

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

**FARELERDE *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS***  
**PROTOSKOLEKSLERİNİN FARKLI YOLLARLA**  
**VERİLMESİYLE DENEYSEL HİDATİDOZİS OLUŞTURULMASI**  
**VE SEROLOJİK YANITIN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Bünyamin İREHAN**

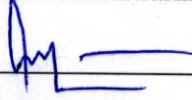
**2013**

**ONAY SAYFASI**

Doç. Dr. Oktay BURMA

*Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü*

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. Ergün KÖROĞLU

Parazitoloji Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Ergün KÖROĞLU

*Danışman*

*Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri*

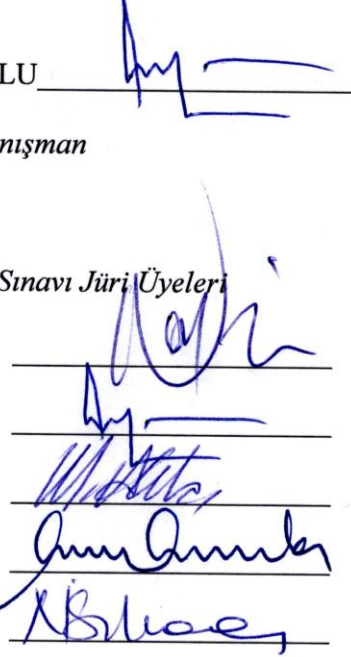
Prof. Dr. Nazir DUMANLI

Prof. Dr. Ergün KÖROĞLU

Prof. Dr. Münir AKTAŞ

Prof. Dr. Sami ŞİMŞEK

Prof. Dr. Necati TİMURKAAN



## İTHAF SAYFASI

Bu tezi çok saygıdeğer babam Adnan İREHAN, annem Kadriye İREHAN ve eşim Ayşe İREHAN'a ithaf ediyorum.

## TEŞEKKÜR

Öncelikle tez çalıŐmalarım esnasında desteğini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Ergün KÖROğLU'na, araştırma süresince ve laboratuvar aŐamalarında yardımını esirgemeyen hocam, Prof. Dr. Sami ŞİMŞEK'e, Parazitoloji Anabilim Dalı'nda görev yapan hocalarıma, tez çalıŐması süresince yardım ve desteğini esirgemeyen Elazığ Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürü Sayın Ünal KILINÇ'a, tez çalıŐmasının patoloji kısmını yürüten arkadaŐım Veteriner Hekim Mustafa ÖZKARACA'ya, manevi desteğinden dolayı eşim Ayşe İREHAN'a, kızlarım İlksen ağla ve Cemre'ye, oğlum Yusuf'a ve bu çalıŐmayı VF.11.06 proje numarası ile destekleyen Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (FÜBAP) teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI .....	i
ONAY SAYFASI.....	ii
İTHAF SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR .....	iv
İÇİNDEKİLER .....	v
TABLO LİSTESİ.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	x
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT .....	3
3. GİRİŞ .....	5
3.1. <i>Echinococcus</i> Cinsinin Sınıflandırma, Morfoloji ve Biyolojisi.....	6
3.2. <i>Echinococcus granulosus</i> 'un Yaşam Döngüsü.....	10
3.3. Echinococcosis'in Türkiye ve Dünyadaki Yaygınlığı .....	13
3.3.1. Türkiye'de <i>Echinococcus granulosus</i> 'un Son Konak ve Ara Konaklardaki Yaygınlığı.....	13
3.3.2. Dünyada <i>Echinococcus granulosus</i> 'un Son Konak ve Ara Konaklardaki Yaygınlığı.....	14
3.4. Kistik Ekinokokkozis'in Ekonomik Önemi .....	15
3.5. Kistik Ekinokokkozis'in Patolojisi .....	17
3.6. Kistik Ekinokokkozis'in Teşhisi .....	20
3.7. Kistik Ekinokokkozis'in Tedavisi.....	21

3.8. <i>Echinococcus granulosus</i> 'un In vivo ve In vitro Kùltürleri.....	21
3.9. Kistik Ekinokokkozis'de Deneysel Enfeksiyonlar.....	23
<b>4. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>32</b>
4.1. Protoskolekslerin Elde Edilmesi .....	32
4.2. Deney Düzenegi .....	34
4.3. Patolojik İncelemeler .....	38
4.4. İndirekt-ELISA Yöntemi .....	39
4.4.1. Antijen Elde Edilmesi .....	39
4.4.2. İndirekt-ELISA Prosedürü .....	40
<b>5. BULGULAR.....</b>	<b>41</b>
<b>6. TARTIŞMA.....</b>	<b>51</b>
<b>7. KAYNAKLAR .....</b>	<b>63</b>
<b>8. EKLER.....</b>	<b>69</b>
<b>9. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>70</b>

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Türkiye'nin çeşitli illerinde <i>E. granulosus</i> 'un yayılışının ara konak ve son konaklardaki dağılımı .....	13
<b>Tablo 2.</b> Sığırlarda hidatidozisin illere göre ortalama seroprevalansı .....	14
<b>Tablo 3.</b> Dünyanın değişik bölgelerinde <i>E. granulosus</i> 'un bazı yabani hayvan türlerindeki yaygınlığı .....	15
<b>Tablo 4.</b> Dünyanın değişik bölgelerinde <i>E. granulosus</i> 'un bazı evcil hayvan türlerindeki yaygınlığı .....	15
<b>Tablo 5.</b> Çalışma ve kontrol gruplarında verilen solüsyonlar ve veriliş yolları ...	35
<b>Tablo 6.</b> Kontrol ve çalışma gruplarında makroskopik ve serolojik bulgular .....	41

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Erişkin <i>Echinococcus granulosus</i> .....	7
Şekil 2. Hidatik kist. ....	9
Şekil 3. <i>Echinococcus granulosus</i> 'un yaşam döngüsü .....	12
Şekil 4. Hidatik kist ile enfekte koyun karaciğeri.....	32
Şekil 5. % 0,1'lik Eozin ile boyamada canlı ve ölü protoskoleksler. ....	33
Şekil 6. % 0,03'lük Metilen Mavisi ile boyamada canlı protoskoleksler. ....	33
Şekil 7. Farelerde protoskoleks solüsyonunun intraperitoneal enjeksiyonu.....	36
Şekil 8. Farelerde protoskoleks solüsyonunun subkutan enjeksiyonu.....	37
Şekil 9. Farelerde protoskoleks solüsyonunun göz içi yolla enjeksiyonu. ....	37
Şekil 10. Farelerde protoskoleks solüsyonunun oral yolla verilmesi. ....	38
Şekil 11. Kontrol grubundaki farelere intraperitoneal FTS enjeksiyonu.....	38
Şekil 12. İntraperiton grubunda her iki böbreğe lokalize olmuş hidatik kistin makroskobik görünümü. ....	42
Şekil 13. Böbreklere lokalize olmuş hidatik kistin mikroskobik görünümü.. ....	43
Şekil 14. Subkutan grupta derialtı bağdokuya bitişik bir şekilde gelişmiş hidatik kistler.....	44
Şekil 15. Sırt kasları içerisinde gelişmiş hidatik kistler.....	45
Şekil 16. İntramuskuler olarak lokalize olmuş hidatik kistler. ....	45
Şekil 17. Hidatik kistlerin histopalojik görünümü.....	46
Şekil 18. Subkutan grupta kist oluşmuş farenin nekropsi öncesi yandan görünümü .....	47

<b>Şekil 19.</b> Subkutan grupta kist oluşmuş farenin nekropsi öncesi üstten görünümü .....	48
<b>Şekil 20.</b> Subkutan grupta deri altında sabit olarak gelişen hidatik kistin makroskopik görünümü. ....	48
<b>Şekil 21.</b> Subkutan grupta deri altında sabit olarak gelişen hidatik kistin histopatolojik görünümü. ....	49

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>KE</b>	: Kistik ekinokokkozis
<b>AE</b>	: Alveolar ekinokokkozis
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümöral nekrozis faktör-alfa
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	: İnterferon-gamma
<b>Ig</b>	: İmmünoglobulin
<b>ELISA</b>	: Enzyme Linked İmmunosorbent Assay
<b>IFAT</b>	: İmmünofluoresans antikor testi
<b>FTS</b>	: Fizyolojik Tuzlu Su
<b>Ag</b>	: Antijen
<b>PBS</b>	: Phospat Buffer Saline

## 1. ÖZET

Bu çalışma, hidatik kist protoskolekslerinin, Albino Balb/c farelere farklı yollarla verilmesiyle deneysel hidatidozis oluşturulması ve serolojik yanıtın belirlenmesi amacıyla planlanmıştır. Bu amaçla, hidatik kist ile enfekte bir koyun karaciğerinden elde edilen protoskoleksler, canlılık tayininin ardından, dört çalışma ve bir kontrol grubuna ayrılmıştır. Protoskoleksler, intraperitoneal, subkutan, göz ve oral olmak üzere dört farklı yoldan farelere verilmiş, kontrol grubuna ise fizyolojik tuzlu su solüsyonu intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Deney süresinin sonunda (5 ay) canlı kalan farelere ötenazi yapılarak iç organ (akciğer, karaciğer, kalp, dalak, böbrek, beyin) örnekleri alınmış, bu örnekler kist hidatik yönünden, hem makroskopik hem de patolojik doku kesitlerinde mikroskopik olarak incelenmiştir. Ayrıca Indirekt-ELISA yöntemiyle kist hidatik protoskolekslerine karşı oluşan antikor yanıtı araştırmak amacıyla kan serumu alınmıştır. Deney sürecinin 60. gününde intraperiton grupta ölen bir farede sağ ve sol böbreklere lokalize olmuş 2-2,5 cm çapında steril hidatik kistler tespit edilmiştir. Deney sürecini tamamlayamadığından aynı fareden kan serumu örneği alınamamıştır. Subkutan grupta makroskopik olarak üç farede steril hidatik kist tespit edilmiş ve ELISA ile de seropozitiflik saptanmıştır. Göz grubunda ne makroskopik ne de histopatolojik olarak kistlere rastlanmamış ancak ELISA ile beş farede seropozitiflik gözlenmiştir. Oral grupta iç organlarda ne makroskopik ne de histopatolojik olarak hidatik kist oluşmamış ancak üç farede seropozitiflik belirlenmiştir. Kontrol grubunda ise herhangi bir kist oluşumu ve seropozitiflik belirlenmemiştir.

Sonuç olarak, özellikle parenteral protoskoleks verilmesiyle sekunder hidatik kistlerin oluşması dikkat çekici bulunmuş, göz grubunda hidatik kist oluşmamasına rağmen seropozitiflik belirlenmesi anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Echinococcus granulosus*, hidatik kist, fare, deneysel enfeksiyon, ELISA.

## **2. ABSTRACT**

### **ADMINISTRATION OF *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS* PROTOSCOLECES IN MICE IN DIFFERENT WAYS FOR THE FORMATION OF EXPERIMENTAL HYDATIDOSIS AND DETECTION OF SEROLOGICAL RESPONSE**

This study was planned for the aim of administration of hydatid cyst protoscoleces in Albino Balb/c mice in different ways for the formation of experimental hydatidosis and detection of serological response. For this purpose, the protoscoleces which were collected from sheep liver infected with hydatid cyst were divided into four experiments and one control group following to viability test. Protoscoleces were administrated by the way of intraperitoneal, subcutaneous, ocular and oral routes. In the control group, physiological saline was applied intraperitoneally. At the end of the experiment period (5 months) live mice were sacrificed and some internal organs (lungs, liver, hearth, spleen, kidney and brain) were collected and those were examined both macroscopically and also microscopically by using of pathological tissue sections for hydatid cysts. Besides, blood samples were collected for the aim of the investigation of antibodies against hydatid cyst antigens by indirect-ELISA. On the 60th day of the study, sterile hydatid cysts which size of 2-2.5 cm diameter localized on right and left kidney of a died mouse were found in intraperitoneal group. Due to unable to complete the study process of mouse, serum samples couldn't be get. Sterile hydatid cysts were macroscopically detected in three mice in subcutan

group and seropositivity was found by ELISA in all. It was observed neither macroscopic nor microscopic hydatid cysts in ocular group while seropositivity was detected in five mice. Similarly, neither macroscopic nor microscopic hydatid cysts were detected in oral group while seropositivity was observed in three mice. There was no any hydatid cyst formation and seropositivity in control group.

As a result, in particularly, the formation of seconder hydatid cyst in parenteral protoscoleces administration was remarkable and although there was no cyst occurence in ocular group while the seropositivities were evaluated as significant.

**Key Words:** *Echinococcus granulosus*, hydatid cyst, mice, experimental infection, ELISA.

### 3. GİRİŞ

Echinococcosis (Hydatidosis, Hidatik Kist Hastalığı, Kistik Ekinokokkozis) çok uzun yıllardır bilinen ve helmint hastalıkları içinde, insan ve hayvan sağlığının yanısıra, sebep olduğu ekonomik kayıplar nedeniyle de günümüze kadar güncelliğini ve önemini korumaya devam eden paraziter bir hastalıktır. Türkiye’de 1861 yılından beri bilinmekte ve büyük bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Türkiye’de kistik ekinokokkozise (KE) neden olan *Echinococcus granulosus* ve alveolar ekinokokkozise (AE) neden olan *Echinococcus multilocularis* olmak üzere iki farklı türü vardır. KE ülkenin her tarafında yaygın olarak görülürken, AE daha çok doğu bölgelerimizde görülmektedir. Enfekte hayvan ve insanlarda dokusal ve hücrel patojenite yanında önemli fonksiyonel bozukluklara ve ölüme neden olan bu parazitin kistik formlarının teşhis, tedavi ve profilaksisi zor ise de son yıllarda bu alanlarda önemli gelişmeler kaydedilmiştir (1, 2).

Köpek, kurt, çakal gibi karnivorların ince bağırsaklarında yaşayan *E. granulosus*, koyun, keçi, sığır, manda, at ve insanda dahil birçok evcil ve yabani memeliyi arakonak olarak kullanmaktadır. Arakonak tarafından ağızdan alınan yumurtalardan serbest kalan onkosfer karaciğer, akciğer, kalp gibi birçok organda parazitin larva formu olan hidatik kisti oluşturmaktadır (2-4).

İçi sıvı ile dolu büyük bir kese şeklindeki hidatik kistin duvarını parazite ait germinal ve kütiküler tabakalar ile konak tarafından şekillendirilen bağdokudan bir kapsül oluşturmaktadır (2, 3). Germinal tabakadan köken alan protoskoleks ve kız keseler 5–6 ay gibi bir sürede gelişmektedir (3, 4).

Protoskoleks taşıyan kistler fertil, taşımayanlar ise steril kist olarak tanımlanmaktadır (2-4). Hidatik kistte fertilitte parazit epidemiyolojisinde önemli faktörlerden biri olup, arakonaklara ve coğrafik farklılıklara bağlı olarak değişmektedir (5-12).

### 3.1. *Echinococcus* Cinsinin Sınıflandırma, Morfoloji ve Biyolojisi

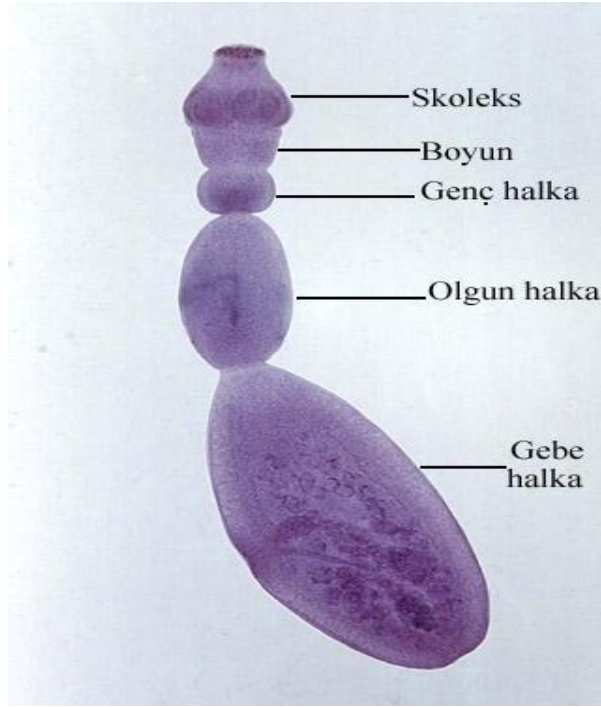
*Echinococcus* cinsinin sınıflandırmadaki yeri aşağıdaki gibidir (13, 14).

<b>Ülkealtı</b>	: Metazoa
<b>Alem</b>	: Platyhelminthes
<b>Sınıf</b>	: Cestoda
<b>Alt Sınıf</b>	: Eucestoda
<b>Takım</b>	: Cyclophyllidea
<b>Aile</b>	: Taeniidae (Ludwig, 1886)
<b>Cins</b>	: <i>Echinococcus</i> (Rudolphi, 1801)
<b>Türler</b>	: <i>E. granulosus</i> , <i>E. multilocularis</i> , <i>E. vogeli</i> , <i>E. oligarthus</i>

Klasik sınıflandırmada yer alan dört türün erişkinleri, son konak karnivorların ince bağırsaklarında, metacestodları ise omnivorların ve herbivorların karaciğer ve akciğerleri başta olmak üzere çeşitli organ ve dokularında bulunmaktadır. İnsanlar bu dört türün yumurtalarına duyarlı olup, metacestodlar insanların çeşitli organ ve dokularında gelişerek ekinokokkozise neden olmaktadır. *E. granulosus* ve *E. multilocularis*'in sebep olduğu KE ve AE oldukça yaygın olmasına rağmen *E. oligarthus* ve *E. vogeli*'nin oluşturduğu polycystic echinococcosis Orta ve Güney Amerika ile sınırlıdır. Her ne şekilde olursa olsun bütün *Echinococcus* türleri insanlarda oldukça ciddi ve bazen

ölümcül olabilen hastalık tablosuna yol açarken, hayvanların çeşitli organ ve dokularında oluşturduğu yapısal ve fonksiyonel bozukluklar nedeniyle de ekonomik kayıplara neden olmaktadır (1, 15).

Erişkin *E. granulosus*, dorso-ventral basık bir vücut yapısına sahiptir. Vücudu tegümentle örtülüdür ve üzerinde mikrovillus olarak adlandırılan çıkıntılar vardır. Mikrovilluslar absorbsiyon yüzeyini artırır; çevresindeki yarı sindirilmiş besinlerin absorbsiyonundan başka konağın bağırsak epitelindeki mikrovillusa tutunmasını da sağlar (16). Erişkinlerinin uzunluğu 3–6 mm kadardır. Tipik olarak vücutları skoleks (baş), boyun ve strobilia (zincir) olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır (16,17). (Şekil 1)



**Şekil 1.** Erişkin *Echinococcus granulosus* (16).

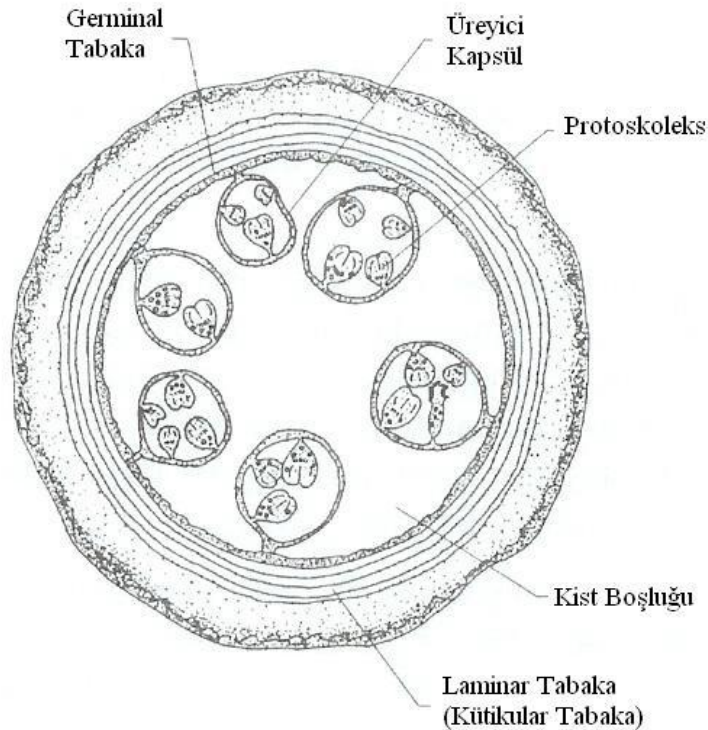
**Skoleks:** Konağa tutunmada esas görevi üstlenir. Tutunma organları, rostellum ve çekmen (vantuz) olarak adlandırılan yapılardır. Rostellum, skoleksin

önünde yer alır ve ileri geri hareket edebilir. Rostellum, iki sıra halinde dizilmiş olan 28–50 çengel içermektedir. Çengellerin sayıları, biçimleri ve büyüklükleri değişiklik gösterebilir. Skolekste, çapları 0.10–0.13 mm arasında değişen 4 tane de çekmen bulunmaktadır (16, 17).

