

%40 Akrilamid/bisakrilamid 49/1	: 12 ml
Gliserol	: 4 ml
TEMED	: 15 µl
Amonyum persülfat	: 200 µl

%10'luk denatüre edici olmayan jel (ayırma jeli)

Distile su	: 16 ml
Tris pH: 8.8	: 10 ml
%40 Akrilamid/bisakrilamid 49/1	: 10 ml
Gliserol	: 4 ml
TEMED	: 15 µl
Amonyum persülfat	: 200 µl

Yukarıda sayılan maddeler karıştırılıp hızlıca dikey elektroforez cihazının iki cam plağı arasına döküldü, üzeri distile su ile kapatıldı. Jel donduktan sonra (yaklaşık 2 saat) üzerindeki distile su kurutma kağıdı ile alındı.

Toplama jeli:

Distile su	: 3.90 ml
Tris pH:6.8	: 625µl
%40 Akrilamid/bisakrilamid 49:1	: 0,50 ml
TEMED	: 2.5 µl
Amonyum persülfat	: 50 µl

Yukarıda sayılan maddeler karıştırılıp hızlıca ayırma jelinin üzerine döküldü ve tarak yerleştirildi. Jel donduktan sonra (yaklaşık 1 saat) tarak çıkartıldı ve kuyulardaki su kurutma kağıdı ile alındı. Cam plaklar dikey elektroforez cihazının gövde kısmına monte edildi ve cihaz tankına yerleştirildi. Jelin üst kısmındaki bölmeye ve tanka 1x TBE konuldu.

Denatürasyon ve elektroforez: Çoğaltılmış AgB1, AgB2 ve AgB4 gen bölgelerini denatüre etmek amacıyla 9 µl denatürasyon tamponu ile 6 µl PCR ürünü karıştırıldı. Karışım termal döngü cihazına yerleştirilip 95°C'de 10 dakika inkübe edildi. Bu süre sonunda örnekler cihazdan alınıp -20°C'den çıkartılan buz kalıbına yerleştirildi. Hazırlanan jele her bir örnekten 10 µl yüklendi. Örnekler oda ısında, 120 voltta, 2 saat boyunca yürütüldü. Ardından jel gümüş boyama yöntemi ile boyandı.

Gümüş boyama:

1. Jel %10 etanol ve %5 asetik asit solüsyonu içinde 6 dakika bekletildi.
2. Jelin içinde bulunduğu sıvı enjektör yardımıyla boşaltıldı. Üzerine %0.1 gümüş nitrat solüsyonu dökülüp 15 dakika bekletildi. Ardından sıvı boşaltıldı.
3. %1.5 sodyum hidroksit solüsyonuna 250 µl formaldehit solüsyonu eklendi. Jel bu solüsyonda 30 dakika bekletildi, ardından sıvı boşaltıldı.
4. Jel %0.75 sodyum karbonat solüsyonunda 10 dakika bekletildi. Bu süre sonunda sıvı boşaltılıp jel şeffaf dosya içerisine kondu ve +4°C’de saklandı.

Değerlendirme: Tek sarmal konformasyon polimorfizmi yönteminde, gümüş boyama sonunda kontrol izolatlarına göre değerlendirilen EgAgB1 gen bölgesine ait bant paternleri farklı rakamlar ile (patern 1, 2, 3 gibi), EgAgB2 gen bölgesine ait bant paternleri farklı harfler ile (patern A, B gibi), EgAgB4 gen bölgesine ait bant paternleri ise farklı roma rakamları ile (patern I, II, III gibi) simgelendi.

7. Filogenetik analiz

Antijen B1, EgAgB2 ve EgAgB4 PCR-SSCP yöntemi ile birbirlerinden farklı bant paternleri sergileyen örnekler arasından rastgele seçilen 30 izolatın mitokondrial CO1 ve ND1 gen bölgeleri PCR yöntemi ile çoğaltıldı. Ardından elde edilen PCR ürünleri saflaştırılıp DNA dizi analizi yaptırılmak üzere Genoks Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi (Ankara, Türkiye)’ne gönderildi.

A. Kullanılan kimyasallar:

1. 2 mM deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP) karışımı: 92 µl distile su üzerine her bir dNTP (100 mM; abm, Kanada)’den 2 µl alınıp ilave edildi.
2. 1x TBE tampon çözeltisi: 10x TRIS borat-EDTA tampon çözeltisi (Visent, Kanada) 1/10 oranında distile su ile seyreltilerek elektroforez çözeltisi olarak kullanıldı.
3. Primerler: JB3, JB4.5, MS1 ve MS2 (Oligomer, Türkiye). Tablo 1, Her bir primer için verilen nmol değerlerine göre distile su eklenerek 100 µM’lık konsantrasyon elde edildi. Daha sonra distile su ile 1/4 oranında seyreltilerek 25 µM konsantrasyona ulaşıldı.

4. 10x PCR tamponu (Thermo Scientific, Litvanya) : KCl : 500 mM

Tris HCl pH:8.8 : 100 mM

Nonidet P40 : %0.8

5. 25 mM MgCl₂ (Thermo Scientific, Litvanya)

6. *Taq* DNA polimeraz, 5U/μl (Thermo Scientific, Litvanya)

7. %1,5 agaroz jel: 0,75 g agaroz (Prona, İspanya), 50 ml 1x TBE tampon çözeltisi içinde çözüldü. Karışım mikrodalgada kaynatıldıktan sonra soğumaya bırakıldı. Daha sonra 2.5 μl etidyum bromür (10 mg/ml Biomatik, Kanada) karışıma ilave edildi.

8. DNA boyut markırı (100 bp DNA Ladder; abm, Kanada)

9. 6x yükleme boyası (ABT, Türkiye)

B. Yöntem ve değerlendirme: Toplam 50 μl'lik hacimde PCR karışımı hazırlandı. Çalışmada mitokondrial ND1 gen bölgesini çoğaltmak amacıyla MS1 ve MS2, mitokondrial CO1 gen bölgesini çoğaltmak amacıyla ise JB3 ve JB4.5 primerleri kullanıldı. Toplam 50 μl olan PCR karışımı:

- 10x PCR tamponu :5 μl
- dNTP :5 μl
- MgCl₂ :5 μl
- Primer MS1/ JB3 :1 μl
- Primer MS2/ JB4.5 :1 μl
- *Taq* DNA polimeraz :0.2 μl
- genomik DNA :80 ng

Distile su ile 50 μl'ye tamamlandı.

Amplifikasyon: Termal döngü cihazı parsiyel mitokondriyal CO1 ve ND1 gen bölgesini çoğaltmak için aşağıdaki şekilde çalıştırıldı:

95 °C'de 5 dakika ön denatürasyon

95 °C'de 30 saniye denatürasyon

50 °C (ND1)/55 °C (CO1)'de 30 saniye bağlanma

72 °C'de 30 saniye sentez

72 °C'de 5 dakika son uzama

} 35 döngü

10 μl PCR ürünü ile 2 μl yükleme boyası karıştırılarak jelde bulunan kuyucuklara yüklendi. Elektroforez tampon solüsyonu olarak 1x TBE tampon çözeltisi kullanıldı ve elektroforez cihazı bir saat boyunca 100 voltta çalıştırıldı. Ardında tanktan çıkarılan jel, UV

transilluminatörde bantların varlığı yönünden incelendi ve çalışmanın geri kalanında, UV ışığı altında belirgin bir bant oluşturan numuneler kullanıldı.

Dizileme işlemi için kullanılacak olan gen bölgelerinin saflaştırılması amacıyla, kit üreticisinin önerileri doğrultusunda GeneJET PCR Purification Kit (Thermo Scientific, Litvanya) kullanıldı.

Amplifikasyon ürünü saflaştırma:

1. 50 µl PCR ürününe 50 µl Binding Buffer eklendi.
2. Karışıma 50 µl isopropanol eklendi ve iyice karıştırıldı.
3. Elde edilen solüsyon GeneJET saflaştırma sütununa aktarıldı.
4. Oda ısısında mikrosantrifüjde maksimum hızda 30-60 saniye santrifüj edildi. Ardından toplama tüpü içeriği boşaltıldı.
5. GeneJET saflaştırma sütununa 700 µL Wash Buffer eklenip 30-60 saniye santrifüj edildi. Toplama tüpü içeriği boşaltıldı ve saflaştırma sütunu toplama tüpüne geri yerleştirildi.
6. Toplama tüpü içeriği boşaltıldı. Boş GeneJET sütunu, rezidüel wash buffer tamamen uzaklaşana kadar oda ısısında, mikrosantrifüjde maksimum hızda 1 dakika daha santrifüj edildi.
7. EcoSpin kolon yeni bir 1,5 mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.
8. GeneJET saflaştırma sütunu temiz bir 1,5 mL mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.
9. 50 µL Elution Buffer GeneJET saflaştırma sütunu zarının merkezine eklendi ve oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi.
10. Oda ısısında mikrosantrifüjde maksimum hızda 30 saniye santrifüj edildi.
11. GeneJET sütunu uzaklaştırıldı ve mikrosantrifüj tüpünde kalan pürifiye PCR ürünü - 20 °C’de saklandı. Elde edilen PCR ürünleri, dizileme işlemi yapılmak üzere gönderildi.

Tablo 2’de belirtilen Genbank referans dizileri kulanılarak, elde edilen parsiyel mitokondriyal CO1, ND1, EgAgB1, EgAgB2 ve EgAgB4 dizi verilerine filogenetik analiz yapıldı. Filogenetik ağaç, Tamura ve ark. (1993)’nın’’Maximum likelihood yöntemi’’ kullanılarak MEGA 11 programı ile her bir dizi veri seti için ayrı ayrı oluşturuldu.

Tablo 2: Referans diziler

	Erişim numarası (CO1)	Kaynak	Erişim numarası (ND1)	Kaynak
Genotip 1	HQ703429	(7)	HQ717151	(7)
Genotip 2	M84662	(17)	AJ237633	(46)
Genotip 3	M84663	(17)	AJ237634	(46)
Genotip 4	M84664	(17)	AJ237635	(46)
Genotip 5	M84665	(17)	AJ237636	(46)
Genotip 6	M84666	(17)	AJ237637	(46)
Genotip 7	HQ717155	(7)	HQ717154	(7)
Genotip 8	AB235848	(17)	AJ237643	(51)
Genotip 10	AF525457	(17)	AF525297	(51)
EgAgB1	AY773092	(17)	M36774.1	(14)
EgAgB2	AY773092	(21)	M36774.1	(13)
EgAgB4	AY357110	(13)	AAQ74958	(194)

8. Haplotip analizi

CO1 ve ND1 gen veri setleri, haplotip analizi için ayrı ayrı DnaSP v6'ya yüklendi. Popölasyon çeşitliliği değerleri (haplotip sayıları, haplotip çeşitliliği ve nükleotid çeşitliliği), DnaSP v6 kullanılarak hesaplandı (195). Çıktı formatları, DnaSP v6 kullanılarak bir sonraki analiz için oluşturuldu. Daha sonra Network 10.2 yazılımı kullanılarak haplotip analizi yapıldı (196).

BULGULAR

2009-2022 yılları arasında Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi parazitoloji laboratuvarına gelen 97 KE hastasına ait 101 kist hidatik materyali çalışmaya dahil edilmiştir. Yapılan çalışmaların özetlendiği akış çizelgesi Şekil 9’da yer almaktadır.

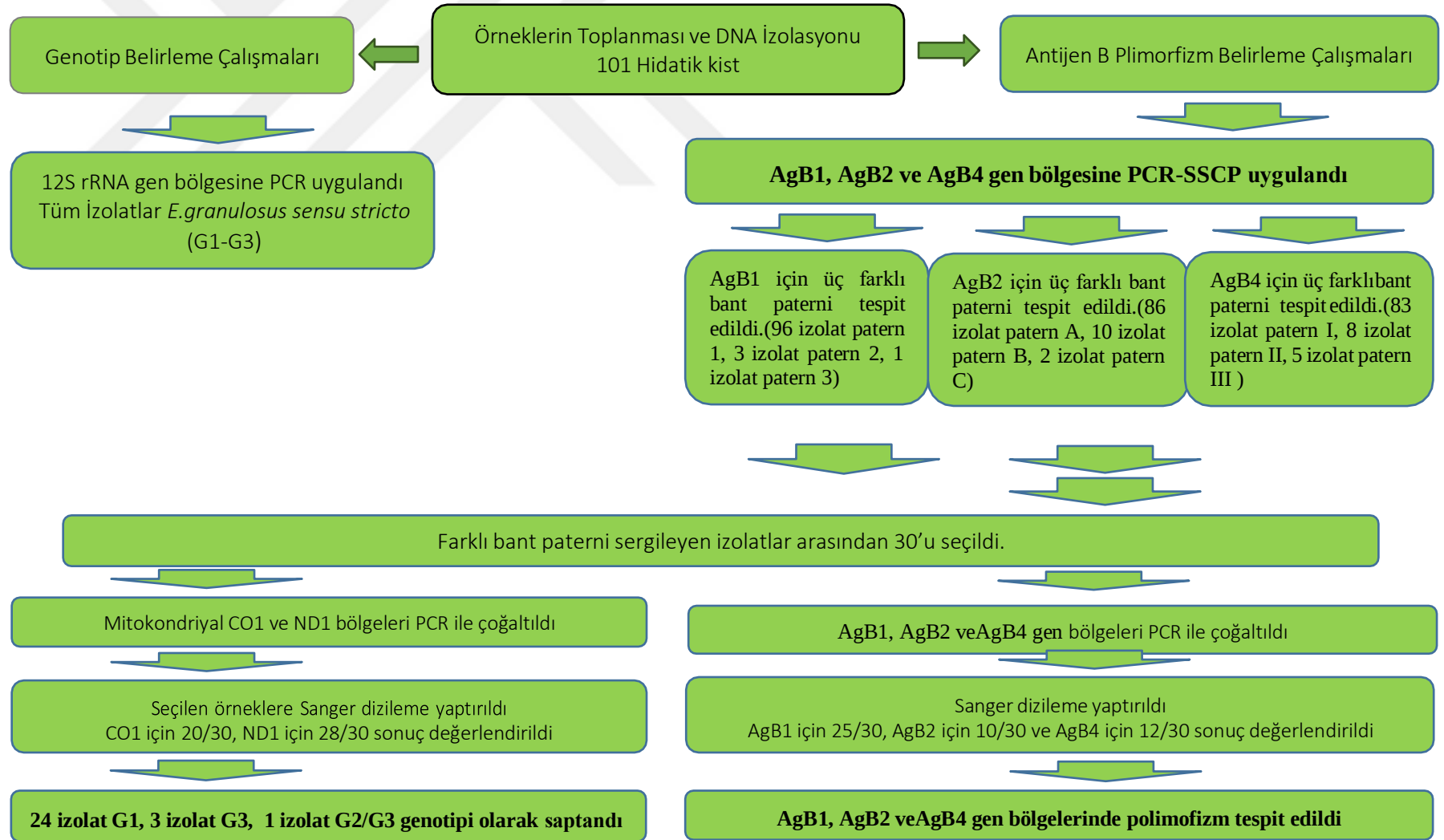
YAPILAN ÇALIŞMALAR

1. Örneklerin toplanması

Çalışmaya dahil edilen örneklerin cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde, 56 (%57,7)’sının erkeklere, 41 (%42,3)’inin kadınlara ait olduğu görülmektedir. 101 hidatik kistin 67’si (%66,3) karaciğer, 24’ü (%23,7) akciğer, 3’ü (%2,9) boyun, 2’si (%1,8) femur yerleşimli iken; birer (%0,9) adet de böbrek, dalak, spinal, mesane ve perikard yerleşimli kist mevcut idi (Tablo 3).

Tablo 3: Kist hidatik örneklerinin cinsiyet ve yerleşim yeri dağılımları

Cinsiyet	Lokalizasyon	Örnek sayısı	Toplam
Kadın	Karaciğer	29 (%28,7)	41 (%42,3)
	Akciğer	9 (%8,9)	
	Boyun	1 (%0,9)	
	Femur	1 (%0,9)	
	Dalak	1 (%0,9)	
	Perikard	1 (%0,9)	
Erkek	Karaciğer	38 (%37,6)	56 (%57,7)
	Akciğer	15 (%14,8)	
	Boyun	2 (%1,8)	
	Femur	1 (%0,9)	
	Spinal	1 (%0,9)	
	Mesane	1 (%0,9)	
	Böbrek	1 (%0,9)	
Toplam		101(% 100)	97 (%100)



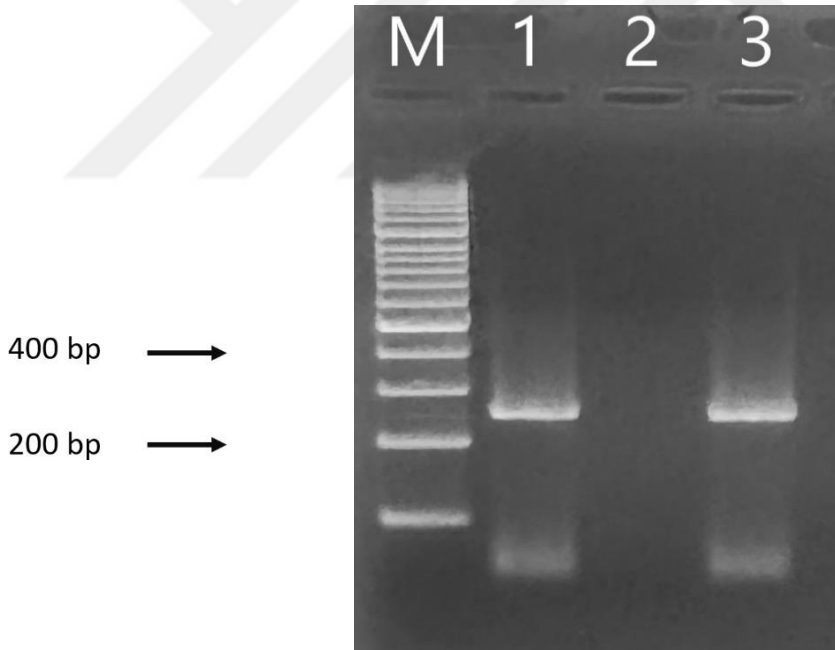
Şekil 9: Çalışma akış çizelgesi.

2. Deoksiribonükleik Asit İzolasyonu

Elde edilen 101 kist hidatik materyalinden, genomik DNA izolasyon kiti kullanılarak DNA ekstraksiyonu yapıldı.

3. PCR yöntemiyle Mitokondriyal 12S rRNA gen bölgesinin çoğaltılması

Echinococcus granulosus izolatlarının 12S rRNA gen bölgelerine spesifik E.g.ss1.fw ve E.g.ss1.rev primerleri kullanılarak uygulanan PCR sonucunda 254 bp'lık bant veren örnekler tespit edildi (Şekil 10). Şekil 10'da pozitif kontrol, negatif kontrol ve 1 numaralı izolatın 12S rRNA gen bölgesinin jel elektroforezi sonucunda tespit edilen bant görüntüleri bulunmaktadır. Bu çalışmaya dahil edilen 101 kist hidatik örneklerinin tamamı *E. granulosus* sensu stricto olarak tanımlanmıştır.



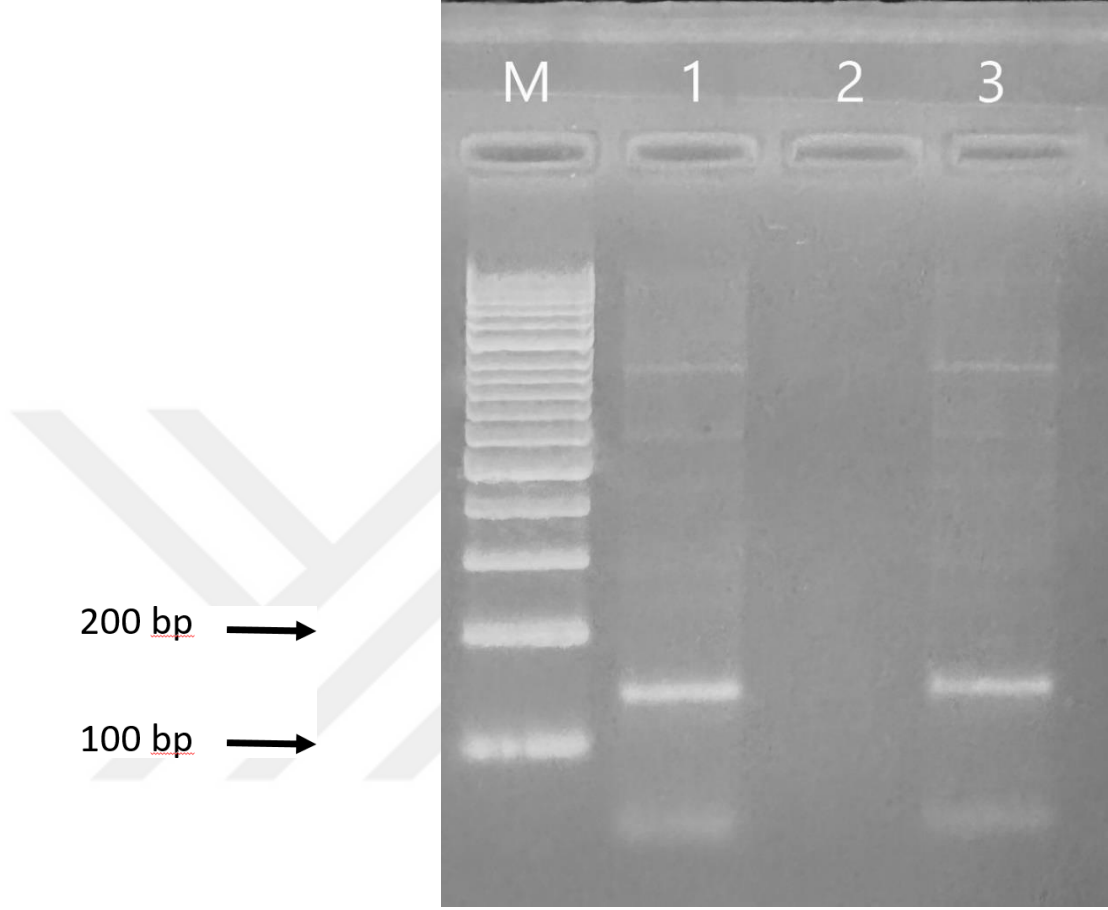
M: DNA boyut markırı (100 bp); 1: pozitif kontrol; 2: negatif kontrol; 3: 1 numaralı izolat

Şekil 10. Bir numaralı izolatın “12S rRNA” gen bölgesinin jel görüntüsü.

4. PCR-SSCP PCR-SSCP yöntemi ile EgAgB1, EgAgB2 ve EgAgB4 gen bölgelerinin değerlendirilmesi

Kist hidatik materyallerine uygulanan DNA izolasyonu sonucunda elde edilen genomik DNA'nın EgAgB1 gen bölgesi AgB1.fw ve AgB1.rev primerleri ile çoğaltıldı ve 129 baz çifti uzunluğunda bantlar elde edildi. Şekil 11'de pozitif kontrol, negatif kontrol ve 1 numaralı

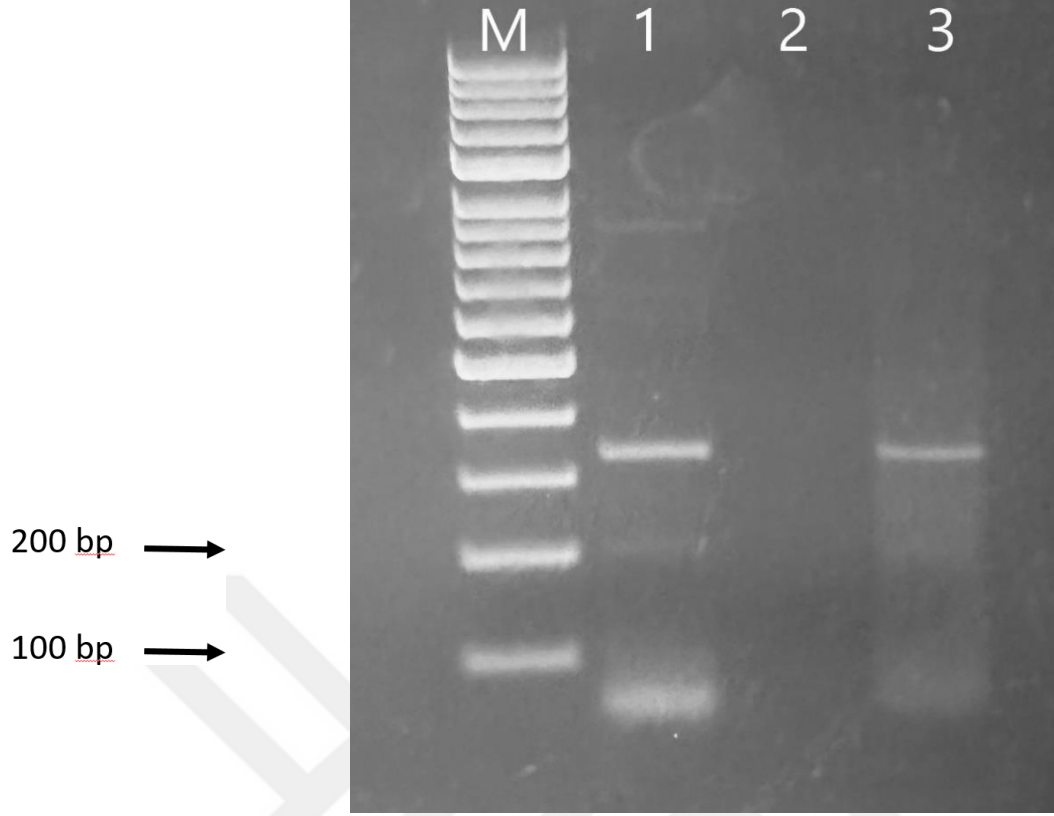
izolata ait EgAgB1 gen bölgesinin jel elektroforezi sonucunda elde edilen bant profilleri bulunmaktadır.



M: DNA boyut markırı (100 bp); **1:** pozitif kontrol; **2:** negatif kontrol; **3:** 1 numaralı izolat

Şekil 11. Bir numaralı izolatın “EgAgB1” gen bölgesinin jel görüntüsü.

