

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

ELAZIĞ YÖRESİ KOYUNLARINDA KİST HİDATİĞİN
YAYILIŞI VE KOYUN KÖKENLİ KİST SIVISININ
ANTİJENİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

DOKTORA TEZİ

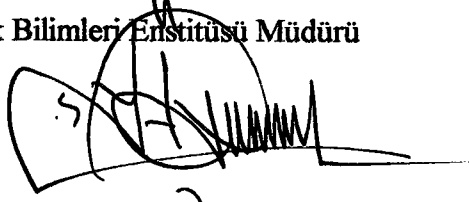
SAMİ ŞİMŞEK

ELAZIĞ-2003

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Halis ÖCAL

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

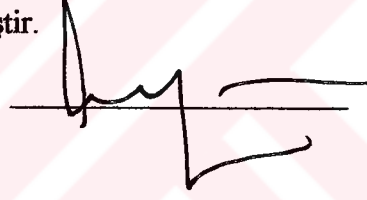
Prof. Dr. Nazir DUMANLI

Parazitoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

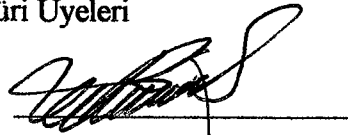
Prof. Dr. Ergün KÖROĞLU

Danışman

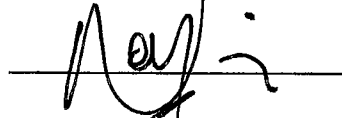


Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

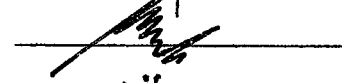
Prof. Dr. Recep TINAR



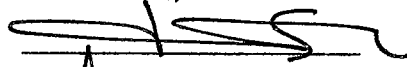
Prof. Dr. Nazir DUMANLI



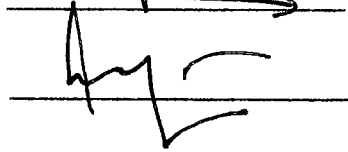
Prof. Dr. Erol TAŞAN



Prof. Dr. Yusuf BOLAT



Prof. Dr. Ergün KÖROĞLU



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimime başladığım dönemden itibaren gerek ders gerekse tez aşamasında zaman ve mekan sınırlaması olmaksızın desteğini esirgemeyen ve bu konuda çalışmam için bütün imkanlarını seferber eden çok kıymetli danışman hocam sayın Prof. Dr. Ergün KÖROĞLU'na, yaptığım bütün çalışmalarda yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, kendisinden çok şey öğrendiğim ve örnek kişiliğini rehber edindiğim saygıdeğer hocam Prof. Dr. Nazir DUMANLI'ya, laboratuvar aşamasında göstermiş oldukları yakın ilgiden dolayı Prof. Dr. Yusuf BOLAT, Yrd. Doç. Dr. Hakan BULUT, Dr. Hasan ÖNGÖR, Dr. İrem GÜLAÇTI, Dr. Şükrü TONBAK ve Dr. Kürşat AZKUR'a, literatür teminindeki katkılarından dolayı Prof. Dr. Erol TAŞAN'a, İngilizce konusundaki katkısından dolayı Yrd. Doç. Dr. Mehmet ÇALICIOĞLU'na, istatistik hesaplamalardaki katkısı ve desteğinden dolayı eşim Zootekni Anabilim Dalı Arş. Gör. Ülkü Gülcihan ŞİMŞEK'e ve maddi katkısından dolayı da FÜBAP Birimine teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

1. Özet	1
2. Abstract	3
3. Giriş	5
3. 1. Dünyada Bazı Ülkelerde Hidatidosisin Yaygınlığı	10
3. 2. Türkiye’de Hidatidosisin Yaygınlığı	14
3. 3. Hidatidosisin Ekonomik Önemi	19
3. 4. Hidatik Antijenler ve Hidatidosiste İmmun Mekanizma	21
3. 5. Hidatidosis’in Tanısında ELISA (Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay) Testinin Uygulanışı	25
3. 6. Sodium Dodecyle Sulphate Polyacrilamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) ile Western Blot (İmmunoblot) Yöntemi ve Esasları	28
3. 6. 1. Sodium Dodecyle Sulphate Polyacrilamide Gel Electrophoresis	28
3. 6. 2. Western Blot (İmmunoblot)	30
4. Gereç Ve Yöntem	33
4.1. Arazi Çalışmaları	33
4.2. Mezbaha Çalışmaları	33
4. 3. Laboratuvar Çalışmaları	34
4. 3. 1. Serumların Elde Edilişi	34
4. 3. 2. Organlardaki Kistlerin İncelenmesi	34
4. 3. 3. Dışkı Muayenesi	35
4. 4. ELISA Testinin Uygulanması	35
4. 4. 1. Antijen Hazırlanması	35
4. 4. 2. Protein Konsantrasyonunun Saptanması	36
4. 4. 3. Plakların Antijenle Kaplanması	36

4. 4. 4. Stok Solusyon ve Tamponların Hazırlanması.....	36
4. 4. 5. Testin Uygulanması.....	38
4. 4. 6. Sonuçların Değerlendirilmesi	39
4. 5. Sodyum Dodecyle Sulphate Polyacrilamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)	
Testinin Uygulanması	39
4. 5. 1. Tampon ve Solusyonlar	39
4. 5. 2. Testin Uygulanışı	42
4. 5. 2. 1. SDS-PAGE ile Proteinlerin Separasyonu	42
4. 5. 2. 1. 1. Separasyon Jelinin Hazırlanması.....	42
4. 5. 2. 1. 2. Stacking Jelin Hazırlanışı.....	43
4. 5. 2. 1. 3. Örneklerin Kuyucuklara Konması ve Jelin Elektroforezi.....	43
4. 5. 2. 2. Jelin Boyanması	44
4. 6. Western Blot (İmmunoblotting).....	45
4. 6. 1. Tampon ve Stok Solusyonlar	45
4. 6. 2. Separe Olan Proteinlerin Nitrosellülöz Membrana Transferi	46
5. Bulgular	49
6. Tartışma.....	67
7. Kaynaklar	81

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1: Kesim Sonrası Muayenesi Yapılan Koyunlarda Hidatik Kistlerin Cinsiyet, Irk ve Yaş Göre Dağılımı.....	56
Tablo 2: Enfekte Koyunlarda Hidatik Kistlerin Yaş ve Organlara Göre Dağılımı.....	56
Tablo 3: Enfekte Koyunlarda Fertil, Steril, Kalsifiye ve Yeni Gelişmeye Başlayan Kist Şekilleri ile Kistlerin Yerleşim Yerleri Arasındaki İlişkiler.....	57
Tablo 4: Enfekte Koyunlarda Fertil, Steril, Kalsifiye ve Yeni Gelişmeye Başlayan Kist Şekilleri ile Yaş Arasındaki İlişkiler.....	57
Tablo 5: Kesim Sonrası Muayenesi Yapılan 100 Koyunda Bulunan Cestod Türleri.....	58
Tablo 6: Mezbahada Hidatik Kistli ve Kistsiz Koyunlarda Western Blot Neticesinde Oluşan Bantlar.....	58
Tablo 7: Hidatidosisli 50 Koyun Serumunda Western Blot Yöntemiyle Oluşan Bantların Organ Lokalizasyonuna Göre Dağılımı.....	59
Tablo 8: Hidatidosisli Koyunlarda Görülen Diğer Helmint Türleri ve Oluşan Bantların Dağılımı.....	59
Tablo 9: ELISA ve Western Blot Testlerinin Pozitif ve Negatiflik Sayıları.....	60
Tablo 10: ELISA ve Western Blot Testlerinin Sensitivite ve Spesifiteleri.....	61
Tablo 11: Hidatik Kistli Koyun Serumlarında ELISA ve Western Blot Bulgularının Organlara Göre Dağılımı.....	62
Tablo 12: Hidatik Kistlerin Yerleşim Yeri ve Niteliklerine Göre ELISA'nın Sensitivitesi.....	62
Tablo 13: Hidatik Kistlerin Yerleşim Yeri ve Niteliklerine Göre Western Blot'ın Sensitivitesi.....	63

Sayfa

Tablo 14: Araziden Serumu Alınan Koyunların Bölge, Cinsiyet, Irk ve Yaşa Göre Dağılımı.....	64
Tablo 15: Koyunlarda Hidatidosisin Odaklara Göre ELISA ve Western Blot ile Prevalansı.....	65
Tablo 16. Koyunlarda Hidatidosisin ELISA ile Seroprevalansının Cinsiyet, Irk ve Yaşa Göre Dağılımı.....	65



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1: Koyun Hidatik Kist Sıvısının SDS-PAGE ile Separasyonu Sonucu

Elde Edilen Bantlar..... 66

Şekil 2: Western blot ile Elde Edilen Spesifik Bantlar..... 66



1. ÖZET

Bu çalışma koyun kökenli hidatik kist sıvısının antijenik özelliklerinin SDS-PAGE ile araştırılması, koyun hidatidosisinin tanısında ELISA ve Western blot testlerinin sensitivite ve spesifitelerinin belirlenmesi ve Elazığ yöresi koyunlarında hidatidosisin seroprevalansının ortaya konulması amacıyla yapılmıştır.

Bu amaçla önce mezbahada kesimi yapılan koyunlardan 50 hidatik kistli ve 50 de hidatik kistsiz hayvanın kanı alınmış, kesim takip edilerek iç organların muayenesi yapılmış, kistli organlar laboratuvara getirilmek üzere alınmış ve her hayvandan dışkı örneği toplanmıştır. Daha sonra Elazığ Merkez, Baskil, Keban, Sivrice ve Kovancılar ilçelerinin farklı yerleşim birimlerinden 50'şer hayvandan kan örnekleri alınmıştır.

Enfekte koyunlarda hidatik kistlerin en çok karaciğer-akciğer (%52) organ ikilisinde yerleştiği, bunu karaciğer (%38) ve akciğerin (%10) takip ettiği görülmüştür. Hidatik kistlerin %56'sının fertil, %16'sının steril, %2'sinin kalsifiye ve %26'sının da yeni gelişmeye başlayan kistler olduğu görülmüştür. Kist fertilitésinin yaşla birlikte arttığı gözlenmiş ve fertilité oranlarının bir, iki ve üç yaşlı koyunlarda sırasıyla %14.3, %48 ve %83.3 olduğu belirlenmiştir.

Kesim sonrası muayenesi yapılan 100 koyunun 20'sinde *Moniezia spp.*, 19'unda *Cysticercus tenuicollis*, 11'inde *Kist hidatik* + *C.tenuicollis*, yedisinde *Kist hidatik* + *Moniezia spp.*, ve birinde de *C.tenuicollis* + *Moniezia spp.*'ye rastlanmıştır.

Kist sıvısının SDS-PAGE ile analizinde moleküler ağırlığı 29, 45, 58, 68, 98 ve 116 kDa olan altı farklı polipeptid bandı belirlenmiştir. Western blot deneyi neticesinde ise hidatik kistli serumlarda 29, 38, 42, 58, 62, 68, 98, 116, 120, 150 ve 205 kDa'luk bantlar belirlenirken, hidatik kistsiz serumlarda 38, 58, 62, 68, 116 ve

205 kDa'luk protein bantları belirlenmiş ve 116 kDa'luk bandın spesifik tanı koydurucu bant olduğu kanısına varılmıştır.

Western blot testinin sensitivitesi %88 spesifitesi %84 olup, ELISA'da bu oranların sırasıyla %60 ve %94 olduğu belirlenmiştir.

ELISA'nın sensitivitesi karaciğerdeki kistlerde %47.3, akciğerdekilerde %60, heriki organda birden bulunan kistlerde %69.2 olmuş, bu oranlar fertil kistlerde %67.8, steril kistlerde %75 ve yeni gelişmeye başlayan kistlerde ise %38.4 olarak belirlenmiştir. Western blot'ın ise sensitivitesi karaciğerdeki kistlerde %84.2, akciğerdekilerde %80 ve heriki organda birden bulunan kistlerde ise %92.3 iken fertil kistlerde %92.8, steril kistlerde %75, kalsifiye kistlerde %100 ve yeni gelişmeye başlayan kistlerde %84.6 olmuştur.

Sonuç olarak Elazığ yöresindeki koyunlarda hidatidosisin prevalansı ELISA ile %62, Western blot ile %66.4 olarak bulunmuş, prevalansın yaş ile birlikte arttığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Hidatik kist, Koyun, SDS-PAGE, Western Blot, ELISA, Sensitivite, Spesifite, Seroprevalans.

2. ABSTRACT

This study was undertaken to investigate antigenic characteristics of hydatid cyst fluid in sheep by SDS-PAGE method, to evaluate sensitivity and specificity of ELISA and Western blot methods for diagnosis of sheep hydatidosis, and to determine sero-prevalance of hydatidosis in sheep population in Elazığ.

Blood samples were collected from 50 sheep with hydatid cysts and 50 sheep with no hydatid cysts at slaughter. These sheep were pursued during the dressing and evisceration procedures for organoleptic inspection. Organs detected with cysts during carcass inspection and stool samples from each animal were collected for parasitological examination. In addition, 50 blood samples were collected from sheep in each of Elazığ Central, Baskil, Keban, Sivrice and Kovancılar.

Results revealed that hepato-pulmonar hydatidosis (52%) was the most common form in the infected sheep followed by hepatic cysts (38%) and pulmonary cysts (10%). Further characterization of the cysts indicated that 57% were fertile, 16% were sterile, 2% were calcified, and 26% were under growth. It was determined that fertility rate of cysts were 14.3%, 48%, and 83.3%, in 1, 2, and 3 years old sheep indicating that fertilization rate increase by the age of sheep.

Cysts detected during postmortem inspection of 100 sheep carcasses were identified and distributed as *Moniezia spp.* (20%), *Cysticercus tenuicollis* (19%), both Hydatid cyst and *C. tenuicollis* (11%), both Hydatid cyst and *Moniezia spp.* (7%), and both *C. tenuicollis* and *Moniezia spp.* (1%).

SDS-PAGE analysis of hydatid cyst fluids indicated that 6 specific-protein bands were detected at molecular weights of 29, 45, 58, 68, 98 and 116 kDa. Western blot analysis showed presence of 29, 38, 42, 58, 62, 68, 98, 116, 120, 150 and 205 kDa bands in positive sheep sera, while 38, 58, 62, 68, 116 and 205 kDa bands were

detected in negative sheep sera. Therefore, it was concluded that the 116 kDa band was specific for diagnosis of hydatid cysts by Western blot analysis of cyst fluid collected from sheep liver.

Sensitivity and specificity of Western blotting test were determined as 88% and 84%, respectively, whereas corresponding rates for ELISA were 60% and 94%, respectively.

Sensitivity of ELISA was 47.3% in hepatic cysts, 60% in pulmonary cysts, 69.2% in hepato-pulmonar cysts. Sensitivity ratios of ELISA were 67.8%, 75%, and 38.4% for fertile, sterile, and under-growth cysts, respectively. Sensitivity of Western blot was found 84.2% in hepatic cysts, 80% in pulmonary cysts, and 92.3% in hepato-pulmonar cysts. Corresponding ratios for sensitivity of Western blot for fertile, sterile, calcified, and under growth cysts were 92.8%, 75%, 100%, and 84.6%, respectively.

In conclusion, sero-prevalance of hydatidosis in sheep was found as 62% by ELISA and 66.4% by Western blotting in Elaziğ, and sero-prevalance increased by age.

Key Words: Hydatid cyst, Sheep, SDS-PAGE, Western blotting, ELISA, Sensitivity, Specifity, Seroprevalance

3. GİRİŞ

Hızlı nüfus artışı ile birlikte hayvansal gıdalara olan talep de oldukça artmıştır. Hayvansal gıda üretiminde koyunculuk önemli bir yere sahip olup, 1998 yılı verilerine göre Türkiye'deki yaklaşık 30.2 milyon koyun varlığının 311.260'ının Elazığ'da bulunduğu bildirilmektedir (8). Koyunculukta verim düşüklüğüne yol açan sebeplerin başında paraziter enfeksiyonların geldiği, bunlar içinde de hidatidosisin önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir (40).

Echinococcus soyu aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır (137).

Alem: *Plathyhelminthes*

Sınıf: *Cestoda*

Alt Sınıf: *Eucestoda*

Takım: *Cyclophyllidea*

Aile: *Taeniidae*

Cins: *Echinococcus*

Hidatidosisin etkeni olan *Echinococcus granulosus*'un da bağlı olduğu *Echinococcus* soyu içerisinde dört önemli tür bulunmakta olup bunlar; *Echinococcus granulosus*, *E. multilocularis*, *E. vogeli* ve *E. oligarthrus*'tur (150). *Echinococcus* türleri, en fazla 7 mm uzunluğunda, skolekslerinde dört çekmen ve rostellumları üzerinde sayıları ve uzunlukları türlere göre değişen biri küçük diğeri büyük iki sıra çengel taşımaktadırlar. Halkalarının sayısı 2-6 arasında değişmektedir. Yumurtaları 30-40 mikrometre (µm) çapında yuvarlak ve oval olup, içlerinde 6 çengelli embriyo bulunmaktadır.

Echinococcosis, hem insan hem de evcil hayvanları etkileyen dünyadaki en önemli zoonozlardan birisi olup, özellikle az gelişmiş ülkelerde kırsal bölgelerdeki popülasyonlarda, insan ve hayvanlarda oldukça sık rastlanmaktadır (88, 120, 128).

Echinococcus granulosus'un erişkini köpek, kurt, çakal ve dingolarda bulunmaktadır. Larvası olan hidatik kist ise arakonak koyun, keçi, sığır, domuz, karibo, kanguru gibi hayvanlar ile insanların başta karaciğer ve akciğer olmak üzere kalp, dalak, beyin, kas, kemik iliği, orbita ve göz, medulla spinalis, pankreas, tiroid gibi değişik organlarında yerleşmektedir. Bu hastalık dünya çapında birçok ülkede yaygın olup, Türkiye'de de önemli bir ekonomik ve zoonotik problemdir (15, 56, 97).

Sonkonak etçillerin dışkıyla dışarıya atılan yumurtalar arakonaklar tarafından ağız yoluyla alınmakta, yumurta mide-bağırsak enzimlerinin etkisiyle parçalanmakta ve embriyo serbest kalmaktadır. Embriyonun parçalanması iki aşamada meydana gelmektedir:

a) *Embriyoforu oluşturan keratin blokların parçalanarak onkosfer zarının ortaya çıkması:* Embriyoforun parçalanmasında pepsin ve pankreatin gibi proteolitik enzimler rol oynar. Embriyofor parçalanmadıkça onkosfer aktif hale geçemez. Onkosfer membranının açığa çıkması ile birlikte safra tuzlarının etkisi sonucu membran geçirgenliğinde değişiklikler olur ve onkosfer aktif hale geçer. Memelilerdeki safra tuzlarının bileşim farklılıklarının arakonak seçiminde rol oynadıkları düşünülmüşse de, yumurtaların bağırsak dışında da açılabilirdikleri göz önüne alındığında safranin yumurtaların açılması için şart olmadığı ortaya çıkmaktadır. Koyunlarda solunum yoluyla alınan yumurtaların akciğerde açılması ve kemirgenlerde deneysel olarak intraperitoneal yolla verilen yumurtaların enfeksiyon meydana getirmesi de bu tezi desteklemektedir (51, 150)

b) *Onkosferin aktif hale geçerek bağırsak duvarını delmesi:* Aktif hale geçen onkosfer serbest kaldığında ritmik hareketlerle bağırsak duvarına tutunmakta ve onkosfer salgılarının da yardımıyla 30-120 dakika içerisinde lamina propriya'ya

ulaşmaktadır (51, 150). Daha sonra embriyo bağırsak duvarından bir lenf veya kan damarı yoluyla göç etmekte ve çoğunlukla karaciğerde gelişmektedir. Bazı durumlarda da onkosfer kan dolaşımına geçerek değişik organlarda hidatik kistlerin oluşmasına neden olmaktadır. Hidatik kistler çok yavaş büyüme göstermekte, 5 ayda 5-10 mm çapa ulaşmakta ve çapı konağın yaşına bağlı olarak 20 cm veya daha fazla büyüklüğe ulaşabilmektedir. Onkosfer, gelişeceği yere ulaştığında metacestod evresine geçmektedir. Olgunlaşma süresi değişken olup protoskoleks üretimi birkaç ay sürebilmektedir. Protoskoleks üreten metacestodlara fertil, üretmeyenlere steril denilmektedir. Protoskoleksler uygun sonkonak tarafından ağız yoluyla alındığında midedeki pepsinin etkisiyle ve duodenumun üst bölümünde pH değişikliği ve safra ile etkileşim sonucu evagine olmakta, daha sonra da türe ve konağın yatkınlığına bağlı olarak enfeksiyonu izleyen 4 ile 6 hafta içinde erişkin cestod haline gelmektedirler (110, 150).

Hidatik kistler ya bir kese veya bunun içinde ve dışında her biri kendi muhafazası içinde diğerlerinden tamamen izole olmuş keselerden ibarettir. Bu muhafaza, katı ve sert olup kistin en içindeki çimlenmeyi sağlayan canlı germinal epitelyumu sürekli olarak kısıtlayarak bunun çevre dokuları istila etmesini önlemektedir. germinal zardan çimlenme kapsülleri ve kız keseler oluşmaktadır (56).

Hidatik kist duvarı iç, orta ve dış olmak üzere üç tabakadan oluşmaktadır. Dış kısım adventisyal tabaka adını almakta olup, *E. granulosus*'un gelişmiş canlı kistlerini sarmaktadır. Bu tabakanın oluşumu postonkosferal gelişmenin ilk döneminde başlamaktadır. Bu reaksiyonun başlangıçtaki derecesi değişik olup, çok yoğun olduğu durumlarda dejenerasyon sonucu parazitin ölümüne yol açabilmektedir (138)

Orta kısım laminar tabaka adını almakta olup PAS boyası ile pozitif boyanması tanıda önemlidir. Bu tabaka kistin etrafını sıkıca sararak bir iç basınç oluşturmalarının yanısıra immunolojik bir engel oluşturarak kisti konağın immunolojik reaksiyonlarından korur fakat immunoglobulinlerin geçişine engel olamaz (138). Bu katman *Echinococcus* cinsine özel bir oluşum olup, yapısında konağa ait komponentler içermesine rağmen parazit orjinlidir. Bu katman, parazitin en dış bölgesini temsil etmekte olup, konak dokusu ile yakın ilişki içindedir. Laminer katman konak proteinleri, serum proteinleri, albumin ve immunoglobulinler gibi konak komponentlerini içerebildiği gibi, protoskoleks ve hidatid sıvı gibi germinal tabakadan köken alan paraziter yapılar ile de ilişki halindedir (135).

En içteki kısım germinal tabaka adını almakta olup, yapısal olarak erişkin parazitin tegumenti ile benzer özellikler göstermektedir. Perinüklear tabakadaki farklılaşmamış hücreler çoğalma yeteneğine sahip olup, küçük kapsüller oluştururlar. Bu kapsüller zamanla büyüyerek çok sayıda protoskoleksin gelişmesine öncülük ederler. Gelişmiş protoskoleks, invagine olmuş rostellum üzerindeki çengellerin varlığı ile karakterizedir (138).

Hidatidosiste klinik bulgular organ lokalizasyonuna göre değişmektedir. Karaciğer yerleşiminde kan ve safra akışının engellenmesine bağlı olarak reaktif hepatit ve sarılık, akciğerlerde solunum güçlüğü, ateletazi ve sekunder enfeksiyonlar, beyindeki kistlerde encephalitis, kalptekilerde kalp yetmezliği, kemiktekilerde topallık ve spontan kemik kırılmaları gözlenebilmektedir. Ağır enfeksiyonlarda anemi ve kaşeksi gibi genel bozukluklar görülmektedir. Vurma, çarpma, düşme ve operasyonlar sırasında kistin patlaması sonucunda serbest kalan protoskoleksler vücudun değişik bölgelerinde sekunder hidatik kistleri

oluşturabilmektedir. Bazı durumlarda sekonder kistler oluşmadan Tip I aşırı duyarlılık reaksiyonu sonucu ani ölümler görülebilmektedir (56, 150).

Hidatidosisin teşhisi başlıca iki şekilde yapılmaktadır. Birincisi morfolojik metodlar olup radyoloji, ekografi ve manyetik rezonans görüntülemeyi içermektedir. İkinci yol ise immunolojik metodlar olup antijen, antikor, immun kompleksler ve hipersensitivitenin varlığına dayalıdır. Morfolojik metodlar immunolojik metodlardan daha sensitivdir fakat komplike ekipmana ihtiyaç gösterir ve komplike olmamış hidatik kistleri idiyopatik kistlerden ayırt etmede yetersiz kalmaktadır. İmmunolojik metodlar daha kullanışlı olmasına rağmen ekstrahepatik kistlerin tespitinde sensitiviteyi düşüktür (13, 76, 85).