**Boyun:** Başın hemen gerisinde yer almaktadır ve çok kısadır. Baş ile halkaları birbirine bağlar ve halkaların oluşmaya başladığı kısımdır (16, 17).

**Zincir:** Boyundan sonra gelen kısımdır ve proglottid olarak adlandırılan segmentlerden (halkalardan) oluşmaktadır. Halkalar, buldukları yer ve gelişme durumuna göre genç, olgun ve gebe halkalar olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Genç halka, boyundan hemen sonra gelmektedir, diğerlerine göre küçük ve olgunlaşmamıştır. Olgun halkaların boyu eninin iki katıdır ve tam gelişmiş genital organlara sahiptir. Gebe halka olarak adlandırılan son halka, olgun halkadan sonra gelmekte ve parazitin toplam uzunluğunun yarısı kadar ya da daha uzundur. Uterus, halka içinde boylu boyuna uzanmakta ve içinde değişik sayıda yumurta bulunmaktadır. Dolu olduğu durumlarda içinde en çok 200–800 kadar yumurta bulunmaktadır (16). Uterus hacminin artmasıyla basınca maruz kalan uterus dışındaki diğer genital organlar atrofiye olmaktadır. Halkada, içi yumurta dolu uterus kaldığından, bu halkaya gebe halka denir. Gebe halka, gövdenin arka kısmından koparak dışarı atılır. Dış ortamda halka duvarının parçalanmasıyla, konağı enfekte etme yeteneğine sahip olan yumurtalar serbest kalır. Yumurtaların içinde, onkosfer olarak adlandırılan ve üç çift çengel taşıyan bir larva bulunmaktadır. Onkosferi saran birçok tabaka vardır. Bunlar dıştan içe doğru; kapsül, dış tabaka, iç tabaka, embriyofor ve onkosfer zarıdır. Kapsül çok incedir ve gebe halka dışıyla atılırken, yumurtanın kapsülü uterus içinde parçalanır. Bu

yüzden, dışkıda bulunan yumurtalarda kapsül görülmez. Onkosferi çevreleyen embriyofor, çok kalın ve radyal çizgilidir (16, 17). Onkosfer, son konaklarda erişkini oluştururken, ara konaklarda larval (metasestod) formlarını meydana getirir. Gelişmelerinde bir ara konağa gereksinim duyan *Echinococcus* türlerinin larval formları türlere göre farklılık göstermekte olup, hidatik kist, alveolar kist ve polikistik kist şeklindedir. *E. granulosus*'un larva biçimine hidatik kist, *E. multilocularis*'in larval formuna ise multiloküler veya alveolar kist denilmektedir (16, 18). *E. granulosus*'ta hidatik kist yapısı, içi sıvı dolu büyük bir kese şeklindedir. Hidatik kist, dışta kütiküler tabaka, içte germinal tabaka, germinal tabakaya bağlı skoleksler, germinal tabakadan kopmuş serbest yüzen üreyici kapsüller ve serbest üreyici kapsülün gelişmesiyle oluşan kız keselerinden meydana gelmektedir (Şekil 2).



**Şekil 2.** Hidatik kist (19).

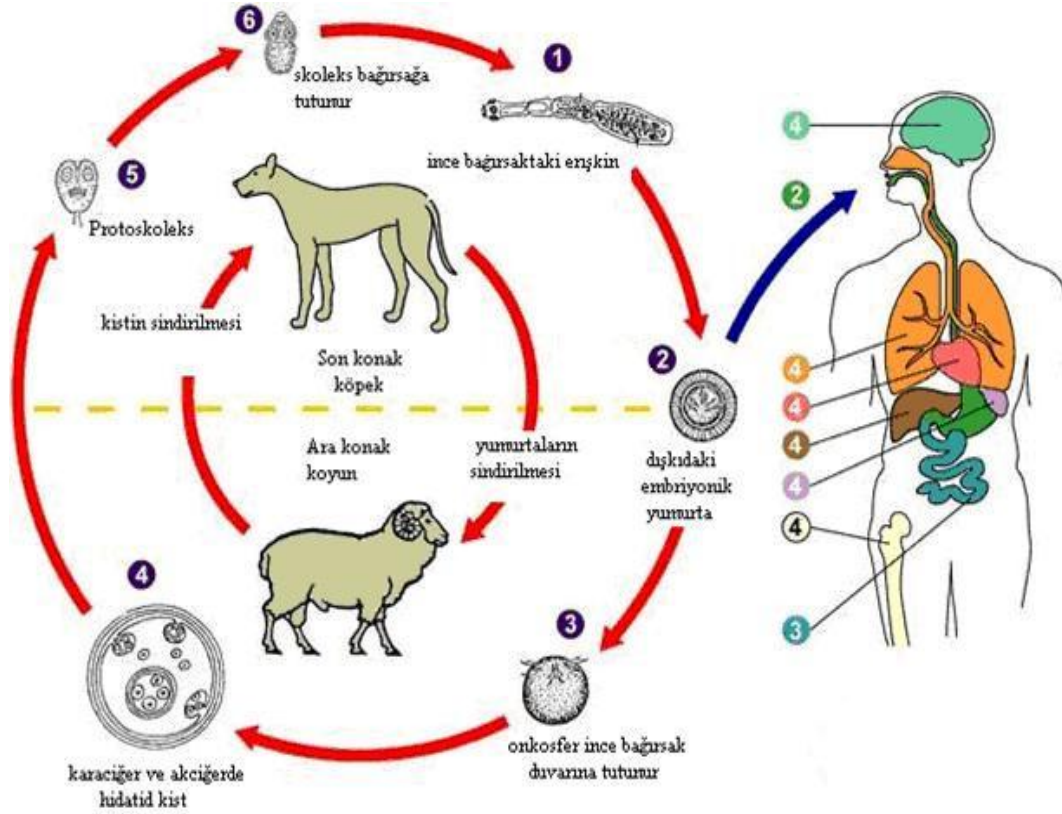
Ayrıca, konağın bu kiste karşı gösterdiği reaksiyon sonucu, kisti çevreleyen konağa ait fibröz bir tabaka bulunmaktadır (16, 17).

### **3.2. *Echinococcus granulosus*'un Yaşam Döngüsü**

*E. granulosus*'un son konağı köpek ve birçok yabani karnivor (kırmızı tilki hariç), ara konağı ise insan, sığır, domuz, koyun, keçi başta olmak üzere bütün evcil ve yabani memelilerdir. Son konak, hidatik kist taşıyan organları yiyerek enfekte olur. İnce bağırsakta serbest kalan her bir protoskoleksten bir adet erişkin parazit gelişir (16). Erişkinler yaklaşık 56 günde olgunlaşır ve 5-20 ay yaşayabilir. Erişkin parazitlerden, her gün bir gebe halka koparak dışkıyla atılır (20). Gebe halkaların bir kısmı dışkılama esnasında atılırken, bir kısmında anüsün etrafına yapışarak kalırlar. Kendi hareketleriyle anüsün çevresindeki kıllı kısımlara doğru kayarak yayılırlar. Bu sırada oluşturdukları kaşıntıdan dolayı köpeğin, burnu ve ağzı ile kaşıntıyı gidermek için yaptığı hareket sonucu, parçalanmış gebe halkadaki yumurtalar köpeğin burnuna, ağzının etrafına ve anüsün etrafındaki kıllara yapışır. Yumurtaların bir kısmı da yere düşer. Bu şekilde köpek, ağzına ve burnuna bulaşmış olan yumurtaları vücudunu kaşımaları sırasında her yana bulaştırır (16). Böylece, çevresi ve üzeri geniş ölçüde yumurta ile bulaşık olan enfekte köpek enfeksiyon kaynağı durumuna gelir. Otçul hayvanlar, otlarla ya da seyrek olarak içme suyu ile çevreye yayılan *E. granulosus* yumurtalarını alarak enfekte olurlar. İnsanlar ise en çok, enfekte köpeği elle okşama sırasında yumurtalarla kirlenmiş elini ağzına götürmesi ile enfekte olurlar. Bundan başka seyrek olarak, yumurtalarla kirlenmiş sebze ve meyveleri yıkamadan yiyerek ve belki de kirlenmiş içme suyu ile yumurtaları alarak enfekte olurlar (16). Ara konakların besinle ya da suyla yumurtaları almalarından sonra, konağın ince bağırsağındaki

enzimler aracılığıyla, yumurtanın etrafındaki kapsül parçalanır. Serbest kalan onkosferler çengelleriyle bağırsak duvarına tutunur ve kan damarına girerek portal dolaşım yoluyla karaciğere ulaşır. Onkosfer karaciğerde tutunmazsa portal sistemle kalbe, oradan da akciğere geçip bu organa da yerleşebilir. Akciğerde tutunamayanlar pulmoner venlerle tekrar kalbe taşınıp oradan da sistemik dolaşım ile beyin ve böbreği de içeren diğer organlara yerleşebilir (16, 20). Her onkosferden bir hidatik kist gelişebilir. Başlangıçta dokuda, larva bir hiyalin zar sentezler ve kendisini bu zar ile çevirir. Hiyalin zar, hücresiz laminar bir dış ve germinal bir iç tabakaya farklılaşır. Hidatik kist, olgunlaşma için birkaç aya ihtiyaç duyar ve içi sıvı ile dolar. Olgun bir kistin çapı 2-20 cm arasında değişebilir, bazen daha büyük olabilir. Kist sıvısı, hem konağa hem de parazite ait proteinleri içerir ve bunların birçoğu antijen özelliğindedir (20). Kistlerin gelişimi yıllarca sürebilir. Kistler makroskopik olarak, uniloküler ve multikistik kist olmak üzere iki tipte görülür. Uniloküler tip kist, büyük bir kese şeklindedir. Multikistik tip kist, birbirine yapışık çok sayıda küçük ve bağımsız kistlerden oluşur. Bu kist, tek bir kistin dışı doğru çok sayıda kız kesesi oluşturmasıyla meydana gelir. Uniloküler kistler daha çok koyun ve insanlar da, multikistik kistler özellikle sığırlarda görülür. Kistlerin içinde protoskoleks varsa bu kist fertil kist, yoksa steril kist olarak adlandırılır. Kistlerin steril olmasında rol oynayan faktörler, konağın türü ve özellikleridir. Koyunlarda genellikle fertil kistler bulunmasına rağmen, sığırlarda steril kistler çoğunluktadır. Ara konaktaki bu fertil kistler patladığında etrafa yayılan protoskolekslerden sekonder kistler oluşabilir. Bu olay, protoskolekslerin başka bir konağın vücut boşluğuna verilmesiyle de gerçekleşir. Eğer protoskoleksler son konak tarafından alınır, bunlardan erişkin şeritler

oluşur (Şekil 3). Protoskoleksler konağa bağı olarak iki farklı yönde gelişim gösterirler (16). *E. granulosus*'un konak veya ara konağa başarılı bir şekilde yerleşmesi ve enfeksiyon oluşturmasını mide asidi, safra tuzlarının surfaktan etkisi gibi fizikokimyasal faktörler ile pepsin, tripsin ve pankreatin gibi bağırsak enzimleri etkilemektedir (19).



Şekil 3. *Echinococcus granulosus*'un yaşam döngüsü (21).

### 3.3. Echinococcosis'in Türkiye ve Dünyadaki Yaygınlığı

#### 3.3.1. Türkiye'de *Echinococcus granulosus*'un Son Konak ve Ara Konaklardaki Yaygınlığı

Türkiye'nin çeşitli illerinde *E. granulosus*'un yayılışımının son konak ve ara konaklardaki dağılımını Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Türkiye'nin çeşitli illerinde *E. granulosus*'un yayılışımının ara konak ve son konaklardaki dağılımını (22-26).

Çalışma Yapılan İl-Bölge	Köpek (%)	Sığır (%)	Koyun (%)	Keçi (%)	At (%)	Manda (%)
Ankara	1-54.5	9,4-18.6	7.2-63.2	1.6-9	0.78	
Kırıkkale		14.16				
Bursa	36		30-50.7			
Erzurum		46	71			
İstanbul						22.3
Trakya			3.5			
İzmir	5.5	56.5	22.5			
Kayseri	24					
Kars	40.5	24.7	48.4	25.1		
Konya	28.3	5.6- 11.2	51.9-79.6	5.9-29.3		
Samsun	21.1					
Elazığ	3.33		62.65			
Sivas	28	4.5-20.4	32.4-33.4			
Van		19.4-37.8	32.9-68.7	4.5-32.6		

Türkiye'de yapılan çeşitli çalışmalarda hidatidozisin kasaplık hayvanlardaki yayılışımının hayvan cinsine ve bölgelere göre değişmekle birlikte %2-52.3 arasında değiştiği bildirilmiştir.

Elazığ, Malatya, Muş, Bingöl, Van, Erzincan, Erzurum ve Kars illerinde sığırlarda Enzyme Linked İmmunosorbent Assay (ELISA) ve İmmünofluoresans

Antikor Testi (IFAT) ile yapılan bir çalışmada ortalama seroprevalansın sırayla %63.3 ve %54.7 olduğu görülmüştür. Ayrıca Elazığ'da yapılan başka bir çalışmada koyunlarda hidatidozisin seroprevalansı ELISA ile %62, Western Blot ile %66.4 olarak bulunmuştur (29, 30). Bu çalışmalarda illere göre ortalama seroprevalans ise Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 2.** Sığırlarda hidatidozisin illere göre ortalama seroprevalansı (30).

Çalışma Yapılan İl	Ortalama Seroprevalans (%)
Elazığ	59.9
Malatya	54.1
Muş	81.3
Bingöl	64.6
Erzincan	57.3
Erzurum	43.9
Kars	43.3

### 3.3.2. Dünyada *Echinococcus granulosus*'un Son Konak ve Ara Konaklardaki Yaygınlığı

Dünyanın değişik bölgelerinde yapılan çalışmalarda *E.granulosus*'un bazı yabani ve evcil hayvanlardaki yaygınlığı Tablo 3 ve Tablo 4'te özetlenmiştir (22).

**Tablo 3.** Dünyanın değişik bölgelerinde *E. granulosus*'un bazı yabani hayvan türlerindeki yaygınlığı (22).

Ülke-Bölge	Yabani Domuz (%)	Geyik (%)	Tilki (%)
Kuzey Amerika	-	2	-
Avrupa	3.5	0.013-2.6	1.8-35
Asya Kıtası	-	2.1	5-48.7
Avustralya Kıtası	18.9-49	-	7-50

**Tablo 4.** Dünyanın değişik bölgelerinde *E. granulosus*'un bazı evcil hayvan türlerindeki yaygınlığı (22).

Ülke-Bölge	Evcil Domuz (%)	Köpek (%)	Sığır (%)	Koyun (%)	At (%)	Keçi (%)	Deve (%)
Kuzey Amerika	0.27	-	-	-	-	-	-
Güney Amerika	0.23	2.1-19.7	0.9	0.47-18	-	-	-
Avrupa	0.001-20.8	1-8.1	0.04-70	1.2-100	1.7-9.3	15.4-65	-
Afrika Kıtası	0.003	22-72	0.002-46	0.3-96.3	-	0.05-56.4	2-61.4
Asya Kıtası	7.7	10.2-48	0.05-38.9	2.1-71	-	2.2-12.7	4.7-58.9
Avustralya Kıtası	-	86.9-100	-	0.66	-	-	-

### 3.4. Kistik Ekinokokkozis'in Ekonomik Önemi

Kistik ekinokokkozisin çiftlik hayvanlarında özellikle karaciğer gibi organların imha edilmesi ve verim düşüklüğüne neden olması, insanlarda ise tıbbi tedavi, morbidite ve mortaliteye yol açması bakımından önemlidir. KE'ye 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 büyük ekonomik kayıplar meydana gelmektedir (31, 32).

Nitekim, Türkiye’de Tarım Bakanlığı’nın 1968 yılı bülteninde KE’nin koyun ve keçilerde yaygınlık oranı %30 olarak belirtilmiş ve o yılki fiyatlara göre et, süt ve yapağı kaybından ileri gelen zararın sırasıyla yaklaşık 43, 51 ve 81 milyon, ölümlerden ileri gelen zararın ise 86 milyon lira olduğu bildirilmiştir. Yine parazitli hayvanların vücut direncinin kırılmasından dolayı diğer salgın hastalıklara daha kolay yakalandıkları ve parazitlerin genel olarak hayvanlarda %30 oranında verim düşüklüğüne neden olduğu belirtilmiştir. Sağlıklı koyunlarla karşılaştırıldığı zaman KE’li koyunlarda et veriminde %10.4, yağ veriminde %19, süt veriminde %56-62, yün veriminde %9.5 azalma olduğu ve her 100 koyundan 12’sinin yavru attığı belirtilmiştir (16). Kist hidatikli organların atılmasıyla ülkemizde sadece 1976-1978 yılları arasında hayvansal protein kaybının 3.7 ton ve bu kaybın o günkü parasal değerinin 300 milyon lira dolayında olduğu hesaplanmıştır (28, 31). Konya Et ve Balık Kurumu Kombinasi’nda hidatidozis nedeniyle imha edilen sakatatların neden olduğu mali kaybın 330.250.000 TL (11.000 USD) olduğu saptanmıştır (33). Van Et ve Balık Kurumu Kombinasi’nda 1981-1990 yılları arasında kesimi yapılan 172608 küçükbaş hayvanın %15.9’unun karaciğerinin KE nedeniyle imha edildiği ve milyarlarca liralık bir ekonomik kaybın olduğu bildirilmiştir (34-36). 1992-1993 yıllarında. Kars’ta bakısı yapılan 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) olduğu, bu fiyatlara hayvanlarda oluşan verim düşüklüğünden ileri gelen kayıpların dahil edilmediği bildirilmiştir (37).

Gelir düzeyi düşük olan ülkelerden biri olan Uruguay’da KE’den ileri gelen ekonomik kayıplar araştırılmış ve yıllık olarak imha edilen koyun

karaciğerlerinin 146.300 USD, ortalama %5'lik karkas kaybının 1.440.000 USD, yapağı kaybının 1.418.560 USD, fertilitite bozukluğunun (yavru atma vb.) 2.151.052 USD olmak üzere sadece koyun hidatidozisine bağlı kaybın toplam 5.155.912 USD civarında olduğu, bu oranlara sığırlardaki kayıplar ile insanlardaki sağlık giderleri de eklenince yıllık kaybın 2.9 ile 22.1 milyon USD arasında değiştiği saptanmıştır (32). KE kaynaklı yıllık ekonomik kaybın Ürdün'de 3.9 milyon USD (38), Galler'de ise 1-6.5 milyon USD (39), olduğu kaydedilmiş; yine Ürdün'de yapılan başka bir çalışmada, hidatidozisin enfekte koyun başına neden olduğu mali kaybın 4 USD olduğu hesaplanmıştır (40). İtalya'nın Sardunya bölgesindeki koyunların ortalama %80'inin hidatik kist ile enfekte olduğu, bunun da yıllık 20 milyar İtalyan Lireti ekonomik kayba yol açtığı hesaplanmıştır (41).

### **3.5. Kistik Ekinokokkozis'in Patolojisi**

Hidatik kist bulaşma sonrası genellikle yavaş büyüdüğünden etkisi yıllar sonra açığa çıkabilir. Eğer enfeksiyon erken yaşlarda meydana gelmiş ise, kist hemen hemen konakla aynı yaşta olabilir (17). Patolojik olayların tipi ve derecesi, kistin konaktaki yerleşimine, büyüklüğüne, yerleştiği organ ve konağın tepkisine göre değişebilir. Kistin büyümesi, çevre dokulara ve organlara basınç yaparak, dokuların normal fonksiyonlarını etkileyebilir, hatta atrofiye olmalarına yol açabilir. Eğer parazit sinir sistemindeyse, klinik bulgular enfeksiyonun başlarında ortaya çıkabilir. Kemik dokusunda yerleşmişse, parazitten dolayı kronik bir iç basınç meydana gelir. Yer kısıtlaması olmadığında, hidatik kist daha fazla büyür. Kistler karaciğer, akciğer gibi organlarda ve yumuşak dokularda büyük çaplara ulaşabilir, ancak etkileri daha geç görülür. Hidatik kist içindeki sıvı, basınç altında

olduğundan şiddetli bir travma meydana gelirse, kist duvarı zarar görebilir ve içindeki protoskoleksler çevre dokulara yayılarak sekonder enfeksiyonlara yol açabilir (16).