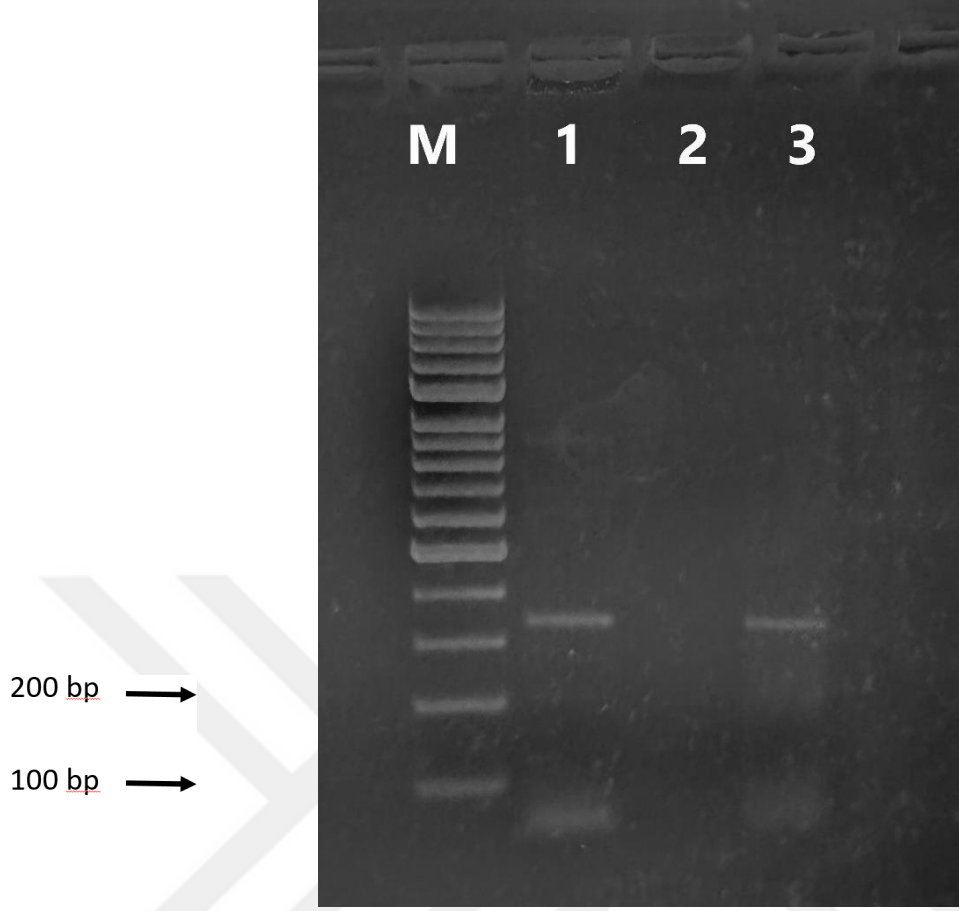
Antijen B2 gen bölgesi AgB2.fw ve AgB2.rev primerleri ile çoğaltıldı ve yaklaşık 350 baz çifti uzunluğunda bantlar elde edildi. Pozitif kontrol, negatif kontrol ve 1 numaralı izolata ait EgAgB2 gen bölgesinin jel elektroforezi sonucunda elde edilen bant profilleri Şekil 12’te bulunmaktadır.



M: DNA boyut markırı (100 bp); **1:** pozitif kontrol; **2:** negatif kontrol; **3:** 1 numaralı izolat

Şekil 12. Bir numaralı izolatın “EgAgB2” gen bölgesinin jel görüntüsü.

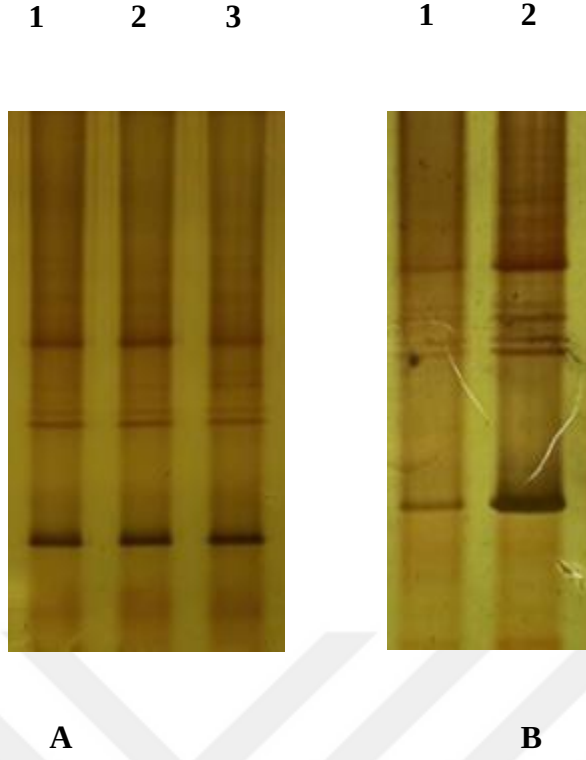
Antijen B4 gen bölgesi AgB4.fw ve AgB4.rev primerleri ile çoğaltıldı ve 333 baz çifti uzunluğunda bantlar elde edildi. Pozitif kontrol, negatif kontrol ve 1 numaralı izolata ait EgAgB2 gen bölgesinin jel elektroforezi sonucunda elde edilen bant profilleri Şekil 13’te bulunmaktadır.



M: DNA boyut markırı (100 bp); 1: pozitif kontrol; 2: negatif kontrol; 3: 1 numaralı izolat

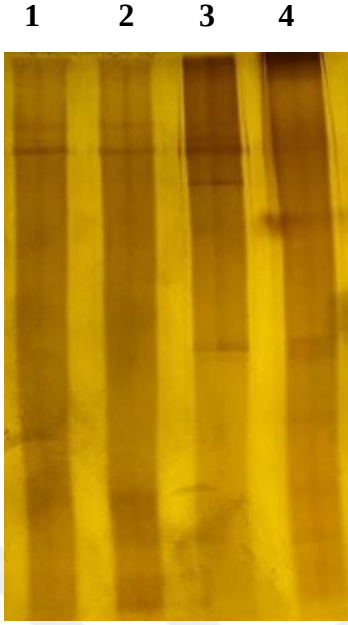
Şekil 13. Bir numaralı izolatın “EgAgB4” gen bölgesinin jel görüntüsü.

İzolatların antijen B1 gen bölgesine spesifik primerler kullanılarak yapılan PCR ürünlerine SSCP yöntemi uygulandı ve örneklerle ait 3 farklı patern tespit edildi. Bir izolat PCR-SSCP analizinde görünür bant sergilemediği için değerlendirme dışı bırakıldı. İzolatların 96’sı patern 1, 3’ü patern 2, 1’i patern 3’ü sergiledi. Yapılan PCR-SSCP analizi sonucunda elde edilen bant görüntüleri Şekil 14’te gösterilmektedir.



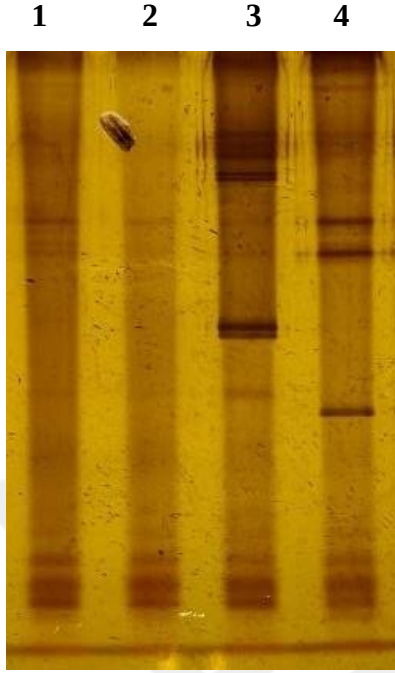
Şekil 14. *Echinococcus granulosus* izolatlarının “EgAgB1” gen bölgesinin PCR-SSCP analizi sonucunda elde edilen bant görüntüleri: A- patern 1 (1 ve 2) ve patern 2 (3), B- patern 2 (1) ve patern 3 (2).

Toplanan izolatların EgAgB2 gen bölgesinin PCR -SSCP analizi yapıldı ve üç farklı bant paterni tespit edildi. Üç izolat PCR-SSCP analizinde görünür bant sergilemediği için değerlendirme dışı bırakıldı. İzolatların 86’i patern A, 10’u patern B’yi, 2’si patern C’yi sergiledi. İzolatların yapılan PCR-SSCP analizi sonucunda görüntülenen bant paternleri Şekil 15’de gösterilmektedir.



Şekil 15. *Echinococcus granulosus* izolatlarının “EgAgB2” gen bölgesinin PCR-SSCP analizi sonucunda elde edilen bantları: patern A (1 ve 2), patern B (3) ve patern C (4).

Toplanan izolatların EgAgB4 gen bölgesinin PCR -SSCP analizi yapılarak üç farklı bant paterni tespit edildi. Beş izolat PCR-SSCP analizinde görünür bant sergilemediği için değerlendirme dışı bırakıldı. İzolatların 83’ü patern I, 8’i patern II, 5’i patern III’ü sergiledi. İzolatların yapılan PCR-SSCP analizi sonucunda görüntülenen bant paternleri Şekil 16’da gösterilmektedir.

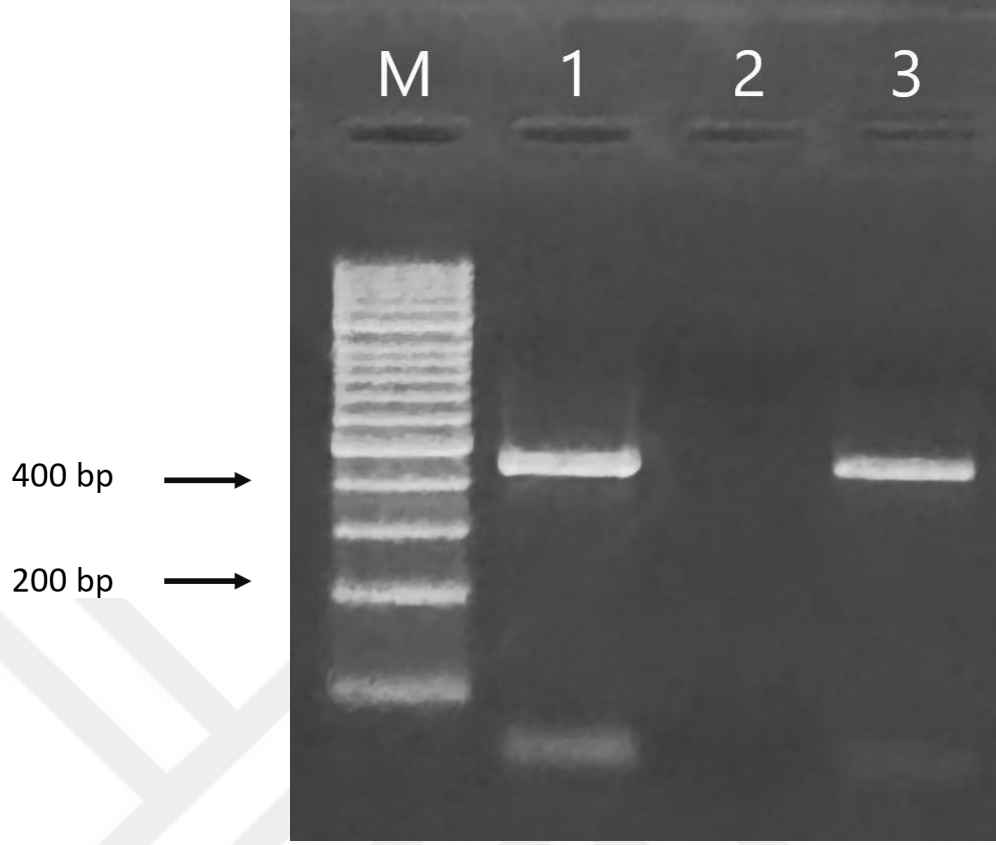


Şekil 16. *Echinococcus granulosus* izolatlarının “EgAgB4” gen bölgesinin PCR-SSCP analizi sonucunda elde edilen bantları: patern I (1 ve 2), patern II (3) ve patern III (4).

5. Filogenetik analiz

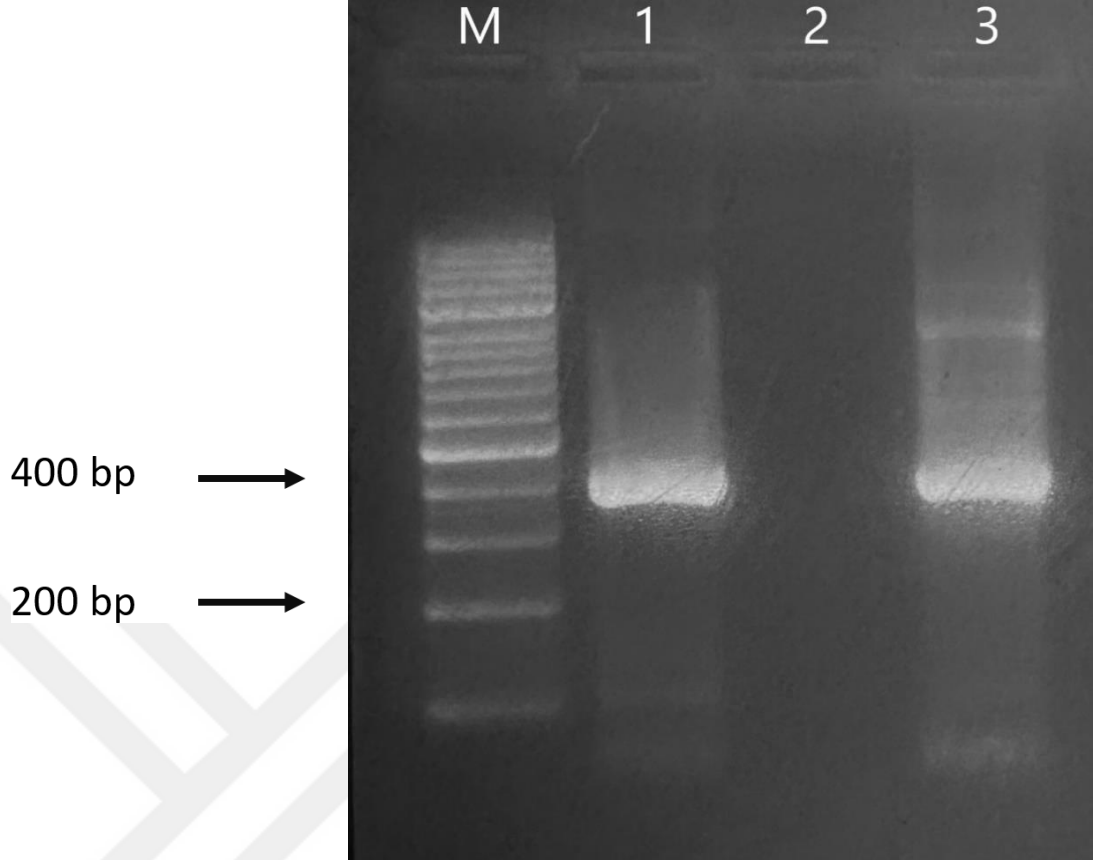
PCR-SSCP değerlendirmesi sonucu farklı bant paterni segileyen izolatlardan seçilen 30 örneğin mitokondrial CO1 ve ND1 gen bölgeleri PCR yöntemi ile çoğaltıldı.

CO1 gen bölgesini çoğaltan JB3 ve JB 4.5 primerleriyle yapılan PCR reaksiyonu sonucunda 446 bp büyüklüğünde, ND1 gen bölgesini çoğaltan MS1 ve MS2 primerleriyle yapılan PCR reaksiyonu sonucunda ise yaklaşık 400 bp büyüklüğünde bantlar elde edildi. Pozitif kontrol, negatif kontrol ve 1 numaralı izolatın mitokondrial CO1 ve ND1 gen bölgelerinin jel elektroforezi sonucunda elde edilen bant görüntüleri Şekil 17 ve Şekil 18’de bulunmaktadır.



M: DNA boyut markırı (100 bp); **1:** pozitif kontrol; **2:** negatif kontrol; **3:** 1 numaralı izolat

Şekil 17. Bir numaralı izolatın CO1 gen bölgesinin PCR ile çoğaltılması sonucu oluşan bant görüntüsü.



M: DNA boyut markırı (100 bp); 1: pozitif kontrol; 2: negatif kontrol; 3: 1 numaralı izolat

Şekil 18. Bir numaralı izolatın ND1 gen bölgesinin PCR ile çoğaltılması sonucu oluşan bant görüntüsü.

Toplamda 30 izolata ait CO1 ve ND1 gen bölgelerinin PCR ürünlerine Genoks Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi (Ankara, Türkiye) tarafından çift yönlü DNA dizi analizi yapılmıştır. Elde edilen veriler referans dizilerle karşılaştırılmıştır ve izolatların 24'ünün G1 genotipi, 3'ünün G3 genotipi, 1'inin ise G2/G3 genotipi olduğu belirlenmiştir. İki izolatın ise dizi analizi sonuçlarından herhangi bir veri elde edilememiştir. ND1 gen dizileri ve referans dizi verilerinin değerlendirilmesi sonucunda 9 haplotip saptanmıştır (Tablo 4). 15 izolat G1 referans dizi (HQ717151) ile aynı dizileri paylaşıırken, üç izolatta 63T/C değişimi, 2 izolatta 288T/C değişimi, bir izolatta 63T/C ve 282T/C değişimi, 1 izolatta 282T/C değişimi, bir izolatta 69 A/G değişimi ve 1 izolatta 201A/G değişimi tespit edilmiştir. Üç izolat G2 ve G3 genotiplerine ait referans diziler (AJ237633, AJ237634) ile aynı dizileri paylaşıırken, bir izolatta 9G/C ve 69A/G değişimleri saptanmıştır. CO1 gen dizileri ve referans dizi verilerinin değerlendirilmesi sonucunda ise 20 izolat değerlendirilmeye alınırken, 10 izolat değerlendirme dışı kalmıştır ve değerlendirilen 20 izolata ait 8 haplotip tespit edilmiştir (Tablo 5). 4 izolat G1 referans dizi (HQ703429) ile aynı dizileri paylaşıırken, 4 izolatta 56C/T ve 108C/T değişimi, üç

izolatta 108C/T değişimi, iki izolatta 228 A/G değişimi, 2 izolatta 3T/C ve 108C/T değişimi ve bir izolatta 314G/A değişimleri tespit edilmiştir. Üç izolat G3 referans suşu ile (M84663) aynı dizileri paylaşırken, bir izolatta 91T/C, 257C/T ve 328 G/A değişimleri saptanmıştır (Tablo 6). Elde edilen sonuçlar DDJB’ye (DNA Data Bank of Japan) kayıt edilmiştir (Ek 3). Erişim numaraları Tablo 5 ve Tablo 6’da bulunmaktadır.

Tablo 4. Mitokondriyal ND1 gen dizileri ve referans dizileri içeren çoklu dizi hizalama verileri

Haplotip	Erişim numarası	Sayı / %	Değişken bölge nükleotid pozisyonu						
ND1			9	63	69	201	282	288	342
G1	HQ717151	--	G	T	A	A	T	T	A
ND-H1	LC780482	15(53,6)	.	.	.	.	.	.	.
ND-H2	LC780483	3(10,7)	.	C	.	.	.	.	.
ND-H3	LC780484	2(7,1)	.	.	.	.	.	C	.
ND-H4	LC780485	1(3,6)	.	C	.	.	C	.	.
ND-H5	LC780486	1(3,6)	.	.	.	.	C	.	.
ND-H6	LC780487	1(3,6)	.	.	G	.	.	.	.
ND-H7	LC780488	1(3,6)	.	.	.	G	.	.	.
G2	AJ237633	--	.	.	.	.	.	.	G
G3	AJ237634	--	.	.	.	.	.	.	G
ND-H8	LC780489	3(10,7)	.	.	.	.	.	.	G
ND-H9	LC780490	1(3,6)	C	.	G	.	.	.	G

Tablo 5. Mitokondriyal CO1 gen dizileri ve referans dizileri içeren çoklu dizi hizalama verileri

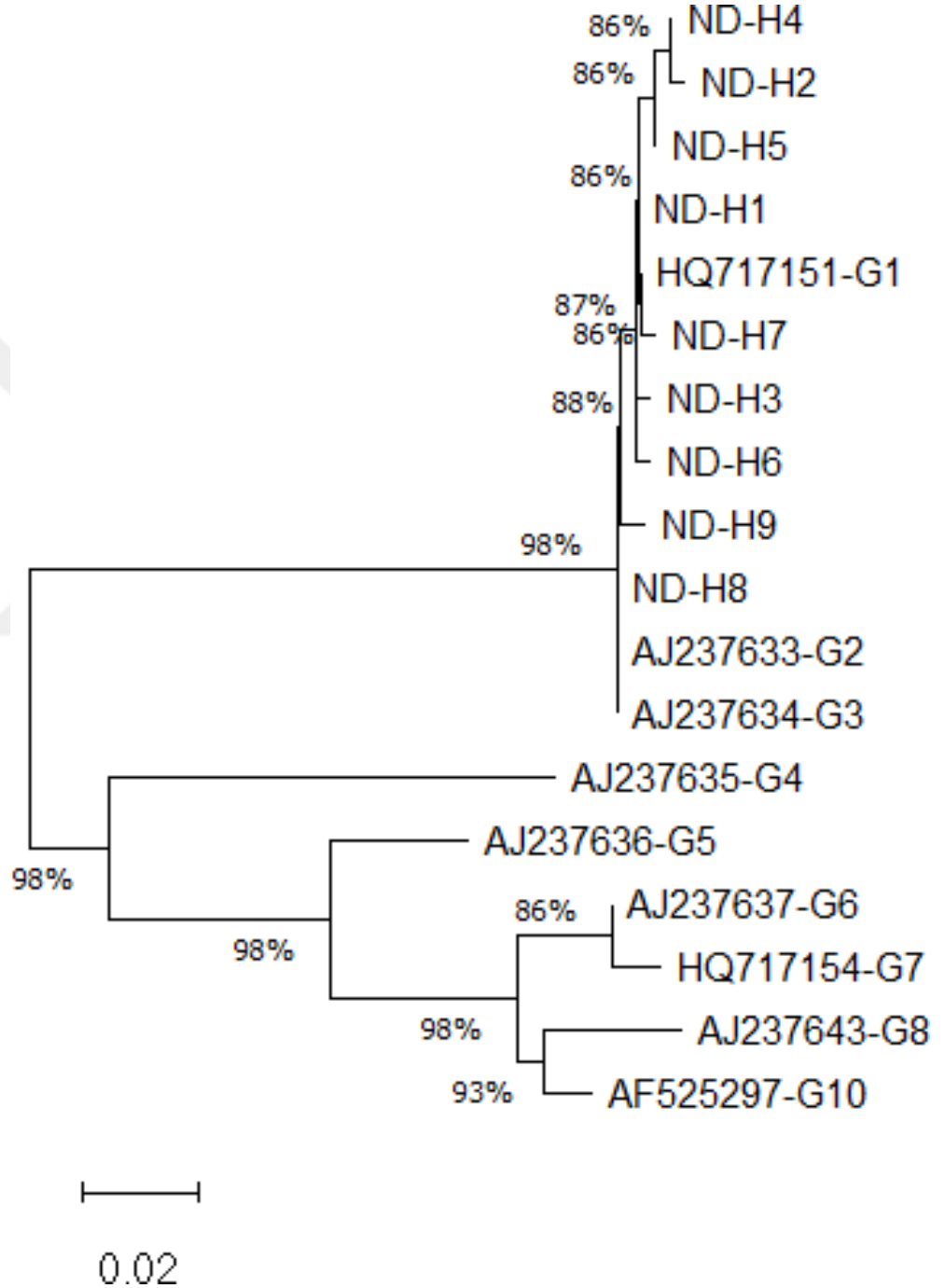
Haplotip	Erişim numarası	Sayı / %	Değişken bölge nükleotid pozisyonu							
			3	56	91	108	228	257	314	328
CO1			T	C	T	C	A	T	G	G
G1	HQ703429	--	.	.	.	.	.	.	.	.
CO-H1	LC780081	4(14,3)	.	.	.	.	.	.	.	.
CO-H2	LC780082	4(14,3)	.	T	.	T	.	.	.	.
CO-H3	LC780476	3(10,7)	.	.	.	T	.	.	.	.
CO-H4	LC780477	2(7,1)	.	.	.	.	G	.	.	.
CO-H5	LC780478	2(7,1)	C	.	.	T	.	.	.	.
CO-H6	LC780479	1(3,6)	.	.	.	.	.	.	A	.
G2	M84662	--	.	T	.	.	.	C	.	.
G3	M84663	--	.	.	.	.	.	C	.	.
CO-H7	LC780480	3(10,7)	.	.	.	.	.	C	.	.
CO-H8	LC780481	1(3,6)	.	.	G	.	.	T	.	A

Tablo 6: *E. granulosus* CO1 ve ND1 gen bölgelerine ait dizi verilerinin referans diziler ile karşılaştırılması ve erişim numaraları