Hidatidosiste serolojik tanı diğer parazit hastalıklarında olduğu gibi konağın parazite karşı göstermiş olduğu hücresel ve humoral immun yanıtın ortaya konması esasına dayanmaktadır. Serolojik testlerin sensitivite ve spesifiteleri, kullanılan antijenin cinsi ve hazırlama şekli, değişik pozitiflik kriterleri, kistin canlılığı ve lokalizasyonu, parazitin suşu gibi birçok nedene bağlı olmaktadır. Bundan dolayıdır ki, immunolojik tanının sensitivite ve spesifitesinin artırılmasını sağlamak için aynı serumun birden fazla yöntem ile test edilmesi önerilmektedir (88).

Kist hidatikte serolojik yöntemlerin uygulanması 1906 yılında Ghedini, 1908 yılında ise Ymaz-Apphatic, Lorentz ile Weinberg ve Parvu tarafından Kompleman Fikzasyon (CF) yönteminin kullanılmasıyla başlamıştır (71).

Günümüzde hidatidosisin immunodiagnozunda farklı tekniklerin biri veya birkaçının kombinasyonu kullanılmaktadır. Bu teknikler İndirekt Flouresan Antikor (IFA), İndirekt Haemagglutinasyon (IHA), İmmunoelectrophoresis (IE), Latex Agglutinasyon (LA), İmmunoblotting, Counterimmunoelectrophoresis (CIEP) ve

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)'dır (14, 53, 62, 73, 75, 81, 128, 134, 158).

Western blot (immunoblotting) tekniği, yüksek bir sensitiviteye sahip olup, immunoblot ile bazı proteinlere karşı oluşmuş olan antikor yanıtının tespit edilmesi *Echinococcus* cinsi için oldukça spesifiktir. Bu testin hepatik hidatidozdaki sensitivitesi yaklaşık %90, spesifitesi ise %100 civarındadır. Ancak, henüz gelişmemiş akciğer ve beyin kistlerinde sensitivitesinin daha dūřuk olduğu bildirilmektedir (86).

3. 1. Dūnyada Bazı Őlkelerde Hidatidosisin Yaygınlıđı

Palmer ve ark (108), Gūney ve Orta Galler'de koyunlarda hidatidosisin yaygınlıđını %10.5 olarak bildirmiřlerdir.

Zuko ve ark (163), Bosna-Hersek'te bakısını yaptıkları 1908 koyunun %27.7'sinde hidatik kiste rastlamışlar, enfeksiyon oranının 3-4 yař grubunda en yūksek (%91.6) olduğunu belirlemişlerdir.

Himonas ve ark. (63), Yunanistan'ın Selanik bōlgesinde kesim esnasında muayene ettikleri 100 koyunun hepsinde (%100) hidatik kist gōrmūřler, bu kistlerin %29.8'inin fertil kistler olduđunu belirlemiřlerdir.

İtalya'nın Sardunya bōlgesinde yapılan bir çalıřmada (18), 767 koyunun %91.3'ūnūn hidatik kist tařıdıđı, bu kistlerin %7.6'sının fertil, %75.7'sinin steril ve %16.7'sinin de hem fertil hem de steril kistler olduđu ortaya konulmuřtur.

Nahmias ve ark (99), İsrail'de bir mezbahane de bakısını yaptıkları 225 koyunun %10'unda hidatidosise rastladıklarını bildirmişlerdir.

Arene (10), Niger Deltasında 10 yıllık bir dönemde koyunlarda hidatidosisin yaygınlığını %24 olarak belirlemiş, bu yüksek oranın bölgedeki sosyo-ekonomik faktörler ile ilgili olabileceğini ileri sürmüştür.

Kenya'nın Kuzey Turkana bölgesinde yapılan bir çalışmada (100), üç farklı bölgedeki mezbahanelerde kesilen toplam 588 koyunun %3.6'sının hidatidosisli olduğu belirlenmiştir.

Hindistan'ın Aligarh bölgesinde bakısı yapılan 109 koyunun 6'sında hidatik kiste rastlanmış ve bunların hiçbirinde protoskoleks tesbit edilememiştir (66).

Hindistan'ın kuzey bölgesinde yapılan başka bir çalışmada Singh ve Dhar (131), 1215 koyunun %30.5'ini enfekte bulmuşlar ve kistlerde %90 oranında fertilitte saptamışlardır.

Hafeez (58), Hindistan'ın Andra Pradesh bölgesindeki bazı kesimhanelerde muayene ettikleri 164 koyunun 117'sinde (%71.34) hidatik kistlere rastlamışlardır.

Dar ve Alkarmi (35), Arap ülkelerinde hidatidosisin halk sağlığı açısından önemini belirlemek amacıyla yaptıkları araştırmada, koyun hidatidosisinin kesim sonrası muayenelerde Mısır'da %1.3, Irak'ta %4.5, Ürdün'de %12.7, Libya'da %3.3 ve Suudi Arabistan'da %4.6 olduğunu belirlemişlerdir.

Koyunlarda hidatidosisin yaygınlığı Kuveyt'in Doğu bölgelerinde (60), %10.4, Suriye'de (33) ise %4.5 oranında bulunmuştur.

Dalimi ve ark. (34), İran'ın Batı bölümünde 1997-2000 yılları arasında yaptıkları bir çalışmada, 10 mezbahane kesilen toplam 32898 koyunun 3661'inin (%11.1) hidatik kist taşıdığını ve bu kistlerin %21.1'inin karaciğerde, %59.4'ünün akciğerde, %19.4'ünün de hem karaciğer hem de akciğerde görüldüğünü, karaciğerdeki kistlerin %36.9'unun fertil, %24.7'sinin steril ve %38.3'ünün de

kalsifiye olduğunu, bu oranların akciğerdeki kistlerde sırasıyla %25.2, %31.5 ve %43.2 olduğunu bildirmişlerdir.

Farah (49), Suudi Arabistan'da yaptığı çalışmada bakısını yaptığı 916 koyunda %4.6 oranında hidatik kistlere rastlamış, kistlerin daha çok akciğerde bulunduğunu ve %84'ünün de fertil kist olduğunu bildirmiştir.

Gusbi ve ark (55), Libya'da 10 bölgede yaptıkları çalışmada, mezbahanede bakısını yaptıkları 5118 koyunun %7.8'inin hidatidosisle enfekte olduğunu belirlemişlerdir. Erişkin koyunların %12.7'sinin, kuzuların ise %0.3'ünün enfekte olduğunu, hidatik kistlerin başta karaciğer (%97.2) olmak üzere sırasıyla akciğer (%58.7), böbrekler (%1.7), dalak (%0.7) ile kalp, mezenter ve kaslarda (%0.2) lokalize olduğunu, kistlerin %73.1'inin fertil, %18.9'unun steril ve %7.9'unun da steril ve kısmen kalsifiye olduğunu belirlemişlerdir (55).

Pandey ve ark. (109), Fas'ta muayenesini yaptıkları 2246 koyunda hidatidosisin ortalama %0.7 (0.4-38.5) oranında bir yaygınlık gösterdiğini, fertil kist oranının %50 olduğunu ve koyunlarda yaşla birlikte yaygınlıktaki artışın istatistiki olarak önemli olduğunu ortaya koymuşlardır.

Kuzey Ürdün'deki mezbahanelerde 1984 yılının Mart-Mayıs döneminde yapılan bir araştırmada (1), muayene edilen 471 koyunun %27.8'inin hidatik kistle enfekte olduğu gözlenmiş, enfeksiyon oranının yaş ile doğru orantılı olarak arttığı ve dört yaş ve üzeri koyunlarda %63.7 oranına kadar çıktığı, enfekte koyunlarda fertil kistlerin oranının %68.7 olduğu ve on yaşından büyük koyunlarda ise bu oranın %100'e kadar çıktığı saptanmıştır.

Ürdün'de kesim sonrası muayeneye dayalı bir çalışmada (2), koyunlarda hidatidosisin yaygınlığı belirlenmeye çalışılmış, buna göre 2 yaşından küçük koyunlarda hidatidosisin yaygınlığı %0.4, 2-4 yaş grubunda %46.3, 5-6 yaş grubunda

%78.8 ve 7-8 yaş grubunda %84.8 olarak belirlenmiş, bunun yanısıra karaciğerdeki kistlerin %79.3'ü, akciğerdeki kistlerin ise %72.2'sinin fertil kist olduğu; kist fertilitésinin yaş ile doğru orantılı olarak arttığı ve en yüksek kist fertilitésinin %82.6 oranıyla 7-8 yaş grubunda görüldüğü saptanmıştır. Yine aynı çalışmada (2) mezbahane dışında yapılan kesimlerde koyunlardaki hidatidosisin yaygınlığının ortalama %21 olduğu belirlenmiştir.

Ürdün'de yapılan diğer bir çalışmada (7) ise muayene edilen 704 koyunun %4'ünün hidatik kistle enfekte olduğu, enfeksiyonun genel olarak yaşlı hayvanlarda yüksek olduğu ve enfekte koyunların sadece %7.1'inin fertil kist taşıdığı belirlenmiştir.

Rahman ve ark. (116), Mısır'da Kahire mezbahanesinde kesilen hayvanlarda hidatidosisin yaygınlığını ortaya koymak için yaptıkları çalışmada, koyunlarda %1.33 oranında hidatidosise rastladıklarını ve enfeksiyonun en çok karaciğerde görüldüğünü bildirmişlerdir.

Mısır'da, 1995-1999 yılları arasında resmi mezbahane kayıtlarına göre kesilen 2.871.510 koyunun sadece %0.33'ünün hidatik kist ile enfekte olduğu bildirilmiştir (59).

Oryan ve ark (102), İran'da 2 yıl boyunca bakısını yaptıkları 7992 koyunun %26.12'sinin hidatik kistle enfekte olduğunu, Fars bölgesinde ise göçebe yaşayan topluluklara ait hayvanlardaki prevalansın yerleşik yaşayanlara göre daha yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır.

Arjantin'de yapılan bir çalışmada (149), muayene edilen 1792 koyundan %63.16'sının hidatik kistle enfekte olduğu belirlenmiştir.

Cabrera ve ark. (20), Uruguay'da koyunlarda hidatidosisin prevalansının %16.1 olduğunu ortaya koymuşlardır.

Yine Uruguay'da yapılan başka bir çalışmada (21), mezbahane kesimi yapılan 1019 kuzu ve 1016 erişkin koyunda hidatik kistin yaygınlığı sırasıyla %7.65 ve %18.01 olarak bulunmuştur.

Arambulo (115), koyun hidatidosisinin Arjantin'de %12.8-62, Şili'de %60-90, Uruguay'da %16.1, Brezilya'da %19, Peru'da ise %13.2-47 oranlarında olduğunu bildirmiştir.

Dueger ve Gilman (42), Peru'da bir mezbahane çalışmasında muayene ettikleri 212 koyunun %77.4'ünün hidatik kistle enfekte olduğunu bulmuşlar, enfeksiyon oranının 6 ve daha yukarı yaş grubunda daha yüksek olduğunu (%96) ve bakısını yaptıkları 1165 kistin %41.1'inin fertil olduğunu ortaya koymuşlardır.

Moro ve ark (95), Peru'da mezbahane bakısını yaptıkları 117 koyunun %87'sinde hidatik kiste rastladıklarını bildirmişlerdir.

Arjantin'in Rio Negro bölgesinde 1979 yılında koyunlardaki hidatidosisin yaygınlığı %61 iken, yapılan etkin kontrol çalışmaları sonucu 1992 yılında bu oran %12.7'ye düşmüştür (79).

Çin'de yapılan bir çalışmada (24), mezbahane bakısı yapılan 7745 koyunun %60.1'inde hidatik kistlerin bulunduğu bildirilmiştir.

3. 2. Türkiye'de Hidatidosisin Yaygınlığı

Hidatidosis, Türkiye'de gerek insan gerekse hayvan sağlığı açısından önemli bir problem oluşturmakta ve kasaplık hayvanlarımıza büyük zarar vermektedir. Bu haliyle Türkiye, hidatidosis yönünden Asya kıtasının belli başlı yayılış merkezlerinden birisidir (56).

Ulutaş (147), Trakya'da kesim sonrası muayenesini yaptığı 720'si 0-1 yaş, 22'si de 1-6 yaş arası olmak üzere toplam 742 koyunun 26'sının (%3.5) hidatik kist

taşıdığını, bu kistlerin %23.1'inin fertil olduğunu ve dişilerdeki enfeksiyon oranının (%4.5), erkeklerden (%1.82) yüksek olduğunu belirlemiştir.

Yaşarol (157), İstanbul mezbahasında muayene ettiği 10376 koyunun %52.3'ünde hidatik kistlere rastladığını ve kistlerin %76.2'sinin karaciğerde, %28.3'ünün de akciğerde görüldüğünü bildirmiştir.

Beyazıt (17), Bursa Et ve Balık Kurumu Kombinasında kesimi yapılan koyunlardan takibini yaptığı 4231'inin 127'sinde (%3) hidatik kistlerin varlığını ortaya koymuştur.

Şenlik (134), Bursa yöresinde 300 koyunun 152'sinde (%50.7) kesim sonrası muayenede hidatik kistlere rastlamış, enfekte koyunlardaki kistlerin %28.9'unun sadece karaciğerde, %23.7'sinin sadece akciğerde, %47.4'ünün karaciğer ve akciğerde birlikte bulunduğunu ve kistlerin %61.2'sinin fertil, %23'ünün steril ve %15.8'inin de kalsifiye olduğunu belirlemiştir. Aynı hayvanların serum numunelerinin serolojik bakışında IFA testinde sensitivitenin %78.95, spesifitenin %92.57, IHA testinde ise bu oranların sırasıyla %78.29 ve %77.03 olduğunu bildirmiştir.

Çenet ve Taşçı (31), Manisa Et ve Balık Kurumu Kombinasında 1986-1993 yılları arasında kesimi yapılan 354065 küçükbaş hayvanın kayıtlarını incelemişler ve bunların %12.63'ünün hidatik kistli olduğunu belirlemişlerdir.

Ergincan (47)'a göre Alanya Belediye Mezbahasında 1970-1972 yıllarında kesimi yapılan 2597 koyunun 31'inin karaciğeri, 25'inin de akciğerleri hidatik kistler nedeniyle imha edilmiştir.

Güralp ve Doğru (57), 1967 yılının Haziran ayından başlayarak bir yıl süreyle Ankara'daki bir mezbahanede 560 koyunu muayene etmişler ve bunların %18.2'sinde sadece karaciğerde, %18.5'inde sadece akciğerlerde, %63.2'sinde hem

karaciğer hem de akciğerlerde, %3'ünde de sadece dalakta hidatik kistlerin bulunduğunu ve bu kistlerin %93.6'sının fertil, %6.3'ünün de steril olduğunu saptamışlardır.

Mimioğlu ve ark. (93), 1967-1971 yılları arasında Ankara Et Kombinasında kesilen küçükbaş hayvanlarda ortalama %11 oranında kist hidatik bulunduğunu bildirmişlerdir.

Zeybek ve Tokay (162), Ankara ilinin 9 ilçesindeki farklı mezbahalarda yürüttükleri bir çalışmada, muayene ettikleri 506 koyunda %42.4 oranında hidatidosis gördüklerini, enfekte hayvanlardaki kistlerin %16.2'sinin karaciğerde, %25.8'inin akciğerde ve %3'ünün de dalakta yerleştiğini belirlemişlerdir.

Öge ve ark. (103), Ekim1995-Haziran 1997 tarihleri arasında Ankara yöresi mezbahalarında kesilen 2484 koyunun %5.9'unda hidatidosise rastlamışlar, enfekte koyunların %34.8'inde yalnız karaciğerde, %13.4'ünde yalnız akciğerde ve %48.8'inde de her iki organda birden hidatik kistleri belirlemişlerdir.

Zeybek (161), 1971 yılı kayıtlarına göre Samsun mezbahasında kesilen 41922 koyunun 3015'inin karaciğerinde, 6164'ünün de akciğerinde hidatik kistlerin bulunduğunu ve hidatidosisin koyunlardaki yaygınlığının %21.8 olduğunu bildirmiştir.

Dik ve ark. (38), Konya Et ve Balık Kurumu Kombinasında 1990 yılı Ekim ayından 1991 yılı Eylül ayı sonuna kadar yaptıkları bir araştırmada bakısını yaptıkları 13049 koyunun %51.89'unun hidatik kistle enfekte olduğunu ve yörede enfeksiyon oranının sonbaharın sonlarına doğru çok yüksek bulunduğunu, kış ve ilkbaharda kademeli olarak azaldığını ve yazın en az seviyeye indiğini gözlemlemişlerdir.

Konya yöresinde yapılan başka bir araştırmada (39), kesim sonrası muayenesi yapılan 300 koyunun, %44.67'sinin kist hidatik ile enfekte olduğu ve bu kistlerin %91.8'inin fertil, %8.2'sinin de steril olduğu belirlenmiş, aynı hayvanların serum numunelerinin IHA testi ile bakısında %51.33'ünün pozitif olduğu ve buna göre IHA testinin koyunlarda hidatidosisin teşhisinde %91.04 sensitiv, %80.72 spesifik olduğu ileri sürülmüştür.

Çivi ve ark. (32), 1992-1993 yılı Konya Et ve Balık Kurumu kayıtlarını incelemişler ve kesimi yapılan 83795 adet küçükbaş hayvanın %10.8'inin hidatik kist ile enfekte olduğunu ortaya koymuşlardır.

Ulukan (146), Çorum mezbahasında kesimi yapılan 1630 koyunun %32.45'inin hidatik kistli olduğunu bildirmiştir.

Poyraz ve ark. (114), Sivas Et ve Balık Kurumu Kombinasında 1985-1988 yılları arasında kesimi yapılan 20830 baş koyunda karaciğerde %16.7, akciğerde %32.4 oranında hidatik kist görüldüğünü bildirmişlerdir.

Özçelik ve Saygı (105), Sivas mezbahasında 1987 yılı içerisinde kesimi yapılan 1181 koyunun %11.8'inde karaciğerde, %13.3'ünde akciğerde, %33.4'ünde de her iki organda birden hidatik kistlere rastlamışlar ve hidatidosisin %58.6 oranında yaygınlık gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

Özyer (107), Adana Et ve Balık Kurumu Kombinasında imha edilmek üzere ayrılan 146 koyun ve keçi karaciğerinin % 8.9'unda hidatik kist görüldüğünü belirlemiştir.

Kurtpınar (78), 1951 yılında Erzurum mezbahasında muayenesini yaptığı 834 baş koyun ve keçide ortalama %15 oranında hidatik kistlere rastladığını bildirmiştir.

Ulukan (146), 1952 yılında Erzurum mezbahasında Ağustos ile Eylül ayları arasında kesimi yapılan koyunların %30.79'unda hidatik kist saptamıştır.

Arslan ve Umur (11), Nisan-Eylül 1997 tarihleri arasında yaptıkları çalışmada, Erzurum Et ve Balık Kurumu Mezbahası ve kesim yapılan özel mezbahalarda bakısını yaptıkları 1066 koyunun %70.9'unun hidatik kistle enfekte olduğunu, kistlerin %27 oranında karaciğerde, %25.4 oranında akciğerde ve %47.6 oranında da hem karaciğer hem de akciğerde bulunduğunu bildirmişlerdir.

Umur ve Aslantaş (148), Kars'ta bakısını yaptıkları 2742 koyunun %48.35'inde hidatik kiste rastlamışlardır.

Toparlak ve Gül (142), Van ili Belediye Mezbahasında Aralık 1987 ile Nisan 1988 tarihleri arasında kesilen 1056 koyun üzerinde yürüttükleri çalışmada, 348 koyunda (%32.9) hidatik kist bulunduğunu, kistlerin karaciğer, akciğer ve her iki organda sırasıyla %26.5, %21.5 ve %52 oranlarında olduğunu ortaya koymuşlardır.

Özer ve ark. (106), Eylül 1992-Ağustos 1993 tarihleri arasında Elazığ Et ve Balık Kurumu Kombinasında bakısını yaptıkları 6235 koyunda %62.65 oranında hidatik kiste rastlamışlar, çeşitli nedenlerle imha edilen 1114 karaciğerin 698'inde hidatik kist bulunduğunu bildirmişlerdir.

Tınar (139), Türkiye'de 1970-1972 yıllarında Et ve Balık Kurumu (E.B.K.) kombinalarında kesilen koyunların %14.76'sının hidatik kistlerle enfekte olduğunu, 1977 yılında aynı kurumun 14 kombinasında kesilen küçükbaş hayvanların ise %2.4'ünün karaciğerlerinin kist hidatik nedeniyle imha edildiğini ifade etmiştir.

Doğanay (40), Türkiye'de yapılan çeşitli çalışmalarda hidatidosisin kasaplık hayvanlarındaki yayılışının, hayvan cinsine ve bölgelere göre değişmekle birlikte %2 ile %52.3 arasında değiştiğini belirtmiştir.

Mimioğlu (93), Türkiye'de yapılan araştırmaların bir ortalamasını alarak, kasaplık hayvanlarımızdaki kist hidatik oranını %40-50 olarak bildirmiştir.

3. 3. Hidatidosisin Ekonomik Önemi

Dünyadaki en önemli zoonozlardan biri echinococcus'tur. Echinococcus'a sebep olan *E.granulosus*'un larvası (hidatik kist) insanlarda klinik enfeksiyona, çiftlik hayvanlarında ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Çiftlik hayvanlarında özellikle karaciğer gibi organların imha edilmesi ve verim düşüklüğüne neden olması, insanlarda ise tıbbi tedavi, morbidite ve mortaliteye yol açması bakımından önemlidir (143).

Hidatidosise bağlı olarak hayvanlarda önemli bir klinik belirti görülmemekte, ancak et ve süt veriminde azalma, yün kalitesinde düşüklük, kısırılık oranında artış ve hepsinden önemlisi de kistli organların ve özellikle karaciğer ve akciğerlerin atılması sonucu çok fazla ekonomik kayıplar meydana gelmektedir. Nitekim, Türkiye'de Tarım Bakanlığının 1968 yılı bülteninde hidatidosisin koyun ve keçilerde yaygınlık oranı %30 olarak belirtilmiş ve o yılki fiyatlara göre et, süt ve yapagı kaybından ileri gelen zararın sırasıyla yaklaşık 43, 51 ve 81 milyon, ölümlerden ileri gelen zararın ise 86 milyon lira olduğu bildirilmiştir (40).

Merdivenci (91), parazitli hayvanların vücut direncinin kırılmasından dolayı diğer salgın hastalıklara daha kolay yakalandıklarını ve parazitlerin genel olarak hayvanlarda %30 oranında verim düşüklüğüne neden olduğunu bildirmiştir.

Umur ve Aslantaş (148), Kars'ta bakısını yaptıkları 5813 sığır, 2742 koyun, 215 keçi ve 138 manda olmak üzere toplam 8908 hayvanda kist hidatik nedeniyle oluşan ekonomik kaybın 1993 yılı birim fiyatlarıyla 170 milyon TL (20.000 USD) olduğunu, bu fiyatlara hayvanlarda oluşan verim düşüklüğünden ileri gelen kayıpların dahil edilmediğini bildirmişlerdir.

Çivi ve ark. (32), 1992-1993 yıllarında Konya Et ve Balık Kurumu Kombinasyonu'nda hidatidosis nedeniyle imha edilen sakatatların neden olduğu mali kaybın 330.250.000 TL (11.000 USD) olduğunu saptamışlardır.

Tınar (139), kist hidatikli organların atılmasıyla ülkemizde sadece 1976-1978 yılları arasında hayvansal protein kaybının 3.7 ton civarında olduğunu ve bu kaybın o günkü parasal değerinin 300 milyon lira civarında olduğunu hesaplamıştır.

Taşçı (136), Van Et ve Balık Kurumu Kombinasyonu'nda 1981-1990 yılları arasında kesimi yapılan 172608 küçükbaş hayvanın %15.9'unun karaciğerinin hidatidosis nedeniyle imha edildiğini ve milyarlarca liralık bir ekonomik kaybın oluştuğunu bildirmiştir.

Merdivenci (92), Vibe'ye atfen, sağlıklı koyunlarla karşılaştırıldığı zaman hidatidosisli koyunlarda et veriminde %10.4, yağ veriminde %19, süt veriminde %56-62, yün veriminde %9.5 azalma olduğunu ve her 100 koyundan 12'sinin yavru attığını bildirmiştir.

Torgerson ve ark. (143), gelir düzeyi düşük olan ülkelerden biri olan Uruguay'da hidatidosisten ileri gelen ekonomik kayıpları araştırmışlardır. Bu çalışmada (143), yıllık olarak imha edilen koyun karaciğerlerinin 146.300 USD, ortalama %5'lik karkas kaybının 1.440.000 USD, yapağı kaybının 1.418.560 USD, fertilite bozukluğunun (yavru atma vb.) 2.151.052 USD olmak üzere sadece koyun hidatidosisine bağlı kaybın toplam 5.155.912 USD civarında olduğunu, bu oranlara sığırlardaki kayıplar ile insanlardaki sağlık giderleri de eklenince yıllık kaybın 2.9 ile 22.1 milyon USD arasında değiştiğini bildirmektedirler.