Ara konakta KE, kist oluşumunun öncesi ve sonrasında farklı immun yanıt oluşturacak patolojik olaylara neden olur. Deneysel olarak protoskoleks enjeksiyonuyla sekonder enfeksiyonlar oluşturularak, immun sistemin yanıtı araştırılmıştır. İntraperitoneal yolla oluşturulan enfeksiyonlarda protoskolekslerin etrafının 3 gün içinde, öncelikli olarak makrofajlar, ayrıca nötrofiller ve lenfositler tarafından çevrelendiği, birinci haftanın sonunda dalak hücreleri tarafından interlökin (IL)-10, IL-4 ve IL-5 sitokinlerin sentezlendiği tespit edilmiş, aynı zamanda, serumda tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ), interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ), IL-6 ve özgül immünoglobulin (Ig) G1 varlığı gösterilmiştir (19). Farelerde yapılan çalışmalarda, *E. granulosus* enfeksiyonunda olduğu gibi, *E. multilocularis* enfeksiyonlarında da, primer ve sekonder enfeksiyon hassasiyetini belirleyen noktalardan bir tanesinin farklı fare türleri olduğu bildirilmiş ve genetik yatkınlığın önemi vurgulanmıştır. IFN- $\gamma$ , IL-2 ve IL-4 sentezleyen hücrelerin, enfeksiyonun erken safhasında kistik oluşumun etrafında olmadığına dikkat çekilirken, enfeksiyonun geç safhasında buldukları tespit edilmiştir. IL-10'un tüm enfeksiyon boyunca varlığını devam ettiren en güçlü sitokin olduğu görülmüştür. Bu sitokin ile birlikte, erken dönemde az miktarda IgM, IgG1, IgG2, IgG3 sentezlenirken, ileri dönemlerde bu antikorların yüksek konsantrasyonlarda sentezlendiği ortaya çıkmıştır (19).

Özellikle insanlarda, enfeksiyonun başlangıç dönemi ile kıyaslandığında, kist oluşumu tamamlandıktan sonra meydana gelen immun cevap dikkat çekicidir.

IgG, IgM ve IgE antikorlarının seviyelerinde artış olduğu tespit edilmiştir. Seropozitif kişilerde özgül antijenlere karşı sentezlenen IgG1 ve IgG4 alt gruplarındaki değişikliklerin tespit edilmesi, bunların tanı amacıyla kullanılmalarının mümkün olduğunu göstermektedir (19). Kist oluşumunu takiben, bu yapının etrafının eozinofiller, nötrofiller, makrofajlar ve fibrositler ile kaplandığı, ancak bu hücrelerin yoğun inflamatuvar cevap oluşturmak yerine, bir fibröz tabaka oluşturarak kisti konak dokudan ayırmayı amaçladıkları tespit edilmiştir. Eozinofili ve IgE sentezi artışları, helmint enfeksiyonlarının genel olarak saptanan sonuçlarıdır. Eozinofilinin özellikle fagosite edilemeyecek kadar büyük kist oluşumu tamamlandıktan sonra, konağın savunma amacıyla verdiği bir yanıt olduğu düşünülmektedir. IgE'ye bağımlı mast hücre cevabının tetiklenmesi ile de eozinofiller kist etrafında toplanarak, antiparaziter etkilerini artırmaktadır. Eozinofillerin fagositik aktiviteleri, nötrofillerden az olmakla birlikte, tıpkı nötrofiller gibi larval dönemdeki parazitin öldürülmesini sağlayabilmektedirler. Özellikle bu etkinin, sitokinler aracılığıyla arttığı da tespit edilmiştir (19).

Diğer pekçok helmint enfeksiyonunda olduğu gibi, KE'de de yardımcı T hücresi Th1 ve Th2 hücrelerinden sitokin salgılanır. Th1 hücrelerinden IL-2, IFN- $\gamma$  ve lenfotoksin sentezi gerçekleşirken, Th2 hücrelerinden IL-4, IL-6, IL-5 ve IL-10 sentezleri gerçekleşmektedir. Hücre kültürü ortamında genellikle birbirleri üzerine inhibitör etkileri olan bu sitokinlerden IFN- $\gamma$ , Th2 hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ederken, IL-10, Th1 hücrelerin sitokin sentezini inhibe etmektedir (19).

Konak, enfeksiyon boyunca hidatik kist sıvısının sağlam olan kist duvarından sürekli olarak sızmasından dolayı *Echinococcus* antijenlerine duyarlı

hale gelir. Kist sıvısında aşırı miktarda bulunan antijenler aniden salınırsa, konakta anafilaktik şok meydana gelir (17, 20). Vurma, çarpma, düşme ve operasyon sırasında kistin patlaması sonucu, genellikle Tip 1 aşırı duyarlılık reaksiyonuna bağlı anafilaksi gelişir. Onkosferden kistin gelişmesi sırasında, parazitik antijenlere karşı IgE antikorları oluşur. Bu antikorlar mast hücrelerine bağlanarak, bu hücreleri duyarlı hale getirir. Kist geliştikten sonra, kist duvarı konakla parazit arasında çok az alışverişe izin verir ve bu yüzden kist patlamadığı sürece konakta herhangi bir reaksiyon görülmez. Ancak kist, herhangi bir nedenle patladığı zaman, kist sıvısı içindeki antijenler, duyarlı mast hücrelerini aktive ederek granüllerinin boşalmasına ve sonuç olarak anafilaktik şoka yol açarlar (16).

### **3.6. Kistik Ekinokokkozis'in Teşhisi**

Pek çok durumda, enfeksiyonun erken safhalarında hastalığın klinik teşhisi zordur. Bundan dolayı, yüksek risk taşıyan toplumlarda geniş çaplı tarama gereklidir. Bu amaçla kullanılan yöntemler ucuz ve oldukça kolaydır. İnsanlarda KE'nin kesin teşhisi, radyoloji/ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi ve magnetik rezonans görüntüleme ile olur (42). Serolojik tanı sadece ilk teşhiste değil, aynı zamanda cerrahi veya kemoterapi sonrasında hastaların takibinde de kullanılır (43, 44, 45, 46, 47). Serumda *E. granulosus* antikorlarının belirlenmesi, antijenlerin belirlenmesinden daha kolaydır. ELISA, diğer immünolojik teşhis yöntemlerinden daha yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bununla birlikte IFAT yöntemi de kullanılmaktadır (48). Hidatik kist sıvısı antijenleri, serolojik tanı için antijen materyalinin genel kaynağıdır (47). Buna ek olarak, hidatik kistin daha önemli

bileşenleri olan lipoproteinlerden antijen AgB ve Ag5, KE'nin serolojik tanısı için yaygın olarak kullanılan ayıraçlardır (48).

### **3.7. Kistik Ekinokokkozis'in Tedavisi**

Karaciğer KE'sinde üç tedavi yöntemi tercih edilmektedir. Bunlar; cerrahi işlem, PAIR (Puncture, Aspiration, Injection, Respiration) ve kemoterapidir.

Ayrıca çeşitli antihelmintik ilaçlar da kullanılmaktadır. Bunlardan başlıcaları, benzimidazol türevi ilaçlar ve praziquanteldir. En yaygın kullanılan benzimidazol türevi ilaçlar, mebendazol ve albendazoldur (49).

### **3.8. *Echinococcus granulosus*'un In vivo ve In vitro Kültürleri**

Konağın sunduğu fiziksel ve kimyasal şartların oluşturulduğu ve gereksinimi duyulan besin maddelerinin dış ortamdan sağlandığı, canlılardaki benzer ortamlarda bakteri, virüs ve parazitlerin saklanması, geliştirilmesi ve üretilmesine *in vitro* kültür adı verilmektedir. Bu alanda, yıllardır helmintler ile yapılan çalışmalarda gelinen nokta bakteri, virüs ve protozoonlardan elde edilen sonuçların gerisinde kalmıştır. Karmaşık bir yapı ve biyolojiye sahip olan helmintlerin, değişik gelişim dönemlerinin farklı fiziko-kimyasal gereksinimleri olması ve bunların yapay ortama sunulma tekniklerinin ayrıcalık göstermesi *in vitro* kültür çalışmalarının karşısındaki en büyük sorundur (50-53).

Bir parazitin herhangi bir gelişim aşamasının *in vitro* kültüründe, gerekli fiziksel ve kimyasal ortamın ve besin maddelerinin sağlandığı optimal bir ortamın steril olarak hazırlanması ve ayrıca kullanılan kimyasal ve organik maddelerde bir örneğin temini arzu edilir. Konak ile parazit arasındaki ilişkilerde ve özellikle

de immünolojik çalışmalarda deneysel hayvan kullanımı geçmişten günümüze kadar gündemde olmasına karşın, bu modelde tam ve net sonuçların her zaman alınamaması ayrıca konak-parazit ilişkilerini düzenleyen mevcut mekanizmaların aydınlatılmasında yetersiz kalması sonucu *in vitro* çalışmalara gereksinim duyulmuştur (52).

*In vitro* kültür; rutin koruma çalışmalarında, son konaklar kullanılmaksızın yumurta ve larvalar ile yapılan çalışmalarda, parazitler üzerinde konak baskısı olmadan değişik gelişim dönemlerinin fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerinin incelenmesinde, antijen elde edilmesi ve toplanmasında, aşı geliştirme çalışmalarında, genetik çalışmalarda, patogeneizde rol oynayan metabolizmaların incelenmesinde, farklı kimyasal madde ve ilaçların etki mekanizmaları ile *in vitro* ortamdaki analizlerinde kullanım alanı bulmaktadır (50-52, 54-58).

*In vitro* kültüre yönelik çalışmaların başlangıç noktası için iki seçenek vardır; bunlar kistler veya yumurtalardır. Yumurta ile yapılan araştırmalarda her zaman sağlığı tehdit edebilen potansiyel bir tehlike söz konusudur. Ayrıca enfekte köpeklerin barındırılmasına yönelik özel yerlere gereksinim duyulması enfekte hayvanlarda dışkıdan yumurta ya da erişkinlerin toplanması veya nekropsilerde bağırsak içeriğinden parazitlerin toplanması olası çevresel kontaminasyon riskini artırmaktadır. Oysa kistler, germinal membranla ya da protoskolekslerle çalışılacağından daima güvenlidir (50, 51, 53, 59, 60).

### 3.9. Kistik Ekinokokkozis’de Deneysel Enfeksiyonlar

Farelere mezenterik ven yoluyla protoskoleks enjeksiyonu yapılarak deneysel bir KE modelinin yapılması planlanmış bir çalışmada (61), altı haftalık 15 adet beyaz fare kullanılmıştır (sekiz erkek, yedi dişi). Enfekte koyun karaciğerinden aseptik olarak alınan hidatik kist sıvısından elde edilen protoskoleksler farelere anestezi altında median hattın laparotomi yapılarak, mezenterik venin periferal kısmından 0,2 ml olacak şekilde enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan sonra protoskolekslerin intraperitoneal saçılmasını önlemek ve hemostazisi sağlamak için beş dakika enjeksiyon noktasına basınç uygulanmıştır. 15 haftanın sonunda tüm hayvanlar nekropsi yapılarak median hat laparatomisi ile hidatik kist yönünden makroskobik ve mikroskobik olarak incelenmiştir. Çalışma süresince tüm hayvanların uygulanan prosedürü iyi tolere ettiği ve hayatta kaldığı görülmüştür. Farelerin 13’ünün (%87) karaciğerinde 1-8 adet arasında ve 1-6 mm çapında hidatik kistler görülmüştür. Mikroskobik olarak kist duvarının non-sellüler bir tabakadan oluştuğu, fibröz bağdoku ve mononükleer hücre infiltrasyonları görülmüştür. Makroskobik olarak hidatik kist tespit edilen 13 farenin iç organlarının histopatolojik incelenmesinde altı fareye ait iç organlarda mikroskobik olarakta gelişmekte olan kistlerin olduğu tespit edilmiştir. İki farede ise ne mikroskobik ne de makroskobik olarak kiste rastlanmamıştır.

Hidatik kist protoskolekslerinin sekonder kist meydana getirme yeteneklerine radyasyonun etkisini araştırmak amacıyla yapılan çalışmada (62), farklı radyasyon dozları vererek fareler gruplara ayrılmış, her radyasyon dozu için 40 fare (20 erkek, 20 dişi), bunun kontrolü olarakta 10 fare (beş erkek, beş dişi) kullanılmıştır. Ayrıca 40 fare (20 erkek, 20 dişi)

herhangi bir işlem uygulanmadan deney sonuna kadar ortak kontrol grubu olarak ayrılmıştır (62).

Denemeler için gerekli hidatik kist protoskoleksleri enfekte koyun karaciğerlerinden temin edilmiştir. 0,1 ml'deki canlı protoskoleks sayısı 100 olacak şekilde ayarlanan süspansiyona 1 ml'de 1000 IU Penicillin, 0,001 gr Streptomycin bulunacak şekilde antibiyotik eklenmiştir. Bütün ışınlamalar normal oda sıcaklığında ve normal atmosfer basıncı altında yapılmıştır. Hidatik kist protoskolekslerinin 5, 10, 20, 30, 40, 60, 80, 100, 150, 200, 250 krad dozlarda irradiye edilmesi kararlaştırılmıştır. Bütün gruplardaki farelere protoskoleks süspansiyonundan 0,3 ml (ortalama 300 protoskoleks) intraperitoneal olarak verilmiştir. Her denemedeki radyasyon gruplarının ve kontrol gruplarının yarısı erken dönemdeki kist gelişimini ve kontrollerle karşılaştırmasını yapmak üzere dördüncü ayda diğer yarısı ise gelişen kistlerin fertil hale gelip gelemeyeceklerini ve bu dönemdeki gelişimi saptamak amacıyla 12. ayda nekropsi yapılmıştır. Dördüncü ayda yapılan nekropsilerde 5, 10, 20, 30, 40 krad dozlarda irradiye protoskoleks verilen gruplarda enfeksiyon oranı sırasıyla %95, 85, 95, 75, 90 olmuş, 60 krad dozdan itibaren enfeksiyon oranında bir düşüş dikkati çekmiştir. Nitekim 60, 80, 100 ve 150 krad dozlarda enfeksiyon oranı sırasıyla %45, 40, 20 ve 5 bulunmuştur. 12. ayda yapılan nekropsilerde 5, 10, 20, 30, 40 krad dozlarda irradiye protoskoleks verilen gruplarda enfeksiyon oranı sırası ile %100, 100, 85, 85, 85 olmuş, bu dönemde de 60 krad dozdan itibaren bir düşüş dikkati çekmiş, 60, 80, 100 krad dozlarda enfeksiyon oranı sırasıyla %50, 42, 10, 23, 52 bulunmuştur. Her iki dönemin bütün

kontrol gruplarında enfeksiyon oranı %100 olmuştur. İki ayrı dönemde nekropsi yapılan radyasyon ve kontrol gruplarındaki farelerin kistli organlarından alınan örnekler patolojik olarak incelenmiş ancak normal ve irradiye protoskolekslerden gelişen kistlerin yapılarında bir farklılık saptanmamıştır.

Deneysel hidatidozisi testislerde oluşturmak amacıyla yapılan bir çalışmada (63), dört erkek tavşan kullanmışlar, %0,85'lik steril fizyolojik tuzlu su içerisinde mililitresinde 100 IU Penisilin ve 0.1 mg Streptomisin içeren solüsyon hazırlamışlar ve bu solüsyon içerisinde 5000 protoskoleksi perkutan olarak enjekte etmişlerdir. Bütün hayvanlara 10. haftanın sonunda uyutularak makroskopik ve mikroskopik muayene için testisleri alınmıştır. Doku blokları 5 µ kalınlığında kesilerek hemotoksilen eozin ile boyanmış, örnekler ışık mikroskopunda 100 ve 200'lük büyütmeyle incelenmiştir. Post operatif periyodun erken döneminde indurasyon veya şişkinlik gibi sistemik ve lokal belirtiler gözlenmemiş, dört tavşan 10 haftalık periyot boyunca hayatta kalmış, ağırlık veya tüy kaybetme gibi herhangi bir sistemik belirti gözlenmemiştir. Makroskopik ve histopatolojik araştırmalarda hidatidozise ait herhangi bir kanıt ortaya çıkmamıştır. Testislerin birinde eozinofilsiz ve lenfositlerin baskın olduğu kronik yangı hücreleri ile fibrotik bir odak görülmüş fakat bu önemsiz olarak değerlendirilmiştir. Mikroskopik bakıda normal testiküler dokunun arasındaki tubullerin biçiminin bozulduğu gözlenmiştir.

Gönenç ve ark. (64), Atatürk Orman Çiftliği Hayvanat Bahçesi'nde etçil hayvanlara gıda temini amacıyla kesilen at ve eşeklerin kesim sonrası kist hidatik yönünden incelemesi yapılmış, 128 atın birinde (%0,78)

karaciğer ve akciğerde hidatik kist bulunmuştur. İncelemesi yapılan 112 eşekte ise kist hidatik enfeksiyonuna rastlanmamıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında at kökenli kist hidatiklerden elde edilen protoskolekslerin beyaz farelerde sekonder kist oluşturma yeteneğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla at karaciğerinde rastlanan unilokuler tipte hidatik kistlerden elde edilen protoskolekslerin canlılığı, morfoloji, hareket, alev hücreleri aktivitesi ve eozin ile boyanıp (ölü) boyanmamalarına (canlı) göre kontrol edilmiştir. Daha sonra yedi adet 25 günlük beyaz fareye ortalama 6000 protoskoleks periton içi yolla verilmiştir. Enfeksiyonun altıncı ayında iki, sekizinci ayında bir olmak üzere toplam üç fare ölmüş, enfeksiyonun 12. ayında geriye kalan dört farenin nekropsileri yapılmıştır. Farelerin hepsinde enfeksiyon gelişmiş olup, sayıları 5-22 arasında değişen 0,1-2,5 cm çapında karın boşluğunda serbest ve karaciğer üzerinde implante sekonder kistlere rastlanmıştır. Yapılan mikroskopik incelemede gelişen sekonder kistlerin protoskoleks taşımadığı belirlenmiştir (64).

Sekonder hidatidozis oluşturmak için iki farklı metodu karşılaştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada (65), 33 tane BALB/c türü fare kullanılmış, bunlardan dokuz tanesi kontrol grubu olarak ayrılmıştır. Doğal olarak enfekte sığır karaciğeri steril koşullarda açılmış, karaciğerdeki kist hidatik içinden çıkarılan ve çapları 0,5-1 cm arasında değişen kız kistleri Fizyolojik Tuzlu Su (FTS) ile yıkanmıştır. 12 farenin (Grup A) periton boşluklarına bu kistlerden ikişer tane yerleştirilmiş ve kapatılmış, kalan 12 fareye (Grup B) ise FTS ile yıkanmış olan protoskoleks solüsyonu 0,1 ml periton içi olarak enjekte edilmiştir. Grup

A'dan üç tanesi bir hafta sonra uyutularak açılmış, yerleştirilen kız kistlerin karın duvarına tutunmuş oldukları görülmüştür. 90 gün sonra bütün gruplardaki fareler açılmış ve kist büyüklükleri karşılaştırılmış daha sonra periton ve batınları dikilerek kapatılmıştır. Grup A'dan iki fare, Grup B'den üç fare çalışma periyodunda kendiliğinden ölmüş, bunların yapılan nekropsisinde Grup A'daki bir farede kistler karın içinde fikse olmuş biçimde görülmüş, diğerlerinde nekroz olduğundan değerlendirme yapılamamıştır. Grup A'da kalan yedi fare açılarak incelendiğinde peritona yerleştirilen kistlerin unilokuler olarak karın duvarına yapıştıkları belirlenmiştir. Kistlerin boyutlarının birbirine yakın olduğu ve yaklaşık 1,5-2 cm çapına ulaştığı görülmüştür. Grup B'de kalan dokuz fare açıldığında batın içerisine ve bağırsaklara yaygın olarak yerleşik, en büyüğü 3 mm çapında olan kistlere rastlanmış, kontrol grubundaki farelerde ise herhangi bir kistik oluşum görülmemiştir (65).

Hidatik kistli koyun karaciğerinden aspire edilmiş sıvının farelerde oküler hidatik kist oluşturma olasılığını saptamak amacıyla yapılan bir çalışmada (66), enfekte koyunların karaciğer ve akciğerlerini toplanmış, hidatik kist sıvısı aspire edilmiş, protoskolekslerin canlılık yönünden muayeneleri yapılmıştır. Protoskolekslerin canlılığı %0,1'lik eozin ile boyanan alev hücre aktivitelere göre belirlenmiş ve protoskolekslerin farklı konsantrasyonları FTS ile aşağıdaki gibi hazırlanmıştır.

1-500 protoskoleks/0,5 ml

2-1000 protoskoleks/0,5 ml

3-2000 protoskoleks/0,5 ml

Fareler birinci grupta 60, ikinci grupta ise 39 olmak üzere iki gruba ve her iki gruptaki fareler üç alt gruba ayrılmıştır (birinci gruptaki farelerin altgruplarında 20 fare ve ikinci gruptaki farelerin altgruplarında 13 fare olacak şekilde). Her iki gruptaki bütün farelere aşağıda belirtilen şekilde ve yoğunlukta protoskoleksleri intraperitoneal ve göz yolu ile enjekte edilmiştir.

