

Türkiye’de Bir Yaban Domuzu ile Bir Katırda Hidatid Kist Olgusu ve Moleküler Karakterizasyonu

Molecular Characterization of Hydatid Cysts Cases in a Wild Boar and Mule in Turkey

Harun Kaya Kesik¹, Figen Çelik², Şeyma Günyaktı Kılınç¹, Burak Karabulut³, Aydın Çevik³, Sami Şimşek²

¹Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Bingöl, Türkiye

²Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Elazığ, Türkiye

³Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Elazığ, Türkiye

Cite this article as: Kesik HK, Çelik F, Günyaktı Kılınç Ş, Karabulut B, Çevik A, Şimşek S. Molecular Characterization of Hydatid Cysts Cases in a Wild Boar and Mule in Turkey. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(1):28-33

ÖZ

Amaç: Kistik ekinokokkozis (KE), *Echinococcus granulosus sensu lato*'nun (s.l.) larval formu tarafından oluşturulan; insanları, çiftlik hayvanları ve yaban hayvanlarını etkileyen zoonoz karakterli bir enfeksiyondur. Son yıllarda yapılan moleküler ve taksonomik çalışmalar neticesinde, KE'ye beş kriptik türün bir kompleksi olan *Echinococcus granulosus* s.l.'nin yol açtığı kabul edilmiştir. Bu çalışmada, hidatid kist ile doğal enfekte bir yaban domuzu ve bir katırdan elde edilen kist materyallerinin morfolojik ve moleküler karakterizasyonları yapılmıştır.

Yöntemler: gDNA izolasyonundan sonra spesifik primerler kullanılarak, mitokondrial sitokrom oksidaz subunit 1 (mt-CO1) gen bölgesi polimeraz zincir reaksiyon (PZR) ile çoğaltılmıştır. Amplifiye olan mt-CO1 PZR ürünleri saflaştırılıp, tek yönlü DNA dizi analizi gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: GenBank'taki referans sekanslar ile kıyaslanması sonucunda, hidatid kist izolatlarının mt-CO1 gen bölgesi kısmı sekanslarının *E. granulosus sensu stricto* (G1-G3) sekanslarıyla %100 benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Sonuç: Bu çalışma, Türkiye’de yaban domuzlarında *Echinococcus* türlerinin moleküler karakterizasyonunun belirlenmesine yönelik yapılmış ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: *Echinococcus granulosus*, hidatid kist, katır, yaban domuzu, PZR, genotip

ABSTRACT

Objective: Cystic echinococcosis (CE) is a zoonotic infection that affects humans, livestock and wild animals through the larval form of *Echinococcus granulosus sensu lato* (s.l.). Molecular and taxonomic studies carried out in the recent years accept that *Echinococcus granulosus* s.l., a complex of 5 cryptic species, causes CE. In this study, we performed morphological and molecular characterisation of cyst isolates obtained from a wild boar and mule naturally infected with hydatid cyst.

Methods: After gDNA isolation, the mitochondrial cytochrome oxidase subunit 1 (mt-CO1) gene region was amplified by polymerase chain reaction (PCR) with specific primers. The amplified mt-CO1 PCR products were purified and one-way DNA sequence analysis was performed.

Results: Comparison of the partial sequences of mt-CO1 gene from the hydatid cyst isolates with that of reference sequences in GenBank revealed 100% similarity with *E. granulosus sensu stricto* (G1-G3) sequences.

Conclusion: To the best of our knowledge, this is the first study to determine the molecular characterisation of *Echinococcus* species in a wild boar in Turkey.

Keywords: *Echinococcus granulosus*, hydatid cyst, mule, wild boar, PCR, genotype



Received/Geliş Tarihi: 12.02.2020 Accepted/Kabul Tarihi: 03.09.2020

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Harun Kaya Kesik, Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Bingöl, Türkiye

E-posta/E-mail: hkesik@bingol.edu.tr **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-8480-8597

GİRİŞ

Kistik ekinokokkozis (KE), *Echinococcus granulosus* (*E.granulosus*) sensu lato'nun (s.l) larval formu tarafından oluşturulan insanları, çiftlik hayvanları ve yaban hayvanlarını etkileyen zoonoz karaktere sahip bir enfeksiyondur (1). KE, insanlarda önemli bir halk sağlığı sorunu olmasının yanı sıra çiftlik hayvanlarında verim kayıplarına yol açması bakımından önem arz etmektedir (2). Özellikle çiftlik hayvanlarının başlıca karaciğer ve akciğerleri olmak üzere diğer bazı iç organlarını etkilemekte, dolayısıyla hem canlı hayvanlarda verim kayıpları hem de enfekte organların imhası nedeniyle ekonomik kayıplara neden olmaktadır (3). Türkiye'de köpeklerde *E. granulosus*'un yaygınlığı %0,8-44 olarak belirlenirken, KE'nin yaygınlığının koyunlarda %3,5-70,91, sığırlarda %3-46,41 ve keçilerde ise %1,6-25,11 olduğu belirlenmiştir (4-6). Türkiye'de KE kaynaklı yıllık ortalama ekonomik kayıpların sığırlar için 32,4 milyon Amerikan doları (USD), koyunlar için 54,1 milyon USD ve keçiler için ise 2,7 milyon USD olduğu tahmin edilmektedir (7,8). *E. granulosus* s.l., dünyanın hemen hemen her bölgesinde tespit edilmiş olup yapılan çalışmalarla geniş bir yayılışa sahip olduğu ortaya konmuştur (9). Başlangıçta *E. granulosus*, KE enfeksiyonunun nedeni olarak düşünülüyordu. Fakat son yıllarda yapılan moleküler ve taksonomik çalışmalar neticesinde beş kriptik türün bir kompleksi olan *E. granulosus* s.l.'nin KE'nin sebebi olduğu kabul edildi. Bu türler; *E. granulosus* s.s. (G1 ve G3 genotipleri), *E. equinus* (G4), *E. ortleppi* (G5), *E. canadensis* (G6-10), ve *E. felidis*'dir (10,11). Türkiye'de *E. granulosus* s.s. (G1 ve G3), *E. equinus* (G4) ve *E. canadensis* (G6/7) olmak üzere üç *Echinococcus* türü mevcuttur. Türkiye'de yapılan genotiplendirme çalışmalarında *E. granulosus* s.s.'nin en yaygın tür olduğu ortaya konmuştur (8,12-14).