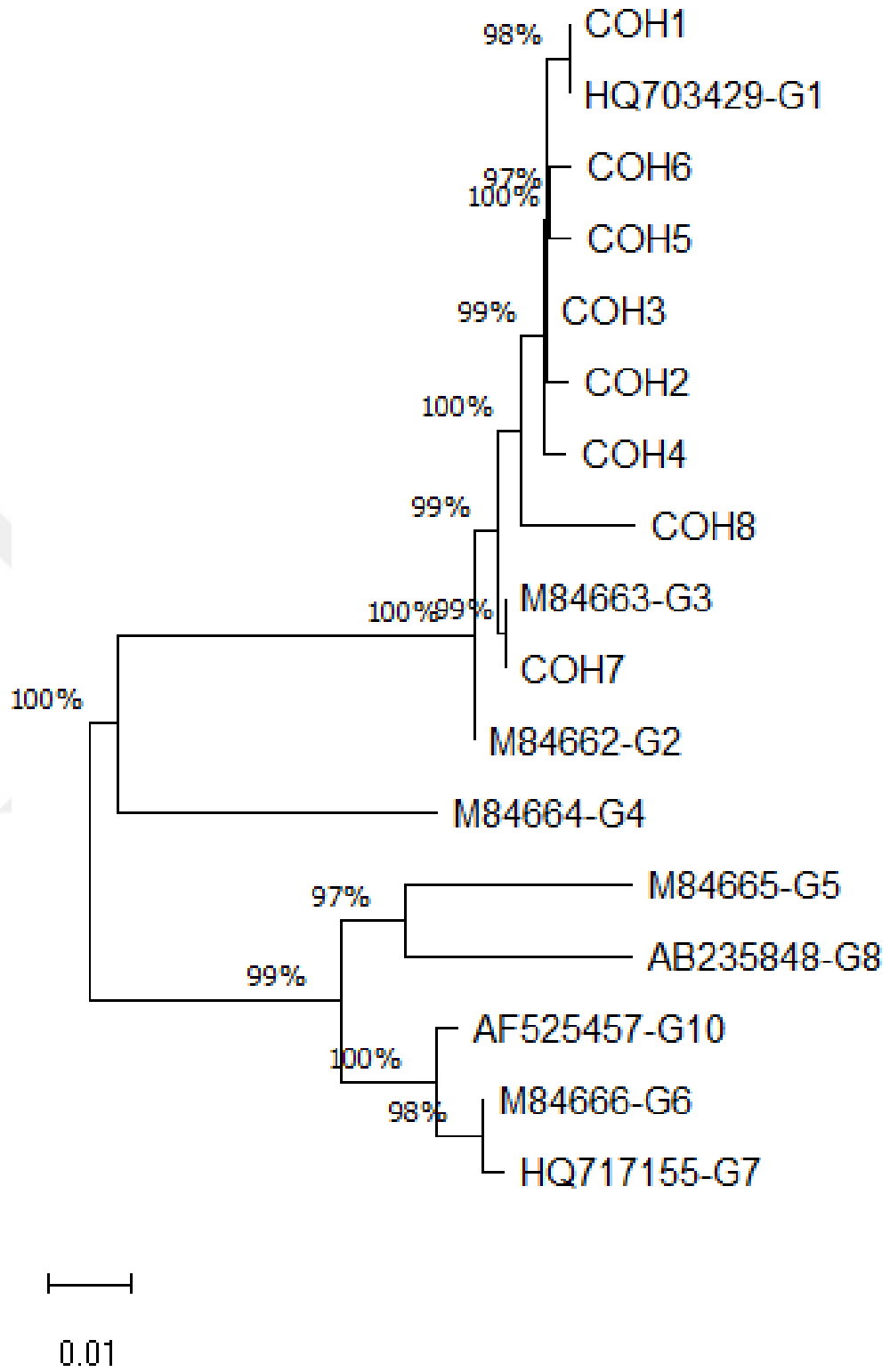
İzolat numarası	Lokalizasyon	Dizi analizi ve biyoinformatik değerlendirme sonuçları								
		CO1				ND1				Genotip
		Dizi hizalama sonuçları	Haplotip	Genbank BLAST	Erişim numarası	Dizi hizalama sonuçları	Haplotip	Genbank BLAST	Erişim numarası	
1	KC	Veri yok				G1	H1	HQ717151 ile aynı	LC780482	G1
2	KC	G1	H1	HQ703429 ile aynı	LC780081	G1	H1	HQ717151 ile aynı	LC780482	G1
7	KC	G3	H7	M84663 ile aynı	LC780480	G2/G3	H8	AJ237633 ile aynı	LC780489	G3
10	KC	Veri yok				(201A/G)	H7	MN696624 ile aynı	LC780488	G1
14	AC	(108C/T)	H3	OQ345778 ile aynı	LC780476	(288T/C)	H3	MH557969 ile aynı	LC780484	G1
15	KC	(108C/T)	H3	OQ345778 ile aynı	LC780476	(63T/C, 282T/C)	H4	MH557961 ile ortak baz değişimi mevcut	LC780485	G1
17	KC	Veri yok				(282T/C)	H5	Bu baz değişimi mevcut değil	LC780486	G1
21	KC	G1	H1	HQ703429 ile aynı	LC780081	G1	H1	HQ717151 ile aynı	LC780482	G1
22	FEMUR	(108C/T)	H3	OQ345778 ile aynı	LC780476	G1	H1	HQ717151 ile aynı	LC780482	G1
23	KC	Veri yok				G1	H1	HQ717151 ile aynı	LC780482	G1
25	KC	G1	H1	HQ703429 ile aynı	LC780081	G1	H1	HQ717151 ile aynı	LC780482	G1
33	KC	(314G/A)	H6	Bu baz değişimi mevcut değil	LC780479	(288T/C)	H3	MH557969 ile aynı	LC780484	G1
35	KC	(228A/G)	H4	Bu baz değişimi mevcut değil	LC780477	G1	H1	HQ717151 ile aynı	LC780482	G1
36	KC	(228A/G)	H4	Bu baz değişimi mevcut değil	LC780477	G1	H1	HQ717151 ile aynı	LC780482	G1
37	KC	Veri yok	G1	H1	HQ717151 ile aynı	G1	H1	HQ717151 ile aynı	LC780482	G1

43	KC	Veri yok				G1	H1	HQ717151 ile aynı	LC780482	G1
50	AC	(56C/T, 108C/T)	H2	MT537160 ile aynı	LC780082	(63T/C)	H2	MH557961 ile aynı	LC780483	G1
52	KC	Veri yok				G1	H1	HQ717151 ile aynı	LC780482	G1
56	KC	(91T/C, 257C/T, 328G/A)	H8	MK319871 ile ortak baz değişimi mevcut	LC780481	G2/G3	H8	AJ237633 ile aynı	LC780489	G2/G3
61	MESANE	(3T/C, 108C/T)	H5	MG672221 ile aynı	LC780478	G1	H1	HQ717151 ile aynı	LC780482	G1
73	KC	(3T/C, 108C/T)	H5	MG672221 ile aynı	LC780478	G1	H1	HQ717151 ile aynı	LC780482	G1
82	AC	(56C/T, 108C/T)	H2	MT537160 ile aynı	LC780082	G1	H1	HQ717151 ile aynı	LC780482	G1
85	KC	(56C/T, 108C/T)	H2	MT537160 ile aynı	LC780082	(63T/C)	H2	MH557961 ile aynı	LC780483	G1
87	KC	Veri yok				(69A/G)	H6	Bu baz değişimi mevcut değil	LC780487	G1
89	KC	(56C/T, 108C/T)	H2	MT537160 ile aynı	LC780082	(63T/C)	H2	MH557961 ile aynı	LC780483	G1
92	AC	G3	H7	M84663 ile aynı	LC780480	(9G/C, 69A/G)	H9	Bu baz değişimi mevcut değil	LC780490	G3
94	KC	G3	H7	M84663 ile aynı	LC780480	G2/G3	H8	AJ237633 ile aynı	LC780489	G3
98	AC	G1	H1	HQ703429 ile aynı	LC780081	G1	H1	HQ717151 ile aynı	LC780482	G1
Referans diziler		CO1			HQ703429(7)	ND1			HQ717151(7)	G1
					M84662(17)				AJ237633(46)	G2
					M84663(17)				AJ237634(46)	G3
					M84664(17)				AJ237635(46)	G4
					M84665(17)				AJ237636(46)	G5
					M84666(17)				AJ237637(46)	G6
					HQ717155(7)				HQ717154(7)	G7
					AB235848(17)				AJ237643(51)	G8
					AF525457(17)				AF525297(51)	G10

Çalışmamızdan elde edilen haplotiplerin CO1 dizilerinin ve referans dizilerin oluşturduğu filogenetik ağaç Şekil 19’da, ND1 dizilerinin ve referans dizilerin oluşturduğu filogenetik ağaç ise Şekil 20’de gösterilmektedir.



Şekil 19. *E. granulosus* izolatlarının ND1 gen bölgelerinin oluşturduğu filogenetik ağaç.



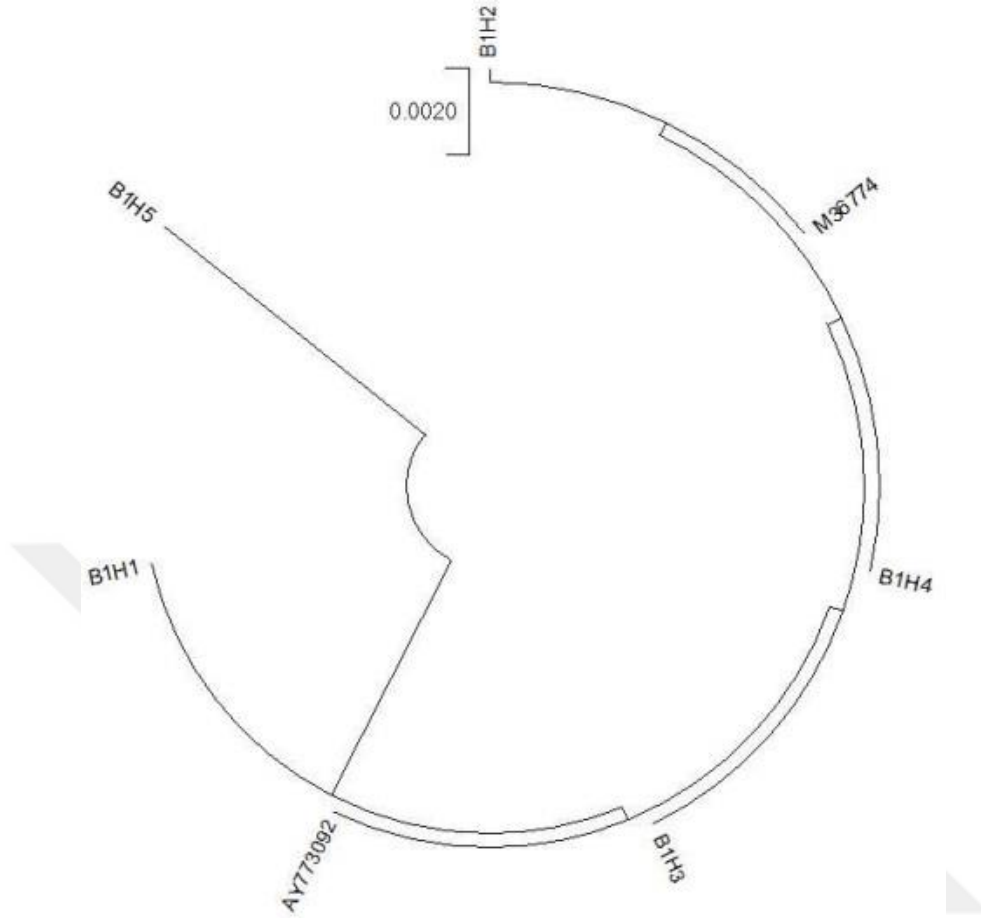
Şekil 20. *E. granulosus* izolatlarının CO1 gen bölgelerinin oluşturduğu filogenetik ağaç.

PCR-SSCP değerlendirmesi sonucu farklı bant paterni seğıleyen izolatlardan seğılen 25 izolatın AgB1 gen bölgelerini içeren PCR ürünleri saflaştırıldı. Ardından Genoks Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi (Ankara, Türkiye)'ne çift yönlü DNA dizi analizi yaptırılması amacıyla gönderildi.

Antijen B1 dizileri ve referans dizileri içeren çoklu dizi hizalama verilerinin değerlendirilmesi sonucunda 5 haplotip tespit edildi. Yirmi izolat referans dizilerle (AY773092, M36774) aynı dizileri paylaşırken, polimorfizm tespit edilen 2 izolatta 105 C insersiyonu, 1 izolatta 58 T insersiyonu ve 74 G/A değişimi, 1 izolatta 43 T insersiyonu, 1 izolatta 43 T insersiyonu ve 78 C delesyonu saptandı (Tablo 7). Referans diziler ve çalışmamızda elde edilen haplotiplerin EgAgB1 gen bölgelerinin filogenetik analizi sonucu elde edilen filogram Şekil 21'de gösterilmektedir. EgAgB1 izolatlarına ait dizi verileri, uzunluğu 100 nükleotitten az olan diziler kabul edilmediği için DDJB'ye kayıt edilememiştir.

Tablo 7. EgAgB1 gen dizileri ve referans dizileri içeren çoklu dizi hizalama verileri

Haplotip	Erişim numarası	Sayı / %	Değişken bölge nükleotid pozisyonu				
EgAgB1			43 – 58	74 – 78	105		
Referans 1	AY773092	--	--	--	G	C	--
Referans 2	M36774	--	--	--	.	.	--
B1H1	--	20(80)	--	--	.	.	--
B1H2	--	2(8)	--	--	.	.	C
B1H3	--	1(4)	--	T	A	.	--
B1H4	--	1(4)	T	--	.	.	--
B1H5	--	1(4)	T	--	.	--	--



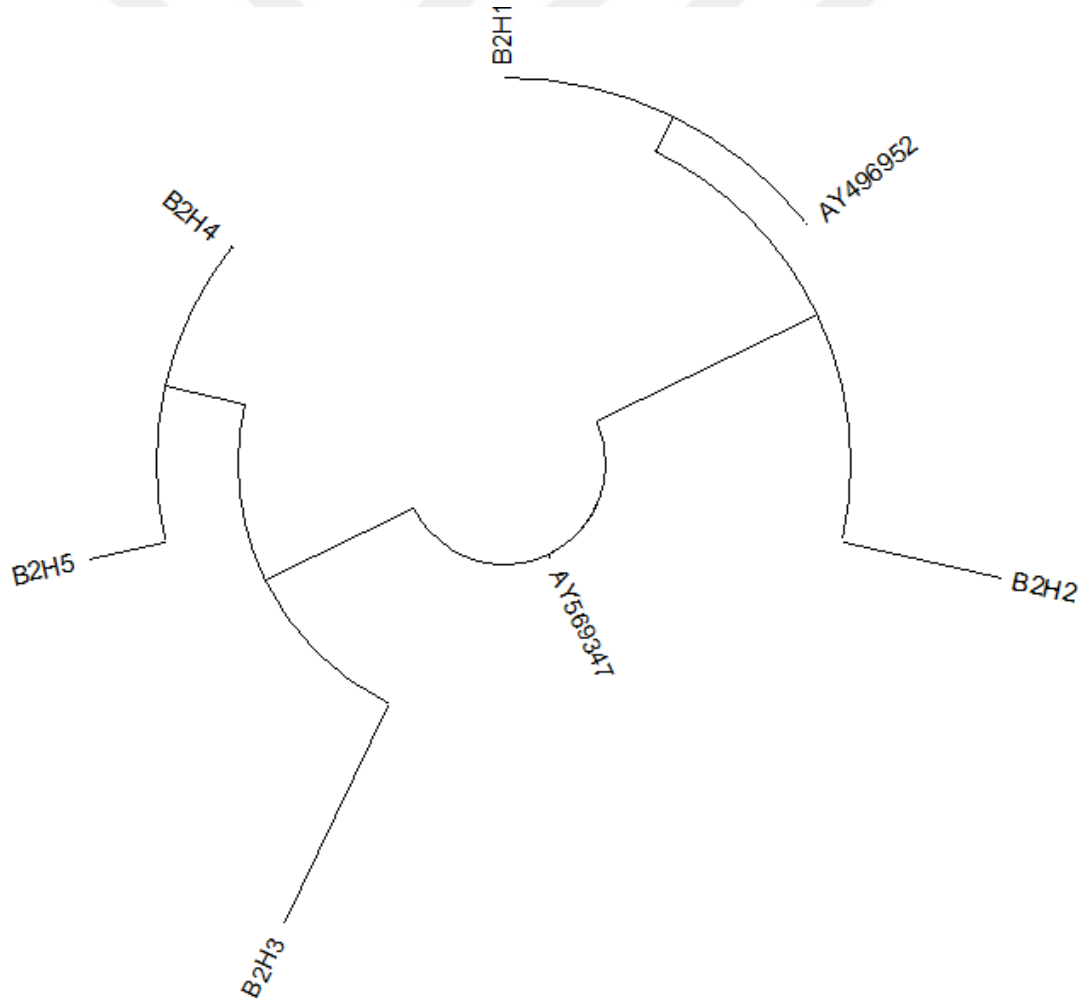
Şekil 21. *E. granulosus* insan izolatlarının EgAgB1 gen bölgelerinin filogenetik analizi sonucu elde edilen filogram.

PCR-SSCP değerlendirmesi sonucu farklı bant paterni segileyen izolatlardan 10 izolatın AgB2 gen bölgelerini içeren PCR ürünleri saflaştırıldı.

Antijen B2 dizileri ve referans dizileri içeren çoklu dizi hizalama verilerinin değerlendirilmesi sonucunda 5 haplotip tespit edildi. Üç izolat AY496952 ve AY569347 referans dizileri ile tamamen aynı iken, diğer haplotiplerde referans dizilerden farklı olarak; iki izolatta 108A/C ve 200G/C değişimi, iki izolatta 69C/T, 80C/G, 179G/A değişimi, iki izolatta 80C/G ve 200G/C değişimi ve bir izolatta 80C/G ve 179G/A değişimi tespit edildi (Tablo 8). EgAgB2 izolatlarına ait dizi verileri DDJB'ye kayıt edilmiştir. Erişim numaraları Tablo 8'de bulunmaktadır. Referans diziler ve çalışmamızda elde edilen haplotiplerin EgAgB2 gen bölgelerinin filogenetik analizi sonucu elde edilen filogram Şekil 22'de gösterilmektedir.

Tablo 8. EgAgB2 gen dizileri ve referans dizileri içeren çoklu dizi hizalama verileri

Haplotip	Erişim numarası	Sayı / %	Değişken bölge nükleotid pozisyonu
EgAgB2			69 – 80 – 108 – 179 – 200
Referans 1	AY496952	--	C C A G G
Referans 2	AY569347	--	T
B2H1	LC780491	3(30)	
B2H2	LC780492	2(20)	. . C . C
B2H3	LC780493	2(20)	T G . A .
B2H4	LC780494	2(20)	. G . . C
B2H5	LC780495	1(10)	. G . A .



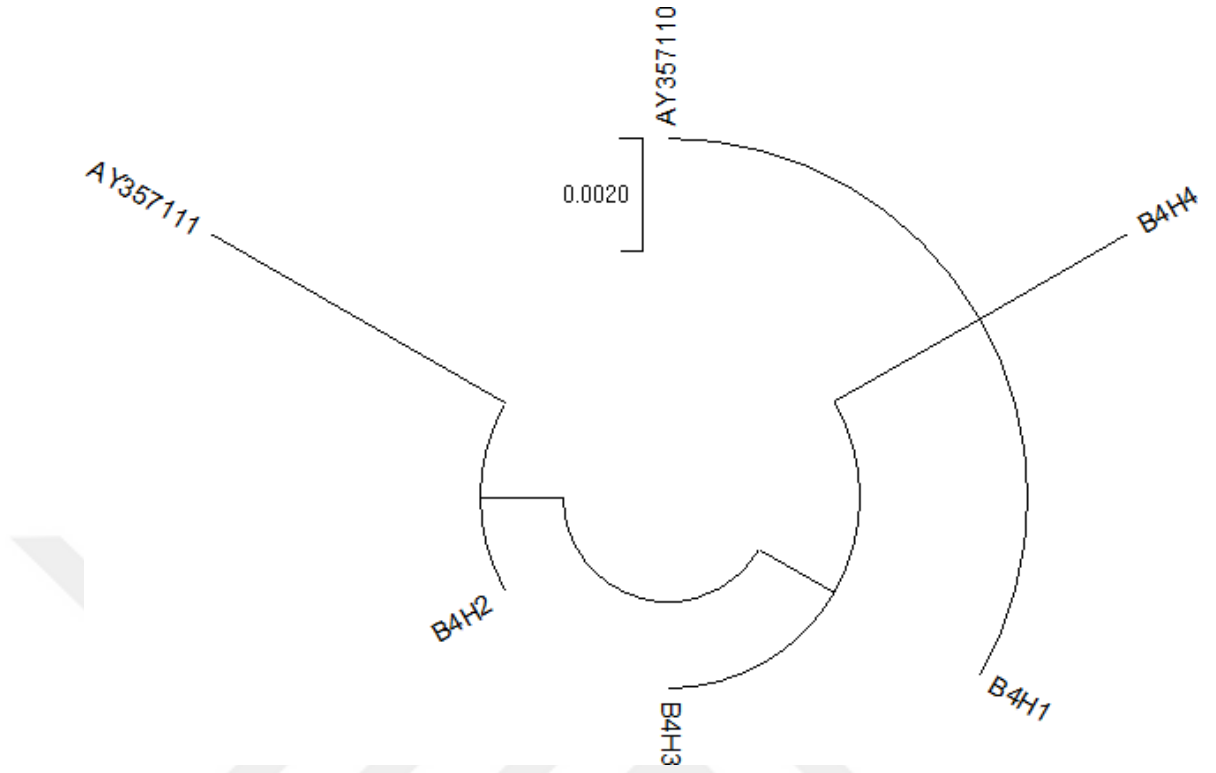
Şekil 22. *E. granulosus* insan izolatlarının EgAgB2 gen bölgelerinin filogenetik analizi sonucu elde edilen filogram.

PCR-SSCP değerlendirmesi sonucu farklı bant paterni segileyen izolatlardan seçilen 12 izolatın AgB4 gen bölgelerini içeren PCR rnleri saflaştırıldı.

Antijen B4 dizileri ve referans dizileri içeren çoklu dizi hizalama verilerinin değerlendirilmesi sonucunda 4 haplotip tespit edildi. Beş izolat AY357110 ve AY357111 referans dizileri ile tamamen aynı iken, diğer izolatlarda referans dizilerden farklı olarak; üç izolatta 63 C/G ve 77 C/T değişimi, iki izolatta sadece 63 C/G değişimi, iki izolatta 219 G/C değişimi tespit edildi (Tablo 9). EgAgB4 izolatlarına ait dizi verileri DDJB'ye kayıt edilmiştir. Erişim numaraları Tablo 9'de bulunmaktadır. Referans diziler ve çalışmamızda elde edilen haplotiplerin EgAgB4 gen bölgelerinin filogenetik analizi sonucu elde edilen filogram şekil 23'de gösterilmektedir.

Tablo 9. EgAgB4 gen dizileri ve referans dizileri içeren çoklu dizi hizalama verileri

Haplotip	Erişim numarası	Sayı / %	Değişken bölge nükleotid pozisyonu
EgAgB4			63 – 77 – 219
Referans 1	AY357110	--	C C G
Referans 2	AY357111	--	G T .
B4H1	LC780608	5(41,6)	. . .
B4H2	LC781357	3(25)	G T .
B4H3	LC781358	2(16,7)	G . .
B4H4	LC781359	2(16,7)	. . C



Şekil 23. *E. granulosus* insan izolatlarının EgAgB4 gen bölgelerinin filogenetik analizi sonucu elde edilen filogram.

Antijen B1, AgB2 ve AgB4 gen bölgelerine ait dizi verilerinin referans diziler ile karşılaştırılması ve erişim numaraları Tablo 10’da gösterilmiştir.

Tablo 10: *E. granulosus* AgB1, AgB2 ve AgB4 gen bölgelerine ait dizi verilerinin referans diziler ile karşılaştırılması ve erişim numaraları

İzolot numarası	Dizi analizi ve biyoinformatik değerlendirme sonuçları								
	EgAgB1			EgAgB2			EgAgB4		
	Dizi hizalama sonuçları	Genbank BLAST	Erişim numarası	Dizi hizalama sonuçları	Genbank BLAST	Erişim numarası	Dizi hizalama sonuçları	Genbank BLAST	Erişim numarası
1	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	AY496952 ile aynı		LC780491	AY357110 ile aynı		LC780608
2	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	Veri yok			AY357110 ile aynı		LC780608
7	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	69C/T, 80C/G, 179G/A	Bu baz değişimi mevcut değil	LC780493	219 G/C	Bu baz değişimi mevcut değil	LC781359
10	58 T +, 74 G/A	Bu baz değişimi mevcut değil	*	Veri yok			Veri yok		
14	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	108A/C, 200G/C	Bu baz değişimi mevcut değil	LC780492	AY357110 ile aynı		LC780608
15	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	Veri yok			AY357110 ile aynı		LC780608
17	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	80C/G, 200G/C	Bu baz değişimi mevcut değil	LC780494	Veri yok		
21	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	69C/T, 80C/G, 179G/A	Bu baz değişimi mevcut değil	LC780493	Veri yok		
22	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	Veri yok			Veri yok		
23	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	80C/G ve 200G/C	Bu baz değişimi mevcut değil	LC780494	Veri yok		
25	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	108A/C, 200G/C	Bu baz değişimi mevcut değil	LC780492	Veri yok		
33	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	Veri yok			Veri yok		
35	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	80C/G, 179G/A	Bu baz değişimi mevcut değil	LC780495	63 C/G	Bu baz değişimi mevcut değil	LC781358

36	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	Veri yok		Veri yok		
37	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	Veri yok		Veri yok		
43	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	Veri yok		Veri yok		
50	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	Veri yok		63 C/G	Bu baz değişimi mevcut değil	LC781358
52	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	Veri yok		Veri yok		
56	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	Veri yok		63 C/G ve 77 C/T	Bu baz değişimi mevcut değil	LC781357
61	105 C+	Bu baz değişimi mevcut değil	*	AY496952 ile aynı	LC780491	63 C/G ve 77 C/T	Bu baz değişimi mevcut değil	LC781357
73	105 C+	Bu baz değişimi mevcut değil	*	Veri yok		63 C/G ve 77 C/T	Bu baz değişimi mevcut değil	LC781357
85	43 T+	Bu baz değişimi mevcut değil	*	Veri yok		AY357110 ile aynı		LC780608
92	43 T+,78 C-	Bu baz değişimi mevcut değil	*	AY496952 ile aynı	Veri yok	Veri yok		
94	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	Veri yok		219 G/C	Bu baz değişimi mevcut değil	LC781359
98	AY773092 ve M367741 ile aynı		*	Veri yok		Veri yok		
Referans diziler	EgAgB1		AY773092(17)	EgAgB2	AY569347(21)	EgAgB4		AY357110(13)
			M367741(13)		AY496952(13)			AAQ74958(194)

6. Haplotip analizi

Analizi yapılan CO1 ve ND1 gen dizisinde *E. granulus* izolatlarının uzunlukları sırasıyla 362 bp ve 371 bp idi. CO1 gen haplotip ağı, 8 haplotipe sahipti; ana haplotip, diğer haplotiplerden 1-3 mutasyon adımıyla ayrılmış ve toplam izolat sayısının %20'sidir (4/20). ND1 gen haplotip ağı, 9 haplotipe sahip olmakla birlikte, ana haplotip diğer haplotiplerden 1-2 mutasyon adımıyla ayrılmış ve toplam izolat sayısının %54'ünü (15/28) kapsamaktadır.



TARTIŞMA

Kistik ekinokokkozis, başta az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler olmak üzere tüm dünyada insan ve hayvanlarda görülen, *Echinococcus* cinsine ait sestod larvalarının neden olduğu önemli bir halk sağlığı sorunudur (1).