1.Grup (Altgrup A) 500 protoskoleks/0,5 ml göz

1.Grup (Altgrup B) 1000 protoskoleks/0,5 ml göz

1.Grup (Altgrup C) 2000 protoskoleks/0,5 ml göz

2.Grup (Altgrup A) 500 protoskoleks/0,5 ml intraperitoneal

2.Grup (Altgrup B) 1000 protoskoleks/0,5 ml intraperitoneal

2.Grup (Altgrup C) 2000 protoskoleks/0,5 ml intraperitoneal

20 hafta sonra farelerin tümü dietileter ile anesteziye alınmış, birinci gruptaki farelerin gözleri cerrahi olarak çıkarılmıştır. Birinci gruptaki farelerin gözleri, ikinci gruptaki farelerin ise periton ve karın boşluğu hidatik kist yönünden incelenmiştir.

Birinci gruptaki 60 fareden 10 tanesi herhangi bir belirti göstermeksizin 20 haftadan önce ölmüş, kalan 50 fare körlük ve ekzoftalmus yönünden muayene edilmiştir. Birinci altgruplardaki beş farede gözde ekzoftalmus görülmüş (ikisi altgrup A'da, üçü altgrup C'de), nekropsiden sonra gözlerde hidatik kist saptanmamıştır. 39 vakadan oluşan ikinci grupta yedi fare herhangi bir belirti göstermeksizin 20 haftadan önce ölmüş, kalan 32 farenin karaciğer ve peritonu muayene edilmiş, altı farede hidatik kist görülmüş (%18,8), altgrup B'de iki farede, altgrup C'de ise dört farede hidatik kist tespit edilmiştir. Kalan 26 farede hidatik kiste rastlanmamıştır. Her farede en az 2 ve en fazla 13 kist tespit edilmiş,

karaciğer ve peritondan izole edilen kistlerin büyüklüğü 0,3-2 mm arasında değişiklik göstermiştir. Neticede, farelerde intraperitoneal uygulamada hidatik kist oluşturmak için verilmesi gereken en iyi protoskoleks konsantrasyonunun 2000 protoskoleks/0,5 ml olduğu gösterilmiştir (66).

Farelerde sekonder hidatidozis oluşturmak için iki farklı metodu karşılaştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada (67), 160 adet fare dört gruba ayrılmış ve her grupta bulunan 40 fareye aşağıdaki yöntem ve yoğunluklarda protoskoleks enjekte edilmiştir.

Grup A: 2000 protoskoleks/intraperitoneal enjeksiyon

Grup B: 1000 protoskoleks/intraperitoneal enjeksiyon

Grup C: 2000 protoskoleks/subkutan enjeksiyon

Grup D: 1000 protoskoleks/subkutan enjeksiyon

Protoskoleksler, enfekte bir insandan cerrahi olarak alınan hidatik kist sıvısından elde edilmiştir. Mililitresinde 100 IU Penisilin ve 200 µg Streptomisin bulunan FTS ile protoskolekslerin iki farklı konsantrasyonu hazırlanmış (0,5 ml/2000 protoskoleks ve 0,5 ml/1000 protoskoleks), fareler düzenli olarak kontrol edilmiş, aylık dönemler halinde her gruptan dört fareye nekropsi yapılarak kist yönünden incelenmiştir. Kist sıvısı protoskoleksler yönünden, kist duvarı ise hemotoksilen eozin ile boyandıktan sonra histolojik olarak muayene edilmiştir. Uyutulan farelerden kan örnekleri alınmıştır. ELISA ile IgM ve IgG antikorlarının tespiti için Grup A'da 2-3 ay sonra farelerin %80'inde 1-2 mm çapında kistler gelişmiş, 6-7 ay sonra karınları gergin bir vaziyet almış ve yedinci ayın sonunda tüm fareler ölmüştür. Grup B'de farelerin hiçbirinde kist oluşumu gözlenmemiştir. Grup C'deki farelerin tümünde üç ayın sonunda deri aşağıdan yukarıya doğru

palpe edildiğinde abdominal duvarda artan ölçülerde kistler hissedilmiştir. Bu gruptaki farelerin bazıları sekiz ay bazıları ise dokuz ay canlı kalmıştır. Grup D’de bazı farelerde üç ayın sonunda giderek artan ölçülerde 2-3 cm’ye kadar büyüklükte kistler görülmüştür. Bu gruptaki tüm fareler 10. aya kadar hayatta kalmıştır. Kistin histolojik muayenesinde ve kistten aspire edilen sıvıda protoskolekslerin varlığı ortaya konmuştur (67).

Sekunder enfeksiyonun yeni bir modelinin uygulandığı başka bir çalışmada, protoskoleksten kiste parazitin farklılaşması ile enfekte konağın lokal immun cevabı araştırılmıştır (68). Bu yeni yöntemde silikon difüzyon kamara içindeki protoskoleksler farenin peritoneal boşluğu içine implante edilmiş, kamara içerisindeki total parazit sayısının %2-3’ünün 100 gün sonra canlı kist haline geldiği saptanmıştır (68).

Sekunder hidatik kistlerden elde edilen 0,2-3 mm çapındaki kız kistlerin deneysel enfeksiyonda kullanıldığı bir çalışmada (69), deneysel enfeksiyon başlangıcından bir yıl sonra kız kistler farelerden toplanmış, yeni farelere transfer edilmiş ve enfeksiyondan 9-14 ay sonra yapılan nekropside kız kist formasyonları ve büyük kistler içinde gelişen fertil skoleksler saptanmıştır (69). Neticede farelerde deneysel hidatidozis oluşturmak için, kız kistlerin de protoskoleksler gibi başarıyla kullanılabilceği iddia edilmiştir (69).

At orjinli olan ve farelere pasajlanan, ortalama 1 mm veya daha küçük çaptaki steril hidatik kistler deneysel enfeksiyondan 6-13 ay sonra farelerden toplanmış ve parazitsiz farelere transfer edilmiştir (70). Bu küçük çaptaki kistler enfeksiyondan 9-14 ay sonra büyük kist ve kız kist

formasyonu olarak gelişmiştir. Farelerde kistlerin büyüklüğünün ayda ortalama  $0,30\pm 0,03$   $\mu$ l ağırlıklarının  $0,27\pm 0,02$  mg arttığı tespit edilmiştir. Enjekte edilen kistlerin sayısı ile total parazitin ağırlığı arasında ters bir orantı bulunmuştur. Çalışmanın 90. gününde fareler cerrahi olarak açılmış, abdomen içerisinde kist yerleşimleri direkt olarak görülmüş ve tekrar kapatılmıştır (70).

Balb/c türü farelere hem protoskoleks verilmiş ve hem de kız kist implantasyonu yapılmış, kız kistlerin dört ay sonra canlılıklarını koruduğu gösterilmiştir (71).

Bu çalışma, *E. granulosus* ile enfekte koyunların karaciğerlerindeki hidatik kistlerden elde edilen protoskolekslerin, Albino Balb/c farelere oral, intraperitoneal, subkutan ve göz içi yollarla verilmesiyle deneysel hidatidozis oluşturulması, oluşacak kistlerin makroskopik ve mikroskopik olarak incelenmesi ve serolojik yanıtın belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

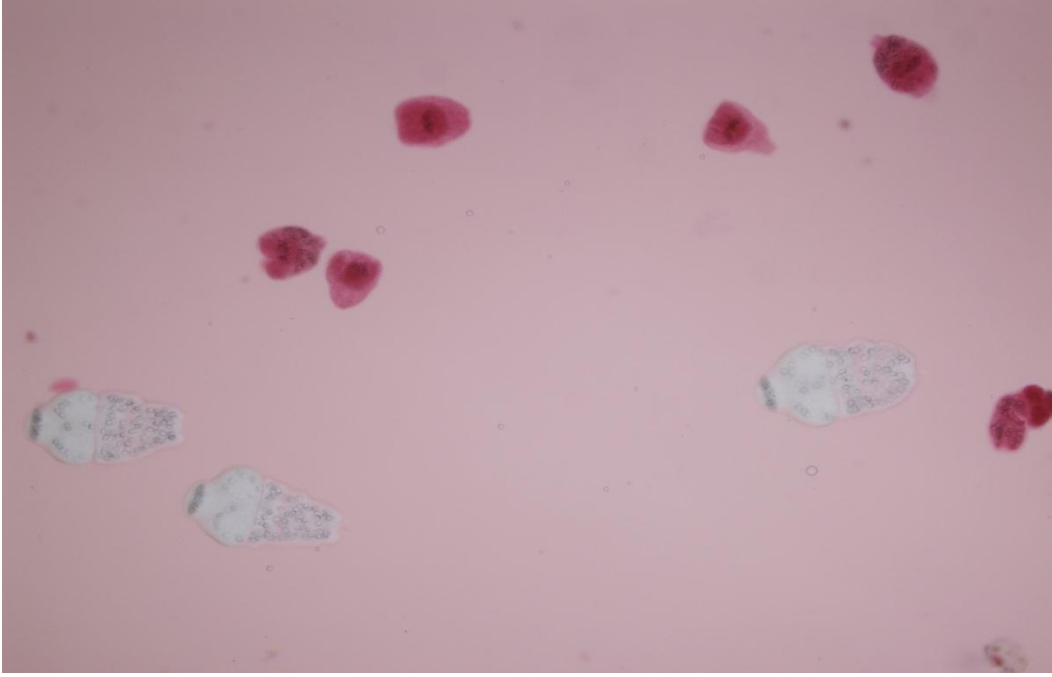
## 4. GEREÇ VE YÖNTEM

### 4.1. Protoskolekslerin Elde Edilmesi

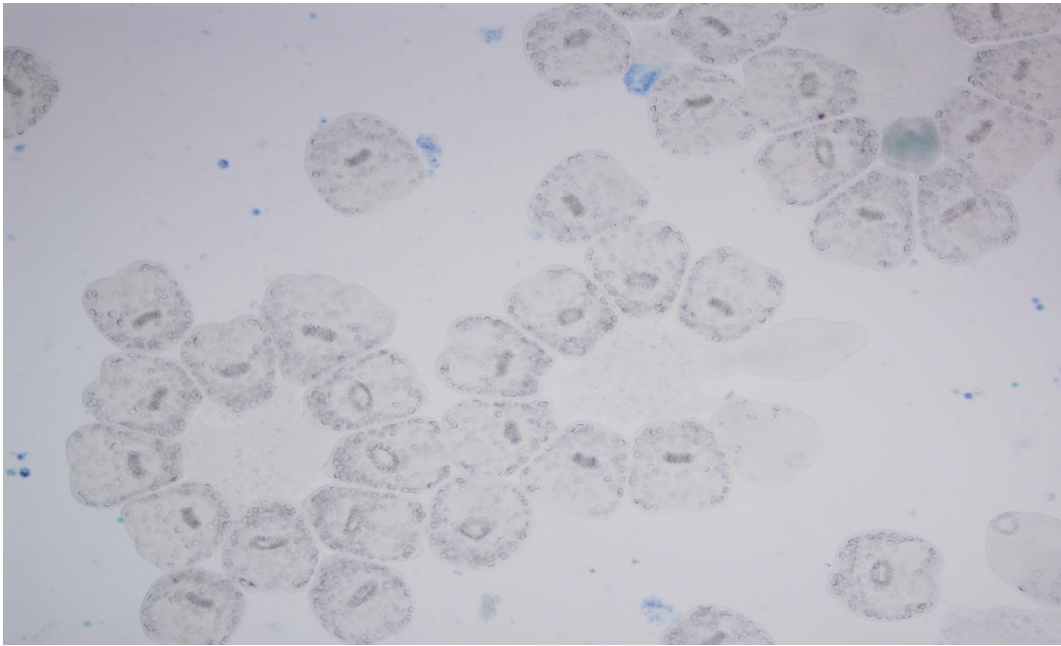
Hidatik kist sıvısı, *Echinococcus granulosus* ile enfekte olan bir koyunun karaciğerinden (Şekil 4) aseptik olarak steril tüplere alındı ve 1000 g'de 5 dakika santrifüj edilerek, protoskolekslerin çökmesi sağlandı. Protoskoleksler üzerindeki kist sıvısı atılarak birer damla protoskoleks solüsyonu ayrı ayrı lamlarda birer damla %0,1'lik eozin ve %0,03'lük metilen mavisi ile karıştırıldı. Bir dakika oda ısısında bekletildikten sonra protoskoleksler canlılıkları yönünden muayene edildi ve boya alanlar ölü, almayanlar canlı olarak değerlendirildi (Şekil 5, 6).



Şekil 4. Hidatik kist ile enfekte koyun karaciğeri.



**Şekil 5.** % 0,1'lik Eozin ile boyamada canlı ve ölü protoskoleksler.



**Şekil 6.** % 0,03'lük Metilen Mavisi ile boyamada canlı protoskoleksler.

Muayene sonucu %90 ve üzeri canlılık tespit edilen protoskoleks solüsyonları deneysel enfeksiyon oluşturmak için kullanıldı. 20 µl protoskoleks solüsyonu lam üzerine alınarak ışık mikroskopunda protoskolekslerin sayımı yapılarak mililitrede bulunan protoskoleks sayısı saptandı. Mililitresinde 2000 protoskoleks olacak şekilde FTS ile sulandırılan bu karışıma, 100 IU/ml Penicillin G (potassium salt) ve 200 µg Streptomycin Sulphate eklendi.

#### **4.2. Deney Düzenegi**

Araştırma için Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Etik Kurulu Başkanlığı'ndan 03.03.2011 tarihinde (Karar No:62) etik kurul onayı alındı.

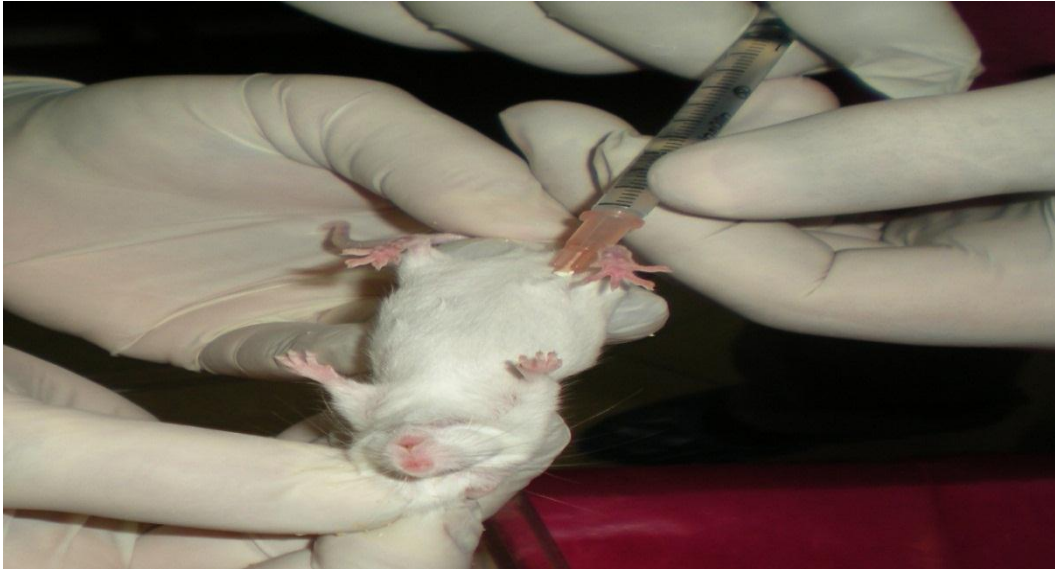
Bu çalışmada ortalama üç aylık, erkek ve dişi karışık olmak üzere toplam 35 albino Balb/c fare (25-30 g) kullanıldı. Dört çalışma ve bir kontrol grubu olmak üzere toplam beş grup oluşturuldu. Her grup için rastgele seçilen yedi fare kullanıldı. Hazırlanan protoskoleks solüsyonu çalışma grubundaki farelere intraperitoneal, subkutan, göz ve oral yollarla verildi (Tablo 5).

**Tablo 5.** Çalışma ve kontrol gruplarında verilen solüsyonlar ve verilmiş yolları.

Grup Adı	Verilen Solüsyon	Verilen Miktar	Veriliş Şekli	Denek Sayısı
<b>İntraperiton</b>	2000 protoskoleks/ml	0,5 ml	Periton içi enjeksiyon (Şekil 7)	7 (3 erkek, 4 dişi)
<b>Subkutan</b>	2000 protoskoleks/ml	0,5 ml	Sırt bölgesinden deri altı enjeksiyon (Şekil 8)	7 (4 erkek, 3 dişi)
<b>Göz</b>	2000 protoskoleks/ml	0,2 ml	Göz içi enjeksiyon (Şekil 9)	7 (4 erkek, 3 dişi)
<b>Oral</b>	2000 protoskoleks/ml	0,5 ml	Gıda sondası ile mide içerisine (Şekil 10)	7 (3 erkek, 4 dişi)
<b>Kontrol</b>	FTS	0,5 ml	Periton içi enjeksiyon (Şekil 11)	7 (2 erkek, 5 dişi)

Kontrol grubunda ise farelerde aynı stresi oluşturabilmek için sadece FTS solüsyonu intraperitoneal olarak enjekte edildi. İntraperiton, subkutan ve göz grubundaki farelere protoskoleks solüsyonu sırasıyla Şekil 7, 8 ve 9’da gösterildiği gibi, ince uçlu iğne ile oral gruptaki farelere ise Şekil 10’da gösterildiği gibi gıda sondası ile mide içerisine verildi. Kontrol grubundaki farelere ise Şekil 11’de gösterildiği gibi periton içerisine FTS solüsyonu enjekte edildi. Fareler her grup ve cinsiyet için ayrı ayrı kafeslere alındı (intraperiton-dişi, intraperiton-erkek vb.). Deney süresince (5 ay) farelerin plastik kafeslerde, standart pelet yem ve musluk suyu ile ad libitum beslenmeleri sağlandı ve günlük rutin kontrolleri yapıldı. Günlük kontroller sırasında herhangi bir nedenle ölmüş olduğu tespit edilen farelere nekropsi yapıldı. Makroskopik muayene ile ve histolojik doku kesitlerinde mikroskopik olarak kistler arandı. Deney süresinin sonunda canlı kalan fareler dietil eter ile anesteziye alındıktan sonra servikal dislokasyon ile ötenazi yapıldı. İntraperiton, subkutan, oral ve kontrol grubundaki

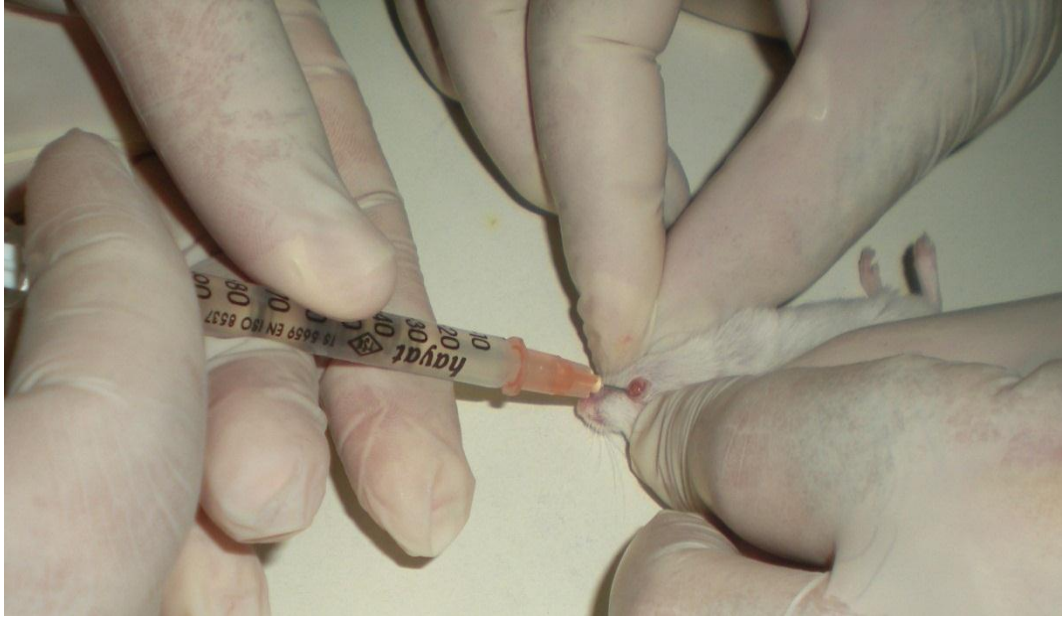
farelerden kan ve iç organ (akciğer, karaciğer, kalp, dalak, böbrek, beyin) rnekleri, göz grubundaki farelerden ise bu örneklere ek olarak göz küreleri alındı. Alınan rnekler, kist hidatik yönünden hem makroskobik hem de mikroskobik olarak incelendi. Deney sonunda canlı kalan farelerden nekropsi sırasında alınan kan örnekleri 3000 g'de 5 dakika santrifüj edildi ve kan serumları ayrılarak serolojik yanıtın belirlenmesi amacıyla, indirekt-ELISA yöntemiyle kist hidatik protoskolekslerine karşı oluşan antikor yanıt araştırıldı.