Türkiye'de at, eşek ve katırlarda KE'nin durumu hakkında yeterince çalışma yapılmadığı için eldeki veriler sınırlıdır (15). Ülkemizde şimdiye kadar gerek prevelans gerekse moleküler karakterizasyonun belirlenmesine yönelik çalışmalar kısıtlı sayıdadır (16). Türkiye'de tek tırnaklı hayvanlarda *E. granulosus*'un genotiplendirilmesi ile ilgili dört rapor bulunmaktadır (16). İlk olarak Utuk ve Simsek'in (15) yaptıkları çalışmada *E. granulosus* at izolatının moleküler karakterizasyonu yapılmış ve *E. granulosus* s.s. (G1-G3) tespit edilmiştir. Simsek ve Cevik (17) Türkiye'de bir katırda *E. equinus*'un ilk tespiti ve moleküler karakterizasyonunu yapmışlardır. Simsek ve ark. (14) Türkiye'de bir eşekte *E. equinus*'nin ilk raporunu bildirmişlerdir. Son olarak ise Kesik ve ark. (16) bir eşeğin karaciğerinde hidatid kist belirlemişler ve bunun *E. equinus* olduğunu DNA dizi analiziyle teyit etmişlerdir. Diğer taraftan Türkiye'de domuz ve yaban domuzlarında KE enfeksiyonu üzerine araştırma ve çalışma bulunmamaktadır. Sadece moleküler epidemiyoloji yönünden insan izolatlarında *E. granulosus*'un domuz suşu olan G7 genotipinin birkaç bildirim söz konusudur (18,19). Yaban domuzu KE'nin silvatic döngüsünde önemli bir rol oynamakla beraber dünyanın farklı bölgelerinden de yaban domuzlarında *E. granulosus* enfeksiyonları bildirilmiştir (9).

Dünya'da tek tırnaklı hayvanlarda, domuzlarda ve yaban domuzlarında yapılan prevelans ve moleküler karakterizasyon çalışmalarına bakıldığında birçok çalışmanın mevcut olduğu görülmektedir (9). İtalya'da atlarda %1'den daha düşük bir KE yaygınlığı bildirilmiştir (20). Bunun yanında İtalya'nın Sardinya, Toskana ve Sicilya bölgelerindeki atlarda *E. equinus* (G4) belirlenmiştir (20,21). İtalya'nın farklı bölgelerindeki

raporlara göre domuzlarda KE yaygınlığı %9,4-11 (22,23) iken yaban domuzunda bu oran %3,7 (24) olarak belirlenmiştir. Genotiplendirme çalışmalarında ise domuzlarda *E. granulosus* s.s. (G1) ve *E. intermedius* (G7) (23), yaban domuzunda ise *E. granulosus* s.s. (G1) bildirilmiştir (25). Ukrayna'da yaban domuzlarının KE prevalansı %5,2 olup moleküler karakterizasyon çalışmalarında ise iki domuz ve bir yaban domuzu izolatında *E. intermedius* (G7) bildirilmiştir (26). Fransa'da KE'nin yaygınlığı domuzlarda %5,9, yaban domuzlarında ise %4 olarak tespit edilmiş ve bu örnekler *E. intermedius* (G6/7) olarak genotiplendirilmiştir (27). Yunanistan'da domuzlarda KE %5 olarak tespit edilmiş (28) moleküler çalışmalar neticesinde yaban domuzlarında *E. granulosus* s.s. (G1) belirlenmiştir (29). Romanya'da yaban domuzlarında KE prevalansı %12,4 olarak tespit edilmiş ve bu örneklerin *E. intermedius* (G7) olduğu bildirilmiştir (30). İspanya'da atlarda *E. equinus* (G4), domuz ve yaban domuzlarında ise *E. granulosus* (G1) ve *E. canadensis* (G7) bildirilmiştir (31,32). İran'da tek tırnaklılarda yapılan çalışmalar neticesinde *E. granulosus* s.s. (G1), *E. equinus* (G4) ve *E. canadensis* (G6) türleri (33,34), Tunus'ta atlarda *E. granulosus* s.s. (G1), *E. equinus* (G4) (35,36), yaban domuzunda ise *E. granulosus* s.s. (G1) (35), Mısır'da atlarda *E. equinus* (G4) (37), domuzlarda *E. canadensis* (G6/G7) (38,39) tespit edilmiştir.