Eşek, at, kanguru, tavşan, deve, geyik, keçi, koyun, sığır dahil olmak üzere çok sayıda ara konak hayvanlar ve insanlar, *Echinococcus granulosus*'un farklı suşları tarafından enfekte edilebilmektedir (51). *Echinococcus* cinsinin sınıflandırılması uzun süredir tartışılmakla birlikte bu cinse ait güncel olarak 10 tür bulunmakta olup, bu türlerden biri olan *E. granulosus* önemli suş varyasyonları içermektedir (197). Parazitin konak özgüllüğü, biyolojik döngüsü, büyüme hızı, patojenite ve antijenite, kemoterapötiklere duyarlılık, bulaşma dinamikleri, epidemiyoloji ve hastalık kontrol stratejilerinin tümü bu suş farklılıklarına bağlı olarak değişebilir. Bu bağlamda, kontrol ve eradikasyon girişimlerini başarılı bir şekilde üstlenebilmek için endemik bölgelerdeki baskın suş veya suşların tanımlanması gerekmektedir (198).

Çalışmamızda bulunan 101 hidatik kistin 67'si (%66,3) karaciğer, 24'ü (%23,7) akciğer, 3'ü (%2,9) boyun, 2'si (%1,8) femur yerleşimli iken; birer (%0,9) adet de böbrek, dalak, spinal, mesane ve perikard yerleşimli kist mevcut idi. Çalışmamızda literatürde bulunan birçok araştırma ile uyumlu olarak en sık karaciğer lokalizasyonu, ikinci sırada ise akciğer lokalizasyonu tespit edilmiştir (124,125). İnsanların fazla et tükettiği ülkelerde kistler, %70 karaciğer, %20 akciğer ve %10 diğer organ yerleşimli olmakla birlikte, bitkisel ağırlıklı beslenen bölgelerde bu kistler %55 karaciğer, %35 akciğer ve %10 diğer organlarda görülmektedir (199). Ülkemizde en sık görülen yerleşim yeri karaciğer (%50-54) olup, *E. granulosus* akciğer (%35-40), kalp, iskelet, beyin, böbrek ve dalak gibi pek çok organda (%11) tutuluma neden olabilmektedir (200). Ancak yapılan araştırmalara bakıldığında çalışmamızdan farklı olarak, en sık yerleşim yeri akciğer lokalizasyonu olan çalışmalar da mevcuttur (201).

Echinococcus cinsi içindeki genetik varyasyonu tespit etmek için DNA dizileme, PCR, RFLP, PZR-RFLP, RAPD-PCR ve SSCP gibi moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Bu amaçla en sık kullanılan gen bölgeleri; 12s ribozomal RNA, ribozomal DNA ITS1, mitokondriyal CO1 ve mitokondriyal ND1'dir. Başka hiçbir yaklaşım genotipik farklılıkları doğrudan değerlendiremediğinden ötürü DNA dizileme yöntemi, en güvenilir moleküler teknik ve referans yöntem olarak kabul edilmektedir. Yöntemin kararlılığı, tekrarlanabilirliği, ayırt etme gücü ve tiplendirilebilirliği oldukça iyi olmakla birlikte, uygulaması zordur ve pahalıdır (153,202).

İnsan, domuz, keçi, koyun ve sığır ara konaklarından elde edilen hidatik kist materyallerinden DNA izolasyonu yapıp, 12S rRNA geni kullanarak PCR işlemi uygulanan bir çalışmada *E. granulosus*'un G1, G5 ve G6/G7 suş ayırımı yapılmıştır (150). Çalışmacılar elde ettikleri sonuçları Bowles ve ark. (203)'ün protokolleriyle karşılaştırmışlar ve 12S rRNA geni kullanarak uygulanan PCR temelli genotip saptama prosedürünün duyarlılığını %100 bulurken, aynı izolatlar için PCR-RFLP'nin duyarlılığını %59 olarak tespit etmişlerdir.

Koyunlardan izole edilen G1 genotipi, dünya çapında insan ekinokokkozuna en çok neden olan ve insanlarda en yaygın görülen genotiptir (79,80). Güney Brezilya'da insanlardan elde edilen 6 adet kist hidatik izolatının dahil edildiği bir çalışmada, numunelerin 12S rRNA ve mitokondriyal CO1 genleri çoğaltılmış, ardından DNA dizi analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara bakıldığında dört insan vakasında *E. granulosus* G1 genotipi, bir insan vakasında G3 genotipi ve başka bir insan vakasında *E. ortleppi* tespit edilmiştir. Bu çalışma ile birlikte Manda suşu (G3) ilk kez Güney Amerika'dan rapor edilmiştir (204). Peru'da insanlara ait 20 izolatın dahil edildiği bir çalışmada mitokondriyal CO1 gen bölgesi çoğaltılmış ve DNA dizi analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara bakıldığında, 19 izolat G1, 1 izolat ise G6 suşu olarak bildirilmiştir (205). Arjantin'de farklı bölgeler ve ara konaklardan elde edilen izolatlarla yapılan bir çalışmada numunelere PCR-RFLP uygulanmış ardından CO1 ve NAD1 genleri DNA dizi analizi yapılmıştır. Elde edilen bulgulara göre *E. granulosus*'un 4 farklı suşu (G1, G2, G6, G7) tespit edilmiştir. Bu çalışma, Arjantin'de insanlarda ilk defa G2 ve G7 suşlarını bildiren çalışmadır (81).

Çin'de Bart ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada 47 insana ait 67 kist hidatik örneğinin mitokondriyal CO1 gen bölgesine DNA dizi analizi yapılmıştır. Sonuçlara göre 47 hastanın 45'inde bulunan kist materyalleri G1 genotipi, 2 hastaya ait kist örnekleri ise G6 genotipi olarak bulunmuştur. Bu çalışma ile Çin'de ilk defa G6 genotipi saptanmıştır (206). Çin'de yapılan bir başka çalışmada, insanlar da dahil farklı ara konaklara ait 117 kist hidatik izolatı incelenmiş ve izolatların hepsi G1 suşu olarak tespit edilmiştir (88).

Libya’da 3 insan, 12 sığır, 5 deve ve 10 koyundan elde edilen toplam 30 izolatın CO1 gen bölgelerinin DNA dizi analizleri yapılmış ve örneklerin tamamının G1 olduğu tespit edilmiştir (87). Kenya’da insanlara ait kist hidatik izolatları ile yapılan bir çalışmada, örneklerin CO1 ve ND1 gen bölgelerinin DNA dizi analizleri yapılmış, 49 izolat G1 ve 10 izolat ise G6 suşu olarak saptanmıştır (207).

Pakistan’da insanlar ve çiftlik hayvanlarından elde edilen kist materyalleri ile yapılan bir çalışmada, numunelerin CO1 gen bölgesi DNA dizi analizi ve filogenetik analizleri yapılmıştır. Sonuçlara bakıldığında çiftlik hayvanları G1 ve G3, insanlara ait iki izolat ise G1 suşu olarak tanımlanmıştır (208). Pakistan’da yapılan başka bir çalışmada ise insanlardan elde edilen 56 hidatik kist izolatı 12S rRNA geni PCR yöntemi ile çoğaltılmış, izolatların 33’ü *E. granulosus* sensu stricto olarak tanımlanmıştır. Geriye kalan 23 izolata mitokondriyal CO1 genine spesifik primerler kullanılarak PCR yöntemi uygulanmış ve yalnızca altı tanesi çoğaltılabilmektedir. Yapılan DNA dizi analizleri sonucunda Pakistan’da ilk kez *E.canadensis* (G6/G7) bildirilmiştir (209). Moğolistan’da insanlara ait 50 kist hidatik numunesinin dahil edildiği bir çalışmada örneklerin mitokondriyal CO1 ve NAD1 gen bölgeleri PCR-SSCP metoduyla incelenmiştir. Ardından yapılan DNA dizi analizleri sonucuna göre 34 örnek *E. granulosus* G1-G3 kompleksi, 16 örnek ise G6-G10 kompleksi olarak tespit edilmiştir (210).

İran’da 32 koyun, 10 insan, 5 sığır ve 3 keçi izolatları kullanılarak yapılan genotiplendirme çalışmasında; mitokondriyal CO1 ve ND1 gen bölgelerinin DNA dizi analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre 42 izolat G1, 4 izolat G2 ve 4 izolat G3 genotipi şeklinde tanımlanmıştır (211). Yine İran’da, bölgedeki *Echinococcus granosus* sensu lato’nun moleküler epidemiyolojisi hakkındaki mevcut bilgileri özetlemeyi amaçlayan bir çalışmaya göre; G1 genotipi, İran genelinde insan KE vakalarından sorumlu olan en yaygın genotiptir. Ayrıca ülkede G2 ve G3 genotipine sahip olgular da rapor edilmiştir (5). İran’da yapılan bir başka çalışmada 4 insan, 2 deve, 5 keçi, 3 koyun ve 2 sığırdan elde edilen izolatlar PCR-RFLP metodu ve ardından DNA dizi analizi yöntemi ile incelenmiştir. Keçi, koyun, sığır ve insan izolatları G1 suşu, deve izolatları ise G6 suşu olarak belirlenmiştir (212). Tunus’ta 50 insan, 3 deve, 153 koyun ve 166 sığır izolatı PCR-RFLP yöntemi ile incelenmiştir. İzolatların 37’sinin CO1 gen bölgelerine DNA dizi analizleri yapılmış ve insan, koyun ve sığır izolatları G1, 3 deve izolatı ise G6 suşu olarak tespit edilmiştir (213).

İtalya’da mandalara ait 48 izolatın CO1 gen bölgeleri DNA dizi analizi metoduyla incelenmiş, örneklerin 33’ünün G1, 15’inin ise G3 suşu olduğu saptanmıştır (214). İtalya’da domuz, sığır ve koyunlara ait 91 hidatik kist numunesi PCR-RFLP yöntemi ile incelenmiştir. Ardından örneklerin CO1 ve ND1 gen bölgelerine DNA dizi analizi uygulanmıştır. Elde edilen

sonuçlar doğrultusunda sığır ve koyunlara ait 89 izolat G1 genotipi, kalan 2 domuz izolatı ise G7 genotipi olarak tespit edilmiştir (215). Romanya’da yapılan bir çalışmada 36 adet kist hidatik örneğinin CO1 ve ND1 gen bölgelerine DNA dizi analizi yöntemi uygulanmıştır. Ardından izolatların G1, G2 ve G7 genotipinde olduğu saptanmıştır (216). İspanya’da kist hidatik rneκlerinin araştırıldığı bir çalışmada; NAD1 ve CO1 gen bölgeleri DNA dizi analizi yöntemiyle incelenmiş ve hem G1 hem de G7 genotipi tespit edilmiştir (217). Bulgaristan’da kurt, akal, domuz, koyun ve sığırllara ait 24 numunenin ND1 gen bölgeleri DNA dizi analizi yöntemiyle incelenerek tamamının G1 genotipi olduğu saptanmıştır (218). Yunanistan’da 20 keçi ve 20 koyuna ait kist hidatik rneκlerine PCR yöntemi uygulanmış ve ardından CO1 ve ND1 gen bölgeleri DNA dizi analizi yöntemi ile incelenmiştir. Elde edilen veriler sonucunda 18 koyun G1, 2 koyun G3 ve bütün keçiler G7 suşu olarak saptanmıştır (219).

Türkiye'deki insan ve hayvanlarda hastalık oluşturan *Echinococcus granulosus* izolatlarının genotip dağılımları ve epidemiyolojilerinin tartışıldığı bir derlemede, *Echinococcus granulosus* sensu stricto insan kistik ekkinokkozunda Türkiye’de en sık saptanan etken olarak tespit edilmiştir (220). Erzurum'da yapılan bir çalışmada, 173 akciğer ve 47 karaciğer hidatik kist materyallerinin, 12S rRNA gen bölgeleri PCR yöntemi ile analiz edilmiştir. Amplifikasyon ürünü veren 147 rnek G1–G3 kompleksi (*E. granulosus* sensu stricto) olarak tanımlanmıştır. Bu rneκler arasından rastgele 28 izolat seçilmiş ve yapılan DNA dizi analizi sonucu tümü *E. granulosus* G1 suşu olarak belirtilmiştir. Kalan 73 örneğe mitokondriyal CO1 geni kullanılarak PCR işlemi uygulanmış ve sadece 7 adet amplifikasyon ürünü elde edilmiştir. DNA dizi analizi sonucu bu 7 örneğin tamamının *E. granulosus* G3 suşu olduğunu belirlenmiştir (110). şimsek ve ark. (107) Erzurum ve Elazığ illerindeki koyunlardan elde edilen 31 ve sığırllardan elde edilen 23 hidatik kist materyaline 12S rRNA geni ile PCR, mitokondriyal CO1 geni ile PCR-SSCP analizi yapmışlardır. Bütün izolatların G1–G3 kompleksi (*E. granulosus* sensu stricto) olarak tanımlandığı bu çalışma, lkemizde SSCP ile *E. granulosus* genotiplendirilmesine ilişkin bildirilen ilk çalışmadır. Elazığ’da yapılan bir başka çalışmada ise 43 sığır, 25 koyun ve 31 insan izolatı 12S rRNA geni kullanılarak PCR ile analiz edilmiş ve numunelerin hepsi G1–G3 kompleksi (*E. granulosus* sensu stricto) olarak tanımlanmıştır (25).

Erzincan ve Elazığ illerindeki sığır ve koyunlardan elde edilen 120 kist hidatik materyalinin kullanıldığı bir çalışmada 12S rRNA geni kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. Amplifikasyon ürünü veren 114 izolat G1–G3 kompleksi (*E. granulosus* sensu stricto) olarak tanımlanmış, kalan 6 numunede ise mitokondriyal CO1 geni çoğaltılıp

DNA dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Yapılan dizi analizi sonucunda bu izolatların da *E. granulosus* sensu stricto olduğu saptanmıştır (22).

Ütük ve ark. (112) Kilis ilinde bulunan koyunlara ait 16 akciğer ve 12 karaciğer kist hidatik izolatlarının 12S rRNA, mitokondriyal CO1 ve ribozomal RNA genlerini PCR yöntemi kullanarak çoğaltmışlardır. Yapılan DNA dizi analizi sonucunda izolatların tümü *E. granulosus* sensu stricto (G1-G3) olarak tanımlanmıştır. Aydın'da insanlardan elde edilen 20 karaciğer hidatik kist izolatı kullanılarak yapılan bir çalışmada mitokondriyal CO1 geni PCR yöntemi kullanılarak çoğaltılmıştır. Ardından DNA dizi analizi gerçekleştirilmiş ve 15 izolat koyun suşu (G1), 5 izolat ise domuz/deve suşu (G6/7) olarak belirlenmiştir (221). Kırıkkale'de sığırlara ait 15 karaciğer ve 5 akciğer izolatının 12S rRNA, mitokondriyal CO1 ve ribozomal RNA genleri PCR yöntemi kullanılarak çoğaltılmıştır. Uygulanan DNA dizi analizine göre, izolatların hepsi *E. granulosus* sensu stricto (G1-G3) olarak tanımlanmıştır (115).

İstanbul'da insanlara ait 46 kist hidatik numunesi ile yapılan bir çalışmada, izolatların CO1 gen bölgeleri DNA dizi analizi yöntemiyle incelenmiş ve örneklerin hepsinin G1 suşu olduğu tespit edilmiştir (118). Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden kesilmek amacıyla İstanbul'a getirilen koyunlardan alınan kist örneklerinin incelendiği bir çalışmada; 100 numunenin CO1 gen bölgesi incelenmiş ve 98 izolat G1, iki izolat ise G3 suşu olarak bildirilmiştir (222).

Edirne'de yapılan bir çalışmada; 42 insan, 13 sığır ve 3 koyun izolatlarında ribozomal DNA ITS1 gen bölgesi kullanılarak PCR-RFLP yöntemi, mitokondriyal ND1 gen bölgesi kullanılarak ise PCR-SSCP yöntemi uygulanmıştır. Ardından mitokondriyal ND1 ve mitokondriyal CO1 gen bölgelerinin DNA dizi analizleri gerçekleştirilmiştir. İzolatların 57'si G1 olarak tanımlanırken, 1 izolatın da G7 olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma ile bölgedeki baskın genotipin G1 olduğu ve G7 genotipinin de bu bölgede bulunduğu gösterilmiştir (9). 2022 yılında Edirne'de, insanlardan elde edilen 12, sığırlardan elde edilen 40 ve koyunlardan elde edilen 23 olmak üzere toplam 75 hidatik kist materyalinin 12S rRNA gen bölgesi PCR yöntemi kullanılarak çoğaltılmıştır. İzolatların tümünün G1–G3 kompleksi (*E. granulosus* sensu stricto) olduğu tespit edilmiştir. Seçilen 17 izolatın, mitokondriyal CO1 ve mitokondriyal ND1 gen bölgeleri dizi analizleri sonucunda 10 G1, 4 G3, 2 G2/G3 ve bir adet G2 genotipi tespit edilmiştir. Bu çalışma ile Türkiye'de ilk kez G2 genotipi, Trakya bölgesinde ise ilk kez G3 genotipi bildirimi yapılmıştır (10).

Çalışmamızda; 101 hidatik kist materyalinin 12S rRNA gen bölgeleri E.g.ss1.fw ve E.g.ss1.rev primerleri kullanılarak çoğaltıldı ve izolatların tamamı G1–G3 kompleksi (*E. granulosus* sensu stricto) olarak belirlendi. EgAgB1, EgAgB2 ve EgAgB4 gen bölgeleri kullanılarak yapılan PCR-SSCP sonucunda farklı bant paterni gözlemlenen 30 izolatın

mitokondriyal CO1 ve mitokondriyal ND1 gen bölgeleri çoğaltılarak dizi analizi yapıldı.

Ardından elde edilen sonuçlar referans dizilerle karşılaştırıldı ve izolatların 24'ünün G1 genotipi, 3'ünün G3 genotipi, 1'inin ise G2/G3 genotipi olduğu tespit edildi. GenBank'daki (223) referans diziler ve mitokondriyal CO1 gen dizilerinin bulunduğu çoklu dizi hizalama verileri incelenerek 8 haplotip, mitokondriyal ND1 gen bölgesi için ise 9 haplotip belirlendi. Çalışmamız ile bölgedeki hakim genotipin G1 olduğu ve G3 genotipinin de bu bölgede bulunduğu gösterildi.

Çalışmamız sonucunda elde edilen CO1 haplotipleri GenBank (223) veritabanındaki diziler ile karşılaştırıldı ve 4 izolat G1 referans dizi (HQ703429) ile %100 uyumlu bulundu. Üç izolatta bulunan 108C/T değişimi, 4 izolatta bulunan 108C/T değişimine ek 56C/T değişimi ve 2 izolatta bulunan 108C/T değişimine ek 3T/C değişimi GenBank veritabanında bulunan bazı referans dizilerde (OQ345778, MT537160 ve MG672221) de tespit edildi. İki izolatta gözlemlenen 228 A/G ve bir izolatta bulunan 314G/A değişimlerine ise GenBank veritabanında rastlanmadı. Üç izolatın G3 referans suşu ile (M84663) %100 uyumlu olduğu tespit edildi. Bir izolatta bulunan 257C/T değişimi bazı referans dizilerde (MK319871, MT227294 gibi) tespit edilirken, eşzamanlı gözlemlenen 91T/C ve 328 G/A değişimleri GenBank veritabanında bulunamadı.

Çalışmamız sonucunda elde edilen ND1 haplotipleri GenBank (223) veritabanındaki diziler ile karşılaştırıldı ve 15 izolat G1 referans dizi (HQ717151) ile %100 uyumlu bulundu. Üç izolatta bulunan 63T/C değişimi, 2 izolatta bulunan 288T/C değişimi ve 1 izolatta bulunan 201A/G değişimi GenBank veritabanında bulunan bazı referans (MH557961, MH557969 ve MN696624) dizilerde de tespit edildi. Bir izolatta görülen 63T/C değişiminin bulunduğu referans diziler (MH557961) mevcut olmasına rağmen eşzamanlı 282T/C değişimine rastlanmadı. Bir izolatta görülen 69 A/G değişimi GenBank veritabanına ait referans dizilerde tespit edilemedi. Üç izolat G2 ve G3 genotiplerine ait referans diziler (AJ237634, AJ237633) ile %100 uyumlu bulundu. Bir izolatta görülen 9G/C ve 69A/G değişimleri GenBank veritabanına ait referans dizilerde tespit edilemedi.

Dünya çapında yapılan genotipleme çalışmaları incelendiği zaman en sık mitokondriyal CO1, ND1 ve ya her iki gen bölgesinin birlikte dizilendiği görülmektedir (224). Bu iki gen bölgesi arasında ise mitokondriyal CO1 DNA dizi analizi daha sık kullanılmaktadır (38,40). Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre; mitokondriyal CO1 dizi analizi verileri, mitokondriyal ND1 verilerine oranla daha fazla nükleotid değişimi içermektedir. Bu bulgular varlığında, mitokondriyal CO1 gen bölgesinin genotipleme çalışmalarında daha büyük bir ayırt edici güce sahip olduğunu gözlemlemekteyiz.

Echinococcus granulosus larval evresinin en belirgin antijenik bileşeni olan EgAgB1, kist hidatik sıvısından saflaştırılan immünodominant antijenlerin yaklaşık %90'ını temsil eder. Hem kist germinal tabakası hem de protoskoleksler tarafından sentezlenen ve salgılanan bu protein kistik ekinokokkoz tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır (11,12,225). Antijen B alt birimlerini kodlayan genlerde gözlemlenen polimorfizmler nedeniyle meydana gelen genetik varyasyonlar, üretilen B alt birimlerini değiştirebilir. Bu durumun bir sonucu olarak, kistik ekinokokkoz tanısı amacıyla kullanılan testlerin performansı önemli miktarda etkilenebilir (21). Son yapılan moleküler çalışmalara göre, AgB en az 5 gen lokusu barındıran çoklu gen ailesi tarafından kodlanmaktadır (13). Yapılan çalışmalarda; AgB1, AgB2 ve AgB4'ün parazitin diğer gelişim aşamalarına kıyasla, larva aşaması tarafından daha yüksek seviyelerde salgılandığı tespit edilmiştir (18). Özellikle insan kistleri incelendiğinde, en iyi tanısal performans gösteren alt birim AgB2 olarak bildirilmiştir (19). EgAgB alt birimlerinde meydana gelen polimorfizmleri tespit etmek amacıyla sıklıkla kullanılan moleküler metotlar PCR, PCR-RFLP ve PCR-SSCP'dir. Ardından DNA dizi analizi ve bioinformatik yöntemler kullanılarak gözlemlenen polimorfizmler teyit edilebilmektedir. EgAgB polimorfizmlerini tespit etmek amacı ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında; sıklıkla antijen B1 ve antijen B2 alt ünitelerinin kullanıldığı görülmekle birlikte, literatürde antijen B4 alt birimine ait çalışmalar da mevcuttur (13,20–24,70).

Antijen B alt birimlerinde oluşan polimorfizmleri tespit etmek amacıyla yapılan bir çalışmada; bir adet kist hidatik örneğinin DNA'sı ekstrakte edilmiş ve restriksiyon enzimleri ile parçalanıp Southern blot ve hibridizasyon yöntemleri uygulanmıştır. Aynı örneğin farklı bir bölgesinden mikroskop altında 3 adet protoskoleks pipetlenerek distile suya aktarılmıştır. Her 3 protoskolekse birbirinden bağımsız iki ayrı PCR reaksiyonu uygulanmış ve amplifikasyon ürünleri bir plazmit vektöründe klonlanarak her deneyden 30 klonun plazmit eklerine dizi analizi uygulanmıştır. Yapılan filogenetik analizler sonucu farklı bir alt birim olduğu tespit edilmiş ve EgAgB5 olarak isimlendirilmiştir. Bu araştırmanın bir diğer sonucuna göre; her gen grubunda bir veya daha fazla nükleotit farklılığı olan varyant dizilimler mevcuttur. Ayrıca antijen B1-B5 proteinleri, değişken şekilde ifade edilip, parazitlerin her birinde bu proteinlerin hepsinden ziyade bir kısmını sentezlemektedir. Bu şekilde ifade edilen genler protozalarda yaygın görülmekle birlikte, çok hücreli parazitlerde tespit edilen ilk örnek EgAgB gen ailesidir (16).

Farklı coğrafik bölgelerdeki ara konaklardan elde edilen numuneler ile yapılan bir araştırma, antijen B1 alt ünitesini kodlayan cDNA dizisindeki nükleotit polimorfizmlerini göstermiştir. Çeşitli popülasyonlardaki parazitlerde gözlemlenen biyokimyasal, morfolojik ve

genetik farklılıklara bu durumun sebep olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada; Afgan, İtalyan ve Yugoslav izolatlarının birbirleriyle özdeş olduğu bulunmuştur (70). Ayrıca Shepherd ve ark. (14)'nın yayınladığı EgAgB alt ünitesini kodlayan nükleotit dizisinin bu dizilerle özdeş olduğu, Alman izolatına ait dizilerle karşılaştırıldığında ise, dokuz nükleotit değişimi gösterdiği bildirilmiştir. Mısır izolatı ve Alman izolatı karşılaştırıldığında ise 1 nükleotit değişimi olduğu görülmüştür. Sonuç olarak; Mısır ve Alman izolatlarında EgAgB1 alt ünitesini kodlayan farklı gen dizileri sergilenmektedir.

Hindistan'da keçi, manda, koyun ve sığırlara ait 110 kist hidatik materyalinin antijen B1 gen bölgeleri PCR ile çoğaltılmış, ardından SSCP yöntemi uygulanmıştır. Elde edilen 14 farklı bant paternine DNA dizi analizi uygulanmış ve sonuç olarak izolatların iki ayrı gruba ayrılabilceği tespit edilmiştir. Sığır ve mandalara ait izolatların, geyik suşu tarafından sentezlenen antijen B1 (AAP31890); keçi ve koyunlara ait izolatların ise antijen B1'in M2 aleli ile homoloji (AAV52692) gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan DNA dizi analizine göre; 129 baz çiftinin bulunduğu gen bölgesinin 113 nükleotidi değişmez pozisyonda olup, 16 nükleotit ise polimorfik olarak tespit edilmiştir (69).