Hidatidosis kaynaklı yıllık ekonomik kaybın Galler'de 1-6.5 milyon, Ürdün'de ise 3.9 milyon USD olduğu bildirilmiş (144, 145), yine Ürdün'de yapılan

başka bir çalışmada, hidatidosisin enfekte koyun başına neden olduğu mali kaybın 4 USD olduğu hesaplanmıştır (2).

İspanya'nın La Rioja bölgesinde 1987 yılında başlatılıp 2000 yılına kadar süren eradikasyon programı neticesinde, programın başlangıcında %82.3 olan koyun hidatidosisi %20'ye, 19/100.000 olan insan hidatidosisi 4/100.000'e düşürülmüştür. Program boyunca araç, yakıt, hijyen giderleri, ilaç, tüketim malları ile çalışanlara verilen ücretlerin toplamı 2.761.160 USD, insan ve hayvanlardaki enfeksiyon oranının düşürülmesi sonucu sağlanan ekonomik kazancın ise 5.408.500 USD olduğu belirlenmiştir (69).

Attenasio ve ark (12), İtalya'nın Sardunya bölgesindeki koyunların ortalama %80'inin hidatik kist ile enfekte olduğunu, bunun da yıllık 20 milyar İtalyan Lireti ekonomik kayba neden olduğunu bildirmişlerdir.

3. 4. Hidatik Antijenler ve Hidatidosiste İmmun Mekanizma

Echinococcus granulosus'un değişik yaşam evrelerinin farklı antijenik yanıtlar verdiği, hidatik antijenlerin genel kaynağının ise kist sıvısı, kist membranı ve protoskoleksler olduğu bilinmektedir (98, 140).

Hidatik sıvıdan iki major antijen saflaştırılmış, kimyasal özellikleri ve hidatik materyallerdeki lokalizasyonları araştırılmış (98) ve bunların ısıya dayanıksız bir lipoprotein olan antijen-5 ve ısıya dayanıklı bir lipoprotein olan antijen-B olduğu görüşleri belirtilmiştir (5, 101).

Antijen 5, ilk kez Capron ve arkadaşları tarafından immunoelektroforez metoduyla at kist sıvısından izole edilmiş ve hidatidozun tanısındaki değeri üzerinde durulmuş, ayrıca antijen 5'in çimlenme zarında, protoskolekslerin parankiminde ve

bunların salgılarında bulunduğu bildirilmiştir (23, 36). Antijen 5 parazitin hidatik sıvısında ve kistin somatik dokularında bulunan 10 veya daha fazla antijenden biri olup, immunoelktroforetik çalışmalar bu antijene karşı oluşmuş antikorun hastanın serumunda bulunmasının, hidatidosisin tanısında kesin bir kriter olduğunu ve bu antijenin *E.granulosus* için spesifik olduğunu göstermiştir (22). Bu antijene aynı zamanda *Taenia hydatigena* sistiserkusları içindeki sıvıda da rastlandığı ve bu nedenle cysticercosis ile çapraz reaksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir (152). Lightowers (83), antijen-5'in değişik araştırmacılar tarafından antijen-A, antijen-4, arc-5 ve fraction-5 olarak da isimlendirildiğini bildirmiştir. Dottorini ve Tassi (41), koyun karaciğerinden aldıkları fertil hidatik kistlerin immunoelktroforetik analizi sonucu, arc-5'in spesifik hidatik antijen olduğunu, moleküler ağırlığının 69000 Dalton, 56°C'nin üstünde stabil ve pH'sının da 4-7 arasında değiştiğini ortaya koymuşlardır.

İkinci önemli hidatik antijen, Oriol ve ark. (101) tarafından tanımlanan, lipoprotein yapıda, ısıya dayanıklı ve molekül ağırlığı 120000 Dalton olan antijen-B'dir. Bu antijen, kist sıvısı kaynatıldıktan sonra geriye kalan en önemli antijenik bileşimdir (155). Kist membranının geçirgenliği antijen-B için antijen-5'e göre daha fazla olup, koyun kist sıvısında antijen-B, antijen-5'e göre 10 kat daha fazla bulunmaktadır (98, 119).

Hidatik sıvıdaki bir diğer antijen, spesifik olmayan P1 aktivitesidir. Bu antijenin protoskoleks, kist sıvısı ve laminar membranda bulunduğu ve protoskolekslerin tegumentinde sentezlenip kist sıvısı içine salındığı sanılmaktadır (16). Bu nedenle *Echinococcus* antijenlerinin sadece cestodlarla değil trematod ve nematodlarla da çapraz reaksiyon verdiği, kist hidatikli hastalarda bulunan anti-P1 aktivitesinin *Fasciola hepatica* ve diğer parazitlerde de bulunduğu belirlenmiştir (5).

Hidatidosisli farklı konaklardan alınan kist sıvılarının antijen konsantrasyonları karşılaştırıldığında, insan ve koyun kistlerinde, sığır ve domuz kistlerine, karaciğer kistlerinde ise akciğer kistlerine oranla daha fazla antijenik protein olduğu, ayrıca en yüksek antijen konsantrasyonuna koyun karaciğer kistlerinin sahip olduğu saptanmıştır (98).

Janssen ve ark. (67), at, sığır, domuz ve keçi orjinli hidatik kistlerin SDS-PAGE ve immunoblot analizinde at, domuz ve keçi orjinli kistlerin birbirine antijenik benzerlik göstermesine rağmen sığırlardan alınanın bunlara göre farklılık gösterdiğini belirlemişlerdir.

Echinococcus granulosus'un larval enfeksiyonları yavaş büyüyen hidatik kistlerin şekillenmesiyle karakterizedir. Öyle ki, bu kistler şekillenmeye başladıktan aylar, hatta yıllar sonra dahi tespit edilemeyebilmektedir. Bu nedenle hidatik kistlerdeki devamlılık immunolojik açıdan önemlidir (122).

Hidatik kiste kistin şekillenmesi; parazitin anti-complementar aktivitesi, immun sistemi baskılaması, sitotoksik faktörleri salgılaması ve konak hücrelerine karşı bir bariyer oluşturması gibi, parazitin immuno-evasif stratejileri ile konağın doğal immunolojik aktivitesi ve bunu geliştirmesi arasındaki mücadeleye bağlıdır (122).

Enfeksiyonun başlangıcında önemli bir hücresel yanıt belirlenmiş olup, koyunlarda enfeksiyonun 3-5. gününde nötrofil ve makrofaj infiltrasyonu olduğu, 25-30 gün içinde de artan derecede eozinofil, lenfosit ve makrofajlardan oluşan bir leukositozis şekillendiği belirtilmiştir (90, 121).

Yapılan çalışmalar (3, 68), aktive edilmiş makrofajların *Echinococcus* protoskolekslerinin öldürülmesinde önemli bir role sahip olduğunu göstermiştir. Protoskolekslerin makrofajlar tarafından öldürülmesinin sitokinlerle modifiye

edildiği, IFN- γ tarafından artırıldığı, parazit antijeni tarafından stimüle edilen lenfositlerden salgılanan tanımlanmamış sitokinler (muhtemelen IL-10 veya IL-4) tarafından da azaltıldığı in vitro çalışmalarla ortaya konmuştur (68, 72).

Gelişimini tamamlamış hidatik kistlerde oluşan immün yanıt özellikle IgG, IgM ve IgE sınıfındaki antikorların seviyesinin yükselmesiyle kendini göstermekte olup, IgG antikorları kronik enfeksiyonlarda bulunmakta ve kistler çıkarıldıktan sonra da devam etmekte, buna karşın IgM antikorları antijenik aktivitenin olduğu dönemde görülmekte, kistler çıkarıldıktan sonra normal seviyesine düşmektedir (27, 37, 89).

Kist hidatik enfeksiyonlarında antikor seviyesi çoğunlukla yüksek bulunmasına rağmen, bu durumun parazit için zararlı olduğuna dair bir delil bulunamamış, oluşan hücresel infiltrasyonun da enfeksiyonun oluşumu ile ilgili olduğu kanaatine varılmıştır (132).

Antikor yanıtı hidatik kist içinde sıvının oluşması ile bağlantılıdır. *E.multilocularis* ile gerbillerde oluşturulan deneysel enfeksiyonlarda, enfeksiyonun dördüncü haftasında antikor oluştuğu saptanmış ve kistin büyümesiyle de bu seviyenin yükseldiği gözlenmiştir. Antikorların deneysel hidatidosiste düzenleyici faktör olarak rol oynadığı, buna bağlı olarak protoskoleks sayısı ile antikor miktarının ters orantılı olduğu kabul edilmiştir. Bu durum hidatik kistin steril olmasında antikorların rolünün olabileceğini göstermektedir. Antikor oluşumunun doğal hidatidosis enfeksiyonlarında her zaman görülen bir özellik olmadığı ve hidatidosisli hastaların % 10'unun serolojik olarak negatif bulunduğu bildirilmiştir (150). Seronegatif olan insan hidatidosis vakalarının hepsinde dolaşımdaki hidatik antijenleri tespit edilebilmiş, antikor seviyesi düşük olan vakalarda dolaşım antijeni miktarı da düşük bulunmuş ve bu ikisi arasında pozitif bir korelasyon belirlenmiştir

(28). Koyunlarda ise düşük antikor yanıtı durumlarında antijen tespitinin oldukça güç olduğu ileri sürülmüş, bu durumun uygulanan testin sensitivitesinin düşük olmasına veya dolaşımdaki antijen seviyesinin düşük düzeyde bulunmasına bağlı olabileceği kanaatine varılmıştır (70).

Gharbi ve ark (52), insan hidatidosisinde karaciğer kistlerini ultrason ile beş farklı tipte tanımlamışlardır. İçi kist sıvısı ile dolu, sınırları belli univesiculer kistleri Tip I, kız kistleri olmayan laminer katmanla çevrili tipik uniloculer kistleri Tip II, laminer katmanla çevrili ve kız kistleri de olan kistleri Tip III, yoğun (solid) kistik oluşumları Tip IV ve kalsifiye kistleri de Tip V olarak tanımlamışlar, buna göre Tip I ve II rahatlıkla görülebilen uniloküler kistleri, Tip III ve IV dejenere olmuş primer kistler ile onunla ilişkili kız kistleri ve Tip V de ölü kistleri yansıtmaktadır. Farklı morfolojik karaciğer kisti taşıyan 220 kistik ekinokokkosis vakası üzerinde ELISA ile yapılan bir çalışmada (29), seropozitifliğin Tip I'den Tip IV'e kadar arttığı, Tip V'de ise aniden düştüğü görülmüştür.

3. 5. Hidatidososis'in Tanısında ELISA (Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay) Testinin Uygulanışı

Bu testin genel prensibi; antijen-antikor kompleksine enzim ile işaretli antiglobulinin ilave edilmesi ve sonra substratın eklenmesi sonucu renk oluşup oluşmaması esasına dayanmaktadır. Renk oluşumu enzim aktivitesine bağlı olup, enzimle etkilenen substratın spektrofotometrik değeri (optik dansite:OD) antijen-antikor kompleksi ile orantılıdır. Bu yöntem Enzyme Immun Assay (EIA) olarak da isimlendirilmektedir (30, 133).

Hidatidososisin tanısında kullanılan ELISA yöntemi, yüksek duyarlılıklı olup, çok az miktarda serumun yeterli olması, kesin kantitatif ölçmeyi sağlaması ve kısa

zamanda çok sayıda numunenin işlenmesine imkan sağlaması bakımından rutin kullanıma uygun, duyarlı, özgül ve ekonomik bir yöntemdir (4).

Parazitolojik tanıda ELISA yöntemi şüpheli materyalde ya antikor ya da antijen aramak amacıyla kullanılmaktadır. Parazite özgü antikor aramak amacıyla yapılan ELISA iki şekilde olmaktadır. Birincisi katı ortamda sandviç yöntemi, ikincisi sandviç inhibisyon yöntemidir. Eğer şüpheli materyalde parazit antijeni aranacaksa bu da dört şekilde olmaktadır. Bunlarda sırasıyla, direkt ELISA tek basamaklı sandviç yöntemi, indirekt ELISA, kompetatif ELISA ve Dot-ELISA yöntemleridir (104).

ELISA testinin değerlendirilmesi spektrofotometre ile olduğu gibi çıplak gözle de yapılabilmektedir. Spektrofotometre kullanıldığında sonuçlar absorbans değeri olarak alınmakta, belli değerin üstü (eşik değer = cut-off) pozitif olarak kabul edilmektedir. Test tek sulandırma ile çalışıldığında sonuçlar, diğer serolojik tetkiklerde olduğu gibi sulandırma değerleri yerine optik dansite (OD) değerleri ile irdelenir. Her ne kadar, OD değerleri ile antikor konsantrasyonu arasındaki ilişki linear olmayıp sigmoid bir eğri çizse de, OD değerleri pratikte antikor konsantrasyonunun belirlenmesinde kullanılabilir (26).

Valerie (111), ilk kez 1971 yılında peroksidaz konjugatını doku kistlerinde kullanmış ve ELISA'nın IFA testine göre çok daha basit ve duyarlı olduğunu savunmuştur.

Farag ve ark. (48), 1975 yılında insanlarda hidatidosisin tanısı amacıyla ELISA yöntemini kullanmışlardır. Antijen olarak ham ve saflaştırılmış kist sıvısını kullanan araştırmacılar (48), saflaştırılmış antijenle daha iyi sonuçlar aldıklarını ve ham kist sıvısı antijeninin çapraz reaksiyonlara neden olduğunu, bütün bunların sonucu

olarak da saf kist sıvısı antijeni ile yapılan ELISA'nın insan hidatidozunun tanısında oldukça duyarlı ve spesifik bir yöntem olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Eckert ve ark (44), ELISA'da cut-off değeri olarak kabul edilmiş başka bir kriter yoksa, negatif kontrol serumların ortalama değerinin iki standart sapması üzerindeki absorbans değerinin alınmasını tavsiye etmişlerdir.

Hıra ve ark. (61), arc 5 antijeni kullanarak insan hidatidosisinin tanısı amacıyla yaptıkları ELISA ile %98.18 sensitivite, %98.28 spesifite elde etmişler ve ELISA'nın hidatidosisin tanısında oldukça başarılı bir serolojik test olduğunu bildirmişlerdir.

Planchart ve ark. (112), Double Diffusion 5 (DD5) ve ELISA testlerini hidatidosisin tanısında kullanmışlar ve sırasıyla %57.7 ile %73.3 oranında sensitivite elde etmişlerdir.

Zarzosa ve ark. (160), akciğer hidatidozlu 79 hasta üzerinde yaptıkları 6 serolojik test içerisinde IgG ELISA'nın %83.5 ile en sensitiv test olduğunu ortaya koymuşlardır.

Yong ve ark. (159), koyun hidatik kist sıvısından hazırladıkları antijeni kullanarak altı yaşındaki 45 hidatik kistle doğal enfekte koyunun nekropsisi sonucu elde ettikleri serumları ELISA ile test etmişler ve 41 koyunda pozitif sonuç elde etmişlerdir.

Force ve ark. (50), hidatidozun tanısında karşılaştırmalı olarak çalıştıkları 8 serolojik test içerisinde ELISA yönteminin %94 ile en sensitiv, %99 ile en spesifik test olduğunu saptamışlardır.

El-On ve ark. (46), okul çağındaki 4529 öğrenci üzerinde ELISA ile yaptıkları hidatidoz taramasında %0.57 pozitiflik bulmuşlar ve IgG ELISA'nın hem

ham, hem de purifiye antijen kullanıldığında seroepidemiolojik çalışmalarda oldukça faydalı olduğunu bildirmişlerdir.

3. 6. Sodium Dodecyle Sulphate Polyacrilamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) ile Western Blot (İmmunoblot) Yöntemi ve Esasları

3. 6. 1. Sodium Dodecyle Sulphate Polyacrilamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

Bu yöntemin prensibi, protein karışımlarının poliakrilamid jel içinde analizine dayanmakta olup, proteinleri göstermede mikrogramla ifade edilebilecek bir hassasiyete sahiptir. Klasik elektroforetik yöntemler içerisinde modifiye edilmiş çok farklı jel sistemleri olmasına rağmen SDS-PAGE bunların en popüler olanlarından biridir. Yöntemin en önemli özelliklerinden birisi çok sayıda protein karışımlarının analizine imkan sağlamasıdır (43, 104).

Proteinlerin analizi için belki de en fazla kullanılan teknik SDS-PAGE'dir. Elektroforez, elektrik yüklü bir alanda iyonların göçü olayıdır. Proteinlerin elektroforezinde, proteinlerin şekli, moleküler kütlesi, ortamın pH'sı gibi özellikler nedeniyle farklı proteinler farklı göç hızı gösterirler ve birbirinden ayrı noktalara hareket ederler. SDS-PAGE tekniğinde, proteinler anyonik deterjan olan SDS ile reaksiyona girerek negatif yüklü kompleksler oluştururlar. Protein tarafından bağlanan SDS miktarı ve dolayısıyla kompleks üzerindeki yük, proteinin büyüklüğü ile doğru orantılıdır. Genellikle 1.4 gr SDS 1 gr proteine bağlanır. Proteinler SDS'e bağlanmaktan ötürü denatüre olurlar ve çözünürlük kazanarak, şekillerini değiştirirler. Böylece proteinler (asidik yada bazik) negatif yüklenmiş kompleksler olarak büyüklüklerindeki farklılığa dayanarak polyacrilamide jelin kalbura benzer

matriksinde elektroforez ile separasyona tabi tutulurlar. SDS-PAGE, protein separasyonunun yanında moleküler ağırlığı bilinen standard proteinlerle bağlantılı olarak elektroforetik değişikliklerin kıyaslanması ile bilinmeyen proteinlerin moleküler ağırlığını teşhis etmede oldukça geniş bir şekilde kullanılan güçlü bir yöntemdir (6).

SDS jel sistemi iki farklı jelden meydana gelmiştir. Üstte bulunan stoklayıcı (stacking) jelde örnekler büyük hacimlerden çok küçük zonlara konsantre edilir ve daha sonra farklı türlerin altta bulunan ayırıştırıcı (separating) jelde daha iyi separasyona uğraması sağlanır. Her iki jelin pH'ları ve akrilamid oranları birbirinden farklıdır. Örnek, sistemdeki stoklayıcı jel'e konur. Elektrik akımı uygulanır, iyonlar elektrotlara doğru hareket ederler, stoklayıcı jelde hüküm süren pH'da protein-SDS kompleksi, sistem içinde bulunan Cl^- iyonları ve rezervuar buffer içinde bulunan glycinate iyonları arasında hareket ederler. Cl^- iyonları en büyük hareketliliğe sahiptir. Bunu takip eden daha büyük iyonlar stacking jelde dar zonlara konsantre olurlar, fakat burada etkili bir şekilde separasyona uğramazlar. Hareketli zonlar separating jele ulaştığında bunların herbirinin hareketleri oradaki pH'da değişir ve glycinate iyon cephesi protein-SDS kompleks zonlarını önüne katarak, bunları buffer içindeki elektrik sahasında proteinleri büyüklüklerine göre separasyona uğramak üzere bırakırlar (6, 43).

Bu yöntemin aşağıdaki amaçlar için kullanılmakta olduğu bildirilmiştir (104).

- 1- Proteinin saf olup olmadığının belirlenmesi,
- 2- Proteinin molekül ağırlığının belirlenmesi,
- 3- Proteinin konsantrasyonunun doğrulanması,
- 4- Protein bileşiklerinin tanısı (proteolysisin tanısı),
- 5- Protein modifikasyonunun belirlenmesi,

- 6- Antikor üretimi için protein antijenlerinin konsantrasyonu ve separasyonunun yapılması,
- 7- Radyoaktif olarak işaretlenmiş proteinlerin seperasyonu,
- 8- Western blot'ın birinci safhasını oluşturması.

3. 6. 2. Western Blot (İmmunoblot)

Ayrıştırılan proteinlerin jellerden membranlara transfer yöntemlerinin geliştirilmesi, proteinlerin elektroforetik analizi için yeni bir devir açılmasına yol açmıştır. Western blot yada immunoblot adı verilen bu immunokimyasal yöntemler bir membran üzerine sabitleştirilmiş proteinleri tanımlamak ve bunların daha sonra immünolojik metotlarla görüntülenmesini sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Bu transfer yöntemi “blotting” diye adlandırılmaktadır. Çünkü elektroforez ile jel içinde ayrıştırılan proteinlerin transfer edildikleri nitrosellülöz mebran üzerindeki bant örnekleri, orijinal jel üzerindeki örneklerin tam anlamıyla kopyasıdır (43, 104).

İmmunoblot iki aşamada gerçekleştirilmektedir. Bunlardan birincisi proteinin jelden nitrosellülöz membrana transfer edilmesi, diğeri de spesifik antikor ile proteinin gösterilmesidir (43, 104).

İmmunoblot için en fazla kullanılan membran nitrosellülözdür. Por genişliği 0.45µm olan nitrosellülöz yaygın olarak kullanılmakla birlikte, çok düşük moleküler ağırlıktaki polipeptidlerin bağlanmadan geçmesi nedeniyle böylesi düşük moleküler ağırlıklı proteinlerin transferinde 0.1 µm çaplı membranlar önerilmektedir (104).

Proteinlerin membrana fikse edilmesinin bir diğeri avantajı da yıkama ve inkübasyon safhalarında yıkanıp gitmesini önlemektir (104).

Burgu ve ark. (19), koyun hidatik kist sıvısının SDS-PAGE ile analizinde moleküler ağırlığı 8, 16, 24, 38, 58, 68, 98, 116, 200 kDa olan 9 spesifik protein

bantı elde etmişlerdir. Bu proteinlerin nitrosellülöz membrana transferi sonucunda 30 pozitif koyun serumunun 29'unda 116 kDa, 25'inde 98 kDa, 17'sinde 68 kDa, 11'inde 58 kDa ve 12'sinde 38 kDa'luk bantları belirlemişler, 20 negatif koyun serumunun hepsinde 98 kDa'luk bantın oluştuğunu, 68 kDa'luk bantın 17 serumda, 58 kDa'luk bantın 11 serumda, 38 kDa'luk bantın 14 serumda, 116 kDa'luk bantın ise sadece bir serumda belirlendiğini bildirmişler, 98 ve 68 kDa'luk iki bantın ise non-enfekte koyun serumunda oluştuğunu ortaya koymuşlardır.

Moro ve ark. (96), Western blot ile koyunlarda hidatidosisin sensitivitesini %73 (69/94), spesifitesini ise %98.7 olarak belirlemişler (1/79), bu hayvanlarda 8, 16 ve 21 kDa'luk bantların değişik oranlarda bulunduğunu ve testin koyun hidatidozunun sero-diagnozunda orta derecede sensitivite ve yüksek bir spesifiteye sahip olduğunu ortaya koymuşlardır. Ayrıca *Taenia ovis* ve *T. hydatigena* ile enfekte hayvanlarda çapraz reaksiyonların görülmediğini de bildirmişlerdir.

Kanwar ve ark. (73), koyun hidatik kist sıvısında SDS-PAGE ile molekül ağırlığı 8-116 kDa arasında değişen en fazla 15 farklı polipeptid bant elde etmişler, bunlar içerisinde en belirgin olanının 66 kDa'luk polipeptid olduğunu ve 20 kDa'luk bantın sadece bir koyunda görüldüğünü belirlemişlerdir. Aynı araştırmacılar (73), 20 adet hidatidosisli insan serumunu kullanarak yaptıkları Western blot neticesinde de ağırlığı 8-116 kDa arasında değişen 12 polipeptid bantı saptamışlar, 8 ve 116 kDa'luk bantların bütün hidatidozlu insan serumlarında oluştuğunu ortaya koymuşlar, ancak kontrol grubu (sağlıklı) ve başka enfeksiyonlu hasta serumlarında bu bantlara rastlanmadığını ve bu iki bantın hidatidosisin tanısında %100 sensitivite ve spesifiteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada (73), 16, 24, 38, 45 ve 58 kDa'luk polipeptid bantlarının bütün hidatidosisli hasta serumlarında saptanmasına rağmen, bu bantlara diğer bir enfeksiyonla enfekte (cysticercosis, diğer

paraziter hastalıklar, viral hepatit vb) bazı hasta serumlarında da rastlanmasının, bu bantların hidatidosis için spesifik olmadığı sonucunu ortaya koymaktadır.

Sepherd ve McManus (129), 12 ve 16 kDa'luk polipeptidlerin, Maddison ve ark. (86) ise 8 kDa'luk polipeptidin hidatik kist için spesifik olduğunu bildirmişlerdir.

Verastagui ve ark. (153), 8, 16, 21 kDa.'luk bantları elde etmiş ve testin %65 sensitiv, %100 spesifik olduğunu bildirmişlerdir.