Bu çalışmada hidatid kist ile doğal enfekte olan bir yaban domuzu ve katırdan elde edilen kist materyalinin morfolojik ve moleküler karakterizasyonunun yapılması amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Yaban domuzundan elde edilen kist hidatid materyalleri, yerel avcılar tarafından Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na Erzincan'ın Kemaliye ilçesinden getirilen bir yaban domuzundan elde edilmiştir. Katır hidatid kist materyalleri ise; yine nekropsi için Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na getirilen hayvandan elde edilmiştir. Tüm iç organlar olası hidatid kistlerin saptanması için inspeksiyon ve palpasyon yapılarak incelendi. Kist sıvısı steril enjektörler yardımı ile alınarak aspire edildi ve 5.000 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüj edildi. Kist sıvısı, kist fertilitesi açısından ışık mikroskobu altında incelendi. Tüm kist materyalleri (germinal membranlar) moleküler analiz aşamalarında kullanılmaya kadar %70'lik etil alkol içerisine alınarak -20 °C'de saklandı.

Çalışma günü derin dondurucudan çıkarılan örnekler bir bistüri yardımı ile küçük parçalara ayrılarak 1,5 mL'lik eppendorf tüplere aktarıldı. Üzerlerine 600 µL 1X PBS solüsyonundan eklenip en az 5 kez yıkandı. Akabinde 600 µL lysis buffer ve 20 µL proteinase-K (sigma, 20 mg/mL) eklenip, 1 gece 56 °C'de sıcak su banyosunda bekletildi. Ticari RTA genomik DNA izolasyon kit (RTA Lab. Türkiye) prosedürleri takip edilerek 100 µL gDNA elüsyonu elde edildi ve sonraki analizlere kadar -20 °C'de muhafaza edildi. Daha sonra gDNA'lar kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) amplifikasyonları yapıldı. Kesin suş/ tür tayini amacıyla Bowles ve ark. (40) tarafından bildirilen spesifik primerler (5'-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3' ve 5'-TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG-3') kullanılarak mitokondrial sitokrom oksidaz subunit 1 (mt-CO1) gen bölgesi PZR ile çoğaltıldı. PZR ürünleri %1,4'lük agaroz jelde elektroforeze tabi tutulup görüntüledi. Amplifiye olan mt-CO1 PZR ürünleri jel purifikasyon kiti (RTA genomik DNA saflaştırma kiti, Türkiye) ile saflaştırıldı ve IONTEK (İstanbul, Türkiye) firmasına tek yönlü DNA sekans analizi için gönderildi. Sekans sonuçları FinchTV

1,4,0 (Geospiza Inc. ©) yazılım programı ile görüntüleri ve nükleotid sekanslarının elektroferogram kalitesi, yanlış okumalar nedeniyle her iki uçtan kesimler yapılarak sonraki analizlere geçildi. Sekans sonuçları BLAST analizi yapılarak hizalandı ve hem yaban domuzu hem de katır sekansları Genbank'ta mevcut bulunan doğrulanmış (referans) sekanslar (MT072979, MN199126, MK321259, LC184604, KT382535, KC953029, EF558356, AB461420) ile karşılaştırıldı. MEGA X yazılım programı kullanılarak çoklu sekans hizalaması gerçekleştirildi ve yine MEGA X yazılım programı kullanılarak en uygun baz modeli olan HKY+G: "Hasegawa-Kishino-Yano model Gamma distribution (5 categories (+G, parameter =0,1387))" seçilerek filogenetik ağaç oluşturuldu (41). Bu çalışmada etik kurul onayına gerek yoktur.

İstatistiksel Analiz

Çalışmamız bir yaban domuzu ve katırda gerçekleştirilen moleküler karakterizasyon çalışması niteliğinde olduğundan herhangi bir istatistiksel analiz yapılmamıştır.

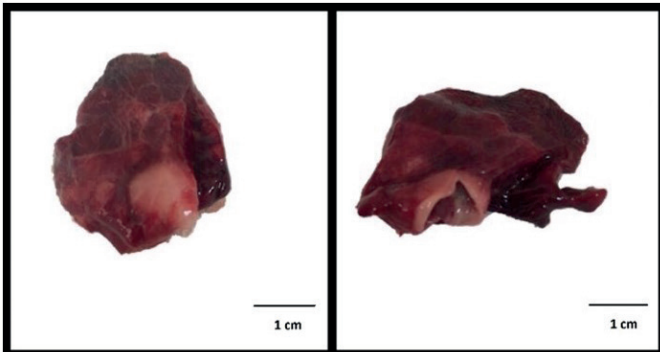
BULGULAR

Nekropsileri yapılan hayvanlardan yaban domuzunun ölüm nedeninin, av tüfeği ateşine bağlı kanama ve beyin travması olduğu, katırın ise yaşlılığa bağlı ötenazi yapıldığı ifade edilmiştir. Postmortem muayeneleri ve iç organların makroskopik incelemeler neticesinde yaban domuzunun akciğerinin diyafragmatik lobunda 1 cm çapında (Şekil 1), katırın ise karaciğer parankiminde yine 0,5-1 cm çapında hidatid kist saptandı. Mikroskopik incelemeler sonucunda kist sıvısı ışık mikroskobu altında olası protoskoleks varlığı yönünden kontrol edildi ancak protoskoleks tespit edilemediği için kistler steril olarak değerlendirildi.