İran'da 2005 yılında yapılan bir araştırmada; 9 insan, 9 sığır ve 10 koyundan elde edilen toplam 28 izolata EgAgB1 gen bölgesini çoğaltmak amacıyla PCR işlemi uygulanmıştır. Amplifiye edilen 20 izolatın DNA dizi analizi gerçekleştirilmiş ve izolatlar arasında polimorfizm olmadığı tespit edilmiştir. Elde edilen veriler referans diziler ile (FJ810076, AF143813, DQ137834, DQ137833, DQ137827 AY773091) karşılaştırıldığında ise %0,5-1 oranında polimorfik varyasyon olduğu saptanmıştır (20).

Şimşek ve ark. (25) 43 sığır, 31 insan ve 25 koyuna ait toplam 99 hidatik kist materyalinde antijen B1 polimorfizmini değerlendirmiştir. İzolatların tümü 12S rRNA PCR analizi ile *E. granulosus* sensu stricto olarak belirlendikten sonra antijen B1 gen bölgesini çoğaltmak amacıyla PCR işlemi uygulanmıştır. Amplifiye edilen 76 izolata SSCP yöntemi uygulanarak 2 örnek dışında hepsinin aynı paternde oldukları gözlemlenmiştir. Farklı patern gösteren 2 izolat ve rastgele seçilen 4 izolata DNA dizi analizi uygulanmış, elde edilen veriler referans diziler ile karşılaştırılarak izolatlarda meydana gelen polimorfizmler saptanmıştır.

Tarladaçalışır ve ark (10)'nın sığır, insan ve koyuna ait toplam 74 izolat ile yaptıkları bir çalışmada, PCR-SSCP yöntemi kullanılarak antijen B1 polimorfizmi araştırılmıştır. Farklı patern gözlemlenen her üç gruptan toplam 17 izolata dizi analizi uygulanmış ve 3 örnekte polimorfizm tespit edilmiştir.

Bizim çalışmamızda; antijen B1 gen bölgesine spesifik AgB1.fw ve AgB1.rev primerleri kullanılarak yapılan PCR işlemi neticesinde 129 baz çifti uzunluğunda bantlar

meydana geldi. Elde edilen PCR ürünlerine SSCP yöntemi uygulandı ve G1 kontrol suşu ile karşılaştırıldığında 3 farklı patern tespit edildi. Doksanaltı izolat patern 1 (G1 kontrol suşu ile aynı), 3 izolat patern 2 ve 1 izolat patern 3 olarak tanımlandı. Farklı paterne sahip toplam 25 PCR ürününe uygulanan dizi analizi sonuçlarına göre yirmi izolat referans veriler ile (M36774, AY773092) uyumlu olarak bulundu. Polimorfizm tespit edilen 5 izolatın 2'sinde 105 C insersiyonu, 1'inde 58 T insersiyonu ve 74 G/A değişimi, 1'inde 43 T insersiyonu, 1'inde 43 T insersiyonu ile birlikte 78 C delesyonu saptandı. Tespit edilen haplotipler Genbank (223) veritabanında arandı ancak meydana gelen değişimleri içeren dizilere rastlanmadı.

Mısır'da yapılan bir araştırmada; 5 domuz, 5 deve, 5 koyun ve 5 insana ait toplam 20 izolatın antijen B2 gen bölgesi PCR yöntemiyle çoğaltılmıştır. Ardından uygulanan RFLP yönteminde izolatların tamamı benzer paternde bant oluşturmuşlardır. Yapılan dizi analizi ve filogenetik analizlere bakıldığında, antijen B2 gen bölgesi; insan ve koyun izolatlarında %100 uyumlu saptanmış ve bu izolatların deve izolatları ile %99, domuz izolatları ile %96 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (24).

Sarkari ve ark. (23) deve, keçi, sığır, koyun ve insanlardan elde edilen toplam 50 izolatın antijen B2 gen bölgelerine PCR-RFLP yöntemini uygulamışlardır. Yapılan dizi analizi verilerine göre; koyun ve insan izolatları %91, deve ve insan izolatları ise %85 uyumlu bulunurken, sığır izolatlarında görünür bantlar elde edilememiştir.

Farklı ara konaklara ait 7 hidatik kist materyalinin kullanıldığı bir çalışmada antijen B2 gen bölgesi önce PCR metoduyla çoğaltılmış, ardından klonlama ve SSCP yöntemi uygulanarak 4 farklı patern saptanmıştır. Dizi analizi verilerine bakıldığında, antijen B2 genlerine ait 3 bölgede farklı düzeylerde varyasyonlar gözlemlenmiştir. Çalışmacılar yaptıkları değerlendirmeler sonucunda, gözlemledikleri polimorfizmlerin rastgele dağılmadığını bildirmişlerdir (21).

Tarladaçalışır ve ark (10)'nın antijen B polimorfizmini değerlendirdikleri bir çalışmada, önce 74 hidatik kist izolatının antijen B2 gen bölgeleri PCR yöntemiyle çoğaltılmış, ardından PCR-SSCP yöntemi kullanılarak 2 farklı bant paterni tespit edilmiştir. Farklı bant paternine sahip 7 izolata dizi analizi uygulanmış ve 3 izolatta polimorfizm tespit edilmiştir.

Yapılan bu çalışmada; antijen B2 gen bölgesine spesifik primerler kullanılarak uygulanan PCR yöntemi sonucunda 350 baz çifti uzunluğunda bantlar elde edilmiştir. Ardından SSCP yöntemi uygulanarak 3 farklı paternde bant oluşumu saptanmıştır. 86 izolat patern A (G1 kontrol suşu ile aynı), 10 izolat patern B ve 2 izolat patern C olarak tanımlanmıştır. Farklı görünümde olan 10 PCR ürünü, dizi analizi yapılarak referans verilerle karşılaştırılmıştır. Üç izolat AY496952 referans dizisi ile tamamen aynı iken, diğer haplotiplerde referans dizilerden

farklı olarak; iki izolatta 108A/C ve 200G/C değişimi saptanmıştır. Ayrıca iki izolatta 69C/T, 80C/G, 179G/A değişimi, iki izolatta 80C/G ve 200G/C değişimi ve bir izolatta 80C/G ve 179G/A değişimi tespit edilmiştir. Elde edilen haplotipler Genbank (223) veritabanında taranmış ancak meydana gelen değişimleri içeren dizilere rastlanmamıştır.

Kamenetzky ve ark. (21) antijen B polimorfizmini araştırdıkları bir çalışmada, ilk olarak antijen B4 gen bölgesini PCR metoduyla çoğaltıp, ardından klonlama ve SSCP yöntemini kullanmışlardır. Yapılan dizi analizleri sonucunda AgB ile ilişkili toplam 24 farklı varyant tespit etmişler ve bunların 5'inin antijen B4'ye ait olduğunu saptamışlardır. Ayrıca nükleotid polimorfizmi gözlemlenen AgB4 dizilerinin aynı veya hemen hemen aynı proteini kodladıklarını tespit etmişlerdir.

Bizim çalışmamızda; antijen B4 gen bölgesine spesifik primerler kullanılarak uygulanan PCR yöntemi sonucunda yaklaşık 350 baz çifti uzunluğunda bantlar elde edilmiştir. Ardından uygulanan SSCP yöntemi G1 kontrol suşu ile karşılaştırılmış ve 3 farklı paternde bant oluşumu saptanmıştır. İzolatların 83'ü patern I (G1 kontrol suşu ile uyumlu), 8'i patern II, 5'i patern III olarak tanımlanmıştır. Farklı görünümde olan 12 PCR ürünü, dizi analizi yapılarak referans verilerle karşılaştırılmıştır. Beş izolat AY357110 referans dizisi ile tamamen aynı iken, diğer izolatlarda referans dizilerden farklı olarak; üç izolatta 63 C/G ve 77 C/T değişimi, iki izolatta sadece 63 C/G değişimi, iki izolatta 219 G/C değişimi tespit edilmiştir. Elde edilen haplotipler Genbank (223) veritabanında aranmış ancak meydana gelen değişimleri içeren dizilere rastlanmamıştır. Çalışmamız, Türkiye'de yapılan ilk EgAgB4 polimorfizmi çalışması olup ülkemizdeki EgAgB4 polimorfizmini bildiren tek çalışmadır.

Sonuç olarak; insanlara ait kist hidatik numuneleri PCR, PCR-SSCP ve DNA dizi analizi metotları kullanılarak incelenmiş ve Edirne ilindeki genotip çeşitliliği araştırılmıştır. Çalışmamızın sonucunda Edirne'deki yaygın genotipin halen G1 olduğu görülmektedir. Ayrıca bu çalışmada antijen B polimorfizmi de araştırılmış; AgB1, AgB2 ve AgB4 olmak üzere araştırılan her üç alt birimde de polimorfizm varlığı saptanmıştır. Kist hidatik hastalığı bakımından endemik olan ülkemiz için bu hastalık maalesef önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Ülkemizin son yıllarda hastalık açısından endemik olan komşu ülkelerden, özellikle Suriye'den göç alması sebebiyle, göç ile gelen kişiler saha çalışmaları ile taranmalı ve gerekli vakalarda suşların belirlenmesi amacıyla ileri moleküler çalışmalar yapılmalıdır. Kist hidatik hastalığı; halk sağlığı, mikrobiyoloji ve moleküler epidemiyoloji uzmanlarının iş birliği içinde irdelenmesi ve bölgelerin risk haritalarının çıkarılarak incelenmesi gereken bir hastalık olduğu kanaatindeyiz. KE'nin kontrolü amacıyla suş özelliklerine göre alınması düşünülen önlemlerin kapsamı ve yöntemleri değişiklik gösterebilmektedir. Bu

amaçla bu hastalığın ülkemizde kontrol altında tutulabilmesi için, düzenli aralıklarla ya da göç olaylarının arttığı dönemlerde geniş çaplı genoepidemiyojik çalışmalar yapılarak, kontrol ve eradikasyon programları uygulanmalıdır.



SONUÇLAR

2009-2022 yılları arasında parazitoloji laboratuvarımıza gelen hasta materyallerinden, gerekli incelemeler yapıldıktan sonra ayrılıp, -80 °C derecede muhafaza edilen numuneler çalışmaya dahil edildi. İzolatların 12S rRNA gen bölgeleri PCR yöntemi ile çoğaltıldıktan sonra seçilen örneklerin mitokondriyal CO1 ve ND1 gen bölgelerine dizi analizi yapıldı. Ardından EgAgB1, EgAgB2 ve EgAgB4 gen bölgeleri PCR-SSCP yöntemi ile incelendi ve seçilen izolatlara DNA dizi analizi uygulandı.

Çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıda belirtilmiştir:

1. Trakya bölgesinde baskın olan suş evcil koyun suşu olup, manda suşu da tespit edilmiştir.
2. Edirne İlindeki *E.granulosus* numunelerinde EgAgB'yi kodlayan gen bölgelerinin B1, B2 ve B4 alt birimleri polimorfizm sergilemektedir.
3. Edirne İlinde *E. granulosus*'a karşı yürütülecek olan hastalık kontrol programları hazırlanırken, evcil koyun suşu ve manda suşu göz önünde bulundurulmalıdır.

ÖZET

Kistik ekinokokkozis, başta az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler olmak üzere tüm dünyada insan ve hayvanlarda görülen, *Echinococcus* cinsine ait sesto larvalarının neden olduğu önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bu çalışmada; insan kist hidatik materyallerinde, genotiplemenin yapılması ve farklı izolatlar içerisindeki antijenik polimorfizmin araştırılarak, genotip ile ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır.

2009-2022 yılları arasında parazitoloji laboratuvarımıza gelen hasta materyallerinden, gerekli incelemeler yapıldıktan sonra ayrılıp, -80 derecede muhafaza edilen 101 kist hidatik materyali çalışmaya dahil edildi. *E. granulosus* izolatlarının karakterizasyonu amacıyla 12S rRNA gen bölgesi PCR yöntemi ile çoğaltıldıktan sonra seçilen örneklerin mitokondriyal CO1 ve ND1 gen bölgelerinin dizi analizi sonuçları kullanıldı. EgAgB genindeki polimorfizmi tespit etmek amacıyla EgAgB1, EgAgB2 ve EgAgB4 gen bölgeleri PCR-SSCP yöntemi ile incelendi. Ardından seçilen izolatlara DNA dizi analizi uygulandı.

Çalışmamız Edirne'deki yaygın genotipin halen G1 olduğunu göstermektedir. Ayrıca bu çalışmada antijen B polimorfizmi de araştırılmış; EgAgB1, EgAgB2 ve EgAgB4 olmak üzere araştırılan üç altbirimin tamamında polimorfizm varlığı tespit edilmiştir. Bu çalışma, ülkemizde EgAgB4 polimorfizmi üzerine yapılan ilk çalışma olup aynı zamanda EgAgB4 polimorfizminin varlığını da tespit etmiştir. Mevcut çalışmanın; kist hidatik hastalığının kontrol ve eradikasyon programlarına katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Bu çalışma Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 2021/159

Anahtar kelimeler: *Echinococcus granulosus*, Genotip, Antijen B, Polimorfizm, Dizi analizi, Edirne

INVESTIGATION of ANTIGEN B GENE POLYMORPHISM of *Echinococcus granulosus*

SUMMARY

Cystic echinococcosis is an important public health condition caused by cestode larvae of the genus *Echinococcus* in humans and animals worldwide, especially in underdeveloped and developing countries. The aim of this study was to genotyp human hydatid cyst materials and investigate antigenic polymorphism in different isolates and to correlate them with genotype.

101 hydatid cyst materials, which were separated from the patient materials that came to our parasitology laboratory between 2009 and 2022, were separated after the necessary examinations and stored at -80 degrees, were included in the study. For the characterization of *E. granulosus* isolates, the 12S rRNA gene region was amplified by PCR method, and the results of sequence analysis of mitochondrial CO1 and ND1 gene regions of the selected samples were used. EgAgB1, EgAgB2, and EgAgB4 gene regions were analyzed by PCR-SSCP method to detect polymorphism in EgAgB gene.

Our study shows that the common genotype in Edirne is still G1. Additionally, antigen B polymorphism was also investigated in this study; The presence of polymorphism was detected in all three subunits investigated: EgAgB1, EgAgB2 and EgAgB4. This study is the first study on EgAgB4 polymorphism in our country and also detected the existence of EgAgB4 polymorphism. We think that the current study will contribute to hydatid disease control and eradication programs.

This study was funded by Scientific Research Projects Coordination Unit of Trakya University. Project number: 2021/159.

Keywords: *Echinococcus granulosus*, Genotype, Antigen B, Polymorphism, Sequence Analysis, Edirne



KAYNAKLAR

1. Thompson RCA. Biology and systematics of Echinococcus. Adv Parasitol. 2017;95:65–109.
2. Eckert J, Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. Clin Microbiol Rev. 2004;17(1):107–35.
3. World health organization. Echinococcosis [Internet]. 2021 [cited 2023 Jul 27]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/echinococcosis/>
4. Bulaşıcı Hastalıklar Daire Başkanlığı. Hastanelerde bildirim zorunlu bulaşıcı hastalıkların bildirim mekanizması. 2016;2.
5. Borhani M, Fathi S, Darabi E, Jalousian F, Simsek S, Ahmed H, et al. Echinococcoses in Iran, Turkey, and Pakistan: old diseases in the new millennium. Clin Microbiol Rev. 2021;34(3):e00290-20.
6. Topluoğlu S. Türkiye’de Kistik Ekinokokkoz Mevcut Durum Raporu. Türk Hij ve Deney Biyol Derg. 77(EK-3):1–52.
7. McManus DP. Current status of the genetics and molecular taxonomy of Echinococcus species. Parasitology. 2013;140(13):1617–23.
8. Manterola C, Rojas C, Totomoch-Serra A, Garcia-Mendez N, Riffo-Campos AL. Echinococcus granulosus genotypes verified in human hydatid disease around the world. Systematic review. Rev Chil Infectol organo Of la Soc Chil Infectol. 2020;37(5):541–9.
9. Eryildiz C, Sakru N. Molecular characterization of human and animal isolates of Echinococcus granulosus in the Thrace Region, Turkey. Balkan Med J. 2012;2012(3):261–7.
10. Tarladaçalısır T, Eryıldız C, Tabakçioğlu K, Şakru N. Genotyping and Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus granulosus in Edirne, Thrace, and the First Report of Genotype G2 (Tasmanian Sheep Strain) in Turkey. Balkan Med J. 2022

- Nov;39(6):401–10.
11. Oriol R, Williams JF, Pérez E, Oriol C. Purification of lipoprotein antigens of *Echinococcus granulosus* from sheep hydatid fluid. *Am J Trop Med Hyg.* 1971;20(4):569–74.
 12. Musiani P, Piantelli M, Lauriola L, Arru E, Pozzuoli R. *Echinococcus granulosus*: specific quantification of the two most immunoreactive antigens in hydatid fluids. *J Clin Pathol.* 1978;31(5):475–8.
 13. Arend AC, Zaha A, Ayala FJ, Haag KL. The *Echinococcus granulosus* antigen B shows a high degree of genetic variability. *Exp Parasitol.* 2004;108(1–2):76–80.
 14. Shepherd JC, Aitken A, McManus DP. A protein secreted in vivo by *Echinococcus granulosus* inhibits elastase activity and neutrophil chemotaxis. *Mol Biochem Parasitol.* 1991;44(1):81–90.
 15. Fernández V, Ferreira HB, Fernández C, Zaha A, Nieto A. Molecular characterisation of a novel 8-kDa subunit of *Echinococcus granulosus* antigen B. *Mol Biochem Parasitol.* 1996;77(2):247–50.
 16. Chemale G, Haag KL, Ferreira HB, Zaha A. *Echinococcus granulosus* antigen B is encoded by a gene family. *Mol Biochem Parasitol.* 2001;116(2):233–7.
 17. Haag KL, Alves-Junior L, Zaha A, Ayala FJ. Contingent, non-neutral evolution in a multicellular parasite: natural selection and gene conversion in the *Echinococcus granulosus* antigen B gene family. *Gene.* 2004;333:157–67.
 18. Monteiro KM, Cardoso MB, Follmer C, Da Silveira NP, Vargas DM, Kitajima EW, et al. *Echinococcus granulosus* antigen B structure: subunit composition and oligomeric states. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(3):e1551.
 19. Virginio VG, Hernandez A, Rott MB, Monteiro KM, Zandonai AF, Nieto A, et al. A set of recombinant antigens from *Echinococcus granulosus* with potential for use in the immunodiagnosis of human cystic hydatid disease. *Clin Exp Immunol.* 2003;132(2):309–15.
 20. Fatemi Esfedan A, Sarkari B, Mikaeili F. Genetic Variability of Antigen B8/1 among *Echinococcus granulosus* Isolates from Human, Cattle, and Sheep in Fars Province, Southern Iran. *Reports Biochem Mol Biol.* 2018 Apr;6(2):160–4.
 21. Kamenetzky L, Muzulin PM, Gutierrez AM, Angel SO, Zaha A, Guarnera EA, et al. High polymorphism in genes encoding antigen B from human infecting strains of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology.* 2005 Dec;131(Pt 6):805–15.
 22. Kesik HK, Simsek S, Kilinc SG, Koroglu E. Identification of antigen B (AgB) Gene polymorphism in cattle and sheep isolates of *Echinococcus granulosus* and investigation of effects on serological diagnosis. *Acta Trop.* 2019 Nov;199:105099.
 23. Sarkari Shahriari B, Biranvand E, Sadjjadi SM, Rahimi H. Genetic Variability of

- Antigen B2 of Human, Sheep, Goats, Camel and Cattle Isolates of *Echinococcus granulosus* in Iran. *Iran J Parasitol.* 2013 Oct;8(4):545–51.
24. Tawfeek GM, Elwakil HS, Awad NS, El-Hoseiny L, Thabet HS, Sarhan RM, et al. Genetic variability of antigen B among *Echinococcus granulosus* Egyptian isolates. *Korean J Parasitol.* 2009 Sep;47(3):259–64.
 25. Simsek S, Ozcetin Ç, Balkaya I. Detection of polymorphism in AgB1 gene from sheep, cattle and human isolates of *echinococcus granulosus* by SSCP. *Vet Parasitol.* 2012;184(2–4):352–5.
 26. Merdivenci A, Aydınlioğlu K. Hidatidoz (Hidatik Kist Hastalığı). *İst Üniv Tıp Fak Yay s.* 1982;92–8.
 27. Eckert J, Thompson RCA. Historical aspects of echinococcosis. *Adv Parasitol.* 2017;95:1–64.
 28. Rudolphi CA. Beobachtungen über die Eingeweidewürmer. *Arch für Zool und Zootomie.* 1801;2(1):1–65.
 29. Altintas N. Past to present: echinococcosis in Turkey. *Acta Trop.* 2003;85(2):105–12.
 30. Garcia LS, Procop GW. Diagnostic medical parasitology. *Man Commer Methods Clin Microbiol Int Ed.* 2016;284–308.
 31. Lymbery AJ. Phylogenetic pattern, evolutionary processes and species delimitation in the genus *Echinococcus*. *Adv Parasitol.* 2017;95:111–45.
 32. Özcel MA, Turgay N, İnci A, Köroğlu E. Tıbbi ve veteriner immunoparazitoloji. *Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları.* 2007;(21):93–7.
 33. Romig T, Deplazes P, Jenkins D, Giraudoux P, Massolo A, Craig PS, et al. Ecology and life cycle patterns of *Echinococcus* species. *Adv Parasitol.* 2017;95:213–314.
 34. Özcel MA, Özbek Y, Ak M. Özcel'in tıbbi parazit hastalıkları. *Türkiye Parazitoloji Derneği;* 2007.
 35. Le TH, Pearson MS, Blair D, Dai N, Zhang LH, McManus DP. Complete mitochondrial genomes confirm the distinctiveness of the horse-dog and sheep-dog strains of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology.* 2002;124(1):97–112.
 36. Nakao M, Yokoyama N, Sako Y, Fukunaga M, Ito A. The complete mitochondrial DNA sequence of the cestode *Echinococcus multilocularis* (Cyclophyllidae: Taeniidae). *Mitochondrion.* 2002;1(6):497–509.
 37. Ramnani D. No Title [Internet]. *Echinococcus granulosus* adult. 2019. Available from: <https://www.webpathology.com/image.asp?case=954&n=20>
 38. Morseth DJ. Chemical composition of embryophoric blocks of *Taenia hydatigena*, *Taenia ovis*, and *Taenia pisiformis* eggs. *Exp Parasitol.* 1966;18(3):347–54.

39. Sakamoto T. Electron Microscopical Observations on the Egg. Mem Fac Agr Kagoshima Univ. 1981;17:165–74.
40. Sorrell MF. Technique, Contrast, Safety, Anatomy, and Differential.
41. Yazar S, Kuk S, Miman Ö. Saygı'nın temel tıbbi parazitoloji'si. Kayseri, Erciyes Üniversitesi Yayınları. 2016;
42. Thompson RCA, Gillespie SH, Pearson RD. Principles and practice of clinical parasitology. Wiley; 2001.
43. Unat EK, Yücel A, Altaş K, Samastı M. Unat'ın Tıp parazitolojisi. Baskı Cerr Tıp Fak Vakfı Yay. 1995;15:206–8.
44. Eckert J, Gemmell MA, Meslin F-X, Pawlowski ZS. WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. World Organisation for Animal Health; 2001.
45. Bowles J, Blair D, McManus DP. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. Mol Biochem Parasitol. 1992;54(2):165–73.
46. Eckert J, Thompson RCA. Intraspecific variation of *Echinococcus granulosus* and related species with emphasis on their infectivity to humans. Acta Trop. 1997;64(1–2):19–34.
47. Moks E, Jõgisalu I, Valdmann H, Saarma U. First report of *Echinococcus granulosus* G8 in Eurasia and a reappraisal of the phylogenetic relationships of 'genotypes' G5-G10. Parasitology. 2008;135(5):647–54.
48. Nakao M, Yanagida T, Okamoto M, Knapp J, Nkouawa A, Sako Y, et al. State-of-the-art *Echinococcus* and *Taenia*: phylogenetic taxonomy of human-pathogenic tapeworms and its application to molecular diagnosis. Infect Genet Evol. 2010;10(4):444–52.
49. Nozais J-P. The origin and dispersion of human parasitic diseases in the old world (Africa, Europe and Madagascar). Mem Inst Oswaldo Cruz. 2003;98:13–9.
50. Williams RJ, Sweatman GK. On the transmission, biology and morphology of *Echinococcus granulosus equinus*, a new subspecies of hydatid tapeworm in horses in Great Britain. Parasitology. 1963;53(3–4):391–407.
51. Thompson RCA, Lymbery AJ. The nature, extent and significance of variation within the genus *Echinococcus*. Adv Parasitol. 1988;27:209–58.
52. Nakao M, Lavikainen A, Yanagida T, Ito A. Phylogenetic systematics of the genus *Echinococcus* (Cestoda: Taeniidae). Int J Parasitol. 2013;43(12–13):1017–29.
53. Cardona GA, Carmena D. A review of the global prevalence, molecular epidemiology and economics of cystic echinococcosis in production animals. Vet Parasitol. 2013;192(1–3):10–32.