Gottstein ve ark. (53), koyundan aldıkları fertil kist sıvısını SDS-PAGE yapmışlar ve gümüş boyama neticesinde 20, 58, 94, 116 ve 200 kDa'luk bantları elde etmişlerdir ve jelin blotlanıp insan serumu ile muamelesi neticesinde 20, 66 ve 200 kDa'luk bantların oluştuğunu gözlemlemişlerdir.

Bu çalışma ile;

- 1- Koyun kökenli kist sıvısının antijenik özelliklerinin araştırılması ve SDS-PAGE ile spesifik protein bantlarının belirlenmesi,
- 2- Koyun hidatidosisinin serodiagnozunda ELISA ve Western blot tekniklerinin sensitivite ve spesifitelerinin karşılaştırılması,
- 3- Elazığ yöresi koyunlarında hidatidosisinin seroprevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada kullanılan örnekler Nisan 2001-Şubat 2002 tarihleri arasında Elazığ Merkez, Baskil, Keban, Sivrice, Kovancılar ilçeleri ile Gün-Et AŞ mezbahasından alınmıştır. Çalışma arazi, mezbaha ve laboratuvar olmak üzere üç aşamada gerçekleştirilmiştir.

4.1. Arazi Çalışmaları

Bu amaçla Elazığ ilinde Merkez, Baskil, Keban, Sivrice ve Kovancılar olmak üzere 5 odak belirlenmiştir. Bu odakların her birinin farklı yerleşim birimlerinden 50'şer adet koyundan kan örnekleri alınmıştır. Kan alınacak koyunlar seçilirken iki yaşın üzerinde ve değişik ırk ve cinsiyetten olmalarına özen gösterilmiştir.

Kan örnekleri koyunların vena jugularis'inden 10 ml'lik vakumlu tüplere alınmış, ayrıca her koyunun rektumundan tuşe yapılarak bir miktar taze dışkı alınmış ve naylon torbalara konularak üzeri numaralandırılmıştır. Dışkı örnekleri ile ilgili bilgiler ile koyunların yaşı, ırkı ve cinsiyeti protokole kaydedilmiştir.

4.2. Mezbaha Çalışmaları

Kesimi yapılan koyunlardan önceden numaralandırılmış steril tüplere 10 ml kan alınmış ve hayvanlar organ muayenesi için takibe alınmıştır.

Koyunların karaciğer, akciğer, kalp, dalak ve böbrekleri hidatik kist yönünden incelenmiş, kistlerin sayılarını ve niteliklerini (fertil, steril, kalsifiye) saptamak amacıyla kistli organ kısımları, eğer kist çok fazla ise organın tamamı numaralı naylon torbalara alınarak laboratuvara getirilmiştir. Kistin lokalizasyonu, kazeifikasyon-kalsifikasyon durumu, şekli ve sayısı belirlenerek protokole kaydedilmiştir. Ayrıca hayvanların karın boşluğu, omentum, mezenterium ve

karaciğerleri *Cysticercus tenuicollis* yönünden de incelenmiştir. Bağırsağın son kısmı ayrı ayrı numaralandırılmış torbalara konulmuş ve testlerde çapraz reaksiyonlara neden olabilecek cestodlar yönünden incelenmek üzere laboratuvara getirilmiştir.

Hayvanların cinsiyeti, anamnez bilgi ve tahmine dayalı olarak yaşları ve morfolojik karakterlerine göre de ırkları belirlenip protokole kaydedilmiştir. Hayvanların değişik yaş, ırk ve cinsiyetten olmalarına özen gösterilmiştir.

4. 3. Laboratuvar Çalışmaları

4. 3. 1. Serumların Elde Edilişi

Toplanan kan örneklerinin serumlarının daha kolay çıkmasını sağlamak için üst kısmı ince steril bir tel vasıtasıyla çizilmiş ve 5000 devirde 5 dakika santrifüje edilmiştir. Serum saklama tüplerine alınan serumların üzerleri numaralandırıldıktan sonra kullanılıncaya kadar – 20 °C’de muhafaza edilmiştir.

4. 3. 2. Organlardaki Kistlerin İncelenmesi

Organ veya organ parçacıkları üzerindeki kistlerin fertilitite-sterilitite durumlarını belirlemek amacıyla kalın uçlu bir enjektör yavaşça kistin içerisine batırılarak pistonun ileri geri hareketleri ile kist içerisindeki sıvı iyice karıştırılmış ve bir miktar kist sıvısı enjektöre çekilmiştir. Daha sonra bu sıvıdan birkaç damla alınarak lam üzerine konmuş ve mikroskopta incelenmiştir. Protoskoleks içeren kistler fertil olarak belirlenmiş ve kaydedilmiştir. Protoskoleks içermeyen kistler bir makas yardımıyla açılarak germinal membranları hem makroskobik hem de mikroskobik olarak protoskolekslerin bulunup bulunmadığı yönünden araştırılmış, germinal membranları da protoskoleks içermeyen kistler steril olarak kabul edilerek protokole kaydedilmiştir. Oldukça küçük çapta (yaklaşık 1-2 mm), kıvamı sert,

içinde çok az miktarda sıvı içeren, çimlenme zarı oluşmuş ancak protoskoleks içermeyen kistler ise yeni gelişmeye başlayan kist şekli olarak tanımlanmıştır. Ayrıca dejenere kistler de incelenmiş ve şüphe duyulan durumlarda mikroskopik bakışı yapılmıştır. Membranları ve kist boşlukları kireçlenmiş, içlerinde sıvı bulunmayan kistler kalsifiye olarak değerlendirilmiştir.

4. 3. 3. Dışkı Muayenesi

Araziden ve mezbahadan getirilen dışkı örnekleri natif ve flotasyon yöntemleriyle muayene edilmiştir. Natif muayene için temiz bir lam üzerine küçük bir miktar dışkı konup fizyolojik tuzlu su ile karıştırılmış ve mikroskopta 10'luk objektifte incelenmiştir. Ayrıca bütün numuneler flotasyon yöntemine tabi tutulmuştur. Bu amaçla ceviz büyüklüğündeki dışkı bir süzgeç yardımıyla doymuş tuzlu su ile karıştırılıp dışkı kabına süzölmüştür. Süzöntünün üzerine doymuş tuzlu su konup iki adet lamel bırakılmıştır. Yirmi dakika sonra lameller yere paralel olarak alınıp temiz bir lam üzerine konmuş ve mikroskopta 10'luk objektifte cestod yumurtaları yönünden incelenmiştir. Görülen cestod yumurtaları protokole kaydedilmiştir.

4. 4. ELISA Testinin Uygulanması

4. 4. 1. Antijen Hazırlanması

Bu amaçla mezbahada kesimi yapılan bir koyunun kistli karaciğeri hızlı bir şekilde laboratuvara getirilmiştir. Kist sıvısı mikroskop altında incelenmiş ve fertil olduğu belirlendikten sonra kist içerisindeki sıvının tamamı steril bir enjektör yardımıyla mezür içerisine alınmıştır. Protoskoleks ve diğer partiküllerin çökmesi

için 30 dakika beklenip üstteki sıvı ayrılmıştır. Bu sıvı 10.000 devirde 30 dakika santrifüj edilmiş ve üstte kalan sıvı tekrar ayrılmıştır. Bu sıvı 0.45 µm çaplı filtreden geçirildikten sonra ependorf tüplere konulup kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır.

4. 4. 2. Protein Konsantrasyonunun Saptanması

Testlerde kullanılacak eriyik antijenin protein konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla, Shimadzu UV240 marka spektrofotometre aletinde distile su ile 260 ve 280 nm dalga boylarında sıfırlama işlemi yapılmış, eldeki kist sıvısının konsantrasyonu her iki dalga boyunda ölçülerek:

$$1.45 \times (280 \text{ nm'deki değeri}) - 0.75 \times (260 \text{ nm'deki değeri}) = \text{mg/ml}$$

formülüne uygulanmış ve mg/ml cinsinden protein konsantrasyonu hesaplanmıştır.

4. 4. 3. Plakların Antijenle Kaplanması

ELISA plağının (Linbro EIA mikrotitration plate 96 flat bottom Lot No: 805202) her bir kuyucuğuna protein konsantrasyonu 5 µg/ml düşecek şekilde Karbonat Buffer ile sulandırılan eriyik antijenden tüm çukurlara 100 µl konularak üzeri kapatılıp, 1 gece + 4 °C'de bekletilmiştir.

4. 4. 4. Stok Solusyon ve Tamponların Hazırlanması

Karbonat Buffer

1.59 gr Na₂CO₃ ile 2.93 gr NaHCO₃ 1000 ml distile su içinde eritilmiş ve pH'sı 9.6'ya ayarlanarak kullanılıncaya kadar 4 °C'de saklanmıştır.

10X PBS

80 gr NaCl

2 gr KCl

11.5 gr Na_2HPO_4 2 gr KH_2PO_4 800 ml dH_2O

Bu karışımın pH'sı 7.4'e ayarlanmış, pH ayarlandıktan sonra karışım 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

%0.1 Tween-20 içeren PBS

1X PBS içerisine %0.1 oranında Tween-20 eklenip iyice karıştırılmıştır.

%0.02 Tween-20 içeren PBS

1X PBS içerisine %0.02 oranında Tween-20 eklenip iyice karıştırılmıştır.

Konjugate

Peroksidaz enzimiyle işaretli anti-koyun IgG antikor (Sigma

Immunochemicals Cat. No: A3415) kullanılmıştır.

Substrate

10 ml substrate solusyonu için;

0.1 M Citric asitten 3.68 ml

0.2 M Na_2HPO_4 'ten 6.32 ml

%3'lük H_2O_2 'den 100 μl

Bu karışımın içerisine 10 mg o-phenylenediamine (OPD) (Sigma cat. No: P 3804) tableti atılıp iyice eritildikten sonra renkli bir cam şişede karanlıkta bekletilmiştir.

Durdurma Solusyonu

Reaksiyonu durdurmak için 3 M H_2SO_4 'ten herbir kuyucuğa 50 µl konulmuştur.

Negatif Kontrol Serumı

Mezbahada kesimi yapılan bir yaşından küçük bir erkek kuzunun kanı alınmış, kesim takip edilerek iç organlarında hidatik kist olmadığı belirlenmiştir. Bu serumda, Western blot işlemi sonucunda hidatik kist için spesifik bantların oluşmadığı gözlenmiş ve serum kullanılıncaya kadar $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

4. 4. 5. Testin Uygulanması

Deney, Crowther ve Smith (30)'in bildirdiği gibi yapılmıştır.

Bir gece önceden antijen kaplanan plaklar inkubasyondan sonra %0.1 Tween-20 içeren PBS ile bir kez yıkanmıştır (her bir kuyucuğa 130 µl konulmuştur).

Antijen kaplı plağın olası antijenle kaplanmamış bölgelerini kaplamak amacıyla (bloklama işlemi) her kuyucuğa 130 µl olacak şekilde 1X PBS ile sulandırılmış %5'lik yağsız süt tozundan konulmuş ve bu şekilde $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'lik etüvde 2 saat bekletilmiştir.

Bloklamadan sonra plak iki defa %0.1 Tween-20 içeren PBS ile yıkanmıştır.

Serum sulandırmaları 1/50 oranında %0.02 Tween-20 içeren PBS ile yapılmış ve her bir kuyucuğa 90 µl konulmuş ve 1.5 saat $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de bekletilmiştir.

Bunu takiben plak en az beş kez yıkanmıştır.

Yıkama işlemi bittikten sonra konjugate, %0.02 Tween-20 içeren PBS ile 1/1000 oranında sulandırılıp her kuyucuğa 100 µl konmuş ve 37 °C'de 1.5 saat bekletilmiştir.

Konjugate dökülüp en az beş defa yıkama işlemi yapılmıştır.

Yıkamadan sonra her kuyucuğa 100 µl substrate eklenmiş ve 15-20 dakika beklenmiştir. Bu süre sonunda her kuyucuğa 50 µl durdurma solusyonu konulmuş ve kuyucuklar ELISA okuyucusunda (Medispec ESR 200 ELISA Reader) 450 nm dalga boyunda okunmuştur.

4. 4. 6. Sonuçların Değerlendirilmesi

Plağın ilk iki kuyucuğuna negatif kontrol serumu konulmuştur. Sonuçlar absorbans değerleri olarak alınmış, negatif kontrollerin absorbans değerlerinin aritmetik ortalaması +2 standart sapma ($X+2SD$) değerinin (eşik değer=cut-off) üstü pozitif olarak kabul edilmiştir. Standart sapma SPSS 10.1 istatistik programı ile hesaplanmıştır.

4. 5. Sodyum Dodecyle Sulphate Polyacrilamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) Testinin Uygulanması

SDS-PAGE ve Western blot aşamalarında Sambrook ve ark. (125)'nin bildirdiği metot takip edilmiştir.

4. 5. 1. Tampon ve Solusyonlar

%10 SDS

10 gr SDS

100 ml dH₂O

%30 Acrylamide-bisacrylamide

29 gr Acrylamide

1 gr Bisacrylamide

75 ml Distile su

Bu karışım iyice karıştırıldıktan sonra son volüm 100 ml'ye tamamlanıp +4 °C'de koyu renkli şişede saklanmıştır.

%10 Ammonium Persulphate (APS)

0.5 gr APS

5 ml dH₂O

Bu solusyon her seferinde taze olarak hazırlanmış, stok solusyon kullanılmamıştır.

TEMED (N, N, N, N- tetramethylethylenediamine)

Acros organics Lot: A014728901

Tank Buffer (Tris-glisin buffer)

14.4 gr Glycine

3.03 gr Tris base

10 ml %10 SDS

985 ml dH₂O

Bu karışımın pH'sı 8.3'e ayarlanıp ağzı kapaklı cam şişede saklanmıştır.

1X SDS Sample Buffer

50 mM Tris-Cl (pH=6.8)

100 mM Dithiothreitol

%2 SDS

%0.1 Bromphenol blue

%10 Glycerol

0.5 M Tris-Cl (pH=6.8)

6.05 gr Tris-Cl

50 ml dH₂O

Bu karışımın pH'sı 6.8'e ayarlanıp son volüm 100 ml'ye tamamlanmıştır.

1.5 M Tris-Cl (pH=8.8)

18.16 gr Tris-Cl

50 ml dH₂O

Bu karışımın pH'sı 8.8'e ayarlanıp son volüm 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Moleküler Ağırlık Markeri

Sigma immunochemicals Prestained Molecular Weight Standard SDS-7B markeri kullanılmıştır.

Boyama Solusyonu (Staining Solution)

5 ml %1 Coomassie blue

20 ml %95 methanol

5 ml Glacial asetik asit

20 ml dH₂O

Açma Solusyonu (Destaining Solution)

3 kısım	Methanol
1 kısım	Glacial asetik asit
6 kısım	dH ₂ O

4. 5. 2. Testin Uygulanışı

4. 5. 2. 1. SDS-PAGE ile Proteinlerin Separasyonu

4. 5. 2. 1. 1. Separasyon Jelinin Hazırlanması

Separasyon jeli %10'luk hazırlanmıştır.

%30 Acrylamide-bisacrylamide	10 ml
1.5 ml Tris-Cl (pH=8.8)	7.5 ml
%10 SDS	0.3 ml
%10 APS	0.3 ml
dH ₂ O	11.9 ml
TEMED	12 µl

Cam plakalar arasına tarak yerleştirilip altta kalan kısmın 2/3'lük kısmı işaretlenmiş ve bu kısma kadar içerisinde hava kabarcığı oluşmayacak şekilde separasyon jeli dökülmüştür. Cam plakalar arasında kalınlığı 1 mm. olan spacer kullanılmıştır.

Jelin üst yüzeyinin havayla temasını kesmek ve düzgün olarak jelleşmesini sağlamak amacıyla jelin üzerine 1 cm kalınlığında olacak şekilde butanol konmuştur. Bu şekilde 37 °C'lik etüvde polimerizasyona bırakılmıştır.

4. 5. 2. 1. 2. Stacking Jelin Hazırlanışı

Stacking jeli %5'lik hazırlanmıştır.

%30 Acrylamide-bisacrylamide	1.7 ml
0.5 M Tris (pH=6.8)	3.4 ml
%10 SDS	0.1 ml
%10 APS	0.1 ml
dH ₂ O	6.8 ml
TEMED	10 µl

Bu karışım yavaşça karıştırılmış ve polimerize olmuş separasyon jelinin üzerindeki butanol geri döktükten sonra stacking jel yavaşça aktarılmıştır. Hava kabarcığı oluşmamasına özen gösterilerek 24 kuyucuklu tarak jele batırılmıştır. Bu şekildeki cam plakalar 37 °C'deki etüve 45 dakika süreyle polimerizasyon için bırakılmıştır.

4. 5. 2. 1. 3. Örneklerin Kuyucuklara Konması ve Jelin Elektroforezi

Her jel için 10 µl renkli marker kullanılmıştır. Her kuyucuk için ise toplam 30'ar µl olacak şekilde hesaplanan eriyik antijen+sample buffer 1/1 oranında karıştırılmıştır.

Proteinlerin aralarındaki bağları koparmak amacıyla ayrı ayrı ependorf tüplerde bulunan renkli marker ve antijen+sample buffer karışımı 3 dakika 100 °C'deki suda bekletilmiştir (reducing conditions). Bu işlemten sonra örneklerin jele yüklenmesine geçilmiştir.

Tarak, polimerize olmuş jeli yırtmadan dikkatlice çıkarılmış ve kuyucuklar bir iğne vasıtasıyla düzeltilmiştir. Arasında jel bulunan cam levhalar, alt kısmındaki

spacer çıkartıldıktan sonra elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Tankın vidaları iyice sıkıştırılmış ve önce arka hazneye tank buffer konmuştur. Sızdırma olmadığından emin olununca ön hazneye de işaretli yere kadar tank buffer konmuş ve jelin altında oluşan hava kabarcıkları bir enjektörle alınmıştır.

Jelin ilk kuyucuklarına 10 µl renkli ağırlık markeri, diğer kuyucukların herbirine 30 µl antijen+sample buffer karışımı konmuştur.

Elektroforez aletinin (Scie-Plas V20-set) kapağı anod ve katod uçlarının doğruluğu kontrol edilerek kapatılmış ve 200 volt sabit akımda separasyon işlemi başlatılmıştır.

Antijenle birlikte konan sample buffer içinde bulunan işaretleyici boya (bromphenol blue), separasyon ile jelin dibine ulaşınca akım kesilip elektroforez durdurulmuştur.

4. 5. 2. 2. Jelin Boyanması

Jelin boyanması işlemi antijenin separe olup olmadığını anlamak için yapılmıştır. Spacer'lar cam levhalar açılarak ve jelin yırtılmamasına özen gösterilerek çıkarılmıştır. Jelin renkli marker olan kısmı boyanmayacağı için kesilip ayrılmıştır. Bunu takiben jel, boyama solusyonuna bırakılarak bir gece oda ısısında bekletilmiştir. Boyanan jel, üzerindeki boya fazlalığını gidermek ve bantların görünür hale gelmesini sağlamak için açma solusyonu içinde çalkalanmıştır. Her seferinde açma solusyonu değiştirilerek bantlar görünür hale gelinceye kadar bu işlem tekrarlanmıştır.

4. 6. WESTERN BLOT (İMMUNOBLOTTİNG)

4. 6. 1. Tampon ve Stok Solusyonlar

Transfer Buffer

2.9 gr	Glycine
5.8 gr	Tris-base
0.37 gr	SDS
200 ml	Methanol
800 ml	Distile su

Bu karışımın pH'sı 8.3'e ayarlanmıştır.

10 X PBS

8.0 gr	NaCl
2 gr	KCl
11.5 gr	Na ₂ HPO ₄
2 gr	KH ₂ PO ₄
800 ml	Distile su

Bu karışımın pH'sı 7.4'e ayarlanıp toplam volüm 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

Substrat Solusyonu

10 ml	Distile su
1 M	Tris-Cl
10 µl	%30 H ₂ O ₂
1 tablet	DAB

10 ml distile suya 0.5 ml 1 M Tris-Cl konulup buna Diaminobenzidine (DAB) tabletlerinden (DAB substrate tablets 5 mg/240 mg Amresco Lot:1571B66) bir tane atılmış ve iyice eritilmiştir. Bu sıvı bir kurutma kağıdı ile petri kutusu içine süzölmüş ve üzerine 10 µl %30'luk H₂O₂ eklenmiştir.

4. 6. 2. Separe Olan Proteinlerin Nitrosellölöz Membrana Transferi

Elektroforez işlemi bittikten sonra cam plakalar açılmadan önce jelin boyutları bir cetvel yardımıyla ölçölmüştür. Bu ebatlara uygun olarak altı parça filtre kağıdı (Whatman 3 mm paper) ile bir parça nitrosellölöz membran (Sigma electrophoresis grade N-8392 0.45µm pore size) kesilmiştir. Özellikle nitrosellölöz membran kesilirken eldiven giyilmiştir. Nitrosellölöz membran içi distile su dolu bir kaba bırakılmış, filtre kağıdı ise transfer buffer dolu bir kaptaki ısıtılmış ve 5'er dakika bekletilmiştir. Bunu takiben jel, membran ve filtre kağıdı aşğıdaki sıraya göre yerleştirilmiştir:

- Elektrod (Katod)
- Sünger
- Filtre kağıdı
- Jel
- Nitrosellölöz membran
- Filtre kağıdı
- Sünger
- Elektrod (Anod)

Bu sıralama yapılırken özellikle jel ile nitrosellölöz membran arasında transferi engelleyebilecek hava kabarcığı kalmamasına özen gösterilmiştir.

Tankın içi transfer buffer ile doldurulup içine jel-membran sistemi yerleştirilmiştir. Bir saat süreyle 70 volt 0.65 mA sabit akım uygulanarak jel üzerinde bulunan proteinler membrana transfer edilmiştir. Blotlama işlemi CBC Scientific Co. EBU-102 immunoblot cihazı ile gerçekleştirilmiş, blotlama bitince akım kesilip membran çıkartılmıştır.

Boyalı markerin membranda görünmemesine ilave olarak, transfer işleminin tam olup olmadığını kontrol etmek için jel, transfer işlemini takiben boyama solusyonu ile boyanıp, açma solusyonuna konmuş ve üzerinde transfer olmamış protein olup olmadığı kontrol edilmiştir.

Membranın ağırlık markeri olan kısmı bistüri ile kesilmiş ve ayrılarak filtre kağıdı arasında karanlıkta saklanmıştır.

Membranın geri kalan kısmı nonspesifik bağlanmaları önlemek için %5'lik yağsız süttozu içine bırakılarak 37 °C'de 2 saat veya işlemin ertesi güne sarkması durumlarında + 4 °C'de 1 gece bekletilmiştir (blocking).

Bloklanan membran %0.1'lik Tween-20 içeren PBS ile bir kez yıkanmıştır. Daha sonra membran, ıslak bir cam levha üzerinde uygulanacak örnek sayısı kadar şeritler halinde (her şeritte bir kuyucuktaki antijen separasyonu olacak şekilde) bistüri ile kesilmiştir.

Şeritler halinde kesilen membranın herbiri 5 ml'lik ince cam tüplere konmuş ve tüpler numaralandırılmıştır. Test edilecek serumlar da numaralandırılmış ve %0.02 Tween-20 içeren PBS ile 1/50 oranında sulandırılarak bu cam tüplere konmuştur. Bu şekilde 1.5 saat 37 °C'de bekletilmiştir. Sürenin sonunda membran %0.1 Tween-20 içeren PBS ile 5'er dakika süreyle dört kez yıkanmıştır.

Şeritler halindeki membran çıkartılıp, protein transfer olan yüzü üstte kalacak şekilde başlarından birer toplu iğne vasıtasıyla tutturulmak suretiyle, sırasına da özen göstererek, köpükten bir tabak içerisine yerleştirilmiştir.

Sekunder antikor (peroksidaz ile işaretli anti-koyun IgG, Sigma Immunochemical cat. No: A-3415) %0.02 Tween-20 içeren PBS ile 1/1000 oranında sulandırılmış ve membranların bulunduğu kaba yerleştirilmiştir. Bu şekilde 37 °C’de 1.5 saat bekletilmiştir. Sürenin bitiminde dört kez 5’er dakika yıkama işlemi yapılmıştır.

Membranlar sırasıyla alınıp substrat solusyonu ile muamele edilmiş, bantlar oluşunca filtre kağıdında kurutulup, üzeri numaralandırılmış kağıtlar arasında karanlık ortamda saklanarak değerlendirilmesi yapılmıştır.

5. BULGULAR

Bu çalışmada, mezbahada kesim sonrası muayene edilen hidatik kistli 50 koyun ve hidatik kist taşımayan 50 koyunun cinsiyet, ırk ve yaşlara göre dağılımı *Tablo 1*'de sunulmuştur. Buna göre hidatik kistli koyunların 10'u erkek, 40'ı dişi; 35'i Akkaraman, 12'si Morkaraman ve 3'ü de Akkaraman-Morkaraman melezi olup 7'si bir, 25'i iki ve 18'i ise üç yaşındadır. Hidatik kistle enfekte olmayan koyunların ise 29'u erkek, 21'i dişi; üçü Akkaraman, 33'ü Morkaraman ve 14'ü Akkaraman-Morkaraman melezi olup, 13'ü bir, 26'sı iki ve 11'i de üç yaşındadır.