Hidatid kist materyallerinin (germinal membranlar) gDNA izolasyonunun ardından mt-CO1 gen bölgesinin PZR amplifikasyonu gerçekleştirilip 446 bp'lik bant elde edildi (Şekil 2).

Hidatid kist izolatlarının mt-CO1 gen bölgesi kısmi sekansları GenBank'taki mevcut bulunan referans sekanslar ile hizalanarak karşılaştırıldı, yaban domuzu ve katır örneklerinin *E. granulosus* s.s. (G1) ile %100 benzerliğe sahip olduğu doğrulandı (GenBank veri tabanında kayıtlı accession numaraları: MT310971-MT276667) (Şekil 3).

TARTIŞMA VE SONUÇ

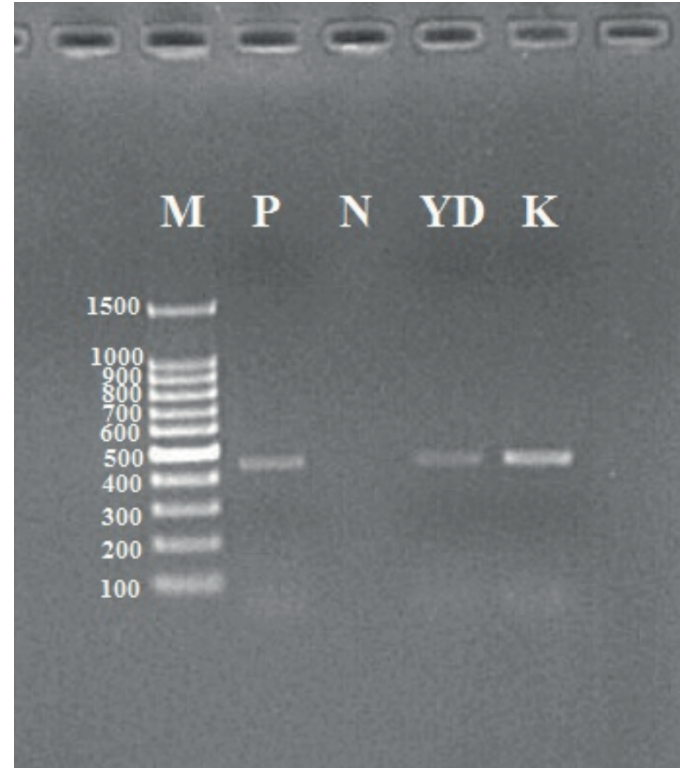


Şekil 1. Yaban domuzuna ait akciğer dokusunda 1cm çaplı hidatid kist

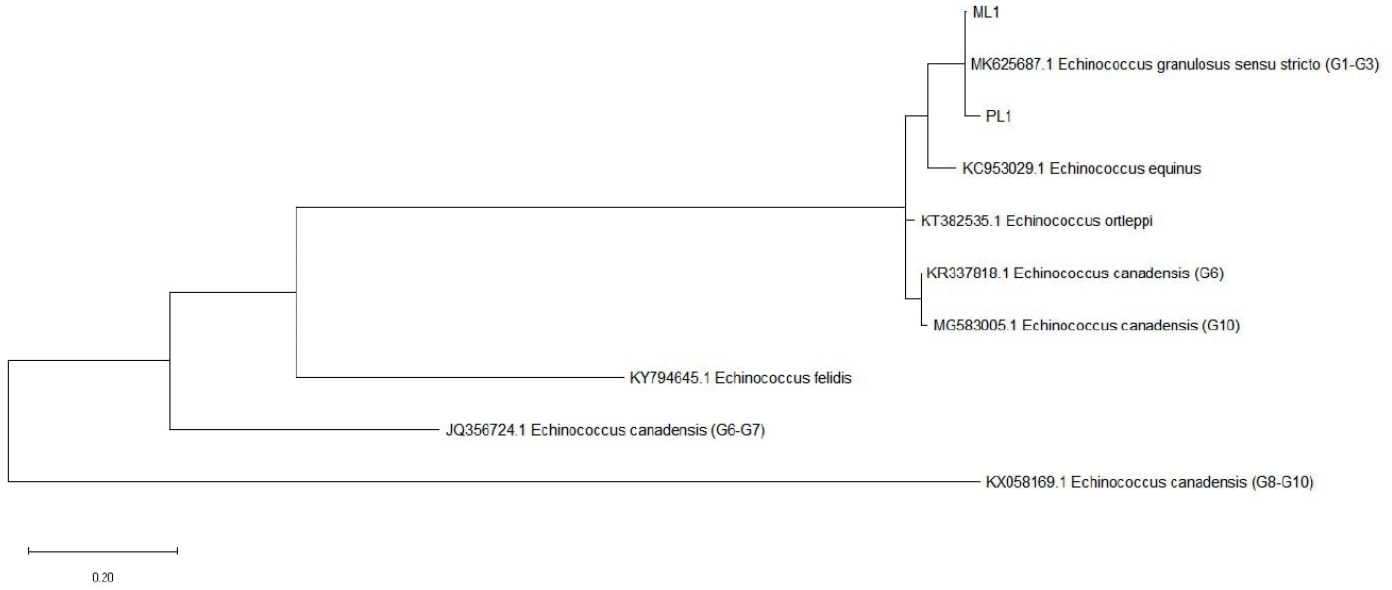
E. granulosus'un neden olduğu KE, hem insanları hem de hayvanları etkileyen kırsal alanlarda ve özellikle az gelişmiş ülkelerde sıklıkla görülen dünyadaki en önemli zoonozlardan biridir (42). *E. granulosus* içindeki suş farklılıkları etkenin konak spesifitesi, gelişim hızı, patojenitesi, antijenik özellikleri, kemoterapotiklere duyarlılığı, bulaşma dinamikleri ve epidemiyolojisinde farklılıklara yol açabilmektedir (43). Bu nedenle endemik bir bölgedeki baskın suş ve/veya suşların ortaya konması parazitin kontrolü ve olası eradikasyonu açısından oldukça önemlidir (44).