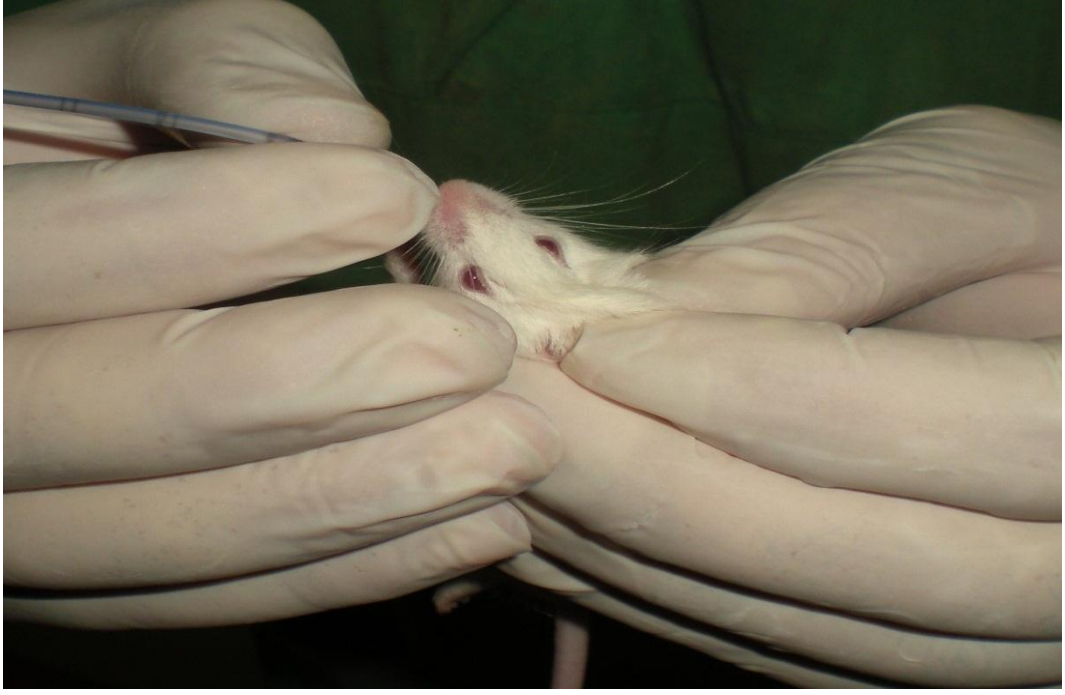
**Şekil 7.** Farelerde protoskoleks solüsyonunun intraperitoneal enjeksiyonu.



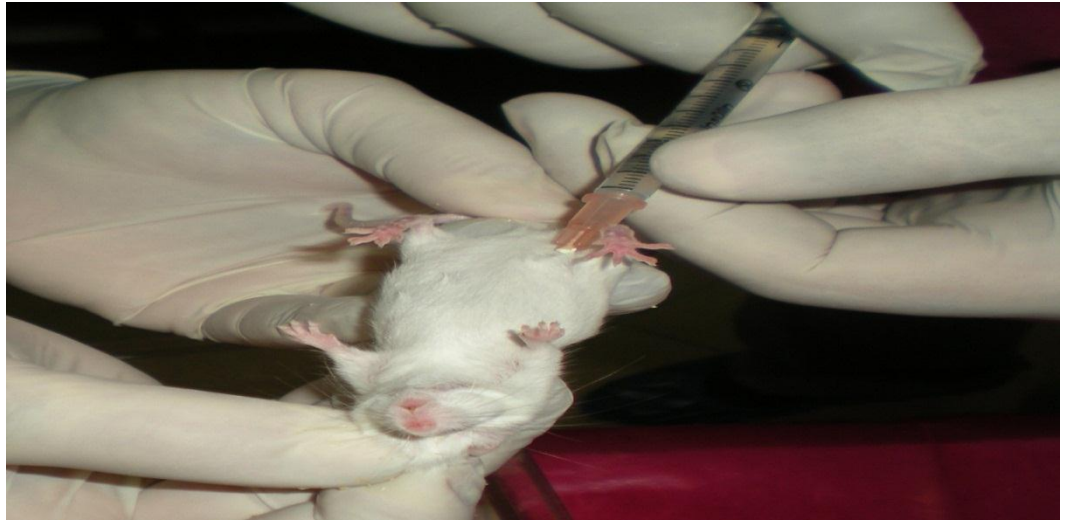
**Şekil 8.** Farelerde protoskoleks solüsyonunun subkutan enjeksiyonu.



**Şekil 9.** Farelerde protoskoleks solüsyonunun göz içi yolla enjeksiyonu.



**Şekil 10.** Farelerde protoskoleks solüsyonunun oral yolla verilmesi.



**Şekil 11.** Kontrol grubundaki farelere intraperitoneal FTS enjeksiyonu.

### **4.3. Patolojik İncelemeler**

Deney süresi içerisinde ölmüş olduğu tespit edilen ve deney süresi sonunda nekropsisi yapılan kontrol ve çalışma gruplarındaki tüm fareler incelendi.

Toplam 35 fareye ait organ ve hidatik kist örnekleri alındı. İntraperitoneal, subkutan, oral ve kontrol gruplarından iç organ örnekleri, göz grubunda ise bu organlara ek olarak her iki göz küresi bütün olarak alındı. Alınan örnekler %10'luk nötral formol solüsyonunda tespit edildi. Daha sonra rutin alkol-ksilol serilerinden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı. Her bir bloktan 5 µ kalınlığında kesitler alınarak, Hematoksilen-eosin ve Masson Trichrome (Biostain- UK) ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi (72).

#### **4.4. İndirekt-ELISA Yöntemi**

##### **4.4.1. Antijen Elde Edilmesi**

*E. granulosus* ile enfekte koyun karaciğerinden alınan hidatik kist sıvısından kısmi purifiye kist sıvısı antijeni (AgB'den zengin) hazırlandı. Bu amaçla hidatik kist sıvısı homojenize edildikten sonra steril şartlarda aspire edildi. Steril tüplere toplanan hidatik kist sıvısı 5000 g'de 10 dakika santrifüj edilerek protoskoleks ve diğer partiküllerin çökmesi sağlandı. Elde edilen supernatant hem Ag5 hem de AgB'yi içermektedir. Bu supernatant 1 gece +4°C'de 0.005 M acetat buffer (pH=5.0)'da diyaliz edilip, daha sonra +4°C'de 15000 g'de 30 dakika santrifüj edildi. Supernatant atılıp altta kalan pellet toplandı. Daha sonra pellet 10 ml 0.2 M fosfat buffer (pH=8.0)'da çözdürüldükten sonra bu solüsyon 15 dakika su banyosunda tutuldu ve +4°C'de 20000 g'de 1 saat süreyle santrifüj edildi. Elde edilen pellet atılıp AgB'den zengin supernatant porsiyonlara ayrıldı ve kullanılmaya kadar -20 °C'de saklandı.

#### 4.4.2. İndirekt-ELISA Prosedürü

Antijenlerin optimum dilusyonu 0.05 M Karbonat/Bikarbonat tamponu ile yapıldı ve ELISA pleytinin her bir kuyucuğuna 100 µl konularak bir gece +4°C’de bekletildi. Bloklama işlemi için 1X PBS (phosphate buffer saline) ile sulandırılan %5’lik yağsız süt tozu kullanıldı. Serumlar 1/200, konjugat (anti-mouse IgG peroxidase conjugate Santa Cruz Biotechnology Katalog No: SC-358914) ise 1/7500 oranında sulandırıldı. Yıkama ve sulandırma işlemleri için ise %0.02 Tween-20 içeren PBS kullanıldı. Substrat ve 15 dakika sonra durdurma solüsyonu eklenen pleyt, ELISA okuyucusunda (Organon Teknika ELISA Reader) 450 nm dalga boyunda okutuldu. Sonuçlar absorbans değerleri olarak alındı, negatif kontrollerin absorbans değerlerinin aritmetik ortalaması +2 standart sapma ( $X+2SD$ ) değerinin (eşik değer=cut-off) üstü pozitif olarak kabul edildi. Metod, Şimşek ve ark. (30) bildirdiği şekilde uygulandı.

## 5. BULGULAR

*E. granulosus* protoskolekslerinin farelere farklı yollarla verilmesiyle oluşturulan deney gruplarındaki makroskobik ve serolojik bulguların gruplara göre dağılımı Tablo 6'da verildi.

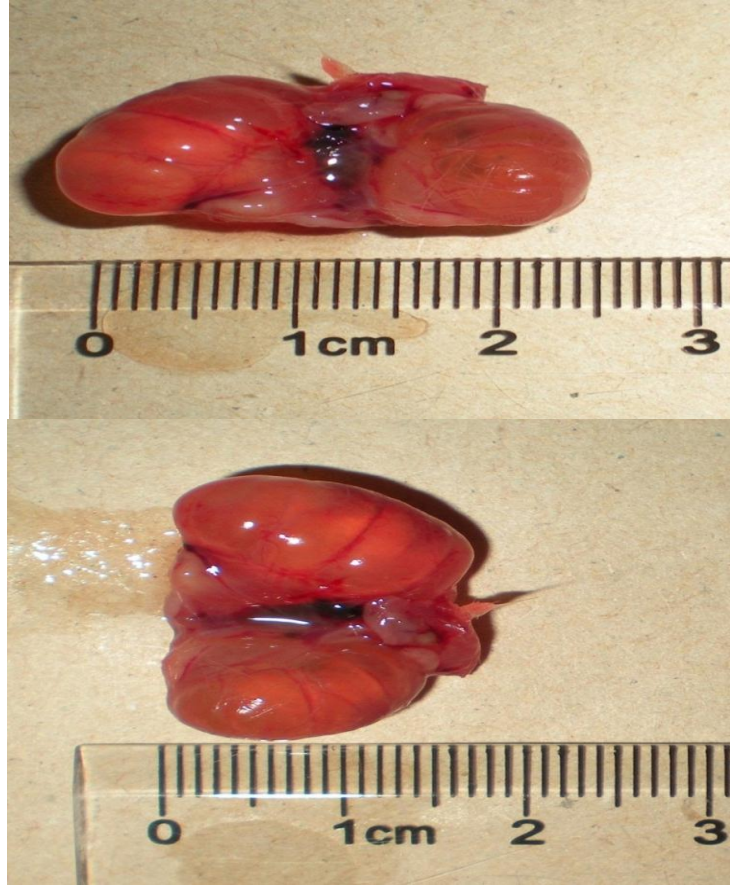
**Tablo 6.** Kontrol ve çalışma gruplarında makroskobik ve serolojik bulgular.

Grup Adı	Hidatik kist tespit edilen fare sayısı	Hidatik kist oluşan organlar-	Hidatik kist tespit edilen farelerden kan serumu alındı mı?	Deneyi tamamlayan ve kan serumu alınan fare sayısı	İndirekt-ELISA Sonucu
İntraperiton	1	1.Sol ve sağ böbreklere lokalize	ALINAMADI	1	1 Negatif
Subkutan	3	1. Sırt bölgesinde deri altında serbest, 2. Sırt bölgesinde deri içerisine lokalize, 3. Sırt bölgesinde intramuskuler yerleşimli	ALINDI	4	3 Pozitif 1 Negatif
Göz	-	-	-	7	5 Pozitif 2 Negatif
Oral	-	-	-	6	3 Pozitif 3 Negatif
Kontrol	-	-	-	6	6 Negatif

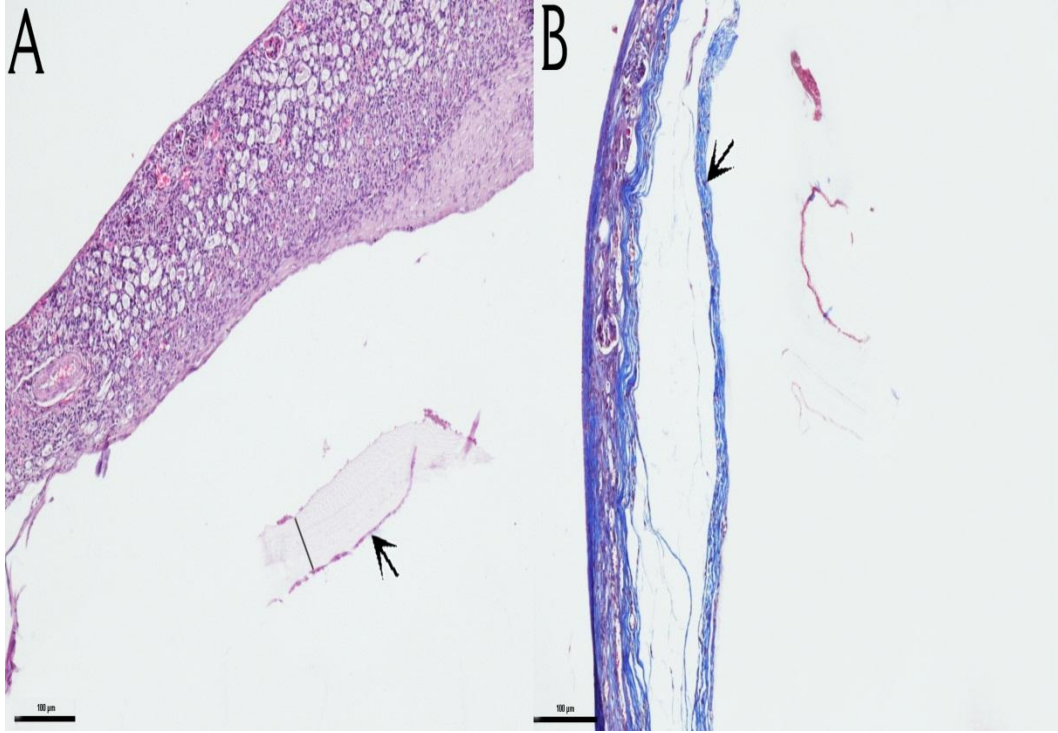
**I. Grup (İntraperiton Grup):** Bu deney grubunda çalışma sürecinde farelerden üçü (bir erkek, iki dişi) 14. gün, biri (erkek) 15. gün, biri (dişi) 60. gün ve biri de (dişi) 65. gün kafesinde ölü olarak bulundu. Çalışma sürecini sadece bir fare (erkek) tamamladı.

Çalışma sürecini gerek tamamlayamayan gerekse tamamlayan farelerin yapılan nekropsilerinde iç organlar makroskobik ve mikroskobik olarak incelendi

ve bu grupta sadece deney sürecinin 60. gününde ölen farenin sağ ve sol böbreklerine lokalize olmuş 2-2,5 cm boyutlarında hidatik kistler saptandı (Şekil 12), ve bu kistlerin fertil olmadığı belirlendi. Deney sürecini tamamlayamadığından bu fareden kan serumu örneği alınamadı ve serolojik olarak incelenemedi. Her iki böbreğe lokalize olduğu gözlenen kistlerin histopatolojik incelemesinde kist nedeniyle her iki böbreğin korteks kısmının atrofik bir görünüm sergilediği ve kistik yapıların fibröz bir doku ile böbreklerden ayrılmış olduğu saptandı (Şekil 13).



**Şekil 12.** İntraperiton grubunda her iki böbreğe lokalize olmuş hidatik kistin makroskobik görünümü.



**Şekil 13.** Böbreklere lokalize olmuş hidatik kistin mikroskopik görünümü. Germinal membran (ok) ve Laminar tabaka (—), Hematoksilen Eosin (A). Fibröz doku (ok). Masson Trichrome (B).

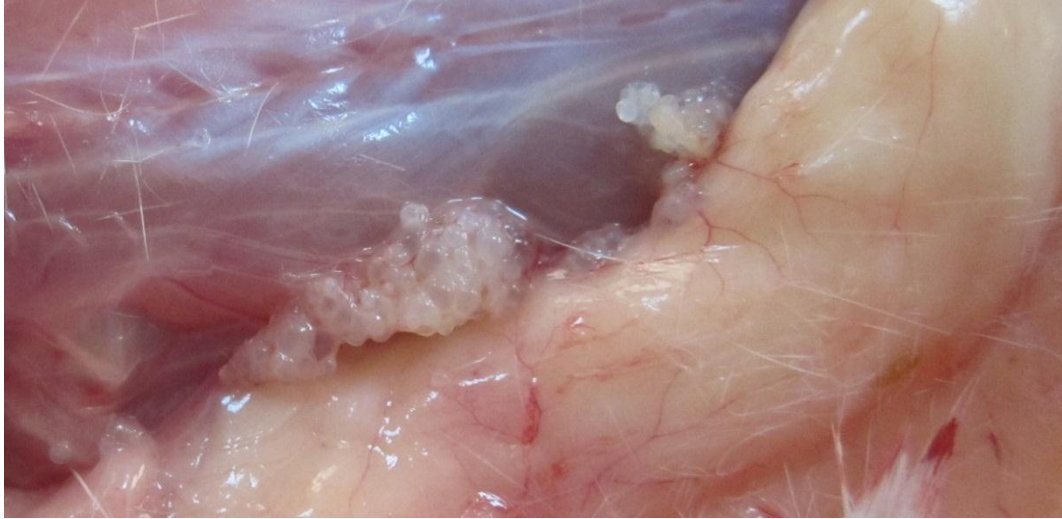
Deney sürecini bu grupta bir fare canlı olarak tamamladı. Bu grupta canlı kalan tek farenin nekropsisinde ve histopatolojik incelemesinde hidatik kiste rastlanmadı, alınan kan serumu örneği indirekt-ELİSA yöntemiyle incelendi ve antikor yanıt negatif bulundu.

**II. Grup (Subkutan Grup):** Bu deney grubunda çalışma sürecinde farelerden altıncı, dokuzuncu ve 39. günlerde birer erkek fare kafesinde ölü bulundu. Çalışma sürecini dört (bir erkek, üç dişi) fare tamamladı.

Çalışma süresi sonunda farelerin tümüne nekropsi yapılarak, iç organ örnekleri makroskopik ve hazırlanan doku kesitlerinde de mikroskopik olarak

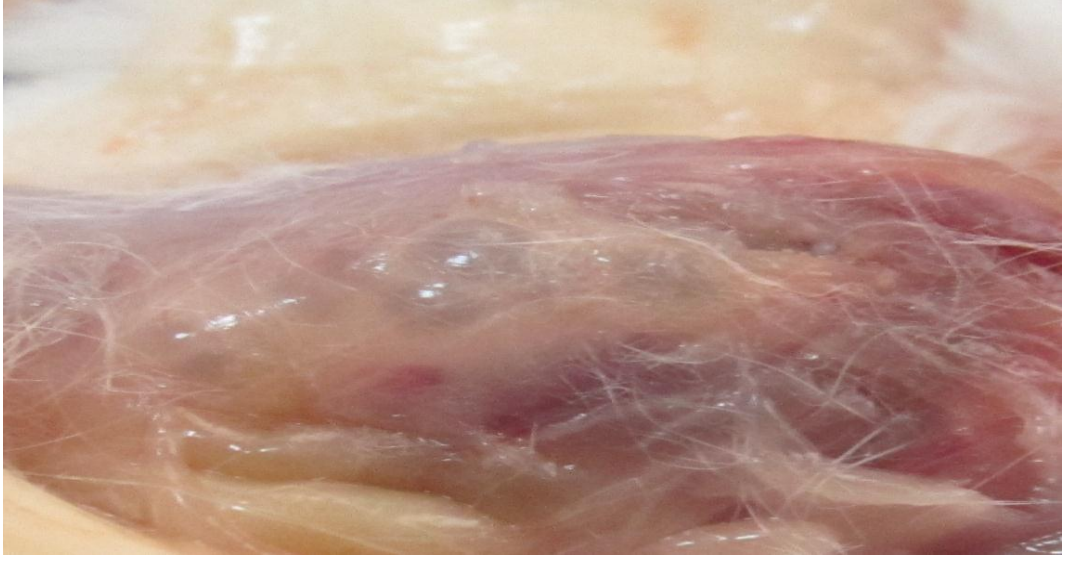
hidatik kist yönünden incelendi. Çalışma sürecini tamamlayamayan üç farenin iç organ örneklerinde hidatik kist yapısı makroskobik ve mikroskobik olarak tespit edilemedi. Deney süreci sonunda subkutan grupta canlı kalan dört farenin (bir erkek, üç dişi) nekropsisinde, üç farede (bir erkek, iki dişi) makroskobik olarak hidatik kist tespit edildi, yapılan mikroskobik incelemelerde bu çalışma grubunda oluşan kistlerin fertil olmadıkları belirlendi. Bir farede (dişi) ise hidatik kist yapısı makroskobik ve mikroskobik olarak tespit edilmedi.