Enfekte koyunlarda hidatik kistlerin yaş ve organlara göre dağılımı *Tablo 2*'de verilmiştir. Buna göre kistlerin en çok karaciğer-akciğer (%52) organ ikilisinde yerleştiği, bunu karaciğer (%38) ve akciğerin (%10) takip ettiği görülmektedir. Yaşa göre bakıldığında ise bir yaşlı koyunlarda kistlerin sadece karaciğerde bulunduğu, iki yaşındakilerde sırasıyla karaciğer (%44), karaciğer-akciğer (%44) organ ikilisi ve akciğerde (%12) görüldüğü, üç yaşındakilerde ise bu sıralamanın karaciğer-akciğer (%83.4), akciğer (%11.1) ve karaciğer (%5.5) şeklinde olduğu gözlenmiştir.

Enfekte koyunlardaki kistlerin %56'sının fertil, %16'sının steril, %2'sinin kalsifiye ve %26'sının da yeni gelişmeye başlayan kistler olduğu saptanmıştır. Organlara göre, karaciğerdeki kistlerin %26.4'ünün fertil, %5.2'sinin kalsifiye ve %68.4'ünün de yeni gelişmeye başlayan, akciğerdeki kistlerin %20'sinin fertil, %80'inin steril, karaciğer-akciğer organ ikilisinde ise %84.6'sının fertil ve %15.4'ünün steril olduğu belirlenmiştir (*Tablo 3*).

Enfekte koyunlarda fertil, steril, kalsifiye ve yeni gelişmeye başlayan kist şekli ile yaş arasındaki ilişki *Tablo 4*'te verilmiştir. Buna göre bir yaşındaki koyunlarda hidatik kistlerin %14.3'ünün fertil, %14.3'ünün kalsifiye ve %71.4'ünün de yeni gelişmeye başlayan, iki yaşındaki koyunlarda %48'inin fertil, %20'sinin

steril ve %32'sinin de yeni gelişmeye başlayan, üç yaşındaki koyunlarda ise %83.3'ünün fertil, %16.7'sinin steril hidatik kistler olduğu belirlenmiştir.

Kesim sonrası muayenesi yapılan 100 koyunda bulunan cestod türleri *Tablo 5*'de verilmiştir. Tablodan izlenebileceği gibi 50 koyun kist hidatikli olup, 19 koyunda *Cysticercus tenuicollis*, 20 koyunda da *Moniezia spp.* saptanmıştır. Koyunların 11'inde kist hidatikle *C.tenuicollis*, yedisinde kist hidatikle *Moniezia spp.* ve birinde de *C.tenuicollis* ile *Moniezia spp.* birlikte görülmüştür.

Tablo 6'da hidatik kistli ve kistsiz koyunlarda Western blot neticesi oluşan bant sonuçları verilmiştir. Burada görüldüğü gibi kist hidatik yönünden pozitif olan koyunların hepsinde 38 ve 58 kDa, 47'sinde 68 kDa, 44'ünde 116 kDa, 30'unda 205 kDa, 28'inde 62 kDa, 23'ünde 98 kDa, 4'ünde 29 kDa ve 2'serinde de 42, 120 ve 150 kDa'luk bantlar oluşmuştur. Kist hidatikle enfekte olmayan koyunların ise hepsinde 58 kDa, 48'inde 38 kDa, 32'sinde 68 kDa, 19'unda 62 kDa, 8'inde 116 kDa, 3'ünde 205 kDa'luk bantlar görülürken, 29, 42, 98, 120 ve 150 kDa'luk bantlar oluşmamıştır.

Çalışmaya alınan 50 hidatidosisli koyun serumunda western blot yöntemiyle elde edilen bantların organ lokalizasyonuna göre dağılımı *Tablo 7*'de verilmiştir. Buna göre, yalnız karaciğerinde kist bulunan 19 koyunun hepsinde 38 ve 58 kDa, 18'inde 68 kDa, 16'sında 116 kDa, 10'unda 205 kDa, 9'unda 62 kDa, 6'sında 98 kDa ve birer tanesinde de 29, 42, 120 ve 150 kDa'luk protein bantları oluşmuştur. Yalnız akciğerlerinde kist bulunan 5 koyunun hepsinde 38, 58, 62 ve 68 kDa, 4'ünde 116 kDa, ikişerinde ise 98 ve 205 kDa'luk protein bantları oluşmuş, 29, 42, 120 ve 150 kDa'luk bantlar ise oluşmamıştır. Hem karaciğer hem de akciğerlerinde kist bulunan 26 koyunun ise hepsinde 38 ve 58 kDa, 24'ünde 68 ve 116 kDa, 18'inde 205

kDa, 15'inde 98 kDa, 14'ünde 62 kDa, 3'ünde 29 kDa ve birer tanesinde 42, 120 ve 150 kDa'luk protein bantları şekillenmiştir.

Hidatidosisli koyunlarda görülen diğer helmint türleri ve oluşan bantların dağılımı ile ilgili bulgular *Tablo 8*'de verilmiştir. Tablodan da izlenebileceği gibi kist hidatikli koyunlarda kistin yerleşim yerine ve taşıdığı diğer helmint türlerine göre; sadece karaciğerinde kist hidatik bulunan koyunların beşi *Moniezia spp.*, yedisi *Trichostrongylus spp.*, ikisi *Moniezia spp.* + *Trichostrongylus spp.*; sadece akciğerinde kist hidatik bulunan koyunların dördü *Trichostrongylus spp.* ve biri de *Moniezia spp.* + *Trichostrongylus spp.*; hem karaciğerinde hem de akciğerlerinde kist taşıyan koyunların ise 15'i *Trichostrongylus spp.*, 10'u *Trichostrongylus spp.* + *Cysticercus tenuicollis* ve biri de *Moniezia spp.* + *Trichostrongylus spp.* türleriyle enfekte bulunmuştur. Ayrıca tabloda türlere göre oluşan bantların dağılımı da verilmiştir. Buna göre sadece hidatik kistle enfekte olup, diğer parazit türleri gözlenmeyen beş koyunun hepsinde 38, 58, 68, 116 kDa, üçünde 205 kDa, ikisinde 98 kDa, birinde 42, 62, 120, 150 kDa'luk bantlar gözlenirken, 29 kDa'luk bant belirlenememiştir. Kist hidatik yanında diğer helmint türleriyle de enfekte koyunlarda ise 29 kDa'luk bantın dört koyunda, 38 ve 58 kDa'luk bantların tüm koyunlarda; 42 kDa'luk bantın *Trichostrongylus spp.* türleriyle de enfekte bir koyunda; 58 kDa'luk bantın *Trichostrongylus spp.* türleriyle enfekte 26, *Trichostorgylus spp.* + *Cysticercus tenuicollis* türleriyle enfekte 10, *Moniezia spp.* türleriyle enfekte beş ve *Moniezia spp.* + *Trichostrongylus spp.* türleriyle de enfekte dört koyunda; 62 kDa'luk bantın *Trichostrongylus spp.* türleriyle enfekte 19, *Trichostrongylus spp.* + *Cysticercus tenuicollis* türleriyle enfekte dört, *Moniezia spp.* + *Trichostrongylus spp.* türleriyle enfekte üç ve *Moniezia spp.* türleriyle de enfekte bir koyunda; 68 kDa'luk bantın *Trichostrongylus spp.* türleriyle enfekte 25,

Trichostrongylus spp. + *Cysticercus tenuicollis* türleriyle enfekte dokuz, *Moniezia spp.* türleriyle enfekte dört, *Moniezia spp.* + *Trichostrongylus spp.* türleriyle de enfekte dört koyunda; 98 kDa'luk bantın *Trichostrongylus spp.* türleriyle enfekte 15, *Trichostrongylus spp.* + *Cysticercus tenuicollis* türleriyle enfekte beş ve *Moniezia spp.* + *Trichostrongylus spp.* türleriyle de enfekte bir koyunda; 116 kDa'luk bantın *Trichostrongylus spp.* türleriyle enfekte 22, *Trichostrongylus spp.* + *Cysticercus tenuicollis* türleriyle enfekte 10, *Moniezia spp.* türleriyle enfekte dört ve *Moniezia spp.* + *Trichostrongylus spp.* türleriyle de enfekte üç koyunda; 120 ve 150 kDa'luk bantların *Trichostrongylus spp.* türleriyle enfekte birer koyunda; 205 kDa'luk bantın ise *Trichostrongylus spp.* türleriyle enfekte 16, *Trichostrongylus spp.* + *Cysticercus tenuicollis* türleriyle enfekte yedi, *Moniezia spp.* türleriyle enfekte üç ve *Moniezia spp.* + *Trichostrongylus spp.* türleriyle de enfekte bir koyunda görüldüğü belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılan testlerin sensitivite ve spesifitelerinin değerlendirilmesi *Tablo 9*'de belirtilen kriterlere göre yapılmıştır.

Bu çalışma ile ELISA'nın sensitivitesinin %60, spesifitesinin %94 olduğu, Western blot'da ise bu oranların sırasıyla %88 ve %84 şeklinde oluştuğu saptanmıştır. Her iki testin sensitivitelerinin istatistiki değerlendirmesinde fark önemli bulunurken ($p < 0.01$), spesifiteleri arasındaki farkın önemsiz olduğu ortaya çıkmıştır ($p > 0.05$) (*Tablo 10*).

Testler, hidatik kistli koyunlarda kistin yerleştiği organa göre değerlendirildiğinde sadece karaciğerinde kist bulunanların dokuzunda ELISA, 16'sında Western blot pozitif, sadece akciğerinde kist bulunanların üçünde ELISA, dördünde Western blot pozitif, hem karaciğer hem de akciğerinde kist bulunanların ise 18'inde ELISA ve 24'ünde de Western blot pozitif bulunmuştur (*Tablo 11*).

Hidatik kistlerin yerleşim yeri ve niteliklerine göre ELISA'nın sensitivite oranları *Tablo 12*'de verilmiştir. Buna göre testin sensitivitesinin karaciğerdeki kistlerde %47.3, akciğerdeki kistlerde %60 ve her iki organda birden bulunan kistlerde %69.2 olduğu belirlenmiş ve bu fark istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Yine bu tablodan izlenebileceği gibi, ELISA'nın sensitivitesinin fertil kistlerde %67.8, steril kistlerde %75 ve yeni gelişmeye başlayan kistlerde %38.4 olduğu belirlenmiş ve aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($p<0.01$).

ELISA ile yanlış negatif bulunan 20 koyunda kistlerin 10'unun karaciğerde, ikisinin akciğerde ve sekizinin de hem karaciğer hem de akciğerde yerleştiği görülmüş, bu koyunlardaki kistlerin dokuzunun fertil, ikisinin steril, birinin kalsifiye ve sekizinin de yeni gelişmeye başlayan kistler olduğu ortaya çıkmıştır (*Tablo 12*).

Tablo 13'de, hidatik kistlerin yerleştiği organlara ve kistlerin niteliğine göre Western blot'ın sensitivitesi verilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi sensitivitenin karaciğerdeki kistlerde %84.2, akciğerdeki kistlerde %80 ve her iki organda birden bulunan kistlerde ise %92.3 olduğu ve gruplar arasındaki farkın istatistiksel yönden önemsiz olduğu ortaya çıkmıştır ($p>0.05$). Yine aynı tablodan izlenebileceği gibi Western blot'ın fertil, steril, kalsifiye ve yeni gelişmeye başlamış kistlerdeki sensitivitesi sırasıyla %92.8, %75, %100 ve %84.6 olarak bulunmuş ve gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0.01$). Western blot ile yanlış negatif bulunan altı koyunda, kistlerin üçünün karaciğerde, birinin akciğerde ve ikisinin de hem karaciğer hem de akciğerde yerleştiği, bu kistlerin ikisinin fertil, ikisinin steril ve ikisinin de yeni gelişmeye başlamış kistler olduğu görülmüştür (*Tablo 13*).

Bu bulgulara göre hem ELISA ve hem de Western blot testlerinin karaciğer-akciğer organ ikilisinde bulunan kistlerde yüksek bir sensitiviteye sahip olduğu ortaya çıkmıştır. ELISA'nın, sadece karaciğerinde kist taşıyan örneklerde sensitivitesinin (%47.3) düşük olduğu, bunun aksine Western blot'ın yüksek bir sensitiviteye (%84.2) sahip olduğu görülmüştür. Western blot'ın fertil kistlerde %92.8, steril kistlerde %75, yeni gelişmeye başlamış kistlerde %84.6'lık bir sensitiviteye sahip olduğu ve bunun yanısıra tek numune olan kalsifiye kistte de pozitif sonuç verdiği ortaya çıkmıştır. Her iki testin de steril kistleri aynı oranda belirleyebildiği, ancak Western blot'ın ELISA'ya göre fertil kistleri belirlemede oldukça iyi ve özellikle de yeni gelişmeye başlayan kistlerde yüksek bir sensitivitesinin (%84.6) olduğu belirlenmiştir.

Elazığ yöresindeki koyunlarda hidatik kistin yaygınlığını ortaya koymak amacı ile Elazığ Merkez, Baskil, Keban, Sivrice ve Kovancılar ilçelerinden kan örnekleri alınan 250 koyunun cinsiyet, ırk ve yaş dağılımları *Tablo 14*'de gösterilmiştir. Buna göre kan örnekleri alınan koyunların; 17'sinin (%6.8) erkek, 233'ünün (%93.2) dişi; 164'ünün (%65.6) Akkaraman, 36'sının (%14.4) Morkaraman ve 50'sinin (%20) Akkaraman-Morkaraman melezi; beşinin (%2) bir, 50'sinin (%20) iki, 103'ünün (%41.2) üç, 57'sinin (%22.8) dört, 23'ünün (%9.2) beş ve 12'sinin de (%4.8) altı yaş ve üstü olduğu görülmüştür.

ELISA ve Western blot test sonuçlarına göre koyunlarda hidatik kistin prevalansı *Tablo 15*'de verilmiştir. ELISA ve Western blot'a göre prevalans değerleri sırasıyla Merkez'de %66, %68; Baskil'de %74, %32; Keban'da %34, %64; Sivrice'de %84, %96; Kovancılar'da %52, %72 olarak bulunmuş ve Elazığ yöresindeki toplam prevalans sırasıyla %62 ve %66.4 olarak belirlenmiştir.

Koyunlarda hidatidosisin ELISA ile seroprevalansının cinsiyet, ırk ve yaşa göre dağılımı *Tablo 16*'de verilmiştir. Buna göre seroprevalans erkeklerde %70.6, dişilerde %62.2 olup gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Seroprevalans, Akkaraman ırkı koyunlarda %64.6, Morkaraman'larda %47.2 ve Akkaraman-Morkaraman melezlerinde ise %66 olarak belirlenmiş ve ırklar arasındaki farklılık istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Beş yaşına kadar olan koyunlardaki seroprevalans değerleri ise sırasıyla %60, %56, %64.1, %61.4, %65.2 olup, bu yaş grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuş ($p>0.05$), buna karşın altı ve yukarıya yaşlardaki prevalans %83.3 olarak belirlenmiş ve bu sonuç ile diğer yaş grupları arasındaki farkın önemli olduğu ortaya çıkmıştır ($p<0.01$).

Koyun hidatik kist sıvısı antijeninin SDS-PAGE ile analizi sonucu elde edilen ve moleküler ağırlığı 29, 45, 58, 68, 98 ve 116 kDa olan altı farklı polipeptid bantı *Şekil 1*'de, jelin nitrosellülöz membrana transferinden sonra hem arazi hem de mezbahadan alınan serumlar ile gerçekleştirilen Western blot deneyi sonucu elde edilen bantlar ise (29, 38, 42, 58, 62, 68, 98, 116, 120, 150, 205 kDa) *Şekil 2*'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Kesim Sonrası Muayenesi Yapılan Koyunlarda Hidatik Kistlerin Cinsiyet, Irk ve Yaşa Göre Dağılımı

		Hidatik Kist (+)		Hidatik Kist (-)		Toplam
		Sayı	%	Sayı	%	
Cinsiyet	Erkek	10	20	29	58	39
	Dişi	40	80	21	42	61
İrk	Akkaraman	35	70	3	6	38
	Morkaraman	12	24	33	66	45
	Ak. X Mor.	3	6	14	28	17
Yaş	1	7	14	13	26	20
	2	25	50	26	52	51
	3	18	36	11	22	29
	Toplam	50	50	50	50	100

Ak.:Akkaraman Mor.:Morkaraman

Tablo 2. Enfekte Koyunlarda Kistlerin Yaş ve Organlara Göre Dağılımı

Yaş (Yıl)	Karaciğer		Akciğer		Kc + Ac		Toplam	
	Sayı	(%)	Sayı	(%)	Sayı	(%)	Sayı	(%)
1	7	100	-	-	-	-	7	14
2	11	44	3	12	11	44	25	50
3	1	5.5	2	11.1	15	83.4	18	36
Toplam	19	38	5	10	26	52	50	100

Kc. :Karaciğer Ac. :Akciğer

Tablo 3.Enfekte Koyunlarda Fertil, Steril, Kalsifiye ve Yeni Gelişmeye Başlayan Kist Şekilleri ile Kistlerin Yerleşim Yerleri Arasındaki İlişkiler

Kistlerin	Fertil		Steril		Kalsifiye		Yeni Gel. Başl.		Toplam	
Yerl. Yeri	Sayı	(%)	Sayı	(%)	Sayı	(%)	Sayı	(%)	Sayı	(%)
Karaciğer	5	26.4	-	-	1	5.2	13	68.4	19	38
Akciğer	1	20	4	80	-	-	-	-	5	10
Kc. + Ac.	22	84.6	4	15.4	-	-	-	-	26	52
Toplam	28	56	8	16	1	2	13	26	50	100

Tablo 4.Enfekte Koyunlarda Fertil, Steril, Kalsifiye ve Yeni Gelişmeye Başlayan Kist Şekilleri ile Yaş Arasındaki İlişkiler

	Fertil		Steril		Kalsifiye		Yeni Gel. Başl.		Toplam	
Yaş	Sayı	(%)	Sayı	(%)	Sayı	(%)	Sayı	(%)	Sayı	(%)
1	1	14.3	-	-	1	14.3	5	71.4	7	14
2	12	48	5	20	-	-	8	32	25	50
3	15	83.3	3	16.7	-	-	-	-	18	36
Toplam	28	56	8	16	1	2	13	26	50	100

Tablo 5. Kesim Sonrası Muayenesi Yapılan 100 Koyunda Bulunan Cestod Türleri

Parazit Türü	Enfekte Bulunan Hayvan Sayısı	%
Kist hidatik	50	100
<i>Cysticercus tenuicollis</i>	19	38
<i>Moniezia</i> spp.	20	40
Kist hidatik + <i>C. tenuicollis</i>	11	22
Kist hidatik + <i>Moniezia</i> spp.	7	14
<i>C. tenuicollis</i> + <i>Moniezia</i> spp.	1	2

Tablo 6. Mezbahada Hidatik Kistli ve Kistsiz Koyunlarda Western Blot Neticesinde Oluşan Bantlar

Oluşan Bantlar (kDa)	Hidatik Kistli (Sayı)	Hidatik Kistsiz (Sayı)
29	4	-
38	50	48
42	2	-
58	50	50
62	28	19
68	47	32
98	23	-
116	44	8
120	2	-
150	2	-
205	30	3

Tablo 7. Hidatidosisli 50 Koyun Serumunda Western Blot Yöntemiyle Oluşan Bantların Organ Lokalizasyonuna Göre Dağılımı

Organlar	Koyun Sayısı	Western Blot ile Oluşan Bantlar (kDa)										
		29	38	42	58	62	68	98	116	120	150	205
Karaciğer	19	1	19	1	19	9	18	6	16	1	1	10
Akciğer	5	-	5	-	5	5	5	2	4	-	-	2
Kc. + Ac.	26	3	26	1	26	14	24	15	24	1	1	18
Toplam	50	4	50	2	50	28	47	23	44	2	2	30

Tablo 8. Hidatidosisli Koyunlarda Görülen Diğer Helmint Türleri ve Oluşan Bantların Dağılımı

Kistin Lokalizasyonu	Diğer Helmint Enfeksiyonları	Enfekte Hayvan Sayısı	Oluşan Bantlar (kDa)										
			29	38	42	58	62	68	98	116	120	150	205
Kc.	-	5	-	5	1	5	1	5	2	5	1	1	3
Kc.	Moniezia spp.	5	1	5	-	5	1	4	-	4	-	-	3
Kc.	Tric. spp.	7	-	7	-	7	6	7	4	6	-	-	4
Kc.	Moniezia+Tric.	2	-	2	-	2	1	2	-	1	-	-	-
Ac.	Tric. spp.	4	-	4	-	4	4	4	2	3	-	-	2
Ac.	Moniezia+Tric.	1	-	1	-	1	1	1	-	1	-	-	-
Kc.+Ac.	Tric. spp.	15	2	15	1	15	9	14	9	13	1	1	10
Kc.+Ac.	Tric.+C.tenuicollis	10	1	10	-	10	4	9	5	10	-	-	7
Kc.+Ac.	Moniezia + Tric.	1	-	1	-	1	1	1	1	1	-	-	1
Toplam		50	4	50	2	50	28	47	23	44	2	2	30

Tablo 9. ELISA ve Western Blot Testlerinin Pozitif ve Negatiflik Sayıları

	Mezbaha (+)		Mezbaha (-)	
ELISA (+)	30	a	3	b
ELISA (-)	20	c	47	d
Toplam	50		50	
Western Blot (+)	44	a	8	b
Western Blot (-)	6	c	42	d
Toplam	50		50	

Sensitivite= $a/a+c \times 100$

Spesifite = $d/b+d \times 100$

PPV: Positive Predictive Value: $a/a+b \times 100$

NPV: Negative Predictive Value: $d/c+d \times 100$

Yanlış Pozitiflik Oranı: $b/b+d \times 100$

Yanlış Negatiflik Oranı: $c/a+c \times 100$

Tablo 10. ELISA ve Western Blot Testlerinin Sensitivite ve Spesifiteleeri

		Hidatik Pozitif										Hidatik Negatif									
Serolojik Testler	Test Edilen Serum Sayısı	Pozitif (Sayı)	Negatif (Sayı)	Test Edilen Serum Sayısı	Pozitif (Sayı)	Negatif (Sayı)	Sensitivite (%)	Spesifite (%)	Yanlış Negatif (%)	Yanlış Pozitif (%)	NPD (%)										
ELISA	50	30	20	50	3	47	60	94	40	6	70.1										
WB	50	44	6	50	8	42	88	84	12	16	87.5										

Tablo 11. Hidatik Kistli Koyun Serumlarında ELISA ve Western Blot Bulgularının Organlara Göre Dağılımı

	Hidatik Kistli Serum Sayısı	ELISA ile Pozitif	WB ile Pozitif
Karaciğer	19	9	16
Akciğer	5	3	4
KC. + AC.	26	18	24
Toplam	50	30	44

Tablo 12. Hidatik Kistlerin Yerleşim Yeri ve Niteliklerine Göre ELISA'nın Sensitivitesi

	Kistin Yerleşim Yeri ve Niteliği	Test Edilen Serum Sayısı	Pozitif (Sayı)	Negatif (Sayı)	Sensitivite (%)
Kistin Yerleşim Yeri	Karaciğer	19	9	10	47.3
	Akciğer	5	3	2	60
	Kc +Ac	26	18	8	69.2
Kistin Niteliği	Fertil	28	19	9	67.8
	Steril	8	6	2	75
	Kalsifiye	1	-	1	-
	Yeni Gel. Başl.	13	5	8	38.4
	Toplam	50	30	20	60

Tablo 13. Hidatik Kistlerin Yerleşim Yeri ve Niteliklerine Göre Western Blot'ın Sensitivitesi

	Kistin Yerleşim Yeri ve Niteliği	Test Edilen Serum Sayısı	Pozitif (Sayı)	Negatif (Sayı)	Sensitivite (%)
Kistin Yerleşim Yeri	Karaciğer	19	16	3	84.2
	Akciğer	5	4	1	80
	Kc. +Ac.	26	24	2	92.3
Kistin Niteliği	Fertil	28	26	2	92.8
	Steril	8	6	2	75
	Kalsifiye	1	1	-	100
	Yeni Gelişmeye Başlayan	13	11	2	84.6
	Toplam	50	44	6	88

Tablo 14. Araziden Serumu Alınan Koyunların Bölge, Cinsiyet, Irk ve Yaşa Göre Dağılımı

							Toplam	
		Merkez	Baskil	Keban	Sivrice	Kovancılar	Sayı	%
Cinsiyet	Erkek	7	7	-	3	-	17	6.8
	Dişi	43	43	50	47	50	233	93.2
Irk	Akkaraman	41	39	39	35	10	164	65.6
	Morkaraman	-	-	3	-	33	36	14.4
	Ak X Mor	9	11	8	15	7	50	20
Yaş	1	4	-	-	-	1	5	2
	2	9	11	7	2	21	50	20
	3	8	26	26	30	13	103	41.2
	4	10	9	15	14	9	57	22.8
	5	9	4	2	3	5	23	9.2
	6≤	10	-	-	1	1	12	4.8
Toplam		50	50	50	50	50	250	50

Tablo 15. Koyunlarda Hidatidosisin Odaklara Göre ELISA ve Western Blot ile Prevalansı

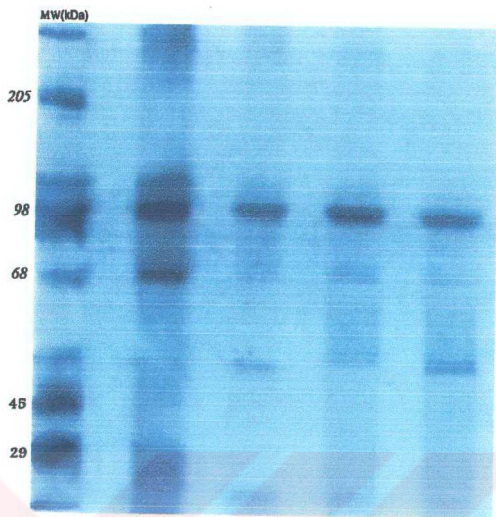
	Merkez			Baskil			Keban			Sivrice			Kovancılar			Toplam		
Testler	P	N	Pr	P	N	Pr	P	N	Pr	P	N	Pr	P	N	Pr	P	N	Pr
ELISA	33	17	66	37	13	74	17	33	34	42	8	84	26	24	52	155	95	62
WB	17	8	68	8	17	32	16	9	64	24	1	96	18	7	72	83	42	66.4

P: Pozitif Sayı N: Negatif Sayı

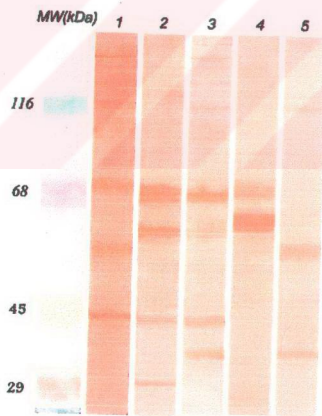
Pr: Prevalans (%) WB: Western blot

Tablo 16. Koyunlarda Hidatidosisin ELISA ile Seroprevalansının Cinsiyet, Irk ve Yaşa Göre Dağılımı

	Muayene Edilen		Enfekte Bulunan	Prevalans (%)
Cinsiyet	Erkek	17	12	70.6
	Dişi	233	145	62.2
İrk	Akkaraman	164	106	64.6
	Morkaraman	36	17	47.2
	Ak X Mor	50	33	66
Yaş	1	5	3	60
	2	50	28	56
	3	103	66	64.1
	4	57	35	61.4
	5	23	15	65.2
	6≤	12	10	83.3



Şekil 1. Koyun Hidatik Kist Sıvısının SDS-PAGE İle Separasyonu Sonucu Elde Edilen Bantlar



Şekil 2. Western Blot ile Elde Edilen Spesifik Bantlar

6. TARTIŞMA

Echinococcosis hem insan hem de evcil hayvanları etkileyen dünyadaki en önemli zoonozlardan biridir. Özellikle az gelişmiş ülkelerdeki kırsal bölgelerde yaşayan insanlarda, evcil ve yabani hayvanlarla olan yakın temasları nedeniyle hidatidosise daha sık rastlanmaktadır (88, 120, 128).