E. granulosus'un taksonomisi çeşitli moleküler düzeydeki çalışmalar kapsamında özellikle mt-CO1 DNA dizilerinin *Echinococcus* izolatlarına uygulanması ile *Echinococcus* türlerinin moleküler düzeydeki sınıflandırılması, genetiği, epidemiyolojisi ve fenotipik varyasyonu ile ilgili birçok bilgi elde edilmiştir (9). Örneğin; önceden *E. granulosus*'un at suşu (G4) olarak tanımlanan *E. granulosus equinus* son yıllarda yapılan klasifikasyon çalışmaları sonucunda tür bazında *E. equinus* olarak isimlendirilmiştir (44). Türkiye'de günümüze kadar yapılan *Echinococcus* türlerinin moleküler karakterizasyon belirleme çalışmaları neticesinde üç farklı türün sirkülasyonu bulunmaktadır. Bu türler *E. granulosus* s.s. (G1-G3), *E. equinus* ve *E. canadensis* (G6/G7) olarak bildirilmiştir (8,12,13,18,45).

İtalya'da Varcasia ve ark. (20), ülkenin Sardunya, Sicilya ve Toskana bölgelerinde toplamda 2,231 at üzerinde kist hidatid yönünden bir çalışma gerçekleştirmiş ve *ND1*, *CO1* ve *12S* gen bölgelerinin kısmi DNA sekans analizi sonuçlarına göre iki atta *E. granulosus* s.s. üç hayvanda ise *E. equinus* tespit etmişlerdir. Fransa'da benzer bir çalışmada *ND1* ve *CO1* gen bölgelerinin DNA sekans



Şekil 2. Mitokondrial sitokrom oksidaz subunit 1 (mt-CO1) gen bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonucunda oluşan bandların görünümü M: DNA marker (100 bp), P: Pozitif kontrol (446 bp) N: Negatif kontrol, YD: Yaban domuzu, K: Katır



Şekil 3. mt-CO1 gen bölgesine ait yaban domuzu (PL1) ve katır (ML1) sekansları ile referans sekanslar kullanılarak oluşturulan filogenetik ağaç görünümü

analizi sonuçlarına göre 11 atta *E. equinus* bildirilmiştir (32). Almanya'da bir kısırağın akciğerinden izole edilen kist hidatid, *ND1* ve *CO1* gen bölgelerinin DNA sekans analizi sonucunda *E. equinus* olarak tespit edilmiştir (46). Tunus'ta *Echinococcus* izolatlarının genetik çeşitliliği ve haplotipleri üzerine yapılan bir çalışmada eşeklerden elde edilen hidatid kistlerin *cox1* ve *ef1a* gen bölgeleri PZR amplifikasyonuna tabi tutulduktan sonra DNA sekans analizleri yaptırılmış ve *E. granulosus* s.s. ve *E. equinus* türleri belirlenmiştir (35). Mısır'da eşeklerdeki *E. granulosus*'un moleküler karakterizasyonu üzerine yapılan bir çalışmada 145 eşek incelenmiş ve bunların 10'unda hidatid kist belirlenmiştir. Bu örneklerin *ND1* ve *CO1* gen bölgelerinin DNA sekans analizi sonucunda *E. equinus* (G4) olduğu rapor edilmiştir (37).

Türkiye'de nekropsisi gerçekleştirilen bir atta rastlanılan hidatid kistin moleküler karakterizasyonunu belirlemeye yönelik yapılan bir çalışmada öncelikle *12S rRNA* gen bölgesinin PZR amplifikasyonu sonrasında mt-CO1 gen bölgesinin sekans sonuçlarına göre *E. granulosus* s.s. (G1-G3) olduğu ortaya konmuştur. (15). Başka bir çalışmada (17) bir katırda hidatid kist tespit edilmiş olup bu izolatin *12S rRNA* ve mt-CO1 gen bölgelerinin PZR'si daha sonrasında mt-CO1 bölgesinin kısmi sekans analizi neticesinde Türkiye'de ilk defa bir katırda *E. equinus* raporu bildirilmiştir. Ülkemizde bir eşekte yapılan nekropsisi sonucunda akciğer parankiminden izole edilen hidatid kist izolatının mt-CO1 ve *NADH1* gen bölgelerinin sekans analizleri sonucunda Türkiye'de ilk defa *E. equinus* rapor edilmiştir (14). Diğer bir çalışmada bir eşeğin karaciğerinde hidatid kist belirlenmiş, *12S rRNA* ve *CO1* genlerinin PZR ve mt-CO1 geninin kısmi sekans analizleri ile moleküler karakterizasyonu yapılmış olup neticede *E. equinus* tespit edilmiştir (16).