54. Pezeshki A, Akhlaghi L, Sharbatkhori M, Razmjou E, Oormazdi H, Mohebbali M, et al. Genotyping of *Echinococcus granulosus* from domestic animals and humans from Ardabil Province, northwest Iran. *J Helminthol*. 2013;87(4):387–91.
55. Carmena D, Benito A, Eraso E. Antigens for the immunodiagnosis of *Echinococcus granulosus* infection: An update. *Acta Trop*. 2006;98(1):74–86.
56. Lightowlers MW, Liu D, Haralambous A, Rickard MD. Subunit composition and specificity of the major cyst fluid antigens of *Echinococcus granulosus*. *Mol Biochem Parasitol*. 1989;37(2):171–82.
57. Li Y, Xu H, Chen J, Gan W, Wu W, Wu W, et al. Gene cloning, expression, and localization of antigen 5 in the life cycle of *Echinococcus granulosus*. *Parasitol Res*. 2012;110:2315–23.
58. Capron A, Vernes A, Biguet J. Le diagnostic immunoelectrophoretique de l'hydatidose. Le kyste hydatique du foie. 1967;20–7.
59. Chamekh M, Gras-Masse H, Bossus M, Facon B, Dissous C, Tartar A, et al. Diagnostic value of a synthetic peptide derived from *Echinococcus granulosus* recombinant protein. *J Clin Invest*. 1992;89(2):458–64.
60. Barbieri M, Sterla S, Battistoni J, Nieto A. High performance latex reagent for hydatid serology using an *echinococcus granulosus* lipoprotein antigen fraction purified from cyst fluid in one step. *Int J Parasitol*. 1993;23(5):565–72.
61. Yarzabal LA, Bout DT, Naquira FR, Capron AR. Further observations on the specificity of antigen 5 of *Echinococcus granulosus*. *J Parasitol*. 1977;495–9.
62. Di Felice G, Pini C, Afferni C, Vicari G. Purification and partial characterization of the major antigen of *Echinococcus granulosus* (antigen 5) with monoclonal antibodies. *Mol Biochem Parasitol*. 1986;20(2):133–42.
63. Siracusano A, Margutti P, Delunardo F, Profumo E, Riganò R, Buttari B, et al. Molecular cross-talk in host–parasite relationships: the intriguing immunomodulatory role of *Echinococcus* antigen B in cystic echinococcosis. *Int J Parasitol*. 2008;38(12):1371–6.
64. Mamuti W, Sako Y, Nakao M, Xiao N, Nakaya K, Ishikawa Y, et al. Recent advances in characterization of *Echinococcus* antigen B. *Parasitol Int*. 2006;55:S57–62.
65. Chemale G, Ferreira HB, Barrett J, Brophy PM, Zaha A. *Echinococcus granulosus* antigen B hydrophobic ligand binding properties. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Proteins Proteomics*. 2005;1747(2):189–94.
66. Riganò R, Profumo E, Bruschi F, Carulli G, Azzara A, Ioppolo S, et al. Modulation of human immune response by *Echinococcus granulosus* antigen B and its possible role in evading host defenses. *Infect Immun*. 2001;69(1):288–96.
67. Shahabinejad P, Shahriarirad R, Omidian M, Ghorbani F, Barazesh A, Sarkari B. Diagnostic performance of *Echinococcus granulosus* *protoscolices* antigens in the

- serodiagnosis of human cystic echinococcosis. *J Immunoass Immunochem*. 2020;41(5):833–40.
68. Haag KL, Zanotto PM de A, Alves-Junior L, Gasser RB, Zaha A, Ayala FJ. Searching for antigen B genes and their adaptive sites in distinct strains and species of the helminth *Echinococcus*. *Infect Genet Evol*. 2006;6(4):251–61.
 69. Pan D, Bera AK, Das SK, Bandyopadhyay S, Manna B, Bhattacharya D. Polymorphism and natural selection of antigen B1 of *Echinococcus granulosus* isolated from different host assemblages in India. *Mol Biol Rep*. 2010;37:1477–82.
 70. Frosch P, Hartmann M, Mühlischlegel F, Frosch M. Sequence heterogeneity of the echinococcal antigen B. *Mol Biochem Parasitol*. 1994;64(1):171–5.
 71. Bourée P. Hydatidosis: dynamics of transmission. *World J Surg*. 2001;25(1):4.
 72. Control C for D, Prevention. Global Health, Division of Parasitic Diseases. 2015.
 73. Tünger Ö. Epidemiology of cystic echinococcosis in the world. *Türkiye Parazitoloji Derg*. 2013;37(1):47.
 74. Torgerson PR, Macpherson CNL. The socioeconomic burden of parasitic zoonoses: global trends. *Vet Parasitol*. 2011 Nov;182(1):79–95.
 75. Macpherson CNL. Cystic echinococcosis in Africa south of the Sahara. *Compend Cyst echinococcosis Africa Middle East Ctries with Spec Ref to Morocco*. 1997;
 76. Yu S-H, Wang H, Wu X-H, Ma X, Liu P-Y, Liu Y-F, et al. Cystic and alveolar echinococcosis: an epidemiological survey in a Tibetan population in southeast Qinghai, China. *Jpn J Infect Dis*. 2008 May;61(3):242–6.
 77. Ibrahim MM. Study of cystic echinococcosis in slaughtered animals in Al Baha region, Saudi Arabia: interaction between some biotic and abiotic factors. *Acta Trop*. 2010 Jan;113(1):26–33.
 78. Agudelo Higuaita NI, Brunetti E, McCloskey C. Cystic Echinococcosis. *J Clin Microbiol*. 2016 Mar;54(3):518–23.
 79. Wen H, Vuitton L, Tuxun T, Li J, Vuitton DA, Zhang W, et al. Echinococcosis: advances in the 21st century. *Clin Microbiol Rev*. 2019;32(2):10–1128.
 80. Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review. *Int J Infect Dis*. 2009;13(2):125–33.
 81. Rosenzvit MC, Zhang L-H, Kamenetzky L, Canova SG, Guarnera EA, McManus DP. Genetic variation and epidemiology of *Echinococcus granulosus* in Argentina. *Parasitology*. 1999;118(5):523–30.
 82. Schantz PM. Epidemiology and control of hydatid disease. *Echinococcus hydatid Dis*. 1995;233–331.

83. Zhang LH, Joshi DD, McManus DP. Three genotypes of *Echinococcus granulosus* identified in Nepal using mitochondrial DNA markers. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2000;94(3):258–60.
84. Hobbs RP, Lymbery AJ, Thompson RCA. Rostellar hook morphology of *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) from natural and experimental Australian hosts, and its implications for strain recognition. *Parasitology.* 1990;101(2):273–81.
85. Hope M, Bowles J, McManus DP, Prociv P. A genetic comparison of human and wildlife isolates of *Echinococcus granulosus* in Queensland: public health implications. *Med J Aust.* 1990;156(1):27–38.
86. Wachira TM, Bowles J, Zeyhle E, McManus DP. Molecular examination of the sympatry and distribution of sheep and camel strains of *Echinococcus granulosus* in Kenya. *Am J Trop Med Hyg.* 1993;48(4):473–9.
87. Tashani OA, Zhang LH, Boufana B al, Jegi A, McManus DP. Epidemiology and strain characteristics of *Echinococcus granulosus* in the Benghazi area of eastern Libya. *Ann Trop Med Parasitol.* 2002;96(4):369–81.
88. McManus DP, Ding Z, Bowles J. A molecular genetic survey indicates the presence of a single, homogeneous strain of *Echinococcus granulosus* in north-western China. *Acta Trop.* 1994;56(1):7–14.
89. Zhang LH, Chai JJ, Jiao W, Osman Y, McManus DP. Mitochondrial genomic markers confirm the presence of the camel strain (G6 genotype) of *Echinococcus granulosus* in north-western China. *Parasitology.* 1998;116(1):29–33.
90. 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(4):367–73.
91. Saygı G. Hydatidosis in Turkey within the last fourteen years (1979-1993). *Cumhuriyet Üniversitesi; 1996.*
92. Taylan Özkan HA, Hökelek M, Polat E, Yılmaz H, Özbilge H, Üstün Ş, et al. Türkiye’de 2001-2005 yılları arasında kistik ekinokokkozis. *Türkiye Parazitoloji Derg.* 2008;32(3):208–20.
93. Alkan MZ, Özcel MA. Kist hidatikte sero-epidemiyolojik araştırmalar. *Türkiye Parazit Derg.* 1994;18(3):302–7.
94. Altıntaş N, Yolasığmaz A, Akısu Ç, Şakru N, Karacasu F, Güzelant A. A sero-epidemiological study of cystic echinococcosis in Izmir and its surrounding area, Turkey. *Helminthologia.* 1999;36(1).
95. Başak O, Turgut M. Aydın bölgesinde uniloküler kistik echinococcosis (110 olgu). *Türkiye Parazit Derg.* 1998;22:262–7.
96. İnceboz T, Altıntaş N, Kahya M, Haskaraca F. Manisa bölgesinde uniloküler kistik

- ekinokokkozis. Türkiye Parazitoloji Derg. 2001;25(1):45–8.
97. Tuğrul M, Özkan E. Hidatidozun Trakyadaki epidemiyolojisi. Birinci Ulus Hidatidoloji Kongresi. 2001;8:21–2.
 98. Aslan G, Aslan B. Şanlıurfa bölgesinde echinococcosis. Türkiye Parazitoloji Derg. 2001;25(2):145–7.
 99. Daldal N. Malatya’da ekinokokkozis. Birinci Ulus Hidatidoloji Kongresi. 2001;8:29.
 100. Gödekmerdan A. 1998-2001 yılları arasında Elazığ ilinde saptanan ünloküler kistik ekinokokkoz olguları. 1. Ulus Hidatidoloji Kongresi. 2001;8.
 101. Karaman Ü, Miman Ö, Kara M, Gıcık Y, Aycan ÖM, Atambay M. Kars bölgesinde hidatik kist prevalansı. 2005;
 102. Özçelik S. Sivas’ ta kistik ekinokokkoz ve *Echinococcus granulosus*’ un yaygınlığı. Birinci Ulus Hidatoloji Kongresi, Kuşadası, Aydın. 2001;23–4.
 103. Özcan K. Adana ve Mersin yöresinde kistik ekinokokkoz. 1. Ulus Hidatidoloji Kong. 2001;8.
 104. Örsten S, Çiftçi T, Azizova A, Yüce G, Uysal A, İmamoğlu Ç, et al. Investigation of the relationship between CE cyst characteristics and genetic diversity of *Echinococcus granulosus sensu lato* in humans from Turkey. *Parasitology*. 2020;147(14):1712–7.
 105. Utuk AE, Simsek S, Koroglu E, McManus DP. Molecular genetic characterization of different isolates of *Echinococcus granulosus* in east and southeast regions of Turkey. *Acta Trop*. 2008;107(2):192–4.
 106. Simsek S, Kaplan M, Ozercan IH. A comprehensive molecular survey of *Echinococcus granulosus* in formalin-fixed paraffin-embedded tissues in human isolates in Turkey. *Parasitol Res*. 2011;109(2):411–6.
 107. Simsek S, Balkaya I, Ciftci AT, Utuk AE. Molecular discrimination of sheep and cattle isolates of *Echinococcus granulosus* by SSCP and conventional PCR in Turkey. *Vet Parasitol*. 2011;178(3–4):367–9.
 108. Simsek S, Cevik A. First detection and molecular characterization of *Echinococcus equinus* in a mule in Turkey. *Acta Parasitol*. 2014;59(4):773–7.
 109. Ütük AE, Pişkin FÇ. Melez bir dağ keçisinde kistik hydatidosis ve moleküler karakterizasyonu. *Kafkas Üniversitesi Vet Fakültesi Derg*. 2010;16(4):671–3.
 110. Simsek S, Balkaya I, Koroglu E. Epidemiological survey and molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in cattle in an endemic area of eastern Turkey. *Vet Parasitol*. 2010;172(3–4):347–9.
 111. Simsek S, Eroksuz Y. Occurrence and molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in Turkish mouflon (*Ovis gmelinii anatolica*). *Acta Trop*. 2009;109(2):167–

9.

112. Utuk AE, Piskin FC, Dalkilic B. Molecular characterization of sheep isolates of *Echinococcus granulosus* in Kilis Province. *Liver*. 2012;11(1):12.
113. Šnábel V, Altintas N, D'amelio S, Nakao M, Romig T, Yolasigmaz A, et al. Cystic echinococcosis in Turkey: genetic variability and first record of the pig strain (G7) in the country. *Parasitol Res*. 2009;105(1):145–54.
114. Altintas N, Oztatlici M, Altintas N, Unver A, Sakarya A. Molecular analysis of cattle isolates of *Echinococcus granulosus* in Manisa Province of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 2013;19(3):455–9.
115. Gökpınar S, Değirmenci R, Yıldız K. Kırıkkale’de kesilen sığırlarda *Echinococcus granulosus*’ un moleküler olarak genotiplendirilmesi. 2017;
116. Vural G, Baca AU, Gauci CG, Bagci O, Gicik Y, Lightowlers MW. Variability in the *Echinococcus granulosus* cytochrome C oxidase 1 mitochondrial gene sequence from livestock in Turkey and a re-appraisal of the G1–3 genotype cluster. *Vet Parasitol*. 2008;154(3–4):347–50.
117. Arikoglu H, Arslan A, Hepdogru MA, Turhan AB. Expression profile and polymorphisms of actin genes in protoscoleces of *Echinococcus granulosus* from sheep in central Turkey. *Vet Parasitol*. 2009;166(1–2):80–5.
118. Sevgi E, Suat S, Pelin Y, Kaan Z, Kenan M, Gokhan A, et al. Genotypic characterisation of *Echinococcus granulosus* isolated from human in Turkey. *African J Microbiol Res*. 2010;4(7):551–5.
119. Eckert J, Deplazes P, Craig PS, Gemmell MA, Gottstein B, Heath D, et al. Echinococcosis in animals: clinical aspects, diagnosis and treatment. WHO/OIE Manual for the diagnosis of echinococcosis in humans and animals a public health problem of global concern. 2001;72–99.
120. King CH. Cestodes (Tapeworms). In: Mandell GL, Bennet JE DR (Eds.), Mandell, Douglas and B principles and practice of infectious diseases. 6th ed., 2005.p.3285-93 PECL. No Title.
121. HabibBostan Dursun AliŞahin AF. Rare Cause Of Shock During The Operation; Anaphylaxis Due To Liver Hydatid Cyst Rupture. *Case Report. Journal*. 2010;3(1):12–5.
122. Schantz PM. Progress in diagnosis, treatment and elimination of echinococcosis and cysticercosis. *Parasitol Int*. 2006;55:S7–13.
123. Torgerson PR. Economic effects of echinococcosis. *Acta Trop*. 2003;85(2):113–8.
124. Gündoğdu C, Arslan R, Arslan MO, Gicik Y. Evaluation of cystic and alveolar echinococcosis cases in people in Erzurum and surrounding cities. *Türkiye Parazitoloji Derg*. 2005;29(3):163–6.

125. Kaplan M, Aygen E, Özyurtkan MO, Bakal Ü. 2005-2007 yılları arasında Fırat Üniversitesi Hastanesindeki kistik ekinokokkozis olguları. FÜ Sağ Bil Tıp Derg. 2010;24:109–13.
126. Miman Ö, Atambay M, Aydın NE, Daldal N. Kistik ekinokokkozis nedeniyle opere edilmiş 91 olguda klinik, morfolojik ve serolojik irdelemeler. Türkiye Parazitol Derg. 2010;34(3):179–83.
127. Precetti S, Gandon Y, Vilgrain V. Imaging of cystic liver diseases. J Radiol. 2007;88(7-8 Pt 2):1061–72.
128. Eckert J. Clinical diagnosis and treatment of echinococcosis in human. Echinococcus hydatid Dis. 1995;
129. Özkol M, Kilimcioğlu AA, Girginkardeşler N, Balcıoğlu İC, Şakru N, Korkmaz M, et al. A discrepancy between cystic echinococcosis confirmed by ultrasound and seropositivity in Turkish children. Acta Trop. 2005;93(2):213–6.
130. Group WHOIW. International classification of ultrasound images in cystic echinococcosis for application in clinical and field epidemiological settings. Acta Trop. 2003;85(2):253–61.
131. Marrone G, Caruso S, Mamone G, Carollo V, Milazzo M, Gruttadauria S, et al. Multidisciplinary imaging of liver hydatidosis. World J Gastroenterol WJG. 2012;18(13):1438.
132. Oruç E, Yildirim N, Topal NB, Kilicturgay S, Akgöz S, Savci G. The role of diffusion-weighted MRI in the classification of liver hydatid cysts and differentiation of simple cysts and abscesses from hydatid cysts. Diagnostic Interv Radiol. 2010;16(4):279.
133. Özgür T, Kaya ÖA, Hakverdi S, Akın MM, Hamamci B, Yaldiz M. Ekinokokkozis olgularının histopatolojik yönden retrospektif olarak değerlendirilmesi. Dicle Tıp Derg. 2013;40(4):641–4.
134. Atambay M, Türkmen E, Karaman Ü, Aydın N, Daldal N. Unilokuler kistik ekinokokkozis olgularında yapısal değişiklikler. Türkiye Ekopatoloji Derg. 2005;11(2):71–4.
135. Yıldırım A, İça A, Düzlü Ö, İnci A. Kistik Echinococcosis’ de Canlılık Tayininde Kullanılan Çeşitli Boyama Yöntemlerinin İstatistiksel Analizi.
136. Varela-Diaz VM, Coltorti EA, De Zavaleta O, Perez-Caviglia H, Zabert EI, Guarnera EA. Immunodiagnosis of human hydatid disease: applications and contributions to a control program in Argentina. Am J Trop Med Hyg. 1983;32(5):1079–87.
137. Nazmiye A, Nermin Ş, Yazar S. Kist hidatik tanısında serolojik ve radyolojiktanı yöntemlerinin karşılaştırılması. 10. Ulusal Parazitoloji Kongresi. Ankara; 1997.
138. Eryıldız C, Tarladaçalısır T, Kuyucuklu G, Çakmakçı B, Sakru N. Serological Follow-up of Human Cystic Echinococcosis in the Thrace Region, Turkey. Iran J Parasitol.

2022;17(4):517–24.

139. Dottorini S, Tassi C. Echinococcus granulosus: comparison between antigens in scolices and hydatid fluid. *Int J Parasitol.* 1978;8(4):259–65.
140. Lightowlers MW, Jensen O, Fernandez E, Iriarte JA, Woollard DJ, Gauci CG, et al. Vaccination trials in Australia and Argentina confirm the effectiveness of the EG95 hydatid vaccine in sheep. *Int J Parasitol.* 1999;29(4):531–4.
141. Garabedian GA, Matossian RM, Djanian AY. An indirect hemagglutination test for hydatid disease. *J Immunol.* 1957;78(4):269–72.
142. Şenlik B. Bursa yöresi koyunlarında indirekt floresan antikor (IFA) ve indirekt hemagglütinasyon (IHA) testleriyle Hidatoz'un sero-prevalansı üzerine araştırmalar. 1998;
143. Özcel MA, Üner A, Ertuğ S. Immunofloresans Yöntemi, Eds; Özcel MA, Altıntaş N. Parazit Hast tanı Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın. (15):215–40.
144. Doganay A, Burgu A, Sarimehmetoglu O, Tanyuksel M, Gonenc B, Kozan E, et al. Diagnosis of hydatidosis in human beings and sheep by indirect fluorescence antibody technique. *Indian Vet J.* 2003;80(12):1230–3.
145. Coltorti EA. Standardization and evaluation of an enzyme immunoassay as a screening test for the seroepidemiology of human hydatidosis. *Am J Trop Med Hyg.* 1986;35(5):1000–5.
146. Doiz O, Benito R, Sbihi Y, Osuna A, Clavel A, Gómez-Lus R. Western blot applied to the diagnosis and post-treatment monitoring of human hydatidosis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2001;41(3):139–42.
147. Yazar S. Cystic Echinococcosis (CE)'in tanısında SDS-PAGE ve Western Blot yönteminin diğer serolojik tanı yöntemleri ile karşılaştırılması. Doktora Tezi Ege Üniv Tıp Fak Parazitoloji AD, İzmir. 1998;
148. Bowles J, McManus DP. Molecular variation in Echinococcus. *Acta Trop.* 1993;53(3–4):291–305.
149. Torgerson PR, Budke CM. Echinococcosis—an international public health challenge. *Res Vet Sci.* 2003;74(3):191–202.
150. Dinkel A, Njoroge EM, Zimmermann A, Wälz M, Zeyhle E, Elmahdi IE, et al. A PCR system for detection of species and genotypes of the Echinococcus granulosus-complex, with reference to the epidemiological situation in eastern Africa. *Int J Parasitol.* 2004;34(5):645–53.
151. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. İnsan moleküler genetiği için araçlar (çeviri: E. Yılmaz). Thompson Thompson tıbbi Genet Ankara Güneş Kitabevi. 2005;33–50.
152. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Boerkoel CF. İnsanlarda Genetik Varyasyon:

- Mutasyon ve Polimorfizm. Thompson Thompson Tıbbi Genet. 2005;6:79–89.
153. Gasser RB. PCR-based technology in veterinary parasitology. *Vet Parasitol.* 1999;84(3–4):229–58.
 154. Saperstein DA, Nickerson JM. Restriction fragment length polymorphism analysis using PCR coupled to restriction digests. *Biotechniques.* 1991;10(4):488–9.
 155. Olive DM, Bean P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. *J Clin Microbiol.* 1999;37(6):1661–9.
 156. Ortona E, Margutti P, Rigano R, Siracusano A. Genetic variability in Italian sheep isolates of *Echinococcus granulosus*. *Appl Parasitol.* 1996;37(3):205–8.
 157. Siles-Lucas M, Benito MC, Cuesta-Bandera C. *Echinococcus granulosus*: genomic and isoenzymatic study of Spanish strains isolated from different intermediate hosts. *Vet Parasitol.* 1996;63(3–4):273–82.
 158. Turčeková L, Šnábel V, D’Amelio S, Busi M, Dubinský P. Morphological and genetic characterization of *Echinococcus granulosus* in the Slovak Republic. *Acta Trop.* 2003;85(2):223–9.
 159. Gasser RB, Monti JR. Identification of parasitic nematodes by PCR-SSCP of ITS-2 rDNA. *Mol Cell Probes.* 1997;11(3):201–9.
 160. Orita M, Suzuki Y, Sekiya T, Hayashi K. Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. *Genomics.* 1989;5(4):874–9.
 161. Sunnucks P, Wilson ACC, Beheregaray LB, Zenger K, French J, Taylor AC. SSCP is not so difficult: the application and utility of single-stranded conformation polymorphism in evolutionary biology and molecular ecology. *Mol Ecol.* 2000;9(11):1699–710.
 162. Gasser RB. Mutation scanning methods for the analysis of parasite genes. *Int J Parasitol.* 1997;27(12):1449–63.
 163. Hongyo T, Buzard GS, Calvert RJ, Weghorst CM. ‘Cold SSCP’: a simple, rapid and non-radioactive method for optimized single-strand conformation polymorphism analyses. *Nucleic Acids Res.* 1993;21(16):3637–42.
 164. Ütük AE, Şimşek S, Ergün K. *Echinococcus cinsinin moleküler genetik karakterizasyonu.* *Türkiye Parazitoloji Derg.* 2005;29(3):171–6.
 165. Gasser RB, Zhu X, McManus DP. Display of sequence variation in PCR-amplified mitochondrial DNA regions of *Echinococcus* by single-strand conformation polymorphism. *Acta Trop.* 1998;71(2):107–15.
 166. Sarkar G, Yoon H-S, Sommer SS. Dideoxy fingerprinting (ddF): a rapid and efficient screen for the presence of mutations. *Genomics.* 1992;13(2):441–3.

167. Morozova O, Marra MA. Applications of next-generation sequencing technologies in functional genomics. *Genomics* [Internet]. 2008;92(5):255–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygeno.2008.07.001>
168. Zhang W, Li J, McManus DP. Concepts in immunology and diagnosis of hydatid disease. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16(1):18–36.
169. Jenkins DJ, Fraser A, Bradshaw H, Craig PS. Detection of *Echinococcus granulosus* coproantigens in Australian canids with natural or experimental infection. *J Parasitol*. 2000;86(1):140–5.
170. Eckert J, Gemmell MA, Matyas Z, Soulsby EJ. Guidelines for surveillance, prevention and control of echinococcosis/hydatidosis. World Health Organization; 1984.
171. Craig PS, Gasser RB, Parada L, Cabrera P, Parietti S, Borgues C, et al. Diagnosis of canine echinococcosis: comparison of coproantigen and serum antibody tests with arecoline purgation in Uruguay. *Vet Parasitol*. 1995;56(4):293–301.
172. Gasser RB, Jenkins DJ, Heath DD, Lawrence SB. Use of *Echinococcus granulosus* worm antigens for immunodiagnosis of *E. granulosus* infection in dogs. *Vet Parasitol*. 1992;45(1–2):89–100.
173. Guidelines for treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. WHO Informal Working Group on Echinococcosis. *Bull World Health Organ*. 1996;74(3):231–42.
174. Piccoli L, Tamarozzi F, Cattaneo F, Mariconti M, Filice C, Bruno A, et al. Long-term sonographic and serological follow-up of inactive echinococcal cysts of the liver: hints for a “watch-and-wait” approach. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014 Aug;8(8):e3057.
175. Aktan AO, Yalin R. Preoperative albendazole treatment for liver hydatid disease decreases the viability of the cyst. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1996 Sep;8(9):877–9.
176. Akhan O, Ozmen MN. Percutaneous treatment of liver hydatid cysts. *Eur J Radiol*. 1999 Oct;32(1):76–85.
177. McManus DP, Zhang W, Li J, Bartley PB. Echinococcosis. *Lancet* (London, England). 2003 Oct;362(9392):1295–304.
178. Brunetti E, Kern P, Vuitton DA. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta Trop*. 2010 Apr;114(1):1–16.
179. Özcel MA, Özbel Y, Ak M. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları No: 22. Met Basım, İzmir. 2007;
180. Conchedda M, Ecça AR, Gabriele F, Bortoletti G, Palmas C. Options for control of Echinococcosis: the Sardinian example. In: *Proceedings of the NATO Advanced Research Workshop on cestode zoonoses: echinococcosis and cysticercosis: an emergent and global problem*, Poznan, Poland, 10-13 September 2000. IOS Press; 2002. p. 343–

54.

181. Economides P, Christofi G. Evaluation of control programmes for echinococcosis/hydatidosis in Cyprus. *Rev Sci Tech*. 2000;19(3):784–92.
182. Todorov T, Boeva V. Echinococcosis in children and adolescents in Bulgaria: a comparative study. *Ann Trop Med Parasitol*. 2000;94(2):135–44.
183. Yaman M. Kistik ekinokokkozis ve kontrol çalışmaları. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Vet Fakültesi Derg*. 2011;22(2):121–5.
184. Lightowlers MW, Gasser RB, Hemphill A, Romig T, Tamarozzi F, Deplazes P, et al. Advances in the treatment, diagnosis, control and scientific understanding of taeniid cestode parasite infections over the past 50 years. *Int J Parasitol*. 2021;51(13–14):1167–92.
185. Gemmell MA, Roberts MG, Beard TC, Campano D, Lawson JR, Nonnemaker JM. Control of echinococcosis. WHO/OIE Man echinococcosis humans Anim a public Heal Probl Glob concern. 2001;195–204.
186. Heath DD, Jensen O, Lightowlers MW. Progress in control of hydatidosis using vaccination—a review of formulation and delivery of the vaccine and recommendations for practical use in control programmes. *Acta Trop*. 2003;85(2):133–43.
187. King CH. Cestodes (tapeworms). *Princ Pract Infect Dis*. 2000;
188. Heath DD, Lightowlers MW. Vaccination on hydatidology—state of the art. *Arch Int Hidatid*. 1997;33:14–6.
189. 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. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1999;93(3):329–34.
190. Bassam BJ, Caetano-Anollés G, Gresshoff PM. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Anal Biochem*. 1991;196(1):80–3.
191. Byun SO, Fang Q, Zhou H, Hickford JGH. An effective method for silver-staining DNA in large numbers of polyacrylamide gels. *Anal Biochem*. 2009;385(1):174–5.
192. Sharbatkhori M, Mirhendi H, Jex AR, Pangasa A, Campbell BE, Kia EB, et al. Genetic categorization of *Echinococcus granulosus* from humans and herbivorous hosts in Iran using an integrated mutation scanning-phylogenetic approach. *Electrophoresis*. 2009;30(15):2648–55.
193. Tamura K, Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol Biol Evol*. 1993;10(3):512–26.
194. Monteiro KM, Zaha A, Ferreira HB. Recombinant subunits as tools for the structural and functional characterization of *Echinococcus granulosus* antigen B. *Exp Parasitol*.