Echinococcus granulosus'un erişkinleri etçillerin ince bağırsığında yaşamakta olup, Avrupa'nın birçok ülkesinde en önemli ara konağın koyun olduğu belirtilmiştir (69). Değişik ülkelerde yapılan araştırmalarda koyunlarda hidatidozun yayılış oranları: Peru'da (42, 95, 115) %13.2-87, Şili'de (115) %60-90, Uruguay'da (20) %16.1, Arjantin'de (79, 115, 149) %12.7-63.1, Brezilya'da (115) %19, Yunanistan'da (63) %100, İtalya'da (12, 18) %80-91.3, Galler'de (108) %10.5, Bosna Hersek'te (163) %27.7, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde (64) %32.7, İsrail'de (99) %10, İran'da (34) %11.1, Irak'ta (35) %4.5, Kuveyt'te (60) %10.4, Suudi Arabistan'da (49) %4.6, Suriye'de (33) %4.5, Libya'da (35, 55) %3.3-7.8, Ürdün'de (1, 7, 35) %4-27.8, Fas'ta (102, 109) %0.7-26.1, Mısır'da (35, 59, 116) %0.3-1.3, Nijerya'da (10) %24, Hindistan'da (58, 66, 131) %5.5-71.3, Kenya'da (84, 100) %3.6-8.1 ve Çin'de (24, 25) %60.1-88.6 olarak bildirilmiştir.

Türkiye'nin değişik yörelerinde yapılan çalışmalarda ise hidatidosisin Trakya'da (147) %3.5, İstanbul'da (157) %52.3, Bursa'da (17, 134) %3-50.7, Manisa'da (31) %12.6, Konya'da (38) %51.89, Ankara'da (103, 162) %5.9-42.4, Çorum'da (146) %32.45, Sivas'ta (105) %58.6, Samsun'da (161) %21.8, Elazığ'da (106) %62.6, Erzurum'da (11, 78, 146) %15-70.9, Kars'ta (148) %48.3, Van'da (142) %32.9 oranlarında yaygın olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada Elazığ yöresinde koyunlarda hidatidosisin yaygınlığı ELISA ile %62, Western blot ile %66.4 olarak bulunmuştur. Bulunan oran, Hindistan ve

Çin'deki (24, 25) yayılış oranlarına yakın olduğu halde, Yunanistan (63), Peru (42, 95), Şili (115), İtalya (12, 18) ve Çin (25)'de bulunan sonuçlardan düşük, yukarıda bildirilen diğer ülkelerdeki yaygınlık oranlarından ise oldukça yüksektir. Bu ülkelerdeki sonuçlar değerlendirildiğinde özellikle Arap ülkelerinde hidatidosisin siğir ve develerde yaygın olduğu, Türkiye'nin de içinde bulunduğu diğer birçok Avrupa ülkesinde ise hidatidosisin başlıca arakonağının koyunlar olduğu ortaya çıkmıştır (69).

Türkiye'deki çalışmalar dikkate alındığında, bu çalışmada elde edilen yaygınlık oranının Elazığ'da daha önce yapılan başka bir çalışma (106) ile aynı, Erzurum'daki (11) orana oldukça yakın, Ankara (103), Van (142), Trakya (147), Bursa (17), Erzurum (78, 146), Samsun (161), Çorum (146) ve Manisa'daki (31) oranlardan oldukça yüksek, diğer yörelerdeki (38, 105, 134, 148, 157, 162) yaygınlık oranlarından ise biraz daha yüksek olduğu görülmüştür.

Bazı araştırmacılar (9, 134, 147), hidatidosisin erkeklere göre dişilerde daha yaygın olduğunu, El-Badawi ve ark. (45) ise erkek ve dişi hayvanların enfeksiyona yakalanma oranları arasında bir farkın olmadığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada ise ELISA ile bakısı yapılan koyunlarda enfeksiyonun dişilere göre erkeklerde daha yüksek olduğu saptanmış olmakla birlikte, aradaki farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğu görülmüştür ($p>0.05$)

Türkiye'deki çalışmalar genellikle mezbaha kayıtlarına dayanmakta olup, koyunlarda hidatidosisin bu çalışmada belirtilen ırklara göre dağılımını gösteren bir bilgiye rastlanmamıştır. Bu araştırmada ELISA ile pozitiflik oranı Akkaraman (%64.6) ve Akkaraman X Morkaraman melezlerinde (%66) birbirine yakın, Morkaraman (%47.2) ırkı koyunlarda ise diğerlerine göre düşük bulunmuş ve aradaki farkın istatistiksel olarak da önemli olduğu görülmüştür ($p<0.01$).

Enfeksiyonun yaşlara göre dağılımı göz önüne alındığında, gerek yurtdışında yapılan birçok çalışmada (2, 25, 42, 55) ve gerekse Türkiye'deki çalışmalarda (57, 134, 147) bildirildiği gibi ELISA ile yapılan bu çalışmada da koyunlarda enfeksiyon oranının yaşa bağlı olarak arttığı saptanmış ve gençlerle yaşlılar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$).

Enfekte koyunlarda hidatik kistlerin organlara göre dağılımı araştırmacılara göre değişmektedir.

Macpherson (84), enfekte bulduğu koyunlarda kistlerin %34.2'sinin karaciğerde, %31.7'sinin akciğerde ve %31.7'sinin de hem karaciğerde hem de akciğerde aynı anda bulunduğunu bildirmiştir.

Dik ve ark. (38), enfekte koyunların %32.99'unda akciğerde, %1.29'unda karaciğerde ve %17.4'ünde de hem karaciğer hem de akciğerde kist hidatiklere rastlamışlardır.

Umur ve Aslantaş (148), enfekte koyunların %8.14'ünde sadece karaciğerde, %6.86'sında sadece akciğerde, %84.79'unda ise her iki organda birden hidatik kistlere rastlamışlar, buna ilaveten %1.8 oranında dalakta ve %0.22 oranında da kalpte hidatik kistlerin görüldüğünü bildirmişlerdir.

Toparlak ve Gül (142) ise tespit ettikleri hidatik kistlerin %26.5'inin karaciğerde, %21.5'inin akciğerde ve %52'sinin de her iki organda aynı anda bulunduğunu bildirmişlerdir.

Akciğerde hidatik kistlere daha çok rastlandığını bildiren çalışmalar (34, 42, 57, 66, 100) yanında, bunun tam tersine kistlerin karaciğerde daha çok görüldüğünü bildiren çalışmalar da (39, 80, 134) bulunmaktadır.

Bu çalışmada ise mezbahada takibi yapılan 50 hidatik kistli koyunda kistlerin %38'inin sadece karaciğerde, %10'unun sadece akciğerde ve %52'sinin de hem

karaciğer, hem de akciğerde bulunduğu saptanmıştır. Bu oranlar Şenlik'in (134) bulguları ile karşılaştırıldığında, karaciğer-akciğer organ ikilisindeki ve karaciğerdeki oranlar benzer olup, akciğerdeki oran ise daha düşüktür. Yine bu çalışmadaki oranların, Dik ve ark. (39) ile Larrieu ve arkadaşlarının (80) sadece karaciğerde buldukları sonuçlardan düşük, karaciğer-akciğer organ ikilisi için belirttikleri oranlardan yüksek olduğu görülmektedir. Dik ve arkadaşlarının (39) yalnız karaciğerde buldukları kist yüzdesi bu çalışmadaki orana yakın olup, Larrieu ve arkadaşlarının (80) buldukları oranlardan ise oldukça düşüktür.

Umur ve Aslantaş (148) ile diğer bazı araştırmacılar da (34, 57, 84) karaciğer ve akciğer dışındaki organlarda da (dalak, böbrek, kalp gibi) hidatik kistlere rastladıklarını bildirmelerine rağmen, bu çalışmada karaciğer ve akciğer dışındaki organlarda hidatik kist bulunamamıştır.

Hidatik kistlerin fertilite ve sterilite oranları ile ilgili yapılan çalışmalardan farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Al-Yaman ve ark. (7) %7.1, Bortoletti ve ark. (18) %7.6, Ulutaş (147) %23.1, Himonas ve ark. (63) %29.8, Dueger ve Gilman (42) %41.4, Şenlik (134) %61.2, Abdel-Hafez ve ark. (1) %68.7, Gusbi ve ark. (55) %73.13, Anwar ve ark. (9) %80.95, Farah (49) %84, Singh ve Dhar (131) %90, Dik ve ark. (39) %91.8 ve Güralp ve Doğru (57) %93.6 oranlarında kist fertilitesi belirlediklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise kistlerin %56'sı fertil bulunmuştur. Öte yandan, Güralp ve Doğru (57) %6.3, Dik ve ark. (39) %8.2, Anwar ve ark. (9) %15.01, Gusbi ve ark. (55) %18.9, Şenlik (134) %23, Bortoletti ve ark. (18) %75.7, Irshadullah ve ark. (66) ise %100 oranlarında sterilite belirlediklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise kistlerin %16'sı steril bulunmuştur.

Anwar ve ark. (9) %4.04, Şenlik (134) ise %15.8 oranlarında kalsifiye kist tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise %2 oranında kalsifiye kist bulunmuştur.

Abo-Shehada ve ark. (2) ile Ulutaş (147) yaptıkları çalışmalarda karaciğerdeki kistlerin, diğer bazı araştırmacılar ise (9, 134) akciğerdeki kistlerin, fertilite oranının yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da karaciğerde tespit edilen kistlerdeki fertilite oranı akciğerdekilere göre daha yüksek bulunmuştur.

Kist fertilitesinin yaş ile arttığı birçok araştırmacı (1, 2, 57, 134) tarafından bildirilmiştir. Abo-Shehada ve ark. (2) en yüksek kist fertilitesine %82.6 ile 7-8 yaş grubunda rastladıklarını bildirirken, Abdel-Hafez ve ark. (1) 10 yaş ve yukarısı koyunlarda bu oranın %100 olduğunu belirtmişlerdir. Güralp ve Doğru (57), fertilite oranını 2 yaşındaki koyunlarda %10, 3 yaşındakilerde %40.9, 4 yaşındakilerde %95.5, 5 yaşındakilerde %98.4 ve 6 yaşındakilerde %97.1 olarak belirlemişlerdir. Şenlik (134) fertilite oranlarının iki yaşlı koyunlarda % 52.1, üç yaşlılarda %64.1, dört yaşlılarda %65.1, beş yaşlılarda %60 ve altı ve yukarısı yaşlılarda %58.8 olduğunu saptamıştır. Bu çalışmada da fertil kistlerin oranı bir yaşındaki koyunlarda %14.3, iki yaşındakilerde %48 ve üç yaşındakilerde %83.3 olarak bulunmuş ve fertilitenin yaş ile orantılı olarak arttığı belirlenmiştir.

Hidatidosisin tanısı başlıca iki şekilde yapılmakta olup, biri morfolojik diğeri immunolojik metodlardır. Morfolojik metodlar; radyoloji, ekografi ve nükleer manyetik rezonans görüntülemeyi içermekte olup, immunolojik metodlara göre daha sensitiv olmasına rağmen pahalı ekipmana gerek duyulması ve komplike olmamış kistleri idiyatik kistlerden ayırt etmede zayıf kalmaları gibi dezavantajları vardır. Immunolojik metodlar ise antijen-antikor, immun kompleksler ve hipersensitivitenin tespitine dayalı olup, daha kullanışlı ve fazla komplike ekipmana ihtiyaç

göstermemelerine rağmen ekstrahepatik kistleri tespit etmede yetersiz kalabilmektedir (13, 76, 85).

Hidatik kist sıvısı hidatidosisin serodiagnozu için iyi bir antijen kaynağıdır. Yüksek sensitiviteli tekniklerde purifiye antijenik fraksiyonların kullanılması çapraz reaksiyonları önlemekle birlikte, yine de bazen şaşırtıcı problemler oluşturabilmektedir (74). Bazı araştırmacılar (123, 151, 154), purifiye veya kısmen purifiye antijenlerin serolojik çalışmalarda kullanılmasını önerirken, bazı yazarlar da (46, 54), ham hidatik kist sıvısı antijeninin purifiye kadar faydalı olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada ham hidatik kist sıvısından hazırlanan antijen kullanılmıştır. Western blot testi sonucu hem pozitif hem negatif numunelerde 38, 58 ve 68 kDa'luk bantlara rastlanmıştır. Normal deney prosedürü sürdürülürken bir strip primer serumsuz çalışılmış ve bu stripte 58 kDa'luk protein bantı oluşmuştur. Bu nedenle bu banta sekonder antikorun reaksiyon verdiği düşünülmüştür. Diğer iki proteine ise tüm koyunlarda spesifik olmayan (çapraz) bir antikor yanıtın şekillendiği söylenebilir. Mamuti ve ark. (87) ise bu gibi durumları önlemek için farelerde geliştirilmiş hidatik kist sıvılarının antijen olarak kullanılmasının faydalı olacağını ve bu sıvının antijen-antikor yanıtına yüksek oranda etki eden konak proteinleriyle kontamine olmadığını ileri sürmüşlerdir.

Gottstein ve ark. (53), koyun kist sıvısının SDS-PAGE ile analizinde yaklaşık olarak 15, 25, 58, 98, 116, 200 ve 205 kDa'luk yedi polipeptid bantı elde etmişlerdir. Burgu ve ark. (19) aynı metodla 8, 16, 24, 38, 58, 68, 98, 116 ve 200 kDa'luk dokuz spesifik protein bantı saptamışlardır. Siles-Lucas ve ark. (130) koyun kist sıvısının SDS-PAGE ile analizinde tahmini olarak 8, 26, 42 ve 68 kDa'luk protein bantları tespit etmişler ve kist sıvısının immunopurifikasyon ve reduksiyonunun suş ayırımı imkanını artıracaklarını belirtmişlerdir. Kanwar ve ark. ise (73), aynı metodla moleküler

ağırlığı 8-116 kDa arasında değişen en az 15 farklı polipeptid bantı saptamışlar, bunlar içerisinde en belirgin olanının 66 kDa'luk bantın olduğunu bildirmişlerdir.

Planchart ve ark. (112), koyun kökenli kist sıvısının elektroforezi sonucu molekül ağırlığı 68, 54 ve 30 kDa olan üç farklı protein bantı tespit etmişlerdir. Bu bantlardan 68 kDa'luk bantın bu çalışmada bulunan bantın aynısı olup, 30 kDa'luk bantın da tarafımızdan belirlenen 29 kDa'luk bant olma olasılığı yüksektir. Araştırmacıların (112) tespit ettikleri 54 kDa'luk bantın bu çalışmada belirlenen 58 kDa'luk banta yakınlığı da göz önüne alınırsa elde edilen bulguların hemen hemen benzer olduğu ortaya çıkmaktadır.

Bu çalışmada da koyun ham kist sıvısı antijeni ile yapılan SDS-PAGE ile moleküler ağırlığı 29, 45, 58, 68, 98 ve 116 kDa olan 6 farklı protein bantı belirlenmiştir. Bunlar içerisinde en belirgin olanının 98 kDa'luk bant olduğu görülmüş ve bunun Kanwar ve arkadaşlarının (73) bulduğu banta benzediği, ondan farklı olarak 8 kDa'luk bantın görülmediği belirlenmiştir. Yine bu bulgular, Gottstein ve arkadaşlarının (53) tespit ettiği 58, 98 ve 116 kDa'luk bantlar ile aynen benzeşmekte, ancak 15, 200 ve 205 kDa'luk bantlar bakımından farklılık oluşturmaktadır.

Koyun kökenli kist sıvısının SDS-PAGE ile incelenmesiyle elde edilen bulgular dikkate alındığında bu çalışmaya en yakın sonuçların Burgu ve ark. (19) tarafından yapılan araştırmada elde edildiği görülmektedir. Bu araştırmacıların (19) saptadığı 8 ve 16 kDa'luk bantlar dışında 58, 68, 98 ve 116 kDa'luk bantların aynı, 24 ve 38 kDa'luk bantların ise bu çalışmadaki sonuçlara oldukça yakın olduğu görülmüştür. Türkiye'de yapılan başka bir çalışmada ise Köksal ve ark. (77), 116, 98, 68 ve 57 kDa'luk bantların insan, koyun ve sığır kist sıvıları için ortak olduğunu bildirmişlerdir. Yukarıda belirtilen bütün çalışmalara (19, 53, 73, 77, 130)

bakıldığında hemen hepsinde ortak ve belirgin bantların 68 ve 116 kDa'luk bantlar olduğu görülmektedir. Adı geçen her iki banta bu çalışmada da belirgin olarak rastlanmıştır. Ancak çalışmaların bazılarında (19, 73, 130) belirlenen 8 kDa'luk bant bu çalışmada belirlenememiştir.

SDS-PAGE'de antijenin miktarı ve saflığı, boyamanın ve açmanın etkinliği gibi pekçok faktör bantlaşmayı etkilemektedir. Bu nedenle çalışmalar arasında farklı bantlaşmaların görülmesi olağan olarak değerlendirilmektedir (43).

SDS-PAGE ile separe edilen koyun kist sıvısı antijeninin Western blot yapılmasıyla moleküler ağırlığı 8-205 kDa arasında değişen farklı protein bantları tespit edilmiştir (19, 53, 96). Çalışmalar genellikle koyun kist sıvısı antijenine karşı insan serumu ile yapıldığı için, özellikle koyun serumu kullanılan az sayıda çalışma vardır. Burgu ve ark. (19), 30 pozitif koyun serumunun 29'unda 116 kDa, 25'inde 98 kDa, 17'sinde 68 kDa, 11'inde 58 kDa ve 12 serumda da 38 kDa'luk bantların oluştuğunu bulmuşlardır. Bu bantlardan 98 kDa'luk bant 20 negatif koyun serumunun hepsinde, 68 kDa'luk bant 17, 58 kDa'luk bant 11 ve 38 kDa'luk bant ise 14 serumda tespit edilirken, 116 kDa'luk bant sadece bir negatif koyun serumunda tespit edilmiş, 98 ve 68 kDa'luk iki bant ise enfekte olmayan koyun serumunda oluşmuştur. Bu çalışmada da 50 hidatidosisli koyun serumunun 44'ünde 116 kDa, 23'ünde 98 kDa, 47'sinde 68 kDa, 50'sinde 58 ve 38 kDa'luk bantlar tespit edilmiş, bunun dışında 29, 42, 62, 120, 150 ve 205 kDa'luk bantlar sırasıyla 4, 2, 28, 2, 2, 30 pozitif koyun serumunda belirlenmiş olup, sonuçların benzer olduğu gözlenmiştir.

Burgu ve ark. (19), 98, 68, 58 ve 38 kDa'luk bantların fazla sayıda negatif serumda rastlanması nedeniyle 116 kDa'luk bantın teşhiste kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada bütün pozitif serumlara karşı oluşan 38 ve 58 kDa'luk bantlar ile sırasıyla 47 ve 44 pozitif numune de görülen 68 ve 116 kDa'luk bantlar

spesifik bant olarak görünse de, negatif 50 koyun serumu ile yapılan Western blot'da 38 ve 58 kDa'luk bantlara karşı sırasıyla 48 ve 50 serumda pozitif yanıt alınması bu bantların Burgu ve ark. (19)'nın bildirdiği gibi spesifik bantlar olmadığı kanısını uyandırmaktadır. Yine aynı şekilde 68 kDa'luk bant da 32 negatif koyun serumuna karşı oluşmuştur. Bu haliyle araştırmacıların (19) belirttikleri gibi bu çalışmada da en fazla sayıda pozitif örneğe yanıt verip en az negatif numunede belirlenen 116 kDa'luk bantın spesifik tanı konulmasında en önemli bant olduğu kanaatini doğurmaktadır.

Türkiye'de koyunlarda hidatidosisin tanısına yönelik hem mezbaha hem de arazide tarama şeklinde ELISA ve Western blot'ın birlikte kullanıldığı başka herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Koyunlarda hidatidosisin yaygınlığı ve teşhisine yönelik Türkiye'de yapılan daha önceki çalışmalar da genellikle ya yalnız başına IHAT (39), yada IFAT ile birlikte (134) yapılmıştır. Dik ve ark. (39), IHAT ile koyunlarda %91.04 sensitivite, %80.72 spesifite elde etmişlerdir. Şenlik (134) ise yine koyunlarda IHAT ile %78.29 sensitivite % 77.03 spesifite belirlemiş, aynı oranların IFA testinde sırasıyla %78.95 ve %92.57 olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada ELISA ile bulduğumuz sensitivite (%60) her iki araştırmacının da (39, 134) IHAT ve IFAT ile buldukları orandan düşük olmasına rağmen, testin spesifitesi (%94) her iki araştırmacının iki test ile de elde ettikleri oranlardan yüksektir. Çalışmada Western blot ile bulunan sensitivite ise Şenlik'in (134) IHAT ve IFAT ile belirlediği oranın üstünde, Dik ve arkadaşlarının (39) IHAT ile verdikleri orana ise oldukça yakındır. Western blot'ın spesifitesinin de heriki araştırmacının (39, 134) IHAT ile verdiği orandan yüksek, Şenlik'in (134) IFAT ile verdiği sonuçtan düşük olduğu görülmektedir.