Bu çalışmada ise bir katırın karaciğerine lokalize olmuş hidatid kiste rastlanmıştır. Mitochondriyal *COI* ve *NAD1* gen bölgelerinin kısmi sekans analizleri *Echinococcus* türlerinin genotiplendirilmesi için oldukça spesifiktir. Bu sebeple bu çalışmada mt-CO1 gen bölgesi tercih edilmiştir. Elde edilen izolatların mt-CO1 gen bölgelerinin DNA dizi analizleri sonucunda *E. granulosus* s.s.

(G1-G3) olduğu belirlenmiştir. Katırlar bu nedenle *Echinococcus* türlerinin bulaşma döngüsünde olası ek bir enfeksiyon kaynağı olabilirler.

Dünyada yaban domuzları ile ilgili çalışmalara bakıldığında baskın türün *E. granulosus* s.s. (G1 ve G3) ve *E. canadensis* (G7) olduğu görülmektedir (9). Ukrayna'da bir yaban domuzunun karaciğerinden elde edilen hidatid kist izolatının moleküler karakterizasyonunu belirlemeye yönelik yapılan bir çalışmada, mt-*ND1* gen bölgesinin kısmi sekans analizi sonucunda *E. granulosus*'un G7 suşu bildirilmiştir (26). Fransa'da 19 domuz ve 4 yaban domuzunun mt-CO1 ve *NADH1*, ATP synthase subunit6 (*atp6*) ve NADH dehydrogenase subunit 3 (*nad3*) gen bölgelerinin sekans analizleri neticesinde *E. canadensis* (G6/G7) belirlenmiştir (27). İtalya'nın Latium bölgesinde iki yaban domuzunda kist hidatid belirlenerek öncelikle mt-CO1, *nad1* ve *rrnS* (small subunit ribosomal RNA) gen bölgelerinin DNA sekans analizleri neticesinde örneklerde *E. granulosus* s.s. (G1) bildirilmiştir (25). İspanya'da 4 yaban domuzuna ait hidatid kist örneğinin üçünde *E. canadensis* (G7), birinde ise *E. granulosus* s.s.(G1) tespit edilmiştir (32). Türkiye'de ise domuz ve yaban domuzlarında prevalans ve moleküler karakterizasyon (genotiplendirme) çalışmaları oldukça kısıtlıdır. Şu zamana kadar yaban domuzu ile ilgili henüz bir bildiri yokken insan izolatların dayapılan genotiplendirme çalışmalarında nadir olarak domuz suşuna (G7) rastlanmıştır. İzmir ve Manisa illerinde ameliyat materyali olarak alınan 10 insan izolatu üzerinde yapılan bir çalışmada bu izolatlara mt-CO1, *atp6*, *nad1*, *rrnS* sekans analizleri yapılmış ve Türkiye'de ilk kez domuz suşu (G7) saptanmıştır (18). Trakya bölgesinde 42 insan izolatında yapılan başka bir çalışmada PZR-RFLP ve PZR-SSCP metotları kullanılarak *ITS-1* ve *NAD1* gen bölgelerinin sekans analizi gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda insan izolatlarında G1 ve G7 suşları belirlenmiştir. Bu rapor, bölgedeki ilk G7 suşu bildirimidir (19).

Bu çalışmada ise nekropsisi yapılan bir yaban domuzunun akciğerinde hidatid kiste rastlanmıştır. Elde edilen izolatların mt-

CO1 gen bölgelerinin DNA dizi analizleri sonucunda *E. granulosus* s.s. (G1 ve G3) olduğu belirlenmiştir. Dünya'daki diğer ülkelerdeki çalışmalarda olduğu gibi *E. granulosus* s.s. (G1 ve G3) ülkemizde de yapılan çalışmalar neticesinde baskın tür olduğu DNA sekans analizleri sonucunda gösterilmiştir. Ayrıca *E. granulosus* s.s.'nin (G1 ve G3) KE'nin yayılmasında en dominant tür olduğu ve yaban domuzuna da adapte olabileceği gösterilmiştir. Bu çalışma, Türkiye'de yaban domuzlarında *Echinococcus* türlerinin moleküler karakterizasyonunun belirlenmesine yönelik ilk çalışmadır.

Yaban hayatı son zamanlarda evcil hayvanlar ve insanlar için potansiyel bir hastalık kaynağı olmuştur. Bu durumun özellikle silvatic ve pastoral döngülerin birbirine geçmesi ile oluşabileceği akla gelmektedir. Dolayısıyla vahşi hayvanlar da evcil hayvan konaklarının dışkılarında bulunan enfektif yumurtaları alarak enfeksiyona yakalanabilirler (47). Parazit yaşam döngüsünün yanı sıra epidemiyolojik durumun önemini değerlendirmek için yaban hayatı, özellikle de evcil hayvanlarla yakın temasta bulunan endemik alanlarda daha fazla araştırma yapılmalıdır. *E. granulosus*'un alt türlerini veya suşlarını tanımlamak, hastalığın epidemiyolojisi ve kontrolü hakkında net bir anlayış geliştirmek için gerek yaban domuzu gerekse katırlara ait hidatid kistlerin daha fazla sayıdaki örnekle ve daha ileri düzeyde moleküler çalışmaların yapılması açısından gerekli olduğu kanaatine varılmıştır.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Bu çalışmada etik kurul onayına gerek yoktur.