2008;119(4):490–8.

195. Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, et al. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Mol Biol Evol*. 2017;34(12):3299–302.
196. Bandelt HJ, Forster P, Rohl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies *Mol Biol Evol* 16: 37–48. Find this Artic online. 1999;
197. Thompson RCA. The taxonomy, phylogeny and transmission of *Echinococcus*. *Exp Parasitol*. 2008 Aug;119(4):439–46.
198. Kırış MT, Ergün S, Akıncı O, Ergin S, Velidedeoğlu M, Kocazeybek BS, et al. Evaluation of *Echinococcus* DNA by polymerase chain reaction (PCR) in cystic *Echinococcosis* of the liver. *Turkish J Surg*. 2022 Jun;38(2):196–201.
199. Doğanay A, sağlığı yönünden Ekinokokkozun KMH. Türkiye’de ve dünyadaki epidemiyolojisi ve profilaksisi. *Türkiye Klin J Surgery, Kist Hidatik Özel Sayısı*. 1998;3:171–81.
200. DURGUN C, ALKAN S, DURGUN M, DEMİRAY EKD. Türkiye’den kist hidatik konusunda yapılmış yayınların analizi. *Black Sea J Heal Sci*. 2022;5(1):45–9.
201. Mor N, Allahverdi TD, Anuk T. The situation of cystic echinococcoses in Kars State Hospital for the last five years. *Türkiye Parazitoloji Derg*. 2015;39(2):108.
202. Olive DM, Bean P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. *J Clin Microbiol*. 1999;37(6):1661–9.
203. Bowles J, McManus DP. Rapid discrimination of *Echinococcus* species and strains using a polymerase chain reaction-based RFLP method. *Mol Biochem Parasitol*. 1993;57(2):231–9.
204. de la Rue ML, Takano K, Brochado JF, Costa C V, Soares AG, Yamano K, et al. Infection of humans and animals with *Echinococcus granulosus* (G1 and G3 strains) and *E. ortleppi* in Southern Brazil. *Vet Parasitol*. 2011;177(1–2):97–103.
205. Santivañez SJ, Gutierrez AM, Rosenzvit MC, Muzulin PM, Rodriguez ML, Vasquez JC, et al. Human hydatid disease in Peru is basically restricted to *Echinococcus granulosus* genotype G1. *Am J Trop Med Hyg*. 2008;79(1):89.
206. Bart JM, Abdulkader M, Zhang YL, Lin RY, Wang YH, Nakao M, et al. Genotyping of human cystic echinococcosis in Xinjiang, PR China. *Parasitology*. 2006;133(5):571–9.
207. Casulli A, Zeyhle E, Brunetti E, Pozio E, Meroni V, Genco F, et al. Molecular evidence of the camel strain (G6 genotype) of *Echinococcus granulosus* in humans from Turkana, Kenya. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2010;104(1):29–32.
208. 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. *Vet Parasitol.* 2010;170(1–2):44–9.
209. Khan A, Ahmed H, Khan H, Simsek S, Kilinc SG, Kesik HK, et al. First report of *Echinococcus canadensis* (G6/G7) by sequence analysis from the Khyber Pakhtunkhwa province of Pakistan. *Acta Trop.* 2020;209:105559.
 210. Jabbar A, Narankhajid M, Nolan MJ, Jex AR, Campbell BE, Gasser RB. A first insight into the genotypes of *Echinococcus granulosus* from humans in Mongolia. *Mol Cell Probes.* 2011;25(1):49–54.
 211. Matini M, Fallah M, Maghsood AH, Saidijam M, Harandi MF. *Echinococcus granulosus sensu stricto* in livestock and human in Hamadan, Western Iran. *Iran J Parasitol.* 2019;14(2):288.
 212. Zhang L, Eslami A, Hosseini SH, McManus DP. Indication of the presence of two distinct strains of *Echinococcus granulosus* in Iran by mitochondrial DNA markers. *Am J Trop Med Hyg.* 1998;59(1):171–4.
 213. M’rad S, Filisetti D, Oudni M, Mekki M, Belguith M, Nouri A, et al. Molecular evidence of ovine (G1) and camel (G6) strains of *Echinococcus granulosus* in Tunisia and putative role of cattle in human contamination. *Vet Parasitol.* 2005;129(3–4):267–72.
 214. Capuano F, Rinaldi L, Maurelli MP, Perugini AG, Veneziano V, Garippa G, et al. Cystic echinococcosis in water buffaloes: epidemiological survey and molecular evidence of ovine (G1) and buffalo (G3) strains. *Vet Parasitol.* 2006;137(3–4):262–8.
 215. Varcasia A, Canu S, Lightowlers MW, Scala A, Garippa G. Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* strains in Sardinia. *Parasitol Res.* 2006 Feb;98(3):273–7.
 216. Bart JM, Morariu S, Knapp J, Ilie MS, Pitulescu M, Anghel A, et al. Genetic typing of *Echinococcus granulosus* in Romania. *Parasitol Res.* 2006 Jan;98(2):130–7.
 217. González LM, Daniel-Mwambete K, Montero E, Rosenzvit MC, McManus DP, Gárate T, et al. Further molecular discrimination of Spanish strains of *Echinococcus granulosus*. *Exp Parasitol.* 2002 Sep;102(1):46–56.
 218. Breyer I, Georgieva D, Kurdova R, Gottstein B. *Echinococcus granulosus* strain typing in Bulgaria: the G1 genotype is predominant in intermediate and definitive wild hosts. *Parasitol Res.* 2004 Jun;93(2):127–30.
 219. Varcasia A, Canu S, Kogkos A, Pipia AP, Scala A, Garippa G, et al. Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in sheep and goats of Peloponnesus, Greece. *Parasitol Res.* 2007 Sep;101(4):1135–9.
 220. Başer S, Maçın S, Maçın G, Örsten S. An overview of the genetic diversity of *Echinococcus granulosus sensu lato* in Turkey. *J Contemp Med.* 2022;12(6):1025–9.
 221. Babaoğlu AO, Soyder A, Malatyali E, Ertuğ S, Ertabaklar H. Aydın’da *Echinococcus granulosus* İzolatlarının Mitokondriyal Sitokrom C Oksidaz Alt Ünite 1 Geni (cox1) Dizi Analizi ile Genotiplendirilmesi. *Mikrobiyol Bul.* 2018;52(2):198–205.

222. Bağcı Ö, Vural G, Baca AÜ, Gauci C. Türkiye’de koyunlarda cytochrom c oxidase subunit 1 gen analizi ile *Echinococcus granulosus* genotipinin belirlenmesi. Tübitak Proje. 2007;(104).
223. BLAST [Internet]. Available from: (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) erişim tarihi: 10.09.2023
224. Manterola C, Totomoch-Serra A, Rojas C, Riffo-Campos ÁL, García-Méndez N. *Echinococcus granulosus* sensu lato genotypes in different hosts worldwide: a systematic review. *Acta Parasitol.* 2021;1–25.
225. Rosenzvit MC, Camicia F, Kamenetzky L, Muzulin PM, Gutierrez AM. Identification and intra-specific variability analysis of secreted and membrane-bound proteins from *Echinococcus granulosus*. *Parasitol Int.* 2006;55:S63–7.

EK-1

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-BAEK 2021/344				
	PROTOKOL ADI	Echinococcus Granulosus Antijen B Polimorfizminin Araştırılması				
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVANI / ADI	Prof. Dr. Nermin ŞAKRU				
	ARAŞTIRMA MERKEZİ					
	DESTEKLEYİCİ					
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası			
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:17/01	Tarih:06.09.2021				
	Fakültemiz Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nermin ŞAKRU'nun sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Araş. Gör. Dr. Berrak KAPLAN'ın tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş; araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenilmediği koşullarda ve veri toplanacak yerlerden gerekli izinler alındıktan sonra gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcut oy birliği ile karar verilmiştir.					
ETİK KURUL BİLGİLERİ						
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-BAEK Yönergesi					
ÜYELER						
Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Dr. Öğr. Üyesi Fatma Gülşüm ONAL Başkan	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E H	E H	Mazeretli
Prof. Dr. Hakan GÜRKAN Başkan Yardımcısı	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E H	E H	
Doç. Dr. Selçuk KORKMAZ Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. Biyoistatistik A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Mehmet Erdal VARDAR Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Hasan ÜMİT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Sernaz UZUNOĞLU Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	K	E H	E H	
Dr. Öğr. Üyesi Sezgi SARIKAYA SOLAK Üye	Deri ve Zührevi Hastalıklar	T.Ü.T.F. Deri ve Zührevi Hastalıklar A.D.	K	E H	E H	
Dr. Öğr. Üyesi Oktay KAYA Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Galip EKUKLU Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Filiz TÖTÜNCÜLER KÖKENLİ Üye	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	K	E H	E H	
Öğr. Gör. Dr. Sinan ATEŞ Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Sevtap HEKİMOĞLU ŞAHİN Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	K	E H	E H	
Dr. Öğr. Üyesi Doğan ALBAYRAK Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E H	E H	
Doç. Dr. Burhan Can ÇANAKÇI Üye		T.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E	E H	E H	
Doç. Dr. Hilal KEKLİCEK Üye		T.Ü. Sağlık Bilimleri Fakültesi	K	E H	E H	
Avukat Emine NURLU Üye		T.Ü. Rektörlüğü	K	E H	E H	
Emekli Öğretmen Sinan SEÇKİN Üye		Serbest Üye	E	E H	E H	Mazeretli

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Ahmet TEZEL

EK-2

Trakya Üniversitesi BAP Otomasyonu

T.C. TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ SÖZLEŞMESİ

PROJE NO: 2021/159**PROJE NİTELİĞİ:** TIPTA
UZMANLIK**1-PROJE BAŞLIĞI**

Echinococcus granulosus Antijen B Polimorfizminin Araştırılması

2-PERSONEL BİLGİLERİ

	Adı ve Soyadı	Unvanı	Telefon
Proje Yöneticisi	Prof.Dr. Nermin ŞAKRU	Prof.Dr.	()
Araştırmacılar	Arş.Gör.Dr. Berrak KAPLAN	Arş.Gör.Dr.	()

3-PROJE BÜTÇESİ

Teçhizatın Tanımı :	Detay listesi ektedir.
Ekonomik Kod	Toplam Fiyatı (TL)
03.02 TÜKETİME YÖNELİK MAL VE MALZEME ALIMLARI	28.477,40
03.05 HİZMET ALIMLARI	11.192,60
TOPLAM ÖDENEK	39.670,00

3-PROJE GELİŞİMİ

1.Projenin Kabul Tarihi: 14-12-2021	1.Ara Rapor : 28-06-2022 Sonuç : (+ / -) Sonuç Raporu : 28-12-2022 Sonuç : (+ / -)
2.Projenin Başlama Tarihi :29-12-2021	
3.Projenin Bitiş Tarihi : 28-12-2022	
4.Projenin Süresi: 12 Ay	

5.İLGİLİ BÖLÜM VE FAKÜLTE:

Tıp Fakültesi / Temel Tıp Bilimleri Bölümü

6.PROJENİN UYGULAMASI

1. Bu proje 2547 sayılı YÖK Kanununun 4684 sayılı Kanunla değişik 58.maddesi gereğince, Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma Projeleri Hakkında Yönetmelik ve Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Uygulama Yönergesi çerçevesinde yürütülür.
2. Proje süresinde ve harcama fasıllarında Rektörlük onayı alınmadan değişiklik yapılamaz.
3. Proje Yöneticisi her 6 ayın sonunda gelişme raporunu, Bölüm Başkanlığı ve ilgili Dekanlık veya Enstitü Müdürlüğü aracılığı ile Rektörlüğe iletmekle yükümlüdür.
4. Projelerden alınan teçhizat tüm öğretim üyelerinin kullanımına açıktır.
5. Bir ay geçtiği halde gelişme raporu verilmemiş veya süresi bitmiş olup süre uzatımı talebinde bulunulmamış projeler iptal edilir. Bakiye ödenek, BAP Komisyonu tarafından kabul edilecek yeni projelere tahsis edilir veya diğer projelere aktarılır.

	Adı-Soyadı	Tarih	İmza
Proje Yöneticisi :	Prof.Dr. Nermin ŞAKRU		

Komisyon Başkanı

Prof. Ahmet Hamdi ZAFER
Rektör Yardımcısı

EK-3

LOCUS LC780482 369 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus NDH1 mitochondrial ND1 gene for NADH dehydrogenase subunit 1, partial cds.
 ACCESSION LC780482
 VERSION LC780482.1
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidae; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 369)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University, Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL :<https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..369
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="NDH1"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 gene <1..>369
 /gene="ND1"
 CDS <1..>369
 /gene="ND1"
 /codon_start=1
 /transl_table=9
 /product="NADH dehydrogenase subunit 1"
 /protein_id="BET06478.1"
 /translation="LFGVLLMALVIVYSFIYGSYYASYSGLSVLWFLAAASTSSYS
 LLCTGWGGYNYSFLSSVRCAFGSVSFEACFCVWIFCALCSCSYNLIDFYNCWLSL
 LLFPLIYVLFILICILCETNRT"
 ORIGIN
 1 ttgtttggtg ttgtgttatt aatggctttg gtgattgttt attcatttat ttatggtaga
 61 tattatagag ctagttatag aggcctctcc gtgtgtggt ttttggtgc gccagaaca
 121 tctaggtatt cttgtttgtg tactggttgg ggtggttaca acaattattc atttttaagg
 181 tcggttcgat gtgcttttgg atctgttagg ttgaggctt gttttatgtg tgtggtgatt
 241 ttttgtgctt tgtgtagttag taggtataat ttaattgatt tttattataa ttgttgatta
 301 agtttggtat tatttccatt aatttatgtg ttatttttaa tatgtatatt gtgtgaaact
 361 aatcgtacg
 //

LOCUS LC780483 369 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus NDH2 mitochondrial ND1 gene for NADH dehydrogenase subunit 1, partial cds.
 ACCESSION LC780483
 VERSION LC780483.1
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 369)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University, Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL :<https://tbbmikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..369
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="NDH2"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 gene <1..>369
 /gene="ND1"
 CDS <1..>369
 /gene="ND1"
 /codon_start=1
 /transl_table=9
 /product="NADH dehydrogenase subunit 1"
 /protein_id="BET06479.1"
 /translation="LFGVLLMALVIVYSFIYGSYYASYSGLSVLWFLAAASTSSYS
 LLCTGWGGYNNYSFLSSVRCAFGSVSFEACFMCVVIFCALCSCSYNLIDFYNCWLSL
 LLFPLIYVLFILICETNRT"
 ORIGIN
 1 ttgttttggtg ttgtgttatt aatggctttg gtgattgttt attcatttat ttatggtaga
 61 tactatagag ctagttatag aggcctctcc gtgttggtgt ttttggctgc cgccagaaca
 121 tctaggtatt ctttgttggt tactgtgttg ggtggttaca acaattattc atttttaagg
 181 tcggttcgat gtgcttttgg atctgttagg ttgaggctt gttttatgtg tgtggtgatt
 241 ttttgtgctt tgtgtagttg taggtataat ttaattgatt tttattataa ttgttgatta
 301 agtttgttat tatttccatt aatttatgtg ttatttttaa tatgtatatt gtgtgaaact
 361 aatcgtagc
 //

LOCUS LC780484 369 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus NDH3 mitochondrial ND1 gene for NADH dehydrogenase subunit 1, partial cds.
 ACCESSION LC780484
 VERSION LC780484.1
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 369)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University, Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL :<https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..369
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="NDH3"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
[gene](#) <1..>369
 /gene="ND1"
[CDS](#) <1..>369
 /gene="ND1"
 /codon_start=1
 /transl_table=9
 /product="NADH dehydrogenase subunit 1"
 /protein_id="[BET06480.1](#)"
 /translation="LFGVLLMALVIVYSFIYGSYSASYSGLSVLWFLAAASTSSYS
 LLCTGNGGYNYSFLSSVRCAFGSVSFEACFMCVVIFCALCSCSYNLIDFYNCWLSL
 LLFPLIYVLFILICLCTNRT"
 ORIGIN
 1 ttgttttggtg ttgtgttatt aatggctttg gtgattgttt attcatttat ttatggtaga
 61 tattatagag ctagtatatag aggcctctcc gtgttggtgt ttttggctgc cgccagaaca
 121 tctaggtatt ctttgtttgt tactgtgttg ggtgggttaca acaattattc atttttaagg
 181 tcggttcgat gtgcttttgg atctgttagg tttagggtt gttttatgtg tgtggtgatt
 241 ttttgtgctt tgtgtagttg taggtataat ttaattgatt ttattacaa ttgttgatta
 301 agtttgttat tatttcatt aatttatgtg ttatttttaa tatgtatatt gtgtgaaact
 361 aatcgtacg
 //

LOCUS LC780485 369 bp DNA linear INV 18-OCT-2023

DEFINITION Echinococcus granulosus NDH4 mitochondrial ND1 gene for NADH dehydrogenase subunit 1, partial cds.

ACCESSION LC780485

VERSION LC780485.1

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion Echinococcus granulosus

ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes; Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; Echinococcus; Echinococcus granulosus group.

REFERENCE 1

AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.

TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus granulosus

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 369)

AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University, Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL :<https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..369
/organism="Echinococcus granulosus"
/organelle="mitochondrion"
/mol_type="genomic DNA"
/isolate="NDH4"
/host="Homo sapiens"
/db_xref="taxon:6210"
/country="Turkey"
/collection_date="2021-09-01"

[gene](#) <1..>369
/gene="ND1"

[CDS](#) <1..>369
/gene="ND1"
/codon_start=1
/transl_table=9
/product="NADH dehydrogenase subunit 1"
/protein_id="BET06481.1"
/translation="LFGVLLMALVIVYSFIYGSYSASYSGLSVLWFLAAASTSSYS
LLCTGWGGYNNYSFLSSVRCAFGSVSFEACFMCVVIFCALCSCSYNLIDFYNCWLSL
LLFPLIYVFLICILCETNRT"

ORIGIN

1 ttgttttggtg ttgtgttatt aatggctttg gtgattgttt attcatttat ttatggtaga
61 tactatagag ctagtatatag aggcctctcc gtgttggtgt ttttggtctg cgcagaaca
121 tctaggtatt cttgtgtgtg tactggttgg ggtggttaca acaattattc atttttaagg
181 tcggttcgat gtgcttttgg atctgttagg tttagggctt gttttatgtg tgtggtgatt
241 ttttgtgctt tgtgtagttg taggtataat ttaattgatt tctattataa ttgttgatta
301 agtttggtat tatttccatt aatttatgtg ttatttttaa tatgtatatt gtgtgaaact
361 aatcgtacg

//

LOCUS LC780486 369 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus NDH5 mitochondrial ND1 gene for NADH dehydrogenase subunit 1, partial cds.
 ACCESSION LC780486
 VERSION LC780486.1
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidae; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 369)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University, Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL :<https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..369
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="NDH5"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 gene <1..>369
 /gene="ND1"
 CDS <1..>369
 /gene="ND1"
 /codon_start=1
 /transl_table=9
 /product="NADH dehydrogenase subunit 1"
 /protein_id="[BET06482.1](#)"
 /translation="LFGVVLLMALVIVYSFIYGSYYASYSGLSVLWFLAAASTSSYS
 LLCTGWGGYNNYSFLSSVRCAFGSVSFEACFMCVVIFCALCSCSYNLIDFYYNCLSL
 LLFPLIYVFLICILCETNRT"
 ORIGIN
 1 ttgtttggtg ttgtgttatt aatggctttg gtgattgttt attcatttat ttatggtaga
 61 tattatagag ctagtatatag aggcctctcc gtgttggtgt ttttggtctc cgccagaaca
 121 tctaggtatt cttgtgtgtg tactgggttg ggtgggttaca acaattattc atttttaagg
 181 tcggttcgat gtgcttttgg atctgttagg ttgaggctt gttttatgtg tgtgggtgatt
 241 ttttgtgctt tgtgtagttg taggtataat ttaattgatt tctattataa ttgttgatta
 301 agtttggtat tatttccatt aatttatgtg ttatttttaa tatgtatatt gtgtgaaact
 361 aatcgtacg
 //

LOCUS LC780487 369 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus NDH6 mitochondrial ND1 gene for NADH dehydrogenase subunit 1, partial cds.
 ACCESSION LC780487
 VERSION LC780487.1
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 369)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University, Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL :<https://tbbmikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..369
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="NDH6"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
[gene](#) <1..>369
 /gene="ND1"
[CDS](#) <1..>369
 /gene="ND1"
 /codon_start=1
 /transl_table=9
 /product="NADH dehydrogenase subunit 1"
 /protein_id="BET06483.1"
 /translation="LFGVLLMALVIVYSFIYGSYYASYSGLSVLWFLAAASTSSYS
 LLCTGNGGYNYSFLSSVRCAFGSVSFEACFMCVWIFCALCSCSYNLIDFYNCWLSL
 LLFPLIYVLFILICETNRT"
 ORIGIN
 1 ttgtttggtg ttgtgttatt aatggctttg gtgattgttt attcatttat ttatggtaga
 61 tattataggg ctagttatag aggcctctcc gtgttggtgt ttttggctgc cgccagaaca
 121 tctaggtatt cttgtgtgtg tactgggttg ggtggttaca acaattattc atttttaagg
 181 tcggttcgat gtgcttttgg atctgttagg tttaggctt gttttatgtg tgtggtgatt
 241 ttttgtgctt tgtgtagtgt taggtataat ttaattgatt tttattataa ttgttgatta
 301 agtttgattt tatttccatt aatttatgtg ttatttttaa tatgtatatatt gtgtgaaact
 361 aatcgtacg
 //

LOCUS LC780488 369 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus NDH7 mitochondrial ND1 gene for NADH dehydrogenase subunit 1, partial cds.
 ACCESSION LC780488
 VERSION LC780488.1
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 369)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University, Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL :<https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..369
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="NDH7"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:[6210](#)"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 gene <1..>369
 /gene="ND1"
 CDS <1..>369
 /gene="ND1"
 /codon_start=1
 /transl_table=9
 /product="NADH dehydrogenase subunit 1"
 /protein_id="[BET06484.1](#)"
 /translation="LFGVLLMALVIVYSFIYGSYSASYSGLSVLWFLAAASTSSYS
 LLCTGWGGYNNYSFLSSVRCAFGSVSFEACFMCVVIFCALCSCSYNLIDFYNCWLSL
 LLFPLIYVFLICILCETNRT"
 ORIGIN
 1 ttgtttggtg ttgtgttatt aatggccttg gtgattgttt attcatttat ttatggtaga
 61 tattatagag ctagtatatag aggcctctcc gtgttggtgt ttttggtgc cgcagaaca
 121 tctaggtatt cttgttgtg tactgggttg ggtggttaca acaattattc attttaagg
 181 tcggttcgat gtgcttttgg gtctgttagg ttgaggcct gttttatgtg tgtggtgatt
 241 ttttgtgctt tgtgtagttg taggtataat ttaattgatt tttattataa ttgttgatta
 301 agtttggtat tatttccatt aatttatgtg ttatttttaa tatgtatatt gtgtgaaact
 361 aatcgtacg
 //

LOCUS LC780490 471 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus NDH9 mitochondrial ND1 gene for NADH dehydrogenase subunit 1, partial cds.
 ACCESSION LC780490
 VERSION LC780490.1
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 471)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University, Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL :<https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..471
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="NDH9"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 gene <1..>471
 /gene="ND1"
 CDS <1..>471
 /gene="ND1"
 /codon_start=1
 /transl_table=9
 /product="NADH dehydrogenase subunit I"
 /protein_id="BET06486.1"
 /translation="IGFLQSFADLLKLWKFQCFYFQSRSYVGLFGVLLMALVIVYS
 FIYGSYYASYSGLSVLWFLAAASTSSYSLLCTGWGGYNNYSFLSSVRCAFGSVSFEA
 CFMCVVIFCALCSCSYNLIDFYNCWLSLLLPLIYVLFMLCILCETNRTPFQYDYG"
 ORIGIN
 1 attggtttct tgcagaggtt tgctgatcta ttgaagttgg tagttaagtt taagtgtttt
 61 tactttccaga gtcgtaggta tggttggttg ttggtgttg tgttattaat ggctttggtg
 121 attgttttatt cttttattta tggtagatat tatagagcta gttatagagg cctctccgtg
 181 ttgttggtttt tggctgccgc cagaacatct aggtattctt tgttggtgtac tggttgggggt
 241 ggttacaaca attattcatt tttaagggtcg gttcgatgtg cttttggatc tgttaggttt
 301 gaggcttggt ttatgtgtgt ggtgattttt tgtgctttgt gtagttgtag gtataattta
 361 attgattttt attataattg ttgattaagt ttgttattat ttccattaat ttatgtgtta
 421 tttttaatgt gtatattgtg tgaaactaat cgtacgcat ttgattatgg a
 //