Kanwar ve ark. (73), hidatidosisin tanısında ELISA'nın sensitivitesini %100, spesifitesini %76 ve tanısal yeterliliğini %83 olarak bulurken, Planchart ve ark. (112), %73.3 sensitivite ve %95 spesifite elde etmişlerdir. Aynı test ile sırasıyla Zarzosa ve ark. (160), %83.5 sensitivite, Poretti ve ark. (113) %91 sensitivite ve %82 spesifite, Sato ve ark. (126) %73.3 sensitivite, Kaur ve ark. (74) %88.23 sensitivite ve %90.27 spesifite, Liance ve ark. (82) %79.4 sensitivite, Sbihi ve ark. (127) %96.5 sensitivite, Romia ve ark. (124) %88 sensitivite, %96.9 spesifite, Yazar (158) %96.7 sensitivite %88.7 spesifite, Iacona ve ark. (65) %63.7 sensitivite elde etmişlerdir. Bu araştırmacıların hepsinin insanlarda bildirdiği bu oranlarla Elazığ yöresinde yapılan bu çalışmada koyunlarda bulunan sensitivite ve spesifite kıyaslanacak olursa, bulunan sensitivite oranı Iacona ve ark. (65)'ninkine yakın ve diğer araştırmacılarınkinden düşüktür. Aynı şekilde spesifitelere bakıldığında çalışmadaki sonuçlar bazı araştırmacılarınki ile (74, 112, 124) oldukça yakın iken, diğer birtakım araştırmacıların (73, 113, 158) sonuçlarından yüksek bulunmuştur.

Rıis ve ark. (117), ELISA ile, deneysel enfekte 14 koyunda iki yanlış sonuç, enfekte olmayan 40 koyunda ise yedi yanlış sonuç belirlemişlerdir. Bu durumda %80-85 arasında sensitivite ve spesifite oranlarına bakıldığında araştırmacıların (117) bulduğu sensitivitenin bu çalışmadaki orandan yüksek, spesifitenin ise düşük olduğu görülmektedir.

Elazığ yöresinde yapılan bu çalışmada ELISA'nın sensitivitesinin düşük olması, özellikle yanlış negatif bulunan koyunların yaşlarının çoğunun bir ve birkaçının iki yaşında olması ve kistlerin de yeni gelişmeye başlamış kist şeklinde olmasına bağlanabilir. Nitekim Rickard (118), hidatik kistin fiziksel durumunun kistin yerine bakılmaksızın düşük seroaktiviteye neden olabileceğini bildirmiştir. Araştırmacı (118) bunun nedenini, bu kistlerden salgılanan antijen miktarının düşük

olması ve buna bağlı olarak da oluşan antikor yanıtının düşük kalmasına bağlamıştır. Öte yandan Larrieu ve ark. (80), kesimhanede makroskopik bakı ile hidatidosis tanısı konulan koyunların %37.2'sinin histopatolojik muayenede hidatidosisli olmadığını, aksine sağlıklı görünenlerin %1.1'inin de hidatidosisli olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmada hidatidosisli koyunlarda ELISA'nın özellikle yeni gelişmeye başlamış kist şeklini gösterenlerde sensitivitesinin düşük olması, ya yeterince antikor yanıtının olmaması yada bunların gerçekte sağlıklı olabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Enzime bağlı immunoelktrotransfer blot (EITB) yada diğer adıyla Western blot testi sensitiviteyi en yüksek immunoenzimatik testlerden biridir. Karaciğer hidatik kistlerinin tanısında %90 sensitivite ve %100 spesifiteye sahip olup, akciğer ve beyinde yerleşen komplike olmamış kistlerin tanısında ise daha düşük sonuçlar verdiği bildirilmiştir (86). Bu test genelde insan hidatidosisinin tanısında kullanılmış, koyunlarda ve özellikle de saha taramalarındaki kullanımı oldukça sınırlı kalmıştır (96).

Moro ve ark. (96), EITB ile 94 doğal enfekte koyunda %73 sensitivite ve 79 negatif koyunda %98.7 spesifite elde etmişlerdir. Bu çalışmada bulunan sensitivite adı geçen araştırmacılarınkinden (96) oldukça yüksek olmasına rağmen, spesifite düşüktür. Affinity chromatography ile purifiye edilmiş hidatik antijenler kullanılsa bile, koyunlarda echinococcosisin tanısında ELISA'nın *Taenia ovis* ve *T. hydatigena* ile çapraz reaksiyonlar verebileceği, bu nedenle EITB'nin kullanılması gerektiği bildirilmiştir (96). Ancak bu çalışmada Western blot ile benzer oranlarda sensitivite ve spesifite elde edilmesine rağmen, ELISA ile %94 oranında spesifite elde edilmiştir. Nitekim hidatik kist taşımayan 50 negatif koyunun 8 tanesinde *Cysticercus tenuicollis*'e rastlanmasına rağmen, heriki test ile de çapraz reaksiyon gözlenmemiştir. Yine aynı araştırmacılar (96), düşük sensitivitenin purifiye antijen

kullanılması ile giderilebileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da hem ELISA'da belirlenen düşük sensitivitenin hem de Western blot ile bulunan nispeten düşük sensitivite ve spesifitenin purifiye antijen kullanımı ile giderilebileceği kanısına varılmıştır.

Organ lokalizasyonuna göre EITB'nin sensitivitesinin yalnız karaciğerdeki kistlerde %33, yalnız akciğerdeki kistlerde %52 ve heriki organdaki kistlerde ise %83 olarak belirlendiği bildirilmiştir (96). Bu çalışmada ise yukarıdaki oranlar sırasıyla, %84.2, %80 ve %92.3 olarak belirlenmiştir. Görüldüğü gibi her iki araştırmada da karaciğer-akciğer organ ikilisinde Western blot'ın sensitivitesi en yüksek iken, bu çalışmada yalnız karaciğerde lokalize olmuş kistlerde bulunan sensitivite daha yüksektir. Bu da araştırmacıların (96) çalışmaya aldıkları karaciğer kistli koyun sayısının toplam içindeki payının (%3) çok düşük olmasına bağlanabilir. Halbuki bu oran bu çalışmada %38 düzeyinde olmuştur. Aynı çalışmada (96), toplam kistli koyunların %27'sinde kistler akciğerde, %70'inde de karaciğer-akciğer organ ikilisinde görülmüştür. Bu çalışmada ise kistlerin %10'u akciğerde olmasına rağmen EITB'nin sensitivitesi Moro ve arkadaşlarının (96) göre oldukça yüksek bulunmuştur. Moro ve arkadaşlarının (96) ortaya koyduğu toplam sensitivitenin bu çalışmaya göre düşük çıkması araştırmacıların çalışmaya aldıkları akciğer hidatidozlu koyun sayısının fazla olmasına bağlanabilir. Nitekim akciğerdeki kistlerin karaciğerdekilere oranla daha az immunolojik yanıt verdiği bildirilmiştir (141, 156). Halbuki bu çalışmada akciğer hidatidosisli koyun sayısı %10 gibi düşük bir oranda olup karaciğer hidatidosisli koyun oranının yüksek olması (%38), sensitivitenin de yüksek çıkmasına yol açmış olabilir. Bu nedenle hidatidosisin tanısındaki serolojik testlerde sensitivitenin değerlendirilmesinde kullanılan antijenin saflığı yanında, kistin lokalizasyonunun da göz önüne alınması gerekmektedir.

Benzer şekilde sensitivitenin kistin lokalizasyonuna bağlı olduğunu vurgulayan birçok araştırmacı olup (65, 86, 153), hepatik kistlerin pulmoner kistlere göre daha güçlü immunolojik yanıt verdiği bildirilmiştir. Verastegui ve arkadaşları da (153) hidatidosis için serolojik testlerin sonuçlarını kıyaslarken, sensitivitedeki organsal yanıtlara ait farklılıklar ile, hidatidosisteki serolojik çalışmalarda kistin lokalizasyonu ve statüsünün de tanımlanması gerektiğini ileri sürmüşlerdir.

Moro ve ark. (94), koyun hidatidosisinin dağılımını EITB ile %65 olarak bulurken, bu oranın mezbaha takibi ile %38 olarak belirlendiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da Elazığ yöresi koyunlarında Western blot ile bulunan %66.4'lük prevalans, adı geçen araştırmacıların (94) sonuçlarına oldukça benzemektedir.

Verastagui ve ark. (153), sığır liyofilize hidatid sıvısı kullanarak yaptıkları EITB testi ile insanlarda karaciğer kistlerinde %80, akciğer kistlerinde %56 ve heriki organda birden bulunan kistlerde ise %56 sensitivite elde etmişlerdir. Kontrol serumlarıyla da %100 spesifite saptamışlardır. Araştırmacıların (153) sonuçları, bu çalışmada kistlerin her üç yerleşim şeklinde de hesaplanan sensitiviteden düşük, karaciğerdeki kistlerde belirlenen oran hemen hemen aynı olurken, diğer iki oranın ise oldukça düşük olduğu gözlenmiştir. Yine bu çalışmada belirlenen spesifite de araştırmacıların (153) sonuçlarından düşük bulunmuştur.

Gadea ve ark. (27), 25 aktif hidatidosisli (24 karaciğer 1 akciğer) ve 42 hidatidosis olmayan hastada EITB ile %100 sensitivite ve spesifite belirlemişler, ancak bu testin de diğer serolojik testler gibi akciğer hidatidozunun tanısında karaciğerdekiler kadar başarılı olmadığını bildirmişlerdir. Nitekim bu çalışmada da akciğer hidatidozlu koyun serumlarındaki sensitivite, diğer organ lokalizasyonlarına göre düşük bulunmuştur.

İnsanlarda serolojik testler ile hidatidosisin sensitivite ve spesifitesi koyunlara oranla daha yüksektir. Bunun nedeni, özellikle koyunların çoğunda (%30'un üzerinde) dolaşımdaki spesifik antikorlar bakımından seronegatifliğin görülmesine bağlanmaktadır (122). Ancak bu olayın mekanizması tam olarak açıklanamamaktadır. Craig (27), dolaşımdaki parazit antijenlerinin spesifik antikorları temizlediğini öne sürmüştü ve bazı seronegatif vakalarda hem dolaşım antijenlerinin hem de immün komplekslerin tespit edilebildiğini bildirmiştir.

Sonuç olarak;

Elazığ yöresi koyunlarında hidatidosisin yaygınlığı ELISA ile %62, Western blot ile %66.4 olarak bulunmuş, ülkemiz genelinde olduğu gibi Elazığ yöresinde de koyun hidatidosisinin önemli bir problem olduğu, önemli ekonomik kayıplara yol açan bu hastalıkla acil ve uzun vadeli bir eradikasyon programıyla mücadele edilmesi gerektiği ortaya çıkmıştır. Yine bu çalışma ile ELISA'nın sensitivitesinin %60, spesifitesinin %94 olduğu, bu oranların Western blot testinde sırasıyla %88 ve %84 şeklinde olduğu, koyun hidatidosisinin tanısında en az iki serolojik testin uygulanması gerektiği, Western blot'ın daha güvenilir sonuçlar verdiği ve referans test olabileceği ve serolojik çalışmalarda ham kist sıvısı antijeninin de kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Abdel-Hafez S K, Al-Yaman F M, Said I M. (1986). Further Studies on Prevalance of Hydatidosis in Slaughtered Animals From North Jordan. *Z. Parasitenkd.* 72 (1): 89-96.
2. Abo-Shehada M N (1993). Some Observations on Hydatidosis in Jordan. *J Helminthol.* Sep; 67 (3):248-252.
3. Ali-Kahn, Siboo R. (1980). Patogenesis and Host Response in Subcutaneous Alveolar Hydatidosis. I. Histogenesis of Alveolar Cyst and a Qualitative Analysis of the İnflammatory İnfiltrates. *Z. Parasitenkd* 62; (3), 241-254.
4. Altaş K. (1981). İnsan Hidatidoz Tanımında ELISA (Enzyme Linked İmmunosorbent Assay)'nın Değeri (Doçentlik Tezi), İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji, Parazitoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kürsüsü, İstanbul.
5. Altıntaş N. (1991). Echinococcus sp. ve Kist Hidatiğin İmmunolojisi. İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik (Echinococcosis), 7. Ulusal Parazitoloji Kongresi özel kitabı. T Parazitol Dern Yayın No: 10. Ege Üniv. Ofset Basımevi, Bornova-İzmir, 89-95.
6. Altıntaş N. (1991). SDS-Polyacrilamide Gel Elektroforezi ile Proteinlerin Separasyonu. *T Parazitol Derg.* XV (2), 119-129.
7. Al-Yaman F M, Assaf L, Hailat N, Abdel-Hafez S K. (1985). Prevalance of Hydatidosis in Slaughtered Animals From North Jordan. *Ann Trop Med Parasitol.* Oct; 79 (5): 501-506.
8. Anonim (1999). T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, Tarımsal Yapı (Üretim, Fiyat, Değer) Ankara.
9. Anwar A H, Haq A U, Gill S A, Chaudhry A H. (1993). Prevalance and Fertility Ratio of Hydatid Cyst in Slaughtered Sheep and Goats at Faisalabad, Pakistan *Vet J.* 13 (2), 79-81.
10. Arene F O. (1985). Prevalance Of Hydatid Cysts in Domestic Livestock in the Niger Delta. *Trop Anim Health Prod* Feb; 17 (1): 3-5.
11. Arslan M Ö, Umur Ş. (1997). Erzurum Mezbahalarında Kesilen Koyun ve Sığırlarda Hidatidozun Yayılışı ve Ekonomik Önemi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg.* 3(2), 167-171.
12. Attanasio E, Ferretti G, Palmas C. (1985). Hydatidosis in Sardinia: Review And Recommendations. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 79 (2): 154-158.
13. Babba H A, Messedi S, Masmoudi M, Zribi M, Grillot R, Ambroise-Thomas P, Beyrouiti I, Sahnoun Y. (1994). Diagnosis of Human Hydatidosis: Comparison Between İmagery and Six Serologic Techniques. *Am J Trop Med Hyg.* 50:64-68.
14. Barbieri M, Sterla S, Battistani J, Nieto A. (1993). High Performance Latex Reagent for Hydatid Serology Using an E.Granulosus Lipoprotein Antigen Fraction Prufied From Cyst Fluid in One Step. *Int J Parasit.* 23:565-572.
15. Barış İ, Şahin A, Bilir N, Kalyoncu A F, Emri A S, Akhan O, Barış B, Çopur A S, Selçuk Z. (1989). Hidatik Kist Hastalığı ve Türkiye'deki Konumu. *Türkiye Akciğer Hast. Vakfı Yayını*, No:1 Ankara.

16. Ben-İsmael R, Carme B, Niel G, Gentilini M. (1980). Non Spesific Serological Reactions with *Echinococcus Granulosus* Antigens: Role of Anti-P1 Antibodies. *Am J Trop Med Hyg.* 29 (2), 239-245.
17. Beyazıt A. (1993). Bursa E.B.K. Kombinasında Kesilen Koyunların Karaciğerlerindeki Helmint İnvazyonları. Uzmanlık Tezi. Etlik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Ankara.
18. Bortoletti G, Gabriele F, Seu V, Palmas C. (1990). Epidemiology of Hydatid Disease in Sardinia: A Study of Fertility of Cysts in Sheep. *J Helminthol. Sep*; 64 (3): 212-216.
19. Burgu A, Doğanay A, Gönenç B, Sarımehtetoğlu H O, Kalınbacak F. (2000). Analysis of Fluids of Hydatid Cysts From Sheep by SDS-PAGE and Determination of Specific Antigens in Protein Structure by Western Blotting. *Turk J Vet Anim Sci.* 24, 493-500.
20. Cabrera P A, Haren G, Benavidez S, Vallader S, Perrera G, Lloyd S, Gemmel M A, Baraibar M, Morana A, Maissonave J, Carbello M. (1995). Transmission Dynamics of *Echinococcus granulosus*, *Taenia hydatigena* and *Taenia ovis* in Sheep in Uruguay. *Int J for Parasitol* 25, 807-813.
21. Cabrera P A, Orlando D, Irabedra P, Rista L, Haran G, Vinals G, Blanco M T, Alvarez M, Elola S, Morosoli D, Morana A, Bondad M, Sambran Y, Heinzen T, Chans L, Pineylo L. (2001). National Prevalance of Larval Echinococcosis in Sheep in Slaughtering Plants. *Ovis Aries* as an Indicator in Control Programmes in Uruguay. XXth Congres of Hydatidology, 4-8 June 2001 Kuşadası-Turkey, abstract book, s. 327.
22. Capron A, Vernes A, Biguet J. (1967). Le diagnostic immunoelectrophoretique de l'hydatidose. *Jour Lyon d'hydatidologie.* SIMEP Edition, 27.
23. Capron A, Yarzabal L A, Vernes A, Fruit J. (1970). Le diagnostic immunologique de l'echinococcose humaine. *Pathologie Biologie* 18, 357-365.
24. Chai J J, Yeljiang S, Chang Q, Wei M Y, Wang G, Zuo X P, Li X et all. (1989). An Investigation on the Epidemiologic Baseline of Hydatid Disease in Xinjiang, China. II. *Echinococcus granulosus* infections in dogs and sheep. *Endem Dis Bull.* 4 (4), 9-13.
25. Chi P, Zhang W, Zhang Z et al. (1990). Cystic echinococcosis in the Xinjiang/Uygur Autonomous Region, People's Republic of China. I. Demographic and Epidemiologic Data. *Trop Med Parasitol.* 41, 157-162.
26. Coltorti E A. (1986). Standardization and Evaluation of An Enzyme Immunoassay as a Screening Test for The Seroepidemiology of Human Hydatidosis. *Am J Trop Med Hyg* 35, 5, 1000-1005.
27. Craig P S. (1986). Detection of Specific Circulating Antigen, Immun Complexes and Antibodies in Human Hydatidosis From Turkana (Kenya) and Great Britain, By Enzyme Immunoassay. *Parasit Immunol.* 8, 171-188.

28. Craig P S and Nelson G S. (1984). The Detection of Circulating Antigen in Human Hydatid Disease. *Ann Trop Med Parasitol.* 78, 219-227.
29. Craig P S, Rogan M T, Allen J A. (1996). Detection, Screening and Community Epidemiology of Taeniid Cestode Zoonoses: Cystic Echinococcosis, Alveolar Hydatidosis and Neurocysticercosis. *Adv Parasitol.* 38, 170-231.
30. Crowther J R , Smith H. (1995). *Elisa Manual*, Humana Press. Inc., New Jersey, USA.
31. Çenet O, Taşçı S. (1994). Manisa Et ve Balık Kurumunda (EBK) 1986-1993 Yılları Arasında Kesilen Kasaplık Hayvanlarda Kesim Sonrası Görülen Hastalıkların Araştırılması. *T Parazit Derg.* 18 (4): 511-516.
32. Çivi S, Güler S, Kesci S. (1995). Konya Et ve Balık Kurumu ve KONET Tesisleri Kayıtlarına Göre Kist Hidatik Nedeniyle Oluşan Ekonomik Kayıplar. *T Parazit Derg.* 19 (2): 237-242.
33. Dajani Y F. (1978). Prevalance of Hydatid Disease in Syria and Jordan: Preliminary Results. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 72, 320-321.
34. Dalimi A, Motemadi G H, Hosseini M, Mohammedian B, Maliki H, Ghamari Z, Ghaffari Far F. (2002). Echinococcosis/Hydatidosis in Western İran. *Vet Parasitol.* 105, 161-171.
35. Dar F K, Alkarmi T. (1997). Public Health Aspects of Cystic Echinococcosis in the Arab Countries. *Acta Tropica*, 67, 125-132.
36. Davies C, Rickard M D, Bout D T, Smyth J D. (1978). Ultrastructural Immunocytochemical Localization of Two Hydatid Fluid Antigens (Antigen 5 And Antigen B) in The Brood Capsules And Protoscoleces of Ovine and Equine *Echinococcus granulosus* and *Echinococcus multilocularis*, *Parasitology*, 77: (2), 143-152.
37. Dessaint J P, Bout D, Wattre P, Capron A. (1975). Quantitative Determination of Specific IgE Antibodies to *Echinococcus Granulosus* and IgE Levels in Sera From Patients with Hydatid Disease. *Immunology* 29, 813-823.
38. Dik B, Cantoray R, Handemir E. (1992). Konya Et ve Balık Kurumu Kombinasında Kesilen Küçük ve Büyük Baş Hayvanlarda Hidatidozun Yayılış ve Ekonomik Önemi. *T Parazit Derg.* XVI (3-4), 91-99.
39. Dik B, Sevinç F, Köse M. (1998). Koyunlarda Kistik Ekinokokkozun İndirekt Hemaglutinasyon (IHA) Testi ile Teşhisi. V. Nükleer Tarım ve Hayvancılık Kongresi, 20-22 Ekim 1998, Konya.
40. Doğanay A. (1986). Zoonoz Olarak Ekinokokkozun Halk Sağlığı Yönünden Önemi. Hayvancılık Sempozyumu, Cumhuriyet Üniversitesi, Tokat Ziraat Fakültesi, 5-8 Mayıs 1986, Tokat.
41. Dottorini S, Tassi C. (1977). *Echinococcus granulosus*: Charecterization of the Main Antigenic Component (arc 5) of Hydatid Fluid. *Exp Parasitol.* 43, 307-314.

42. Dueger E L, Gilman R H. (2001). Prevalance, İntensity and Fertility of Ovine Cystic Echinococcosis in The Central Peruvian Andes. *Trans R Soc Trop Med Hyg* Jul-Aug; 95 (4): 379-383.
43. Durmaz R. (Ed.) (2001). Blotlama Teknikleri Ve Mikrobiyolojide Kullanımı. Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji, 2. Baskı, Sayfa 123-137, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya.
44. Eckert J, Gemmel M A, Matyas Z, Soulsby E J L. (1984). Guidelines for Surveillance, Prevention and Control of Echinococcosis. WHO. VPH/81, 28.
45. El-Badawi E K S, Eisa A M, Slepenev N K, Saad M B A. (1979). Hydatidosis of Domestic Animals in The Central Region of the Sudan. *Bull Anim Health Prod Afr.* 27, 249-251.
46. El-On J, Khalel E, Malsha Y, Nahmias J, Schantz P, Sneir R, Ben-İsmail R, Furth M, Hoida G.(1997). Echinococcus granulosus: a Seroepidemiological Survey in Northern Israel Using an Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg.* 91, 529-532.
47. Ergincan M. (1973). Echinococcose (Kist Hidatik) Hidatidosis. *Türk Hidatidol Derg.* 19; 85-86.
48. Farag H, Bout D, Capron A. (1975). Specific İmmunodiagnosis of Human Hydatidosis by The Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay (ELISA). *Biomedicine* 23 (7): 276-278.
49. Farah M O. (1987). Infection Rates, Cyst Fertility and Larval Viability of Hydatid Disease in Camels, Sheep and Cattle in Gassim, Saudi Arabia. *Vet Res Commun.* 11: 493-495.
50. Force L, Torres J M, Carillo A, Busca J. (1992). Evaluation of Serological Tests in the Diagnosis of Human Echinococcosis and Follow-Up. *Clin Infect Dis.* 15, 473-480.
51. Garcia L S, Bruckner D A. (1993). Diagnostic Medical Parasitology. Second Ed. Am Soc For Microbiol., Washington, 288-293.
52. Gharbi H A, Hassine B, Brauner M W, Dupuch K. (1981). Ultrasound Examination of Hydatid Liver. *Radiology.* 139, 459-463.
53. Gottstein B, Eckert J, Michael S A, Thompson R C A. (1987). Echinococcus granulosus Antigens: Immunoelectrophoretic and Western Blot Analysis of Hydatid Cyst Fluids. *Parasitol Res.* 73:186-189.
54. Grimm F, Maly F E, Luj and Liano R. (1998). Analysis of Specific İmmunoglobulin G Subclass Antibodies for Serological Diagnosis of Echinococcosis by a Standard Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay. *Clin Diagn Lab İmmunol.* 5, 613-616.
55. Gusbi A M, Awan M A, Beesley W N. (1987). Echinococcosis in Libya. II. Prevalance of Hydatidosis (Echinococcus granulosus) in Sheep. *Ann Trop Med Parasitol.* Feb; 81(1):35-41.