Hasta Onayı: Makalede yer alan yaban domuzu yerel avcılar tarafından vurulup ölü olarak getirilmiş ve nekropsisi yapılmıştır. Katır ise yaşlılığa bağlı ötenazisi sonucunda nekropsisi yapılmıştır. Bu sebeple hasta onay bilgisi mevcut değildir.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulundaki kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

* Yazarlık Katkıları

Konsept: S.Ş., H.K.K., Dizayn: S.Ş., H.K.K., Veri Toplama veya İşleme: H.K.K., F.Ç., Ş.G.K., S.Ş., B.K., A.Ç., Analiz veya Yorumlama: H.K.K., S.Ş., F.Ç., Ş.G.K., Literatür Arama: H.K.K., F.Ç., Ş.G.K., S.Ş., Yazan: H.K.K., S.Ş., F.Ç., Ş.G.K.

Çıkar Çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

KAYNAKLAR

- Romig T, Deplazes P, Jenkins D, Giraudoux P, Massolo A, Craig PS, Wassermann M, Takahashi K, de la Rue M. Ecology and life cycle patterns of *Echinococcus* species. *Adv Parasitol* 2017; 95: 213-314.
- Torgerson PR. Economic effects of echinococcosis. *Acta Trop* 2003; 85: 113-8.
- Torgerson PR, Carmona C, Bonifacio R. Estimating the economic effects of cystic echinococcosis: Uruguay, a developing country with upper-middle income. *Ann Trop Med Parasitol* 2000; 94: 703-13.
- Umur S. Prevalence and economic importance of cystic echinococcosis in slaughtered ruminants in Burdur, Turkey. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2003; 50: 247-52.
- Simsek S, Koroglu 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.
- Şimşek S, Köroğlu E, Dumanlı N, Aktaş M. Seroprevalence of cattle hydatidosis in some districts in the east anatolian region of Turkey. *Turk J Vet Anim Sci* 2005; 29: 1305-10.
- Sariözkan S, Yalçın C. Estimating the production losses due to cystic echinococcosis in ruminants in Turkey. *Vet Parasitol* 2009; 163: 330-4.
- Kesik HK, Simsek S, Kilinc SG, Koroglu E. Identification of antigen B (AgB) Gene polymorphism in cattle and sheep isolates of *Echinococcus granulosus* and investigation of effects on serological diagnosis. *Acta Trop* 2019; 199: 105099.
- Deplazes P, Rinaldi L, Alvarez Rojas CA, Torgerson PR, Harandi MF, Romig T, et al. Global distribution of alveolar and cystic echinococcosis. *Adv Parasitol* 2017; 95: 315-493.
- Nakao M, Lavikainen A, Yanagida T, Ito A. Phylogenetic systematics of the genus *Echinococcus* (Cestoda: Taeniidae). *Int J Parasitol* 2013; 43: 1017-29.
- Kagendo D, Magambo J, Agola EL, Njenga SM, Zeyhle E, Mulinge E, et al. A survey for *Echinococcus* spp. of carnivores in six wildlife conservation areas in Kenya. *Parasitol Int* 2014; 63: 604-11.
- Utuk AE, Simsek S, Koroglu E, McManus DP. Molecular genetic characterization of different isolates of *Echinococcus granulosus* in east and southeast regions of Turkey. *Acta Trop* 2008; 107: 192-4.
- Simsek S, Balkaya I, Koroglu E. Epidemiological survey and molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in cattle in an endemic area of eastern Turkey. *Vet Parasitol* 2010; 172: 347-9.
- Simsek S, Roinioti E, Eroksuz H. First Report of *Echinococcus equinus* in a donkey in Turkey. *Korean J Parasitol* 2015; 53: 731-5.
- Utuk AE, Simsek S. Molecular characterization of the horse isolate of *Echinococcus granulosus* in Turkey. *J Helminthol* 2013 ; 87: 305-8.
- Kesik HK, Kilinc SG, Simsek S, Gul A. Occurrence of liver hydatid cysts in a donkey and Molecular Characterization of *Echinococcus equinus*. *J Parasitol* 2019; 105: 442-5.
- Simsek S, Cevik A. First detection and molecular characterization of *Echinococcus equinus* in a mule in Turkey. *Acta Parasitol* 2014; 59: 773-7.
- Snábel V, Altintas N, D'Amelio S, Nakao M, Romig T, Yolasigmaz A, et al. Cystic echinococcosis in Turkey: genetic variability and first record of the pig strain (G7) in the country. *Parasitol Res* 2009; 105: 145-54.
- Eryıldız C, Sakru N. Molecular Characterization of human and animal isolates of *Echinococcus granulosus* in the thrace region, Turkey. *Balkan Med J* 2012; 29: 261-7.
- Varcasia A, Garippa G, Pipia AP, Scala A, Brianti E, Giannetto S, et al. Cystic echinococcosis in equids in Italy. *Parasitol Res* 2008; 102: 815-8.
- Scala A, Varcasia A, Pipia AP, Pilo C, Garippa G. First molecular isolation of *Echinococcus granulosus* horse strain (G4) in Sardinia (Italy). *Parassitologia* 2006; 48: 344.
- Garippa G, Battelli G, Cringoli G, Giangaspero A, Giannetto S, Manfredi MT. Aggiornamenti epidemiologici sull'echinococcosi animale in Italia [Animal echinococcosis in Italy: epidemiological update]. *Parassitologia* 2004; 46: 33-8.
- Varcasia A, Canu S, Lightowlers MW, Scala A, Garippa G. Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* strains in Sardinia. *Parasitol Res* 2006; 98: 273-7.
- Varcasia A, Piseddu T, Pipia AP, Schianchi G, Marongiu A, Petrucci V, et al. Epidemiological and biomolecular updates on cystic echinococcosis in pigs and wild boars of Sardinia (Italy). *Lucre. Stiintifiche Med Veterinaria* 2008; 41: 385-7.
- Busi M, Snábel V, Varcasia A, Garippa G, Perrone V, De Liberato C, et al. Genetic variation within and between G1 and G3 genotypes of *Echinococcus granulosus* in Italy revealed by multilocus DNA sequencing. *Vet Parasitol* 2007; 150: 75-83.
- Kedra AH, Tkach VV, Swiderski Z, Pawlowski Z, Emets A, Pawlowski J. Molecular characterisation of *Echinococcus granulosus* from a wild boar. *Acta Parasitol* 2000; 45: 121-2.
- Umhang G, Richomme C, Hormaz V, Boucher JM, Boué F. Pigs and wild boar in Corsica harbor *Echinococcus canadensis* G6/7 at levels of concern for public health and local economy. *Acta Trop* 2014; 133: 64-8.