LOCUS LC780489 471 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus NDH8 mitochondrial ND1 gene for NADH dehydrogenase subunit 1, partial cds.
 ACCESSION LC780489
 VERSION LC780489.1
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 471)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University, Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL :<https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES
 source Location/Qualifiers
 1..471
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="NDH8"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 ~~gene~~ <1..>471
 /gene="ND1"
 ~~CDS~~ <1..>471
 /gene="ND1"
 /codon_start=1
 /transl_table=9
 /product="NADH dehydrogenase subunit I"
 /protein_id="[BET06485.1](#)"
 /translation="IGLLQSFADLLKLWKFCFYFQSRSYVGLFGVLLMALVIVYS
 FIYGSYYASYSGLSVLWFLAAASTSSYSLLCTGWGGYNNYSFLSSVRCAGFSVSFEA
 CFMCVVIFCALCSCSYNLIDFYNCWLSLLLPLIYVLFMLCILCETNRTPFQYDYG"
 ORIGIN
 1 attggtttgt tgcagaggtt tgctgatcta ttgaagttgg tagttaagtt taagtgtttt
 61 tacttccaaa gtcgtaggta tggttggttg ttgttggttg tgttattaat ggctttggtg
 121 attgtttatt catttattta tggtagatat tatagagcta gttatagagg cctctccgtg
 181 ttgtggtttt tggctgccgc cagaacatct aggtattctt tggtgtgtac tggttggggt
 241 gggtacaaca attattcatt ttttaaggctg gttcgtgtg cttttggatc tgtaggtttt
 301 gaggtctgtt ttatgtgtgt ggtgattttt tgtgctttgt gtagttgtag gtataattta
 361 attgattttt attataattg ttgattaagt ttgttattat ttccattaat ttatgtgtta
 421 tttttaatgt gtatattgtg tgaactaat cgtacgcat ttgattatgg a
 //

LOCUS LC780081 366 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION *Echinococcus granulosus* COH1 mitochondrial CO1 gene for cytochrome c oxidase subunit I, partial cds.
 ACCESSION LC780081
 VERSION LC780081.1
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion *Echinococcus granulosus*
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; *Echinococcus*;
Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of antigen B gene polymorphism of *Echinococcus granulosus*
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 366)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (22-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University
 Faculty of Medicine, Medical Microbiology; Trakya University,
 edirne, Edirne 22010, Turkey URL
 :<https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..366
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="COH1"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 gene <1..>366
 /gene="CO1"
 CDS <1..>366
 /gene="CO1"
 /codon_start=1
 /transl_table=9
 /product="cytochrome c oxidase subunit I"
 /protein_id="BET06318.1"
 /translation="PGFGIISHICLSISANFDAFGFYGLLFAMFSIVCLGSSVWGHHM
 FTVGLDVKTAVFFSSVTMIIGVPTGIKVFTWLYMLLNSSVNVSDPVLWVVSFIVLFT
 FGGVTGIVLSACVLDNILHD"
 ORIGIN
 1 cctggatttg gtataattag tcatatttgt ttgagtatta gtgctaattt tgatgcgttt
 61 gggttctatg ggttgttgtt tgctatgttt tctatagtgt gtttgggcag cagggtttgg
 121 ggtcatcata tgtttactgt tgggttggat gtgaagacgg ctgttttttt tagctctgtt
 181 actatgatta taggggttcc tactgggtata aaggtgttta cttgggtata tatgttgttg
 241 aattcgagtg ttaatgttag tgatccggtt ttgtgatggg ttgtttcttt tatagtgttg
 301 tttagctttg ggggagttac gggtatagtt ttgtctgctt gtgtgttaga taatattttg
 361 catgat
 //

LOCUS LC780082 366 bp DNA linear INV 26-SEP-2023
 DEFINITION *Echinococcus granulosus* CO-H2 mitochondrial CO1 gene for cytochrome c oxidase subunit I, partial cds.
 ACCESSION LC780082
 VERSION LC780082.1
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion *Echinococcus granulosus*
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes; Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; *Echinococcus*; *Echinococcus granulosus* group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of antigen B gene polymorphism of *Echinococcus granulosus*
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 366)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (22-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University Faculty of Medicine, Medical Microbiology; Trakya University, edirne, Edirne 22010, Turkey URL :<https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES
 source Location/Qualifiers
 1..366
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="CO-H2"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 gene <1..366
 /gene="CO1"
 CDS <1..366
 /gene="CO1"
 /codon_start=1
 /transl_table=9
 /product="cytochrome c oxidase subunit I"
 /protein_id="BET06319.1"
 /translation="PGFGIISHICLSISANFDVFGFYGLLFAMFSIVCLGSSVWGHMFTVGLDVKTAVFFSSVTMIIGVPTGIKVF TWLYMLLNSSVNVSDPVLWVVVSFIVLFT FGGVTGIVLSACVLDNILDH"
 ORIGIN
 1 cctggatttg gtataattag tcatatttgt ttgagtatta gtgctaattt tgatgtgttt
 61 gggttctatg ggttggtgtt tgctatgttt tctatagtgt gtttgggtag cagggtttgg
 121 ggtcatcata tgtttactgt tgggttggat gtgaagacgg ctgttttttt tagctctgtt
 181 actatgatta taggggttcc tactgggtata aagggtgttta cttgggtata tatgttggtg
 241 aattcgagtg ttaatgttag tgatccggtt ttgtgatggg ttgtttcttt tatagtgttg
 301 ttacgtttg ggggagttac gggtatagtt ttgtctgctt gtgtgttaga taatattttg
 361 catgat
 //

LOCUS LC780476 366 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus COH3 mitochondrial CO1 gene for cytochrome c oxidase subunit I, partial cds.
 ACCESSION LC780476
 VERSION LC780476.1
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidae; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 366)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University, Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL :<https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES
 source Location/Qualifiers
 1..366
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="COH3"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 [gene](#) <1..>366
 /gene="CO1"
 [CDS](#) <1..>366
 /gene="CO1"
 /codon_start=1
 /transl_table=9
 /product="cytochrome c oxidase subunit I"
 /protein_id="BET06472.1"
 /translation="PGFGIISHICLSISANFDAFGFYGLLFAMFSIVCLGSSVWGHHM
 FTVGLDVKTAVFFSSVTMIIGVPTGIKVFTWLYMLLNSSVNVSDPVLWVVSFIVLFT
 FGVGTGIVLSACVLDNIIHD"
 ORIGIN
 1 cctggatttg gtataattag tcatatttgt ttgagtatta gtgctaattt tgatgcgttt
 61 ggggttctatg ggttggtgtt tgctatgttt tctatagtgt gtttgggtag cagggtttgg
 121 ggatcatcata tgtttactgt tgggttggat gtgaagacgg ctgttttttt tagctctgtt
 181 actatgatta taggggttcc tactggtata aaggtgttta cttggttata tatgttgttg
 241 aattcgagtg ttaatgtag tgatccggtt ttgtgatggg ttgtttcttt tatagtgttg
 301 ttacgtttg ggggagttac gggtatagtt ttgtctgctt gtgtgttaga taatattttg
 361 catgat
 //

LOCUS LC780477 366 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus COH4 mitochondrial CO1 gene for cytochrome c oxidase subunit I, partial cds.
 ACCESSION LC780477
 VERSION LC780477.1
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 366)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University, Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL :<https://tbbmikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..366
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="COH4"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 gene <1..>366
 /gene="CO1"
 CDS <1..>366
 /gene="CO1"
 /codon_start=1
 /transl_table=9
 /product="cytochrome c oxidase subunit I"
 /protein_id="BET06473.1"
 /translation="PGFGIIISHICLSISANFDAFGFYGLLFAMFSIVCLGSSVWGHMFTVGLDVKTAVFFSSVTMIIGVPTGIKVF TWLYMLLNSSVNVSDPVLWVVSFIVLFT FGGVTGIVLSACVLDNILDH"
 ORIGIN
 1 cctggatttg gtataattag tcatatttgt ttgagtatta gtgctaattt tgatgcgttt
 61 gggtttctatg ggttggttgg ttgctatggtt tctatagttg gtttgggcag cagggtttgg
 121 ggtcatcata tgtttactgt tgggttggat gtgaagacgg ctgttttttt tagctctgtt
 181 actatgatta taggggttcc tactgggtata aagggtgttta cttgggttga tatgttggg
 241 aattcgagtg ttaattgtag tgatccggtt ttgtgatggg ttgtttcttt tatagtgttg
 301 ttacgtttg ggggagttac gggtatagtt ttgtctgctt gtgtgttaga taatattttg
 361 catgat
 //

LOCUS LC780478 366 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus COH5 mitochondrial CO1 gene for cytochrome c oxidase subunit I, partial cds.
 ACCESSION LC780478
 VERSION LC780478.1
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 366)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University, Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL :<https://tbbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES
 source Location/Qualifiers
 1..366
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="COH5"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 ~~gene~~ <1..>366
 /gene="CO1"
 ~~CDS~~ <1..>366
 /gene="CO1"
 /codon_start=1
 /transl_table=9
 /product="cytochrome c oxidase subunit I"
 /protein_id="[BET06474.1](#)"
 /translation="PGFGIISHICLSISANFDAFGFYGLLFAMFSIVCLGSSVWGHM
 FTVGLDVKTAVFFSSVTMIIGVPTGIKVF TWLYMLLNSSVNVSDPVLWVVSFIVLFT
 FGGVTGIVLSACVLDNILDH"
 ORIGIN
 1 cccggatttg gtataattag tcatatttgt ttgagtatta gtgctaattt tgatgcgttt
 61 ggggttctatg ggttggttgt tgctatgttt tctatagtgt gtttgggtag cagggtttgg
 121 ggtcatcata tgtttactgt tgggttggat gtgaagacgg ctgttttttt tagctctgtt
 181 actatgatta taggggttcc tacttggtata aagggtgtta cttggttata tatgttggtg
 241 aattcgagtg ttaatgttag tgatccggtt ttgtgatggg ttgtttcttt tatagtgttg
 301 ttacggttg ggggagttac gggtatagtt ttgtctgctt gtgtgttaga taatatattg
 361 catgat
 //

LOCUS LC780479 366 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus COH6 mitochondrial CO1 gene for cytochrome c oxidase subunit I, partial cds.
 ACCESSION LC780479
 VERSION LC780479.1
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes; Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; Echinococcus; Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 366)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University, Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL :<https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..366
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="COH6"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
[gene](#) <1..>366
 /gene="CO1"
[CDS](#) <1..>366
 /gene="CO1"
 /codon_start=1
 /transl_table=9
 /product="cytochrome c oxidase subunit I"
 /protein_id="BET06475.1"
 /translation="PGFGIISHICLSISANFDAFGFYGLLFAMFSIVCLGSSVWGHMFTVGLDVKTAVFFSSVTMIIGVPTGIKVFTWLYMLLNSSVNVSDPVLWVWSFIVLFTFGEVTGIVLSACVLDNILDH"
 ORIGIN
 1 cctggatttg gtataattag tcatatttgt ttgagtatta gtgctaattt tgatgcgttt
 61 ggggttctatg ggttggttgt tgctatgttt tctatagtgt gtttgggcag cagggtttgg
 121 ggtcatcata tggtttactgt tgggttggat gtgaagacgg ctgttttttt tagctctgtt
 181 actatgatta taggggttcc tactggtata aaggtgttta cttggttata tatgttggtt
 241 aattcgagtg ttaatgtag tgatccggtt ttgtgatggg ttgtttcttt tatagtgttg
 301 tttagctttg gggaagttac ggttatagtt ttgtctgctt gtgtgttaga taatatattg
 361 catgat
 //

LOCUS LC780480 366 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus COH7 mitochondrial CO1 gene for cytochrome c oxidase subunit I, partial cds.
 ACCESSION LC780480
 VERSION LC780480.1
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 366)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University, Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL :<https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..366
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="COH7"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:[6210](#)"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
[gene](#) <1..>366
 /gene="CO1"
[CDS](#) <1..>366
 /gene="CO1"
 /codon_start=1
 /transl_table=[9](#)
 /product="cytochrome c oxidase subunit I"
 /protein_id="[BET06476.1](#)"
 /translation="PGFGIISHICLSISANFDAFGFYGLLFAMFSIVCLGSSWGHMFTVGLDVKTAVFFSSVTMIIGVPTGIKVFTWLYMLNSSVNASDPVLWVVVSFIVLFTFGGVTGIVLSACVLDNILDH"
 ORIGIN
 1 cctggatttg gtataattag tcatatttgt ttgagtatta gtgctaattt tgatgcgttt
 61 gggttttatg ggttggttgt tgctatgttt tctatagtgt gtttgggtag cagggtttgg
 121 ggatcatcata tggttactgt tgggttggtat gtgaagacgg ctgttttttt tagctctgtt
 181 actatgatta taggggttcc tactggtata aagggtgtta cttggttata tatgttggtg
 241 aattcgagtg ttaatgctag tgatccggtt ttgtgatggg ttgtttcttt tatagtgttg
 301 ttacggttg ggggagttac gggtatagtt ttgtctgctt gtgtgttaga taatattttg
 361 catgat
 //

LOCUS LC780481 366 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus COH8 mitochondrial CO1 gene for cytochrome c oxidase subunit I, partial cds.
 ACCESSION LC780481
 VERSION LC780481.1
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 366)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University, Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL :<https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..366
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="COH8"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 gene <1..>366
 /gene="CO1"
 CDS <1..>366
 /gene="CO1"
 /codon_start=1
 /transl_table=9
 /product="cytochrome c oxidase subunit I"
 /protein_id="BET06477.1"
 /translation="PGFGIISHICLSISANFDAFGFYGLLFAMFAIVCLGSSVWGHHMFTVGLDVKTAVFFSSVTMIIGVPTGIKVFTWLYMLNSSVNVSDPVLWVVVSFIVLFTFGGVTGIILSACVLDNILDH"
 ORIGIN
 1 cctggatttg gtataattag tcatatttgt ttgagtatta gtgctaattt tgatgcgttt
 61 ggggttttatg ggttggttgt tgctatgttt gctatagtgt gtttgggtag cagggtttgg
 121 ggtcatcata tgtttactgt tgggttggat gtgaagacgg ctgttttttt tagctctgtt
 181 actatgatta taggggttcc tacttggtata aaggtgttta ctggtttata tatgttggtg
 241 aattcgagtg ttaatgtag tgatccggtt ttgtgatggg ttgtttcttt tatagtgttg
 301 ttacgtttg ggggagttac ggtataatt ttgtctgctt gtgtgttaga taatattttg
 361 catgat
 //

LOCUS LC780491 279 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus B2H1 gene for antigen B, partial cds.
 ACCESSION LC780491
 VERSION LC780491.1
 KEYWORDS .
 SOURCE Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidae; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus
 granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 279)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University,
 Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL
 :https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..279
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="B2H1"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 CDS
 <49..262
 /codon_start=2
 /product="antigen B"
 /protein_id="BET06487.1"
 /translation="KDEPKAHMGQVVKRWGELRDFFRNDPLGQRLVALGNDLTAICQ
 KLQLKIREVLKKYVKNLVEEKDDDSK"
 ORIGIN
 1 ttctcttgct tccacacctc attttcacat ttgtcacctc ccttttagta aagatgagcc
 61 aaaagcacac atggggcaag tggtaaaaaa aagatggggt gaacttcgag acttctttag
 121 aaatgatcca ctgggtcaaa gacttgctgc tcttggcaat gacctaaactg ccatttgcca
 181 gaagctgcaa ttgaagattc gtgaggtgct gaagaagtat gttaagaatt tgggtggaaga
 241 aaaagatgat gattcaaagt aagtcacgct tcgggacac
 //

LOCUS LC780492 279 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus B2H2 gene for antigen B, partial cds.
 ACCESSION LC780492
 VERSION LC780492.1
 KEYWORDS .
 SOURCE Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus
 granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 279)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University,
 Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL
 :<https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..279
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="B2H2"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 CDS
 <49..262
 /codon_start=2
 /product="antigen B"
 /protein_id="BET06488.1"
 /translation="KAEPKAHMGQVVKRWGELRDFFRNDPLGQRLALGNDLTAICQ
 KLQLKIREVLKKYVKNLVEEKDDDSK"
 ORIGIN
 1 ttctcttgtc tccacacctc attttcacat ttgtcacctc ctttttagta aagctgagcc
 61 aaaagcacac atggggcaag tggtaaaaaa aagatggggg gaacttcgag acttcttag
 121 aaatgatcca ctgggtcaaa gacttctcgc tcttggcaat gacctaactg ccatttgcca
 181 gaagctgcaa ttgaagattc gtgaggtgct gaagaagtat gtaagaatt tgggtgaaga
 241 aaaagatgat gattcaaagt aagtcatgct tcgggacac
 //

LOCUS LC780493 279 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus B2H3 gene for antigen B, partial cds.
 ACCESSION LC780493
 VERSION LC780493.1
 KEYWORDS .
 SOURCE Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidae; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus
 granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 279)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University,
 Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL
 :https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/
 FEATURES
 source Location/Qualifiers
 1..279
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="B2H3"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 CDS
 <49..262
 /codon_start=2
 /product="antigen B"
 /protein_id="BET06489.1"
 /translation="KDEPKAHMGQVVKRWGELRDFFRNPLGQRLVALGNDLTAICQ
 KLQLKIREVLKKYVKNLVEEKDDDSK"
 ORIGIN
 1 ttctcttgtc tccatacctc attttgacat ttgtcacctc ctttttagta aagatgagcc
 61 aaaagcacac atggggcaag tggtaaaaaa aagatggggg gaacttcgag acttctttag
 121 aaataatcca ctgggtcaaa gacttgtcgc tcttggcaat gacctaactg ccatttgcca
 181 gaagctgcaa ttgaagattc gtgaggtgct gaagaagtat gttaagaatt tgggtgaaga
 241 aaaagatgat gattcaaaagt aagtcattgc tcgggacac
 //

LOCUS LC780494 279 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus B2H4 gene for antigen B, partial cds.
 ACCESSION LC780494
 VERSION LC780494.1
 KEYWORDS .
 SOURCE Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus
 granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 279)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University,
 Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL
 :https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..279
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="B2H4"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 CDS
 <49..262
 /codon_start=2
 /product="antigen B"
 /protein_id="BET06490.1"
 /translation="KDEPKAHMGQVVKRWGELRDFRNDPLGQRLALGNDLTAICQ
 KLQKIREVLKKYVKNLVEEKDDDSK"
 ORIGIN
 1 ttctcttgct tccacacctc attttgacat ttgtcacctc ccttttagta aagatgagcc
 61 aaaagcacac atggggcaag tggtaaaaaa aagatggggt gaacttcgag acttctttag
 121 aaatgatcca ctgggtcaaa gacttctcgc tcttggaat gacctaactg ccatttgcca
 181 gaagctgcaa ttgaagattc gtgaggtgct gaagaagtat gtaagaatt tgggtgaaga
 241 aaaagatgat gattcaaatg aagtcacgct tcgggacac
 //

LOCUS LC780495 279 bp DNA linear INV 18-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus B2H5 gene for antigen B, partial cds.
 ACCESSION LC780495
 VERSION LC780495.1
 KEYWORDS .
 SOURCE Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus
 granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 279)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (25-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University,
 Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL
 :https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/
 FEATURES
 source Location/Qualifiers
 1..279
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="B2H5"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 CDS
 <49..262
 /codon_start=2
 /product="antigen B"
 /protein_id="BET06491.1"
 /translation="KDEPKAHMGQVVKRWGELRDFFRNPLGQRLVALGNDLTAICQ
 KLQLKIREVLKKYVKNLVEEKDDDSK"
 ORIGIN
 1 ttctcttgtc tccacacctc attttgacat ttgtcacctc ccttttagta aagatgagcc
 61 aaaagcacac atggggcaag tggtaaaaaa aagatggggg gaacttcgag acttctttag
 121 aaataatcca ctgggtcaaa gacttgtcgc tcttggcaat gacctaaactg ccatttgcca
 181 gaagctgcaa ttgaagattc gtgaggtgct gaagaagtat gttaagaatt tgggtgaaga
 241 aaaagatgat gattcaaagt aagtcattgc tcgggacac
 //

LOCUS LC780608 333 bp DNA linear INV 29-SEP-2023

DEFINITION Echinococcus granulosus B4H1 egagb4 gene for antigen B subunit 4, partial cds.

ACCESSION LC780608

VERSION LC780608.1

KEYWORDS .

SOURCE Echinococcus granulosus

ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes; Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; Echinococcus; Echinococcus granulosus group.

REFERENCE 1

AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.

TITLE Identification of Antigen B Gene Polymorphism of Echinococcus granulosus

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 333)

AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (26-SEP-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University Faculty of Medicine, Medical Microbiology; Edirne 22010, Turkey URL :<https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>

FEATURES

source Location/Qualifiers

1..333

/organism="Echinococcus granulosus"

/mol_type="genomic DNA"

/isolate="B4H1"

/host="Homo sapiens"

/db_xref="taxon:6210"

/country="Turkey"

/collection_date="2021-09-01"

gene <1..316

/gene="egagb4"

CDS join(<1..34,103..316)

/gene="egagb4"

/codon_start=3

/product="antigen B subunit 4"

/protein_id="BET14062.1"

/translation="ALVAFVAVVQAKAEPERCKCLIMRKLGEIRDFFRSDPLGQKLAA LGRDLTAICQKLQKLVHEVLKKYVKDLLEEDEDLK"

ORIGIN

1 ttgctctcgt gcccttcgtg gccgtcgtc aagcgtgagt ctcacaacgt ctccttctct

61 tctctccata ctcactttg acactgttct ctcctctcc aggaagctg aacccgagag

121 atgcaagtgc ctcataatga gaaaattggg cgaaattcgg gacttcttta gaagtgatcc

181 actgggtcaa aaacttgctg ctctggcag ggacctgact gccatctgcc agaagctgca

241 attgaaggtt cacgaagtgt tgaagaaata tgtcaaggat ttgctggaag aagaagatga

301 ggatgattta aagtaagtca tgcgtcggga cac

//

LOCUS LC781357 333 bp DNA linear INV 04-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus B4H2 EgAgB4 gene for antigen B subunit 4, partial cds.
 ACCESSION LC781357
 VERSION LC781357.1
 KEYWORDS .
 SOURCE Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes; Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidae; Taeniidae; Echinococcus; Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of antigen B gene polymorphism of Echinococcus granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 333)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (02-OCT-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University, Faculty of Medicine, Medical Microbiology; Trakya University, Edirne, Edirne 22010, Turkey URL :<https://tibbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..333
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="B4H2"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 gene <1..316
 /gene="EgAgB4"
 CDS join(<1..34,103..316)
 /gene="EgAgB4"
 /codon_start=3
 /product="antigen B subunit 4"
 /protein_id="BET20320.1"
 /translation="ALVAFVAVVQAKAEPPERCKCLIMRKLGEIRDFFRSDDLPGQKLAA LGRDLTAICQKLQKLVHEVLKKYVKDLLEEEDEDLK"
 ORIGIN
 1 ttgctctcgt ggcttttcgtg gccgtcgttc aagcgtgagt ctcacaacgt ctccttctct
 61 tgtctccata cctcattttg acactgttct cctcccttcc aggaaagctg aacccgagag
 121 atgcaagtgc ctcataatga gaaaattggg cgaaattcgg gacttcttta gaagtgatcc
 181 actgggtcaa aaacttgctg ctcttggcag ggacctgact gccatctgcc agaagctgca
 241 attgaaggtt cacgaagtgt tgaagaaata tgtcaaggat ttgctggaag aagaagatga
 301 ggatgattta aagtaagtca tgcgtcggga cac
 //

LOCUS LC781358 333 bp DNA linear INV 04-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus B4H3 EgAgB4 gene for antigen B subunit 4, partial cds.
 ACCESSION LC781358
 VERSION LC781358.1
 KEYWORDS .
 SOURCE Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes; Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidea; Taeniidae; Echinococcus; Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of antigen B gene polymorphism of Echinococcus granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 333)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (02-OCT-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University, Faculty of Medicine, Medical Microbiology; Trakya University, Edirne, Edirne 22010, Turkey URL :<https://tbbmikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..333
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="B4H3"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
[gene](#) <1..316
 /gene="EgAgB4"
[CDS](#) join(<1..34,103..316)
 /gene="EgAgB4"
 /codon_start=3
 /product="antigen B subunit 4"
 /protein_id="BET20321.1"
 /translation="ALVAFVAVVQAKAEPRCKCLIMRKLGEIRDFFRSDPLGQKLAA LGRDLTAICQKLQKVHEVLKKYVKDLLEEEDDLK"
 ORIGIN
 1 ttgctctcgt ggctttcgtg gccgtcgttc aagcgtgagt ctcacaacgt ctccttctct
 61 tgtctccata cctcactttg acactgttct cctcccttcc aggaaagctg aacccgagag
 121 atgcaagtgc ctcataatga gaaaattggg cgaaattcgg gacttcttta gaagtgatcc
 181 actgggtcaa aaacttgctg ctcttggcag ggacctgact gccatctgcc agaagctgca
 241 attgaagggt cacgaagtgt tgaagaaata tgtcaaggat ttgctggaag aagaagatga
 301 ggatgattta aagtaagtca tgcgtcggga cac
 //

LOCUS LC781359 333 bp DNA linear INV 04-OCT-2023
 DEFINITION Echinococcus granulosus B4H4 EgAgB4 gene for antigen B subunit 4, partial cds.
 ACCESSION LC781359
 VERSION LC781359.1
 KEYWORDS .
 SOURCE Echinococcus granulosus
 ORGANISM [Echinococcus granulosus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Spiralia; Lophotrochozoa; Platyhelminthes;
 Cestoda; Eucestoda; Cyclophyllidae; Taeniidae; Echinococcus;
 Echinococcus granulosus group.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Identification of antigen B gene polymorphism of Echinococcus granulosus
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 333)
 AUTHORS Cakmakci,B. and Sakru,N.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (02-OCT-2023) Contact:Berrak Cakmakci Trakya University, Faculty of Medicine, Medical Microbiology; Trakya University, Edirne, Edirne 22010, Turkey URL :<https://tbbimikrobiyoloji-abd-en.trakya.edu.tr/>
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..333
 /organism="Echinococcus granulosus"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="B4H4"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:6210"
 /country="Turkey"
 /collection_date="2021-09-01"
 gene <1..316
 /gene="EgAgB4"
 CDS join(<1..34,103..316)
 /gene="EgAgB4"
 /codon_start=3
 /product="antigen B subunit 4"
 /protein_id="BET20322.1"
 /translation="ALVAFVAVVQAKAEPERCKCLIMRKLGEIRDFFRSDPLGQKLAA LGRDLTAICQKLQKVHEVLKKYVKDLLLEEDEDLK"
 ORIGIN
 1 ttgctctcgt ggctttcgtg gccgtcggtc aagcgtgagt ctcacaacgt ctccttctct
 61 tctctccata ctcactttg acactgttct ctcctcttcc aggaaagctg aaccgagag
 121 atgcaagtgc ctcataatga gaaaattggg cgaaattcgg gacttcttta gaagtgatcc
 181 actgggtcaa aaacttgctg ctcttggcag ggacctcact gccatctgcc agaagctgca
 241 attgaagggt caggaagtgt tgaagaaata tgtcaaggat ttgctggaag aagaagatga
 301 ggatgattta aagtaagtca tgcgtcggga cac
 //