Hidatik kist oluşmuş bir erkek farede kistlerin sırt bölgesinde deri altı bağdokuya bitişik, serbest bir şekilde, 1-2 mm çapında ve çok sayıda olduğu gözlemlendi (Şekil 14). Diğer organların makroskobik bakışında hidatik kiste rastlanmadı.

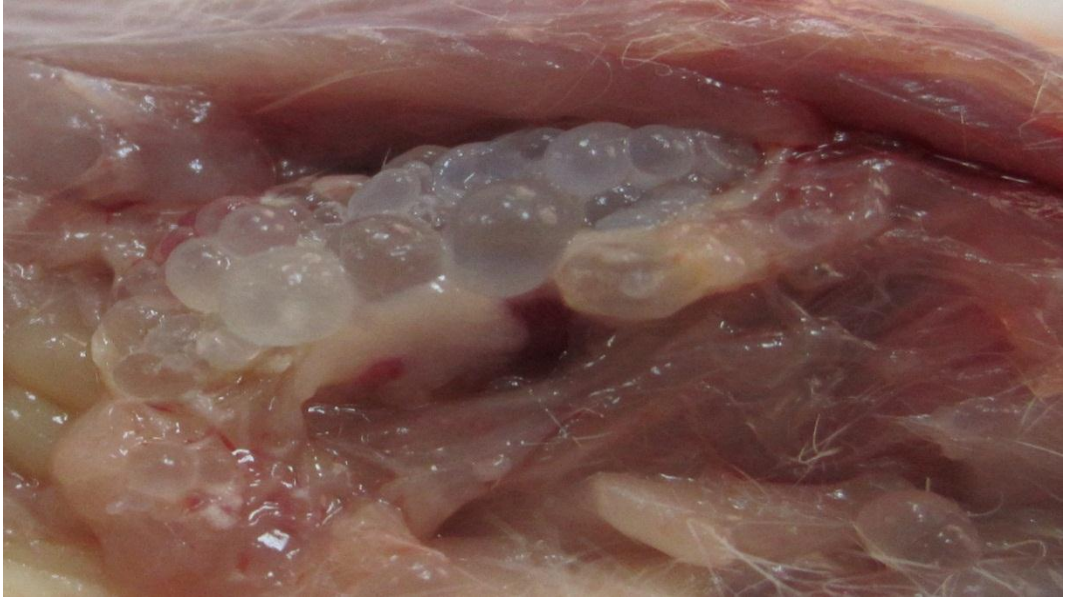


**Şekil 14.** Subkutan grupta derialtı bağdokuya bitişik bir şekilde gelişmiş hidatik kistler.

Hidatik kist oluşmuş diğer bir dişi farede ise hidatik kistin yine sırt bölgesinde geliştiği fakat bu gelişen kistlerin intramuskuler olarak lokalize olduğu tespit edildi (Şekil 15) ve sırt kaslarına kesitler yapılarak kistler kas içerisinden çıkarıldı (Şekil 16).



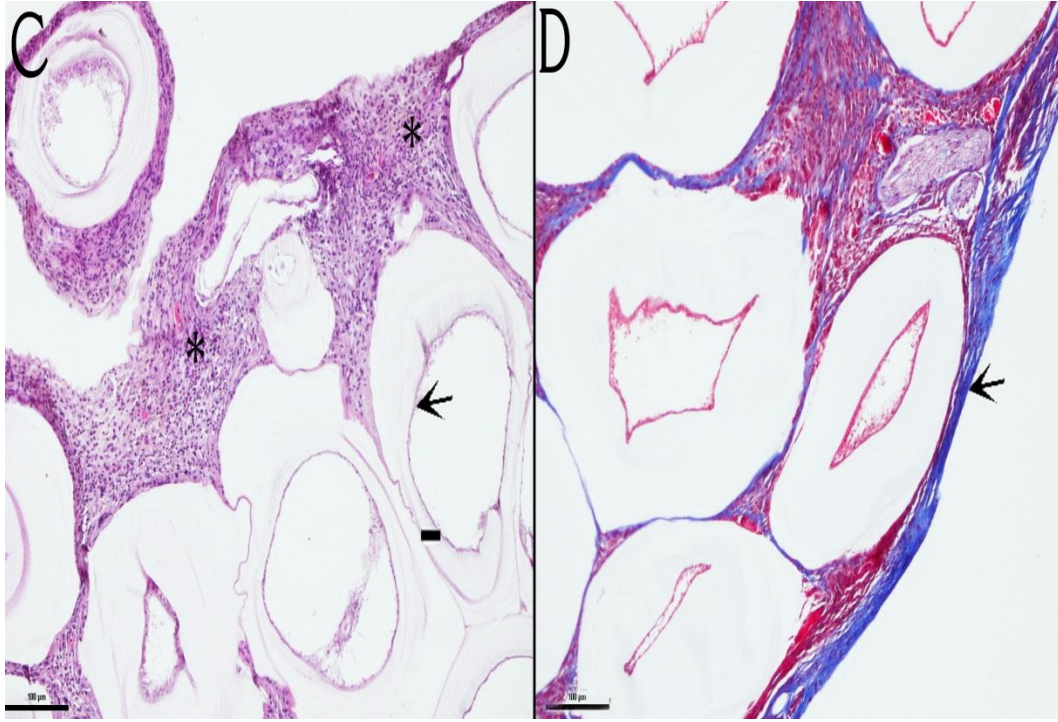
**Şekil 15.** Sırt kasları içerisinde gelişmiş hidatik kistler.



**Şekil 16.** İntramuskuler olarak lokalize olmuş hidatik kistler.

Kist oluşmuş her iki (bir erkek, bir dişi) farenin kiste ait histopatolojik incelemesinde benzer şekilde, bir arada bulunan küçük kistik yapıların arasında histiyosit, lenfosit ve eozinofilik hücrelerden oluşan yangısal hücre

infiltrasyonlarının bulunduğu görüldü. Ayrıca toplu haldeki bu küçük kistik yapılar arasında yer yer fibroblast-fibrositlere rastlanırken, kitlenin dıştan fibröz bir doku ile kuşatıldığı gözlemlendi (Şekil 17). Yapılan mikroskopik incelemelerde kistlerin fertil olmadıkları anlaşıldı.



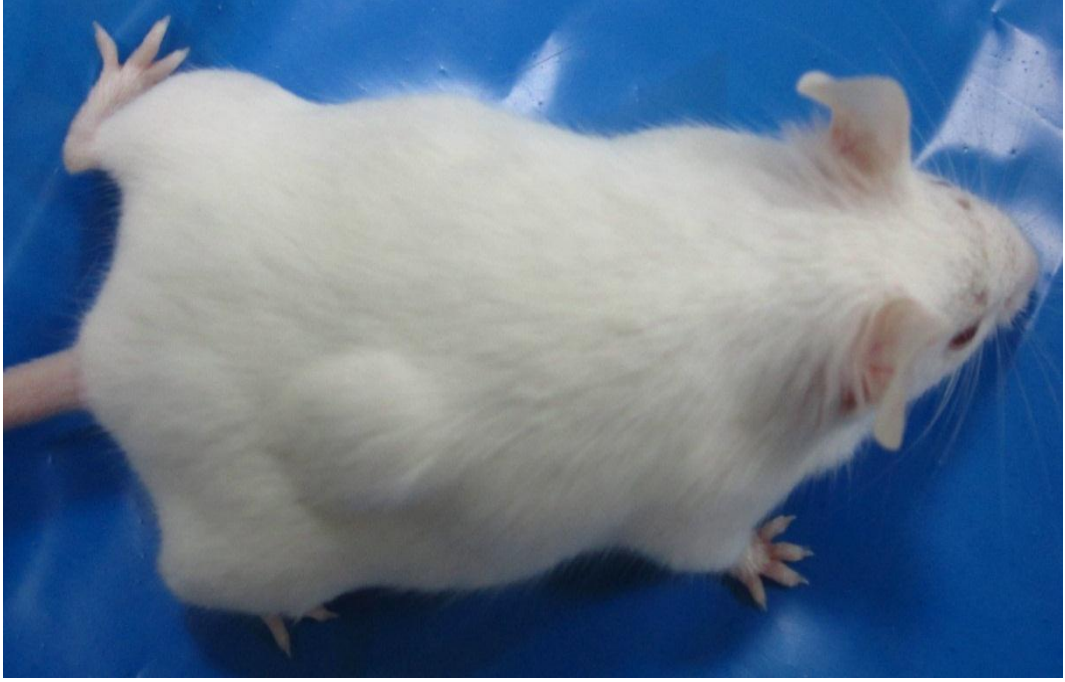
**Şekil 17.** Hidatik kistlerin histopatolojik görünümü. Germinal membran (ok), Laminar tabaka (—) ve yangısal hücre infiltrasyonları (\*), Hematoksilen Eosin (C). Fibröz kapsül (ok), Masson Trichrome (D).

Bu gruptaki hidatik kist oluşmuş diğer bir dişi farede ise nekropsi yapılmadan önce farenin sırt bölgesinde 1-1,5 cm çapında ve 0,5-1 cm yüksekliğinde bir kitlenin olduğu görüldü ve bu oluşumun hidatik kist olabileceği düşünülerek nekropsiden önce fotoğraflandı (Şekil 18, 19). Nekropsi sonrası şüphe edilen yapının 1-2 mm çapında ve çok sayıda hidatik kistten oluştuğu ve sırt bölgesinde deri altında sabit bir şekilde geliştiği tespit edildi (Şekil 20). Diğer

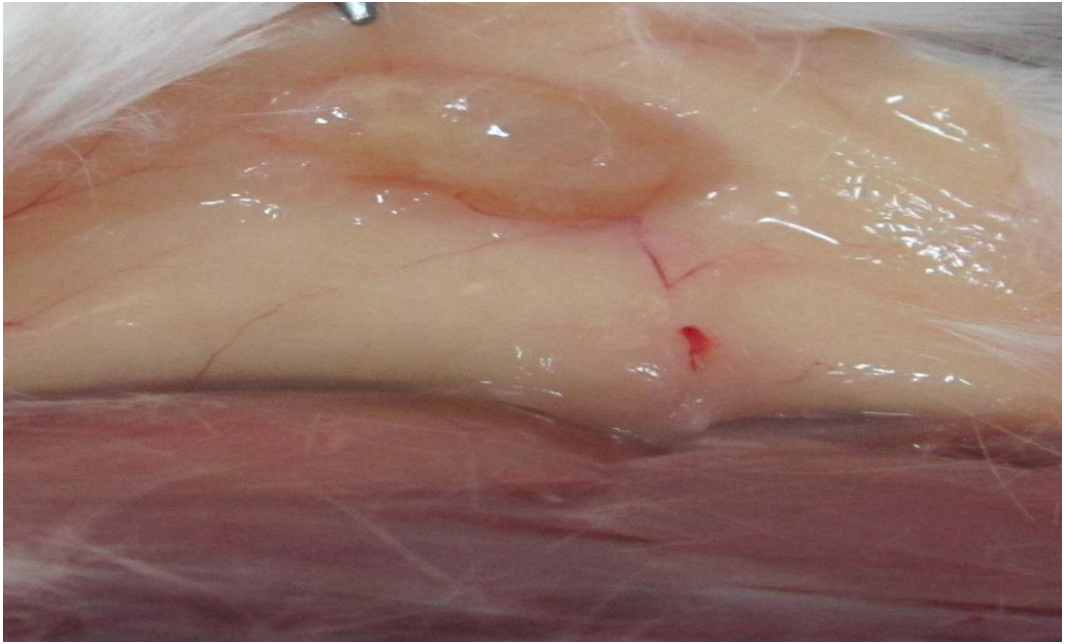
organların makroskopik ve mikroskopik incelemesinde ise hidatik kiste rastlanmadı. Yapılan mikroskopik incelemelerde gelişmiş olan kistlerin fertil olmadıkları saptandı. Histopatolojik incelemelerde ise, küçük kistik yapılardan oluşmuş kitlenin deri altı bağdokuya bitişik bir vaziyette yerleşmiş olduğu belirlendi. Belirgin bir fibröz doku ile kuşatılmadığı gözlenen kitlenin içindeki kistler arasında ise yer yer kas dokunun bulunduğu görüldü (Şekil 21).



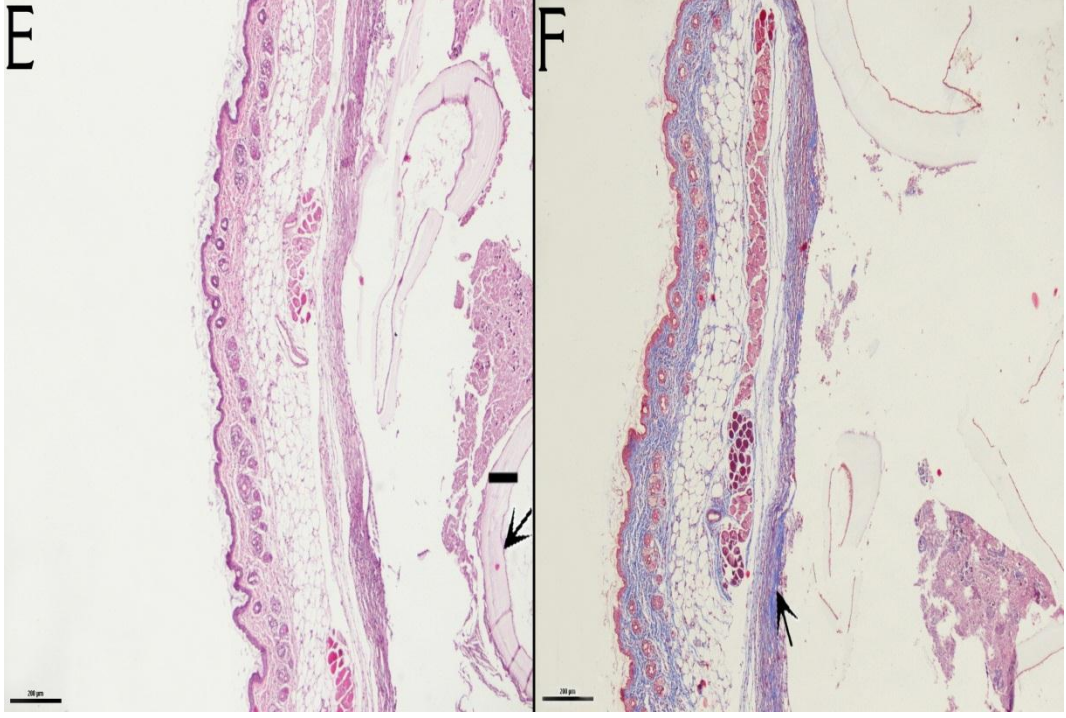
**Şekil 18.**Subkutan grupta kist oluşmuş farenin nekropsisi öncesi yandan görünümü.



**Şekil 19.** Subkutan grupta kist oluşmuş farenin nekropsi öncesi üstten görünümü.



**Şekil 20.** Subkutan grupta deri altında sabit olarak gelişen hidatik kistin makroskobik görünümü.



**Şekil 21.** Subkutan grupta deri altında sabit olarak gelişen hidatik kistin histopatolojik görünümü. Germinal membran (ok), Laminar tabaka (—), Hematoksilen Eosin (E). Derialtı fibröz doku (ok). Masson Trichrome (F).

Subkutan ve intraperitoneal olarak oluşan tüm hidatik kistlerde laminar tabaka ve germinal membran yapıları görüldü (Şekil 13, 17, 21).

Bu grupta deney süreci sonunda canlı kalan dört fareden alınan kan serumu örnekleri indirekt-ELISA yöntemiyle incelendi ve hidatik kist gelişen üç farede antikor yanıt pozitif, hidatik kist gelişmemiş olan bir farede ise antikor yanıt negatif bulundu.

**III. Grup (Göz Grubu):** Bu deney grubunda günlük yapılan rutin kontroller sırasında, deney süresinin sonuna kadar farelerde ölüm görülmedi. Farelerin göz içi enjeksiyonu çok iyi tolere ettiği, herhangi bir anormal

semptomun görülmediği belirlendi ve yapılan gözlemlerde farelerde ekzoftalmusun şekillenmediği tespit edildi. Deney süresi sonunda yapılan nekropside göz küresi, göz çevresi dokular ve iç organlar makroskopik ve hazırlanan doku kesitlerinde histopatolojik olarak incelendi ancak hidatik kist yapısına rastlanmadı. Bu çalışma grubunda deney süreci sonunda yedi fareden alınan kan serumu örnekleri indirekt-ELISA yöntemiyle incelendi ve beş (üç erkek, iki dişi) fareye ait kan serumunda antikor yanıt pozitif olarak bulundu.

**IV. Grup (Oral Grup):** Bu deney grubunda deney sürecinin dokuzuncu gününde bir dişi fare kafesinde ölü olarak bulundu. Altı fare (üç erkek, üç dişi) deney sürecini canlı olarak tamamladı. Çalışma sürecini gerek tamamlayamayan gerekse tamamlayan farelerin yapılan nekropsilerinde iç organlar makroskopik ve doku kesitlerinde histopatolojik olarak incelendi ancak hidatik kist yapısı tespit edilmedi. Deney süreci sonunda canlı kalabilen altı fareden alınan kan serumu örnekleri indirekt-ELISA yöntemiyle incelendi ve serolojik yanıt üç farede (bir erkek, iki dişi) pozitif olarak bulundu.

**V. Grup (Kontrol Grubu):** Bu grupta deney sürecinin yedinci gününde bir dişi farenin kafesinde ölmüş olduğu görüldü. Deney sürecini altı fare (iki erkek, dört dişi) canlı olarak tamamladı. Çalışma sürecini gerek tamamlayamayan gerekse tamamlayan farelerin yapılan nekropsilerinde iç organ örnekleri makroskopik ve mikroskopik olarak incelendi ve herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı. Deney sürecini tamamlayan altı fareden alınan kan serumu örnekleri indirekt-ELISA yöntemiyle incelendi ve serolojik yanıt negatif olarak değerlendirildi.

## 6. TARTIŞMA

Dünya nüfusunun büyük bir kısmı, parazit enfeksiyonları riski ile karşı karşıya olup paraziter hastalıklar halen ciddi bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir. Bu enfeksiyonlara karşı canlıları korumak ve tedavi edebilmek için, paraziti tanımak ve konakta meydana getirebileceği etkileri bilmek gerekmektedir. Enfeksiyonlu bireyleri tedavi etmek ve aşı geliştirmek için hem deneysel hem de klinik birçok çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmalarda, enfeksiyon etkenine karşı konağın bağışıklık sisteminin nasıl cevap verdiği, aşı ya da tedavi ile koruyucu cevabın nasıl oluşturulduğunun bilinmesi oldukça önemlidir. Parazit enfeksiyonlarında, parazitlerin farklı şekillerde ve büyüklüklerde olması, ayrıca konakta farklı gelişim göstermesi nedeniyle, her parazitin konak savunma yanıtı aynı olmamaktadır (73).

*E. granulosus* helmint grubuna ait bir parazit olup, son konak genellikle köpek, tilki, çakal, kurt gibi bir etçil olmasına rağmen, etkenin farklı suşları farklı coğrafi bölgelerde insanlar da dahil olmak üzere, sığır, koyun, keçi, geyik, deve, manda, tavşan, kanguru, domuz, at ve eşek gibi çok sayıda memeli ara konağı enfekte edebilmektedir (1, 15, 74). Ara konaklar, bu parazitin yumurtalarıyla enfekte olduklarında, larval formları olan hidatik kistler oluşmaktadır. Hidatidozis olarak adlandırılan bu hastalık, Türkiye dahil birçok ülkede yaygın bir şekilde görülmektedir. Bu hastalığın tanısı konusunda birçok yöntem bulunmakta ve tedavi için genellikle kimyasal maddeler kullanılmaktadır. Hidatidozisin patolojisi, bu olayda fonksiyonel olan mekanizmalar, konağın yanıtı, ayrıca tedavi süreçlerinde kullanılan ilaçlar ve bunların etki mekanizmaları uzun yıllardır

araştırılmaktadır. Bu amaçla, hem *in vivo* hem de *in vitro* çalışmalar yapılmış, *invivo* çalışmalarda genellikle, protoskolekslerin deney hayvanlarına verilmesiyle sekonder enfeksiyonlar oluşturulmuştur. Sekonder enfeksiyon modellerinde protoskolekslerin kullanılmasının nedeni, *Echinococcus* yumurtaları ile çalışmanın güvenli olmaması, kontaminasyon riskinin çok yüksek ve kist gelişme süresinin çok uzun olmasıdır (75).