56. Güralp N. (1981). *Helmintoloji*. Ankara Üniv. Veteriner Fak. Yayınları No: 368. İkinci baskı.
57. Güralp N, Doğru C. (1971). Ankara Mezbahasında Kesilen Değişik Yaşlardaki Koyun ve Sığırların Organlarında Görülen Ekinokok Kistlerinin Fertilité Durumları. *AÜ Vet Fak Derg.* 2, 195-205.
58. Hafeez M. (2001). Epidemiological Aspects of Hydatidosis Studies on Fertility Rates of Hydatid Cysts Certain Food Animals. XXth Congres of Hydatidology, 4-8 June 2001 Kuşadası-Turkey, abstract book, s. 348.
59. Haridy F M, İbrahim B B, Morsy T A. (2000). Sheep-Dog-Man. The Risk Zoonotic Cycle in Hydatidosis. *J Egypt Soc Parasitol.* Aug; 30 (2): 423-429.
60. Hassounah A, Behbehani K. (1976). The Epidemiology of Echinococcus Infection in Kuwait. *J Helminthol.* 50, 65-73.
61. Hıra P R, Bahr G M, Shweiki H M, Behbehani K. (1990). An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Using an Arc 5 Antigen for the Diagnosis of Cystic Hydatid Disease. *Ann Trop Med Parasitol.* 84 (2), 157-162.
62. Hıra P R, Shweiki H M, Behbehani K. (1993). Specificity of Counterimmunoelectrophoresis with an Arc-5 Antigen for the Diagnosis of Cystic Hydatid Disease. *Serodiagn Immunother Infect Dis.* 1:27-31.
63. Himonas C, Antoniadou-Satiriadou K, Papadopoulos E. (1994). Hydatidosis of Food Animals in Greece: Prevalance of Cysts Containing Viable Protoscoleces. *J Helminthol.* Dec. 64 (4): 311-313.
64. Hüdaoglu H. (1999). Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde Koyun ve Keçilerdeki Kist Hidatiğin İnsidensi ve Patolojisi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enst. Yüksek Lisans Tezi.
65. Iacona A, Pini C, Vicari G. (1980). Enzyme-Linked Immunosorbent Assay in the Serodiagnosis of Hydatid Disease. *Am J Trop Med Hyg.* 29, 1, 95-102.
66. Irsadullah M, Nizami W A, Macpherson C N. (1989). Observations on the Suitability and Importance of the Domestic Intermediate Hosts of Echinococcus granulosus in Uttah Pradesh, India. *J Helminthol.* May; 63 (1): 39-45.
67. Janssen D, De Wit M, De Rycke P H. (1990). Hydatidosis in Belgium: Analysis of Larval Echinococcus granulosus by SDS-PAGE and Western blotting. *Ann Soc Belg Med Trop.* Jun; 70 (2): 121-129.
68. Jenkins P, Dixon J B, Rakha N K, Carter S D. (1990). Regulation of Macrophage-Mediated Larvacidal Activity in Echinococcus granulosus and Mesocostoides corti (cestoda) Infection in Mice. *Parasitology* 100, 309-315.

69. Jimenez S, Perez A, Gil H, Schantz P M, Ramelle E, Juste R A. (2002). Progress in Control of Cystic Echinococcosis in La Rioja, Spain: Decline in Infection Prevalances in Human and Animal Hosts and Economic Costs and Benefits. *Acta Tropica* 83, 213-221.
70. Judson D G, Dixon J B, Clarkson M J, Pritchard J. (1985). Ovine Hydatidosis: Some Immunological Characteristics of Seronegative Host. *Parasitology*, 91, 349-357.
71. Kagan I G. (1976). Serodiagnosis of Hydatid Disease. *Immunology of Parasitic Infections*. Cohen, S and Sadun, E. Blackwell Scientific Publication. Chapter 11, 130-142.
72. Kanazowa T, Asahi H, Hata H, Mochida K, Kagei N, Stadecker M J. (1993). Arginine-dependent generation of reactive nitrogen intermediates is instrumental in the in vitro killing of protoscoleces of *Echinococcus multilocularis* by activated macrophages. *Parasite Immunol. Nov*, 15; (11), 619-623.
73. Kanwar J R, Kaushik S P, Sawhney I M S, Kamboj M S, Mehta S K, Vinayak V K. (1992). Specific Antibodies in Serum of Patients with Hydatidosis Recognised by Immunoblotting. *J. Med. Microbiol.* 36:46-51.
74. Kaur M, Mahajan R C, Malla N. (1999). Diagnostic Accuracy of Rapid Enzyme Linked Immunosorbent Assay for the Diagnosis of Human Hydatidosis. *Indian J Med Res.* 110, 18-21.
75. Khan M Q, Afzal M, Ali S. (1990). Prevalance And Serology of Hydatidosis in Large Ruminants of Pakistan. *Vet Parasitol.* 37:163-168.
76. Kharebov A, Nahmias J, El-On J. (1997). Cellular and Humoral Immune Response Of Hydatidosis Patients to *Echinococcus granulosus* Purified Antigens. *Am J Trop Med Hyg.* 57: 619-625.
77. Köksal F, Serin M S, Kekeç Y, Sadr Y E. (1995). İnsan ve Hayvan Kökenli Kist Hidatik Sıvılarının SDS-PAGE Metoduyla Analizi ve Western Blot Metodunun Klinik Önemi. *T Parazitoloj Derg.* 19 (2), 221-229.
78. Kurtpınar H. (1956). Erzurum, Kars ve Ağrı Vilayetleri Sığır, Koyun Ve Keçilerinin Yaz Aylarına Mahsus Parazitleri ve Bunların Doğurdukları Hastalıklar. *Türk Vet Hek Dern Derg.* 26, 120-121, 3226-3232.
79. Larrieu E, Costa M T, Cantoni G, Alvarez J, Aquino A, Gimenez N, Perez A. (1994). Hydatidosis Control in The Province of Rio Negro, Argentina: Evaluation of the Veterinary Health Care Activities. *Rev Sanid Hig Publica (Madr)* Jan; 68 (1):197-202.
80. Larrieu E, Costa M T, Cantoni G, Alvarez R, Cavagion L, Labanchi J L, Bigatti R, Araya D, Herrero E, Alvarez E, Mancini S, Cabrera P. (2001). Ovine *Echinococcus granulosus* Transmission Dynamics in the Province of Rio Negro, Argentina, 1980-1999. *Vet Parasitol.* 98, 263-272.

81. Liu D, Lightowers M W, Rickard M D. (1992). Examination of Murine Antibody Response to Secondary Hydatidosis Using ELISA and Immunoelectrophoresis. *Parasite Immunology*, 14, 239-248.
82. Liance M, Janin V, Bresson-Hadni S, Vuitton D A, Hoin R, Piarroux R. (2000). Immunodiagnosis of Echinococcus Infections: Confirmatory Testing and Species Differentiation by a New Commercial Western Blot. *J Clin Microbiol*. Oct. 3718-3721.
83. Lightowers M W. (1990). Cestode Infections in Animals: Immunological Diagnosis and Vaccination. *Rev Sci Off Int Epiz*. 9 (2), 463-487.
84. Macpherson C N L. (1985). Epidemiology of Hydatid Disease in Kenya: A Study of Domestic Intermediate Hosts in Masailand. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 79, 209-217.
85. Macpherson C N L, Romig T, Zeyhle E, Rees P H, Were J B O. (1987). Portable Ultrasound Scanner Versus Serology in Screening for Hydatid Cysts in a Nomadic Population. *Lancet* ii.259-261.
86. Maddison S E, Slemenda S B, Schantz P M, Fried J A, Wilson M, Tsang V C W. (1989). A Specific Diagnostic Antigen of Echinococcus granulosus with an Apparent Molecular Weight of 8 kDa. *Am J Trop Med Hyg*. 40:377-383.
87. Mamuti W, Yamasaki H, Sako Y, Nakaya K, Nakao M, Lightowers M W, Ito A. (2002). Usefulness of hydatid cyst fluid of Echinococcus granulosus developed in secondary infected mice for serodiagnosis of cystic echinococcosis in human. *Clin Diagn Lab Immunol*. 9: (3) 573-576.
88. Mattosian R M. (1977). The Immunological Diagnosis of Human Hydatid Disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 71: 101-104.
89. Mattosian R M, Kane G J, Chantler S M, Batty I, Sarhadian H. (1972). The Specific Immunoglobulin in Hydatid Disease. *Immunology*, 22: 423-430.
90. Meeusen E, Barcham G J, Gorrell M D, Rickard M D, Brandon M R. (1990). Cysticercosis: Cellular immune responses during primary and secondary infection. *Parasite Immunol*. 12; (4), 403-418.
91. Merdivenci A. (1976). Türkiye’de Veteriner Parazitoloji Tarihi. *Hilal matb. Koll. Sti. İstanbul* s.265.
92. Merdivenci A, Aydınlioğlu K. (1982). Hidatidoz (Hidatik Kist Hastalığı). *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. Yayın No:97*, s.318.
93. Mimioğlu M. Evcil Gevişenlerde Hidatidoz. Türkiye’de Ekinokokkoz Problemi Simpozyumu, Erzurum, 1-3 Kasım 1974, s. 23-25.
94. Moro P L, Bonifacio N, Gilman R H, Lopera L, Silva B, Takumoto R, Verastegui M, Cabrera L. (1999). Field Diagnosis of Echinococcus granulosus Infection Among Intermediate and Definitive Hosts in an Endemic Focus of Human Cystic Echinococcosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. Nov-Dec. 93; (6), 611-615.

95. Moro P L, McDonald J, Gilman R H, Silva B. Verastegui M, Malqui V, Lescano G, Falcon N, Montes G, Bazalar H. (1997). Epidemiology of *Echinococcus granulosus* Infection in the Central Peruvian Andes. *Bull World Health Organ.* 75 (6):553-61.
96. Moro P, Verastegui M, Gilman R H, Falcon N, Bernal T, Gavidia C, Gonzalez A, Malqui V, Moro M H, Dueger E. (1997). Enzyme-Linked Immunoelctrotransfer Blot Assay for Diagnosis of Hydatidosis (*Echinococcus Granulosus*) in Sheep. *Vet Rec.* 140; (23), 605-606.
97. Morris D L, Rickards K S. (1992). Hydatid Disease. Butterworth-Heinemann Ltd. Linacre House, Jordan Hill, Oxford.
98. Musiani P, Piantelli M, Lauriola L, Arru E, Pozzuoli R. (1978). *Echinococcus granulosus* Spesific Quantification of the Two Most Immunoreactive Antigens in Hydatid Fluids. *J Clin Pathol.* 31:475-478.
99. Nahmias J, Goldsmith R, Greenberg Z, El-On J. (1993). Hydatid Disease in İsrail. *Harefuah* May 2; 124 (9): 529-534.
100. Njoroge E M, Mbithi P M F, Gathuma J M, Wachira T M, Gathuma P B, Magambo J K, Zeyhle E. (2002). A Study of Cystic Echinococcosis in Slaughter Animals in Three Selected Areas of Northern Turkana, Kenya. *Vet Parasitol.* 104: 85-91.
101. Oriol C, Oriol R. (1975). Physicochemical Properties of a Lipoprotein Antigen of *Echinococcus granulosus*. *Am J Trop Med Hyg.* 24 (1), 96-100.
102. Oryan A, Moghadder N. Gaur S N. (1994). Metacestodes of Sheep With Special Reference to Their Epidemiological Status, Pathogenesis and Economic İmplications in Fars Province, Iran. *Vet Parasitol.* Feb. 51 (3-4):231-240.
103. Öge H, Kalınbacak F, Gıcık Y, Yıldız K. (1998). Ankara Yöresinde Kesilen Koyun, Keçi ve Sığırlarda Bazı Metacestodların (Hidatid kist, *Cysticercus tenuicollis*, *Cysticercus bovis*) Yayılışı. *AÜ Vet Fak Derg.* 45 (1): 123-130.
104. Özcel M A, Altıntaş A. (Ed). Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:15, İzmir 1997.
105. Özçelik S, Saygı G. (1990). Sivas Mezbahasında Kesilen Koyun ve Sığırlarda Kist Hidatik Görülme Oranları. *T Parazitol Derg.* 14 (1), 41-44.
106. Özer E, Özcan C, Aslan N, Kalender H, Angın M. (1996). Elazığ Et ve Balık Kurumunda Atılan Koyun Karaciğerlerinde Bakteriyel ve Paraziter Etkenlerle Bunların Oluşturduğu Ekonomik Kayıplar. *Tr J of Vet Anim Sci.* 20 (3), 191-201.
107. Özyer İ. (1990). Adana Et ve Balık Kurumunda İmha Edilen Ruminant Karaciğerlerinde Görülen Helminth Türleri ve Ekonomik Önemleri. *Etlik Vet Mikrob Derg.* 6 (6):67-78.
108. Palmer S R, Biffin A H, Craig P S, Walters T M. (1996). Control of Hydatid Disease in Wales. *British Medical Journal.* 312, 6474-6475.

109. Pandey V S, Ouhelli H, Ouchtou M. (1986). Hydatidosis in Sheep, Goats and Dromedaries in Morocco. *Ann Trop Med Parasitol.* Oct; 80 (5): 525-529.
110. Patrice Bourée M D. (2001). Hydatidosis: Dynamics of Transmission. *World J Surg.* 25, 4-9.
111. Petts V, Roitt I M (1971). Peroxidase Conjugates For Demonstration of Tissue Antibodies: Evaluation of The Technique. *Clin Exp Immunol.* 9 (3), 407-418.
112. Planchart S, Botto C, Alarcon De Noya B, Bonifacino R, Vivas L, Spencer L, Vivas S. (1994). Evaluation of the Double Diffusion, Enzyme Immunoassay and Immunoblotting Techniques for the Diagnosis of Human Hydatid Disease in Tropical Areas. *Rev Inst Med Trop S Poulo.* 36 (3): 205-210.
113. Poretti D, Felleisen E, Grim F, Pfister M, Teuschler F, Zuercher C, Reichen J, Gottstein B. (1999). Differential Immunodiagnosis Between Cystic Hydatid Disease and Other Cross-Reactive Pathologies. *Am J Trop Med Hyg.* 60 (2), 193-198.
114. Poyraz Ö, Özçelik S, Saygı G, Genç S. (1990). Sivas Et ve Balık Kurumu Kombinasında 1985-1988 Yılları Arasında Kesilen Koyun ve Sığırlarda Kist Hidatik Görülme Oranı. *T Parazit Derg.* XIV (1), 35-40.
115. Primo Arambulo III (1997). Public Health Importance of Cystic Echinococcosis in Latin America. *Acta Tropica* 67, 113-124.
116. Raman M S, Sokkar S M, Dahab S. (1992). Comparative Studies on Hydatidosis in Farm Animals in Egypt. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* Nov; 99; (11):438-440.
117. Rıs D R, Hamel K L, Mackle Z M. (1987). Use of Two Polysaccharide Antigens in ELISA for the Detection of Antibodies to *Echinococcus granulosus* in Sheep Sera. *Res Vet Sci.* 43, 257-263.
118. Rickard M D (1984). Serological Diagnosis And Post-Operative Surveillance of Human Hydatid Disease, I. Latex Agglutination and Immunoelectrophoresis Using Crude Fluid Antigen. *Pathology*, 10, 207-210.
119. Rickard M D, Davies C, Bout D T, Smyth J D. (1977). Immunohistological Localization of Two Hydatid Antigens (Antigen 5 And Antigen B) in The Cyst Wall, Broad Capsules and Protoscoleces of *Echinococcus granulosus* (Ovine and Equine) and *E.multilocularis* Using Immunoperoxidase Methods. *J Helminthol.* 51:359-364.
120. Rickard M D, Lightowers M W. (1986). Immunodiagnosis of Hydatid Disease. In:Thompson RCA (Ed). *The Biology of Echinococcus and Hydatid Disease.* London, George Allen and Unwin. 217-249.
121. Rickard M D, Williams J F (1982). Hydatidosis/Cysticercosis: Immune Mechanisms and Immunization Against Infection. *Adv Parasitol.* 21, 230-296.
122. Rogan M T, Craig P S. (1997). Immunology of *Echinococcus granulosus* Infections. *Acta Tropica* 67, 7-17.

123. Rogan M T, Craig P S, Zeyhle E, Romig T, Lubano G M, Deshan L. (1991). Evaluation of a Rapid dot-ELISA as a Field Test for Diagnosis of Cystic Hydatid Disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 85, 773-777.
124. Romia S A, Youssef M E, Handoussa A E, Rizak H M, Sallam S M. (1992). Dot-ELISA as a Diagnostic Test in Hydatid Disease. *J Egypt Soc Parasitol.* 22, 603-610.
125. Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. (1989). Detection and Analysis of Proteins Expressed from Cloned Genes. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual.* Cold Spring, Harbor Laboratory press. New York USA.
126. Sato H, Kamiya M, Grauert M R, Stern D, Altamirano Z, Perdomo R, Carmona C, Carbo A, Alvarez C, Monti J, Sakai H, Oku Y, Kamiya M. (1996). Comparison of Serodiagnostic Tests and Ultrasonography for Cystic Hydatidosis in an Epidemiological Study of Rural Uruguay. *J Parasitol.* 82; (5), 852-854.
- 127- Sbihi Y, Rmiqui A, Rodriguez-Cabezas M N, Orduna A, Rodriguez-Torres A, Osuna A. (2001). Comparative Sensitivity of Six Serological Tests and Diagnostic Value of ELISA Using Purified Antigen in Hydatidosis. *J Clin Lab Anal.* 15:14-18.
128. Schantz P M, Gottstein B. (1986). Echinococcosis (Hydatidosis). In: Walls K, Schantz PM (Eds). *Immunodiagnosis of Parasitic Disease.* Orlando Academic Press. 69-107.
129. Shepherd J C, McManus D P. (1987). Specific and Cross-Reactive Antigens of *Echinococcus granulosus* Hydatid Cyst Fluid. *Mol. Biochem Parasitol.* 25, 143-154.
130. Siles-Lucas M, Cuesta-Bandera C. (1996). *Echinococcus granulosus* in Spain: Strain Differentiation by SDS-PAGE of Somatic and Excretory/Secretory Proteins. *J Helminthol.* 70, 253-257.
131. Singh B P, Dhar D N. (1988). *Echinococcus granulosus* in Animals in North India. *Vet Parasitol.* May; 28 (3): 261-266.
132. Smyth J D, Heath D D. (1970). Pathogenesis of Larval Cestodes in Mammals. *Helminthol Abs.* A39, 1-23.
133. Stites D P, Terr A I. (1991). *Basic&Clinical Immunology.* A Large Medical Book. Prentice-Hall Int. Inc. 258.
134. Şenlik B. (1998). Bursa Yöresi Koyunlarında İndirekt Floresan Antikor (IFA) ve İndirekt Hemaglutinasyon (IHA) Testleriyle Hidatidozun Seroprevalansı Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi. Uludağ Üniv. Sağlık Bil. Enst. Parazitoloji A.B.D. Bursa.
135. Taherkhani H, Rogan M T (2000). General Characterization of Laminated Layer of *Echinococcus granulosus*. *Iran J Med Sci.* 25 (3&4): 95-104.
136. Taşçı S. (1990). Doğu Anadolu'da Tarımın Verimlilik Sorunları Sempozyumu, 9-10 Ekim 1990, Van. Milli Prodüktivite Merkezi Yayınları: 431.
137. Thompson R C A. (1986). The Biology of *Echinococcus* and Hydatid Diseases, "Biology and Systematics of *Echinococcus*". George Allen and Unwin Pub. p.5-43.

138. Thompson R C A and Lymbery A J (Eds). (1995). Echinococcus and Hydatid Disease. Thompson RCA, Biology and Systematics of Echinococcus, 1-37. CAB International, United Kingdom.
139. Tınar R. (1983). İnsan ve Hayvan Sağlığı Açısından Hidatidoz. UÜ Vet Fak Derg. 2 (2): 85-90.
140. Todoroff T, Dimitroff A, Christoff L. (1976). Immunantwort Bei Der Kinder-Echinocose. Medizin Monatschrift 30, 59-63.
141. Todorov T, Raicev I, Tenev S, Kosturkova M, Dakov I, Dimitrov A. (1979). Immunoreactivity in Pulmonary Echinococcosis, 2. Evaluation of Antibody Response. Bull WHO, 57, 741-750.
142. Toparlak M, Gül Y. (1989). Van İli Belediye Mezbahasında Kesilen Hayvanlarda Hidatidozun Yayılışı. AÜ Vet Fak Derg. 36(1), 129-137.
143. Torgerson P R, Carmona C, Bonifacio R. (2000). Estimating The Economic Effect of Cystic Echinococcosis: Uruguay, A Developing Country With Upper-Middle Income. Ann Trop Med Parasitol. 94 (7), 703-713.
144. Torgerson P R, Dowling P M. (2001). Estimating The Economic Effect of Cystic Echinococcosis. Part 2: An Endemic Region in the United Kingdom, A Wealthy, Industrialized Economy. Ann Trop Med Parasitol. 95 (2), 177-185.
145. Torgerson P R, Dowling P M, Abo-Shehadeh M N (2001). Estimating the Economic Effect of Cystic Echinococcosis. Part 3: Jordan, a Developing Country with Lower-Middle Income. Ann Trop Med Parasitol. 95 (6), 595-603.
146. Ulukan Y. (1961). Türkiye’de Hydatidose’un Önemi, Yayılışı ve Buna Dair Araştırmalar. Kars Matbaası, Ankara.
147. Ulutaş M. (1999). Trakya’da Kasaplık Hayvanlarda Hidatidozun Yaygınlığı. Doktora Tezi. İstanbul Üniv. Sağlık Bil. Enst. Parazitoloji A.B.D. İstanbul.
148. Umur Ş, Aslantaş Ö. (1993). Kars Belediye Mezbahasında Kesilen Ruminantlarda Hidatidozun Yayılışı ve Ekonomik Önemi. T Parazit Derg. 17 (2): 27-34.
149. Urdangarin C A. (1978). Echinococcosis in the North-West Zone of Chubut Province. Gaceta Veterinaria, 40: (330), 293-299.
150. Üner A. (1991). Ekinokokların Sistematigi ve Biyolojisi. İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik (Echinococcosis), 7. Ulusal Parazitoloji Kongresi Özel Kitabı. T. Parazit. Dern. Yayın No:10. Ege Üniv. Ofset-Basımevi, Bornova-İzmir. 13-28.
151. Varela-Diaz V M, Coltorti E A, Richards M I, Guisantes J A, Yarzabal L A. (1974). The Immunoelectrophoretic Characterization of Sheep Hydatid Cyst Fluid Antigens. Am J Trop Med Hyg 23 (6), 1092-1096.

152. Varela-Diaz V M, Coltorti E A, Rickard M D, Torres J M. (1977). Comparative Antigenic Characterization of *E. Granulosus* and *Taenia Hydatigena* Cyst Fluids by Immunoelectrophoresis. *Res Vet Sci* 23: 213-216.
153. Verastagui M, Moro P, Guevara A, Rodriguez T, Miranda E, Gilman R H. (1992). Enzyme-linked Immunelectrotransfer Blot Test for Diagnosis of Human Hydatid Disease. *J Clin Microbiol.* Jun, 30; (6), 1557-1561.
154. Wen H, Craig P S. (1994). IgG Subclass Responses in Human Cystic and Alveolar Echinococcosis. *Am J Trop Med Hyg.* 51, 741-748.
155. Williams J F. (1972). An Evaluation of The Casoni Test in Human Hydatidosis Using an Antigen Solution of Low Nitrogen Concentration. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 66:160-164.
156. Yarzabal L A, Leiton J, Lopez-Lemes M H. (1974). The Diagnosis of Pulmonary Human Hydatidosis by the Immunoelectrophoresis Test. *Am J Trop Med Hyg.* 23, 662-666.
157. Yaşarol Ş. (1957). Köpeklerimizde *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) Rudolphi, 1805 Üzerindeki Araştırmalar. Kader Basımevi, İstanbul.
158. Yazar S. (1998). Cystic Echinococcosis (CE)'nin tanısında SDS-PAGE ve Western Blot Yönteminin Diğer Serolojik Tanı Yöntemleri ile Karşılaştırılması (Doktora Tezi). Ege Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir.
159. Yong W K, Heath D D. (1984). Comparison of Cestode Antigens in an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Diagnosis of *Echinococcus granulosus*, *Taenia hydatigena* and *Taenia ovis* infections in Sheep. *Res Vet Sci.* 36, 24-31.
160. Zarzosa M P, Domingo A O, Gutierrez P, Alonso P, Cuervo M, Prado A, Bratos M A, Garcia-Yuste M, Ramos G, Rodriguez Torres A. (1999). Evaluation of Six Serological Tests in Diagnosis and Postoperative Control of Pulmonary Hydatid Disease Patients. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 35; (4), 255-262.
161. Zeybek H. (1973). Samsun Bölgesinde İnsanlarda Görülen Hydatique Olayları ve Alınması Gereken Koruyucu Tedbirler. *Türk Hidatid. Derg.* 19; 76-84.
162. Zeybek H, Tokay A. (1990). Ankara Yöresinde Evcil ve Yabani Canidaelerde *Echinococcus* Türlerinin Yayılışı, Cyst Şekillerinin Ensidansı ve Kontrol Olanaklarının Araştırılması. *Etlik Vet Mikrob Derg.* 6, 1-19.
163. Zuko A, Jazic A, Omeragic J. (2001). Echinococcosis of Ruminants and Dogs in Bosnia and Herzegovina. XXth Congress of Hydatidology, 4-8 June 2001 Kuşadası-Turkey, abstract book, s. 347.

8. ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 1993 yılında girdiğim Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 1998 yılında mezun oldum. Aynı yılın Eylül ayında Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Programı Parazitoloji Anabilim Dalı'nda doktora eğitimime başladım. 1999 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. Halen bu görevi yürütmekteyim. Evli ve bir çocuk babasıyım.