Bu çalışmada, *E. granulosus* protoskolekslerinin farelere farklı yollarla verilmesiyle deneysel hidatidozis oluşturulması ve serolojik yanıtın belirlenmesi amacıyla sekonder enfeksiyon modeli oluşturulmuştur. Bu model Mousavi ve Tappeh'in (66) yaptıkları çalışmaya paralel olarak hazırlanmış, hidatik kistle enfekte koyun karaciğerinden elde edilen protoskoleks solüsyonu 2000 protoskoleks/ml olacak şekilde hazırlanmış ve hazırlanan protoskoleks solüsyonu farelere intraperiton, subkutan, göz ve oral olmak üzere dört farklı yolla verilmiştir. Deneysel olarak sekonder hidatidozis oluşturmak için yapılan deneysel enfeksiyon modelinde (66), Albino Balb/c fareler göz ve intraperiton grup olmak üzere iki gruba ve her bir grubunda üç alt gruba ayrılmış, bu altgruplara 500 protoskoleks/0,5 ml, 1000 protoskoleks/0,5 ml ve 2000 protoskoleks/0,5 ml olacak şekilde üç farklı yoğunlukta protoskoleks solüsyonu göz ve intraperitoneal yolla farelere enjekte edilmiş, deney sonunda canlı olarak kalan 50 fareden alınan göz kürelerini incelenmiş ve hidatik kist tespit edilememiştir. İntraperiton grubunda ise deney sonunda canlı olarak kalan 32 adet farenin nekropsileri yapılmış ve altı faredede hidatik kist tespit edilmiştir. 1000 protoskoleks/0,5ml yoğunlukta protoskoleks enjekte edilen alt grupta iki faredede, 2000 protoskoleks/0,5 ml yoğunlukta protoskoleks enjekte edilen alt grupta ise dört

farede hidatik kist oluşturulmuştur. Karaciğer ve peritondan izole ettikleri kistlerin büyüklüğü 0,3-2 mm arasında değişiklik göstermiş ve her farede en az iki en fazla 13 kist tespit etmişlerdir. Bu çalışmada göz grubunda, deney sonunda canlı kalan yedi fareden alınan göz küreleri incelenmiş, makroskopik ve mikroskopik olarak hidatik kiste rastlanmamıştır. İntraperiton grubunda ise deney süresinin 60. gününde bir dişi farenin ölmüş olduğu belirlenmiş ve yapılan nekropside her iki böbreğe lokalize olmuş, 2-2,5 cm çapında hidatik kistlerin olduğu görülmüştür. Oluşan hidatik kistler mikroskopik olarak incelenmiş ve kistlerin fertil olmadığı saptanmıştır. İntraperiton grubunda deney süresinden önce ölen beş ve deney süresi sonunda canlı kalan bir fareye nekropsi yapılmış, ancak makroskopik ve mikroskopik olarak hidatik kiste rastlanmamıştır. Bu çalışmada göz grubundan elde edilen veriler Mousavi ve Tappeh'in (66) yaptıkları çalışma ile paralellik göstermiştir. Her iki çalışmada da KE'nin gözde oluşturulamamış olmasında göz içi basıncının önemli rolünün olduğu ve henüz tam olarak açıklanamamış savunma mekanizmalarının etkili olabileceği düşünülmektedir. Mousavi ve Tappeh'in (66) yaptıkları çalışmanın intraperiton grubunda ise hidatik kist oluşumlarının karaciğer ve peritonda olduğu görülürken bu çalışmada intraperiton grubundaki hidatik kist oluşumlarının böbreklere lokalize olarak olduğu gözlemlenmiştir. Değişik organlarda kist oluşması durumu; kullanılan protoskoleks solüsyonunun yoğunluğuna, deney hayvanlarına verilmiş yoluna, kullanılan deney hayvanı sayısına, yaşına, cinsiyetine, bireysel faktörlere bağlı olarak değişebileceği düşünülmektedir.

Farelerde sekonder hidatidozis oluşturmak için iki farklı metodu karşılaştırmak amacıyla yapılan çalışmada (67), 160 İsviçre albino fare dört gruba

ayrılmış ve her grupta bulunan 40 fare değişik yoğunluklardaki protoskoleksleri (0,5 ml/1000 ve 0,5 ml/2000) intraperitoneal ve subkutan yollardan enjekte edilmiştir. Birinci intraperitoneal grupta (0,5 ml/2000) bulunan farelerin %80'inde 1-2 mm çapında kistler gelişmiştir. İkinci intraperitoneal grupta (0,5 ml/1000) bulunan farelerde kist oluşumu gözlenmemiştir. Birinci subkutan grupta (0,5 ml/2000) bulunan farelerin tümünde abdominal duvarda artan ölçülerde kistler tespit edilmiştir. İkinci subkutan grupta (0,5 ml/1000) bazı farelerde üç ayın sonunda giderek artan ölçülerde 2-3 cm kadar büyüklükte kistler oluştuğu saptanmıştır. Bu gruptaki farelerde oluşan kistlerin histolojik muayenesinde kistlerin fertil oldukları belirlenmiştir (67). Bu çalışmada ise intraperiton grupta bir farede her iki böbreğe lokalize olmuş hidatik kistler bulunmuş, oluşan hidatik kistlerin histolojik muayenesinde fertil olmadığı görülmüştür. Çalışmada subkutan grupta bulunan yedi farenin üçünde hidatik kist oluştuğu saptanmış, kist oluşan farelerin birinde hidatik kistlerin sırt bölgesinde, deri altında serbest bir şekilde, 1-3 mm çapında ve çok sayıda, kist oluşan diğer farede hidatik kistin sırt bölgesinde, deri içerisinde sabit bir şekilde geliştiği, kistlerin 1-4 mm çapında ve çok sayıda ve diğer bir farede ise hidatik kistin sırt bölgesinde intramuskuler olarak lokalize olduğu, 1-4 mm çapında ve çok sayıda geliştiği görülmüştür. Subkutan grupta oluşan kistlerin fertil olmadıkları belirlenmiştir. Deney süresinin beş aydan daha uzun planlanmasının kistlerin fertil özellik kazanması ihtimalini arttırabileceği kanaati hasıl olmuştur.

At orjinli kist hidatiklerden elde edilen protoskolekslerin beyaz farelerde sekonder kist oluşturma yeteneğinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada (64), içeriğinde 6000 protoskoleks ihtiva eden solüsyon,

yedi fareye periton içi yolla enjekte edilmiş, protoskoleks solüsyonunun enjeksiyonundan sonraki 12. ayda canlı kalabilen dört fareye nekropsi yapılmış ve farelerin tamamında enfeksiyonun gelişmiş olduğu gözlemlenmiştir. Gelişen sekonder kistlerin sayılarının 5-22 arasında, 0,1-2,5 cm çapında, karın boşluğunda serbest ve karaciğer üzerinde implante olduğu saptanmıştır. Hidatik kistlerin fertil olmadığı görülmüştür (64). Bu çalışmada ise intraperiton grubundaki farelere 1000 protoskoleks periton içerisine enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan sonraki 60. günde ölen bir farede, sol ve sağ böbreklere lokalize olmuş 2-2,5 cm çapında hidatik kistler olduğu görülmüştür. Deney süresi sonunda canlı kalabilen bir farede ise makroskobik ve mikroskobik olarak hidatik kist yapısına rastlanmamıştır.

Sekunder hidatidozis oluşturmak için yapılan bir çalışmada (65), hidatik kistle enfekte sığır karaciğerinden protoskoleks solüsyonu hazırlanmış, protoskoleks solüsyonu 12 fareden her birine 0,1 ml periton içerisine enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan 90 gün sonra farelere nekropsi yapılmış, deney süresi sonunda canlı kalan dokuz fare incelenmiş, batın içerisine ve bağırsaklara yaygın olarak yerleşik, en büyüğü üç mm çapında kistlerin olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada ise intraperiton grubunda enjeksiyondan sonraki 60. günde ölen bir farede, sol ve sağ böbreklere lokalize olmuş 2-2,5 cm çapında hidatik kistlerin olduğu görülmüş, intraperiton grubundaki diğer farelerde makroskobik ve mikroskobik olarak hidatik kist yapısına rastlanmamıştır.

Hidatik kist protoskolekslerinin sekonder kist oluşturma yeteneklerini araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada (62), deney için

gerekli hidatik kist protoskoleksleri enfekte koyun karaciğerlerinden temin edilmiş, protoskoleks süspansiyonu, 0.1 mililitrede 100 canlı protoskoleks olacak şekilde ayarlanmış ve protoskoleks süspansiyonundan 0,3 ml (ortalama 300 protoskoleks) 10 fareye intraperitoneal olarak enjekte edilmiş, farelerin yarısı erken dönemde kist gelişimini incelemek için dördüncü ayda, diğer yarısı ise gelişen kistlerin fertil hale gelip gelemeyeceklerini ve bu dönemdeki gelişimi incelemek amacıyla 12. ayda nekropsi yapılmış, 4. ve 12. aylarda nekropsi yapılan tüm farelerde enfeksiyon olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada ise intraperiton grubundaki yedi fareye 1000 canlı protoskoleks periton içerisine enjekte edilmiş, enjeksiyondan sonraki 60. günde ölen bir adet farede, sol ve sağ böbreklere lokalize olmuş, 2-2,5 cm çapında hidatik kistlerin olduğu gözlemlenmiştir. İntraperiton grubundaki diğer farelerde makroskobik ve mikroskobik olarak hidatik kist yapısına rastlanmamıştır.

Deneysel olarak yapılan bir çalışmada (76), 20 fare her grupta beş fare olacak şekilde dört gruba (bir kontrol, üç deneme) ayrılmış, birinci gruptaki farelere 100 µl hidatik kist sıvısı, ikinci gruptaki farelere 100 µl protoskoleks solüsyonu, üçüncü gruptaki farelere 100 µl *E. granulosus* antijeni intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Daha sonra ise tüm çalışma grubundaki farelere 100 µl Freund's complete adjuvantı (FCA) verilmiştir. Kontrol grubundaki farelere ise sadece PBS-adjuvant enjekte edilmiştir. İkinci immunizasyon ise dört hafta sonra FCA yerine FIA (Freund's incomplete adjuvant) ile yapılmıştır. İkinci immunizasyondan üç hafta sonra her fareye, canlı 2000 protoskoleks içeren solüsyon intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Fareler yedi ay sonra ötenazi

yapılmış ve kan serumu örnekleri alınmıştır. Toplanan kan serumu örneklerinin ELISA ile incelenmesinden elde ettikleri sonuçlara göre üç farklı antijenin kullanıldığı tüm gruplarda antikor üretim düzeyinde farklılıklar olduğu gözlemlenmiş ve antikor seviyelerinin önemli oranda kontrol grubundan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Araştırmacılar 28. günde antikor seviyelerini değerlendirmiş ve hidatik kist sıvısı ile immunize edilmiş farelerdeki antikor düzeyinin protoskoleks ile immunize edilmiş farelerden daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Fakat *E. granulosus*'un erişkin formuna karşı oluşturulan antikor üretimi 28. günden önceki immunizasyondan yedi kat daha fazla bulunmuştur ( $P<0,05$ ). *E. granulosus* antijenleri ile immunize edilen grupta 49. gündeki antikor düzeyinin (ikinci immunizasyondan sonraki üç hafta) hidatik kist sıvısı ve protoskoleks ile immunize edilen gruptan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada ise protoskoleks solüsyonu farelere intraperitoneal, subkutan, göz ve oral yollardan verilmiş, beş ay sonra farelerden kan serumu örnekleri alınmış ve indirekt-ELISA yöntemiyle *E. granulosus* protoskolekslerine karşı oluşan serolojik yanıt araştırılmıştır. İntraperiton grupta bir fareden kan serumu alınmış ve serolojik yanıt negatif ölçülmüştür.

Hidatidozisin tanısında kullanılan ELISA yöntemi kesin kantitatif ölçmeyi sağlaması, çok az miktarda serumun yeterli olması, kısa zamanda çok sayıda örneğin işlenmesine olanak sağlaması, duyarlı, özgül ve ekonomik bir yöntem olması nedeniyle tercih edilmektedir (77). Hidatidozisin immunodiagnozu amacıyla yapılan çalışmalarda çeşitli antijenlerin kullanıldığı ELISA testinin sürü bazında enfeksiyonun tanısında kullanılabileceği ancak bireysel olarak hayvan bazında güvenilir olmadığı belirtilmiştir (78, 79, 80). İn vitro kültürasyonu sonucu

protoskolekslerden ve hidatik kist membranından elde edilen polisakkarit antijenleri kullanarak ELISA yöntemini uygulayan Ris ve ark (81) testin özgüllüğünü %81,8, duyarlılığını %80,6 olarak belirlemişlerdir. İbrahim ve ark (82), koyun ham kist sıvısı antijeni, kısmi purifiye kist sıvısı antijeni (AgB) ve rekombinant AgB'yi kullanarak uyguladıkları ELISA testinde ham kist sıvısı antijeninin duyarlılığını %32, özgüllüğünü %90; kısmi purifiye kist sıvısı antijeninin duyarlılığını %88, özgüllüğünü %95 olarak belirlemişlerdir. Rekombinant AgB için ise bu oranı sırasıyla %28 ve %95 olarak bildirmişlerdir. Türkiye'de ELISA'yı koyun ham kist sıvısı antijenini kullanarak uygulayan Simsek ve Koroglu (83) testin duyarlılığını %60, özgüllüğünü %94 olarak belirlemişlerdir.

Bu çalışmada deneysel enfeksiyon oluşturmak için protoskoleks solüsyonu farelere intraperitoneal, subkutan, oral ve göz yollarından verilmiş, deney sonunda canlı kalan farelerden kan serumu örnekleri alınıp, oluşan antikor yanıtı araştırılmıştır. İntraperiton grupta sadece bir fare deney süresi sonunda canlı kalabilmiş, fareden alınan kan serumu örneği indirekt-ELISA yöntemiyle incelenmiş ve negatif olduğu görülmüştür. Subkutan grupta ise dört fare deney süresi sonunda canlı kalmış ve üç farede makroskopik olarak hidatik kist yapıları tespit edilmiştir. Kan serumu örneklerinden yapılan indirekt-ELISA testinde hidatik kist oluşan üç farenin antikor yanıtı pozitif, hidatik kist oluşmayan farede ise negatif bulunmuştur. Göz grubunda yedi fareden alınan kan serumu örnekleri indirekt-ELISA yöntemiyle incelenmiş ve antikor yanıtı beş farede pozitif olarak saptanmıştır. Oral grupta altı fareden alınan kan serumu örnekleri indirekt-ELISA yöntemiyle incelenmiş ve antikor yanıtı üç farede pozitif olarak belirlenmiştir.

İntraperiton grubunda ise deney sonunda ancak bir farenden kan serumu örneği alınabildiği için tam bir karşılaştırma yapılamamıştır.

DeneySEL immunizasyon amacı ile yapılan bir çalışmada (84), hidatik kistle enfekte karaciğerden elde edilen protoskoleks solüsyonu mililitresinde 100 U Penicillin G ve 100 µg Streptomycin içerecek şekilde PBS ile hazırlanmıştır (2000 canlı protoskoleks/0,5 ml). Denemede dört haftalık yaşta, 17 Balb/C fare kullanılmış ve hazırlanan protoskoleks solüsyonu tüm farelere 0,5 ml intraperitoneal yoldan enjekte edilmiş, aynı yaştaki üç fareye ise ölü protoskoleks solüsyonu intraperitoneal yolla verilerek immunizasyonu sağlanmıştır. Canlı protoskoleksler %70'lik ethanol ile muamele edilerek inaktive edilmiş, altı fare ise kontrol grubu olarak kullanılmıştır. 68 hafta boyunca her hafta düzenli olarak kan serum örnekleri alınmış, aynı gruptaki serumlar eşit miktarlarda karıştırılmış ve denemede kullanılan tüm farelerin 68. haftada nekropsisi yapılmıştır. Canlı protoskoleks solüsyonu ile enfekte edilen tüm farelerde hidatik kist oluştuğu tespit edilmiştir. Ölü protoskoleks solüsyonu enjekte edilen farelerde ise deney protokolü sonunda protoskolekslerin hala enjeksiyon bölgesinde olduğu görülmüştür. Her gruptaki farelerin kan serumları için ayrı ayrı havuz oluşturulmuş, 68. haftanın sonunda Anti-protoskoleks somatik antijenine (PSA) karşı oluşan antikor yanıtı ELISA ile ölçülmüş ve üç haftadan sonra antikor titrelerinde önemli bir farklılık görülmüştür. Antikor yanıtı 38. haftaya kadar sabit bir oran ile artış göstermiş, 53. haftada antikor yanıtının en yüksek titrede olduğu ve deneyin sonuna doğru ise azaldığı belirlenmiştir. Deneyin başlangıcından sonraki dördüncü haftadan itibaren antikorların tespit edilebilir düzeyde olduğu, protokol boyunca 38. ve 58. haftalar arasında antikor titresinin değişmediği ve

düşük düzeyde olduğu saptanmıştır. İmmunize edilmiş her iki gruptaki farelerde Anti-PSA IgG ve IgM düzeylerinin 38. ve 50. haftalar arasında oluşan antikor yanıtının en yüksek seviyede olduğu gözlemlenmiştir. İmmunize edilmiş her iki grupta Anti-PSA IgG düzeyinin 15. haftada en yüksek seviyede olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada ise deneysel enfeksiyon oluşturmak için protoskoleks solüsyonu intraperitoneal, subkutan, oral ve göz yollarından farelere verilmiş, deney sonunda canlı kalan farelerden kan serumu örnekleri alınıp oluşan antikor yanıtı indirekt-ELISA yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışmada intraperiton grubunda bir fareden alınan kan serumunda antikor yanıtı negatif, subkutan grupta dört fareden alınan kan serumundan üçü pozitif biri negatif, göz grubunda yedi fareden alınan kan serumundan beşi pozitif ikisi negatif, oral grupta ise altı fareden alınan kan serumundan üçü pozitif ve üçü de negatif olarak bulunmuştur.

Farelerde sekonder hidatidozis oluşturmak ve oluşan serolojik yanıtı belirlemek için yapılan bir çalışmada (67), 160 İsviçre albino fare dört gruba ayrılmış ve her grupta bulunan 40 fareye değişik yöntem ve yoğunluklardaki protoskoleks solüsyonu verilmiştir. Birinci gruba 2000 protoskoleks, ikinci gruba 1000 protoskoleks içeren solüsyon intraperitoneal, üçüncü gruba 2000 protoskoleks, dördüncü gruba 1000 protoskoleks içeren solüsyon subkutan yolla enjekte edilmiş, nekropsi yapılan farelerde ELISA ile IgM ve IgG antikorlarının araştırılması amacı ile kan örnekleri toplanmıştır. 2000 protoskoleks uygulanan intraperitoneal gruba ait kan serumlarında IgM düzeyinin üçüncü aydan itibaren artmaya başladığı ve bu artışın yedinci ayın sonuna kadar devam ettiği belirlenmiş, aynı grupta IgG düzeyinin ise ikinci haftadan itibaren artmaya başladığını ve bu artışın yedinci ayın sonuna kadar devam ettiği ortaya konmuştur.

1000 protoskoleks uygulanan intraperitoneal grupta ise IgM düzeyi 10. ayın sonuna kadar düşük titrede devam etmiş, bu grupta IgG tespit edilememiştir. 2000 protoskoleks uygulanan subkutan grupta IgM düzeyinin 9. aya kadar, IgG düzeyinin ise 10. ayın sonuna kadar sürekli artış gösterdiği saptanmıştır. Bu çalışmada antikor titresi yerine sadece pozitiflik araştırılmış, farelerin bazıları deney süresi içerisinde ölmüş, canlı kalan farelerden kan serumu örnekleri alınarak incelenmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada *E. granulosus* ile enfekte koyunların karaciğerlerindeki hidatik kistlerden elde edilen protoskoleksler Albino Balb/c farelere farklı yollarla verilmiş, deneysel olarak sekonder hidatidozis oluşturulmuş ve serolojik yanıt indirekt-ELISA yöntemiyle belirlenmiştir. Hidatik kist yapısının, makroskopik olarak intraperiton grubunda bir, subkutan grupta ise üç farede olduğu gözlenmiştir. Hidatik kist oluşumu gözlenen ve kan serumu alınabilen farelerin tümünde antikor yanıt indirekt-ELISA yöntemiyle pozitif bulunmuştur. İntraperiton grubunda bir farede her iki böbreğe lokalize olmuş hidatik kistler tespit edildi ancak bu fare deney sürecini tamamlayamadığından kan serumu alınamadı ve serolojik olarak incelenemedi. Deney sonunda canlı kalan farelerden alınan kan serumu örneklerinde antikor yanıt gruplara göre; intraperiton grupta bir negatif, subkutan grupta üç pozitif bir negatif, göz grubunda beş pozitif iki negatif, oral grupta üç pozitif üç negatif ve kontrol grubunda ise altı negatif olarak belirlendi. Göz ve oral grupta hidatik kist oluşumu görülmemesine rağmen göz grubunda beş farede, oral grupta ise üç farede antikor yanıt pozitif olarak ölçüldü. *E. granulosus* protoskoleksleri ile farelerde deneysel hidatidozis oluşturmak için subkutan enjeksiyon yönteminin intraperiton

enjeksiyon yöntemine göre daha avantajlı olduğu görülmüştür. Çalışmada 2000 protoskoleks/ml olarak enjekte edilen protoskoleks solüsyonunun yoğunluğu artırılarak yeni yapılacak olan deneysel hidatidozis çalışmalarında enfeksiyon oluşum oranında olumlu yönde artışlar sağlanabilir. Ayrıca subkutan grupta beş ayın sonunda şekillenmiş olan hidatik kistlerin küçük çapta olması nedeniyle, bu alanda daha verimli sonuçların elde edilebilmesi için yapılacak çalışmalarda deney süresin uzatılarak yeni çalışma protokollerinin uygulanmasının faydalı olacağı ve deneysel olarak enfekte edilen farelerin bağışıklık sistemlerinin baskılanması ile daha fazla sayıda kist ve antikor yanıt oluşması sağlanabileceği kanaatine varılmıştır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Amman RW, Eckert J. Clinical Diagnosis and Treatment of Echinococcosis in Humans. "Echinococcus and Hydatid Disease" RCA Thompson ve AJ Lymbery (Editors). Cab International, Wallingford, Oxon 1995; 411-463.
2. Güralp N. Helmintoloji. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, Ankara Üniv. Basımevi, Ankara 1981; 368.
3. Rommel M, Eckert J, Kutzer E, Krting W, Schneider T. Veterinarmedizinische Parasitologie. Parey Buchverlag Berlin 2000.
4. Toparlak M, Tüzer E. Veteriner Helmintoloji. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji AD. Ders notları 1999.
5. Farah MO. Infection rates, cyst fertility and larval viability of hydatid disease in camels, sheep and cattle in Gassim, Saudi Arabia. Vet Res Commun 1987; 11: 493-495.
6. Gralp N, Doğru C. Ankara Mezbahasında kesilen değişik yaşlardaki koyun ve sığır ların organlarında grlen ekinokok kistlerinin fertilitte durumları. Ankara Univ Vet Fak Derg 1971; 18: 195-205.
7. Himonas C, Antoniadou-Sotiriadou K, Papadopoulos E. Hydatidosis of food animals in Greece: prevalence of cysts containing viable protoscoleces. J Helminthol 1994; 68: 311-313.
8. Kamenetzky L, Canova SC, Guenera EA, Rosenzvit MC. Echinococcus granulosus: DNA extraction from germinal layers allows strain determination in fertile and nonfertile hydatid cysts. Exp Parasitol 2000; 95: 122-127.
9. Kamhawi S, Hijjawi N, Abu-Ghazaleh A, Abbas M. Prevalence of hydatid cysts in livestock from five regions of Jordan. Ann Trop Med Parasitol 1995; 89: 621-629.
10. Mehrebani D, Oryan A, Sadjjadi SM. Prevalence of Echinococcus granulosus infection in stray dogs and herbivores in Shiraz, Iran. Vet Parasitol 1999; 86: 217-220.
11. Saeed I, Kapel C, Saida LA, Willingham L, Nansen P. Epidemiology of Echinococcus granulosus in Arbil province, northern Iraq, 1990-1998. J Helminthol 2000; 74: 83-88.
12. Yildiz K, Gurcan S. Prevalence of hydatidosis and fertility of hydatid cysts in sheep in Kirikkale, Turkey. Acta Vet Hung 2003; 51 (2): 181-187.
13. Soulsby E.J.L. Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals, Baillier and Tindall. London 1986.
14. Thompson RCA. Biology and Systematics of Echinococcus. "Echinococcus and Hydatid Disease" RCA Thompson ve AJ Lymbery (Editors). Cab International, Wallingford 1995; 1-50.
15. McManus DP, Zhang W, Li J, Bartley PB. Echinococcosis. The Lancet 2003; 362: 1295-1304.
16. Merdivenci A, Aydınlioğlu K. Hidatidoz (Hidatik Kist Hastalığı) İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul, 1982; Rektörlük No:2972, Dekanlık No:97.

17. Roberts LS, Janovy J. Foundations of Parasitology, Seventh Edition, The McGraw-Hill Companies, New York 2005; 0-07-234898-4.
18. Pawlowski ZS. Terminology related to Echinococcus and Echinococcosis, Acta Tropica 1997; 67: 1-5.
19. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Echinococcosis, Hidatoloji Derneği, Yayın No:1, Ege Üniversitesi Matbaası Bornova-İzmir 2004; 975-98657-0-X.
20. Miller LH. Parasitic Diseases. Fourth Edition, Apple Trees Production, NewYork 2000; 0-9400027-0-X.
21. <http://pathmicro.med.sc.edu/parasitology/EchinococcusLifeCycle.gif> Erişim Tarihi: 11.09.2012
22. Akyol ÇV. Echinococcus Türlerinin Epidemiyolojisi. "Echinococcosis" N Altıntaş, R Tınar ve A Çoker (Editörler). Ege Üniversitesi Matbaası Bornova İzmir 2004; 259-283.
23. Özer E, Özcan C, Aslan N, Kalender H, Angın M. Elazığ Et ve Balık Kurumunda atılan koyun karaciğerlerinde bakteriyel ve paraziter etkenlerle bunların oluşturduğu ekonomik kayıplar. Tr J of Vet Anim Sci 1996; 20: 191-201.
24. Taşan E. Elazığ kırsal yöre köpeklerinde helmintlerin yayılışı ve insan sağlığı yönünden önemi. Doğa Bilim Derg 1984; 8: 160-167.
25. Ulutaş M. Trakya'da Kasaplık Hayvanlarda Hidatidozun Yaygınlığı. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji ABD, İstanbul, Doktora Tezi 1999.
26. Yıldız K, Tunçer Ç. Kırıkkale'de sığırlarda kist hidatik'in yayılışı. T Parazitol Derg 2005; 29: 247-250.
27. Mimioğlu M. Evcil Gevişenlerde Hidatidoz. Türkiye'de Ekinokokkoz Problemi Sempozyumu, Erzurum 1974; 23-25.
28. Doğanay A. Zoonoz Olarak Ekinokokkozun Halk Sağlığı Yönünden Önemi. Hayvancılık Sempozyumu, Cumhuriyet Üniversitesi, Tokat Ziraat Fakültesi, Tokat 1986.
29. Şimşek S, Köroğlu E. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and enzyme-linked immunoelectrotransfer blot (EITB) for immunodiagnosis of hydatid diseases in Sheep. Acta Trop 2004; 92: 17-24.
30. Şimşek S, Köroğlu E, Dumanlı N, Aktaş M, Şaki CE, Altay K, Ütük AE. Seroprevalance of cattle hydatidosis in some countries of East Anatolian Region of Turkey. Turk J Vet Anim Sci 2005; 29: 1305-1310.
31. Köroğlu E, Şimşek S. Hidatidosisin Neden Olduğu Ekonomik Kayıplar. "Echinococcosis" N Altıntaş, R Tınar ve A Çoker (Editörler). Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova, İzmir 2004; 259-283.
32. Torgerson PR, Carmona C, Bonifacino R. Estimating the economic effect of cystic echinococcosis: Uruguay, a developing country with upper-middle income. Ann Trop Med Parasitol 2000; 94: 703-713.
33. Çivi S, Güler S, Kesci S. Konya Et ve Balık Kurumu ve Konet Tesisleri kayıtlarına göre kist hidatik nedeniyle oluşan ekonomik kayıplar. T. Parazitol Derg 1995; 19: 237-242.

34. Merdivenci A. Türkiye’de Veteriner Parazitoloji Tarihi. Hilal Matb. Koll. Sti. İstanbul 1976; 265.
35. Taşçı S. Doğu Anadolu’da Tarımın Verimlilik Sorunları Sempozyumu, Van Milli Prodüktivite Merkezi Yayınları 1990; 431.
36. Tınar R. İnsan ve hayvan sağlığı açısından hidatidoz. UÜ Vet Fak Derg 1983; 2: 85-90.
37. Umur Ş, Aslantaş Ö. Kars belediye mezbahasında kesilen ruminantlarda hidatidozun yayılışı ve ekonomik önemi. T Parazitol Derg 1993; 17: 27-34.
38. Abo-Shehada MN. Some observations on hydatidosis in Jordan. J Helminthol 1993; 67: 248-252.
39. Torgerson PR, Dowling PM. Estimating the economic effect of cystic echinococcosis. Part 2: An endemic region in the United Kingdom, a wealthy, industrialized economy. Ann Trop Med Parasitol 2001; 95: 177-185.
40. Torgerson PR, Dowling PM, Abo-Shehada MN. Estimating the economic effect of cystic echinococcosis. Part 3: Jordan, a developing country with lower-middle income. Ann Trop Med Parasitol 2001; 95: 595-603.
41. Attanasio E, Ferretti G, Palmas C. Hydatidosis in Sardinia: Review and recommendations. Trans R Soc Trop Med Hyg 1985; 79: 154-158.
42. Pawlowski ZS, Eckert J, Vuitton DA, et al. Echinococcosis in human clinical aspects, diagnosis and treatment, In: Eckert, J, Gemmell, M.A., Meslin, F-X., Pawlowski, Z.S., Editors, WHO/OIE Manual On Echinococcosis n Humans And Animals: A Public Health Problem Of Global Concern, Paris, World Organisation for Animal Health2001; 100-141.
43. Rickard M, Lightowlers M. Immunodiagnosis of hydatid disease, In: R Thompson, Editor, The biology of Echinococcus and hydatid disease, George Allen and Unwin, London, 1986; 217-249.
44. Gottstein B. Molecular and immunological diagnosis of echinococcosis, Clin. Microbiol. Rev 5, 1992; 248-261.
45. Lightowlers M, Gottstein B. Echinococcosis/hydatidosis: antigens, immunological and molecular diagnosis. In: RCA Thompson and AJ Lymbery, Editors, The biology of echinococcus and hydatid disease. CAB International, Wallingford 1995; 355-410.
46. Ito A. Serologic and molecular diagnosis of zoonotic larval cestode infections, Parasitol. Int., 2002; 51(3), 221-235.
47. Zhang W, Li J, Mcmanus DP. Concepts in immunology and diagnosis of hydatid disease, Clin. Microbiol. Rev., 2003; 16: 18-36.
48. Poretti D, Felleisen E, Grimm F, et al. Differential immunodiagnosis between cystic hydatid disease and other cross-reactive pathologies, Am. J. Trop. Med. Hyg., 1999; 60: 193-198.
49. Ross MH, Kwa MS, Veenstra JG, Kooyman FN, Boersema JH. Molecular aspects of drug resistance in parasitic helminths. Pharmac. Ther., 1993; 60 (2): 331-336.
50. Altıntaş N. Echinococcus sp. ve kist hidatik’in immünolojisi. İnsanlarda ve hayvanlarda kist hidatik. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını 1991; 89-100.

51. Altıntaş N. Ekinokokların in vitro üretilmesi. In: Unat E.K. ve ark. eds İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik (Echinococcosis). Türkiye Parazitolojisi Derneği Yayın. 1991; 10: 43-54.
52. Hemphill A, Stettler M, Walker M, Siles-Lucas M, Fink R, Gottstein B. Culture of *Echinococcus multilocularis* metacestodes: An alternative to animal use. *Trends Parasitol.*, 2002; 18:445-451.
53. Tigin Y, Umur Ş. *Echinococcus granulosus* ve *E. Multilocularis* in vitro kültürü. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 1989; 36: 775-781.
54. Casado N, Perez-Serrano J, Denegri G, Rodriguez-Caaberio F. Development of a chemotherapeutic model for the in vitro screening of drugs against *Echinococcus granulosus* cysts: The effects of an albendazole-albendazole sulphoxide combination. *Jnt J Parasitol.*, 1996; 26: 59-65.
55. Ertabaklar H, Altıntaş N. Albendazole ve mebendazole'ün *Echinococcus granulosus*'un minyatür kistleri üzerindeki in vitro etkisinin araştırılması. *T Parazitolojisi Derg.*, 2002; 26: 396-399.
56. Ertabaklar H, Altıntaş N. *Echinococcus granulosus* protoskolekslerinin in vitro larval gelişiminin gözlenmesi. *T Parazitolojisi Derg.*, 2002; 26: 183-185.
57. Hökelek M, Değer E, Erzurumlu K, Uyar Y. İvermektin'in *Echinococcus granulosus* protoskoleksleri üzerine in vitro etkisi. *Türk Parazitolojisi Derg.*, 2000; 24:139-142.
58. Yoneva A, Mızınska-Boevska Y. In vitro cultivation of helminths and establishment of cell culture. *Exp Pathol Parasitol.*, 2001; 4/7: 3-8 649-652.
59. Smyth JD. In vitro Cultivation of Endoparasites: Helminths. Ed. Smyth JD. *Introduction to Animal Parasitology* Second Edition. Hodder and Stoughton, London 1981; 423-442.
60. Taylor AER, Baker JR. In vitro Methods for Parasite Cultivation. Blackwell Scientific Publication, Oxford, 1987; 82-317.
61. Sahin M, Aydın A, Bulbuloglu E, Ciralik H. Experimental hydatid disease of the liver *European Journal of Clinical Investigation* 1997; 27: 537-538
62. Burgu A. *Echinococcus g. granulosus* protoskolekslerinin beyaz farelerde (*Mus. Musculus* var. *Albinus*) sekonder kist meydana getirme yeteneklerine radyasyonun etkisi. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 1975; 22: 137-148.
63. Verit A, Ozbilge H, Yeni E, Unal D, Ozardali I, Ciftci H, Ozbilge M. The Experimental Model of Hydatidosis in Rabbit Testis *Urologia Internationalis* 2004;72(4): 341-3.
64. Gönenç B, Ayaz E, Gıcık Y. At ve Eşeklerde Kist Hidatiğin Yayılışı ve Protoskolekslerin Farelerde Sekonder Kist Oluşturma Yeteneği *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 1998; 22(4): 428-431.
65. Hökelek M, Erzurumlu K, Uyar Y, Güvenli A. BALB/c Türü Farelerde İki Deneysel Kistik *Echinococcosis* Oluşturma Yönteminin Karşılaştırılması. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2001; 25(2): 142-144.

66. Mousavi J, Tappeh KH. Production of Experimental Hydatid Cyst in the Eye, Perihökeltoneum and Liver of BALB/C Mice. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 2010; 34 (1): 21-23.
67. Kakru DK, Sofi BA, Assadullah S. Novel route of infection in experimental model of hydatid disease *Indian Journal of Pathology and Microbiology* 2008; 51: (3) 373-375.
68. Breijo M, Spinelli P, Sim RB, Ferreira AM. Echinococcus granulosus: An intraperitoneal diffusion chamber model of secondary infection in mice. *Exp parasitology*, 1998; 90 (3): 270-276.
69. De Rycke PH, Pennoit-De Cooman E. Serial Passages of larval Echinococcus granulosus from equine origin in mice. III. Infections with sterile daughter cysts. *Z Parasitenkd* 1978; 57(3):251-4.
70. Pennoit-Dee Cooman E, De Rycke PH. Serial Passages of larval Echinococcus granulosus from equine origin in mice. II. Infections with sterile cysts. *Z Parasitenkd* 1978; 56(1): 39-45.
71. Rogan MT. T-cell activity associated with secondary infections and implanted cysts of Echinococcus granulosus in BALB/c mice. *Parasite Immunol* 1998; 20(11):527-33.
72. Culling AF, Allison TR, Barr TW. *Cellular Pathology Technique* 4rt. Ed. Mid-Country Press, London, 1985.
73. Kandil A. Larval Echinococcus granulosus ile Enfekte Edilen Farelerde Hidatidoz Patogenezinde ve Antihelmintik Etkinliğinde Nitrik Oksit'in Rolü. Doktora Tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2008.
74. Thompson RCA, Lymbery AJ. The Nature, Extent and Significance of Variation within the Genus Echinococcus. *Adv Parasitol* 1998; 27: 209-258.
75. Heath DD, Lawrence SB. Echinococcus granulosus: development in vitro from oncosphere to immature hydatid cyst. *Parasitology*, 1976; 73: 417 – 423.
76. Tabar GH, Razmi G. Evaluation of antibody against hydatid fluid, protoscolex and adult worms of Echinococcus granulosus antigens by ELISA in mice. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*. 2009; 27-34.
77. Altaş K. İnsan Hidatidozunun Tanımında ELISA (Enzim Linked Immunosorbent Assay)'nın Değeri. İstanbul: İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji, Doçentlik Tezi, 1981.
78. Lightowers MW, Rickard MD, Honey RD, Obendorf DL, Mitchell GF. Serological Diagnosis of Echinococcus granulosus infection in Sheep Using cyst Fluid antigen Processed by Anibody Affinity Chromatography. *Aust Vet J*. 1984; 61: 101-8.
79. Yong WK, Heath DD, Van Knapen F. 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*. 1984; 36: 24-31.
80. Kittelberger R, Reichel MP, Jenner J, et al. Evaluation of three enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) for the dedection of serum antibodies in sheep infected with Echinococcus granulosus. *Vet. Parasitol*. 2002; 110: 57-76.

- 81.** Ris DR, Hamel KL, Mackle ZM. Use of two polysachcharide antigens in ELISA for the dedection of antibodies to Echinococcus granulosus in sheep sera. Res Vet Sci. 1987; 43: 257-63.
- 82.** Ibrahem MM, Rafiei A, Dar FK, Azwai SM, Carter SD, Craig PS. Serodiagnosis of cystic echinococcosis in naturally infected camels. Parasitology. 2002; 125: 245-51.
- 83.** Simsek S, Koroglu E. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and enzyme-linled immunoelectrotransfer blot (EITB) for immunodiagnosis of hydatid diseases in sheep. Acta Tropica. 2004; 92: 17-24.
- 84.** Severi MA, Ferragut G, Nieto A. Antibody Response of Echinococcus granulosus infected mice: Protoscolex spesific response during infection in associated with decreasing spesific IgG1/IgG3 ratio as well as decreasing avidity. Parasite immunology. 1997; 19: 545-552.

## 8. EKLER

### FIRAT ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURULU KARARI

T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURULU  
ELAZIĞ

#### ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR NO	ÖZÜ
03.03.2011	2011/03	62	Prof. Dr. Ergün KÖROĞLU

#### KARAR

“ Farelerde *Echinococcus granulosus* Protoskolekslerinin Farklı Yollarla Verilmesiyle Deneysel Hidatidosis Oluşturulması ve Serolojik Yanıtın Belirlenmesi ” başlıklı araştırmada 35 adet Balb-C türü fare kullanacağı ve hayvanlar üzerinde yapılacak girişimlerde hayvan kullanım etiği ilkelerine uyulacağı beyan edilmiştir. Bu çerçevede anılan çalışmanın etik yönden uygun bulunduğu oybirliği ile karar verilmiştir.

GÖREVİ	ADI SOYADI	BÖLÜMÜ	İMZA
Başkan	Prof. Dr. İbrahim H. ÖZERCAN	Tıp Fakültesi Patoloji A.D.	
Raportör	Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU	Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji A.D.	
Üye	Prof. Dr. Ramazan BAL	Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D.	
Üye	Doç. Dr. Abdullah ÖZEN	Veteriner Fakültesi Deontoloji A.D.	Bulamadı
Üye	Doç. Dr. Cihan GÜNAY	Veteriner Hekim	
Üye	Tahsin AVCI	Sivil üye	
Üye	Hıdır DOĞAN	Sivil üye	

## 9. ÖZGEÇMİŞ

- 1. Adı Soyadı** : Bünyamin İREHAN
- 2. Doğum Yeri ve Tarihi** : Elazığ - 1977
- 3. Medeni Durumu** : Evli
- 4. Yabancı Dili** : İngilizce
- 5. Eğitimi**
- İlk Öğretim** : 1991, Atatürk Ortaokulu, Elazığ
- Lise Eğitimi** : 1994, Elazığ Lisesi, Elazığ
- Lisans** : 2001, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
- 6. Çalıştığı Kurumlar** : Keban Tarım İlçe Müdürlüğü (2004-2007)
- : Erzurum Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü  
Müdürlüğü (2007-2009)
- : Elazığ Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü  
(2009-2012)