28. Sotiraki S, Himonas C, Korkoliakou P. Hydatidosis-echinococcosis in Greece. *Acta Trop* 2003; 85: 197-201.
29. Varcasia A, Canu S, Kogkos A, Pipia AP, Scala A, Garippa G, et al. Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in sheep and goats of Peloponnesus, Greece. *Parasitol Res* 2007; 101: 1135-9.
30. Onac D, Györke A, Oltean M, Gavrea R, Cozma V. First detection of *Echinococcus granulosus* G1 and G7 in wild boars (*Sus scrofa*) and red deer (*Cervus elaphus*) in Romania using PCR and PCR-RFLP techniques. *Vet Parasitol* 2013; 193: 289-91.
31. González LM, Daniel-Mwambete K, Montero E, Rosenzvit MC, McManus DP, Gárate T, et al. Further molecular discrimination of Spanish strains of *Echinococcus granulosus*. *Exp Parasitol* 2002; 102: 46-56.
32. Daniel Mwambete K, Ponce-Gordo F, Cuesta-Bandera C. Genetic identification and host range of the Spanish strains of *Echinococcus granulosus*. *Acta Trop* 2004; 91: 87-93.
33. Eslami A, Shayan P, Bokaei S. Morphological and genetic characteristics of the liver hydatid cyst of a donkey with iran origin. *Iran J Parasitol* 2014; 9: 302-10.
34. Sarkari B, Mansouri M, Khabisi SA, Mowlavi G. Molecular characterization and seroprevalence of *Echinococcus granulosus* in wild boars (*Sus scrofa*) in south-western Iran. *Ann Parasitol* 2015; 61: 269-73.
35. Boufana B, Lahmar S, Rebai W, Ben Safta Z, Jebabli L, Ammar A, et al. Genetic variability and haplotypes of *Echinococcus isolates* from Tunisia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2014; 108: 706-14.
36. Lahmar S, Boufana B, Jebabli L, Craig PS, Ayari H, Basti T, et al. Modelling the transmission dynamics of cystic echinococcosis in donkeys of different ages from Tunisia. *Vet Parasitol* 2014; 205: 119-24.
37. Aboelhadid SM, El-Dakhly KM, Yanai T, Fukushi H, Hassanin KM. Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in Egyptian donkeys. *Vet Parasitol* 2013; 193: 292-6.
38. Aaty HE, Abdel-Hameed DM, Alam-Eldin YH, El-Shennawy SE, Aminou HA, Makled SS, et al. Molecular genotyping of *Echinococcus granulosus* in animal and human isolates from Egypt. *Acta Trop* 2012; 121: 125-8.
39. Alam-Eldin YH, Aaty HEA, Ahmed MA. Molecular characterization of cystic echinococcosis: First record of G7 in Egypt and G1 in Yemen. *Acta Parasitol* 2015; 60: 662-5.
40. Bowles J, Blair D, McManus DP. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Mol Biochem Parasitol* 1992; 54: 165-73.
41. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol* 2016; 33: 1870-4.
42. Rickard MD, Lightowers MW. Immunodiagnosis of Hydatid Disease, In: Thompson RCA (Ed). *The Biology of echinococcus and hydatid disease*. George Allen and Unwin. London, 1986; 217-49.
43. Ütük AE, Şimşek S, Köroğlu E. *Echinococcus cinsinin moleküler genetik karakterizasyonu*. *T Parazitolojisi Dergisi* 2005; 29: 171-6.
44. Eckert J, Thompson RC. Intraspecific variation of *Echinococcus granulosus* and related species with emphasis on their infectivity to humans. *Acta Trop* 1997; 64: 19-34.
45. Simsek S, Balkaya I, Ciftci AT, Utuk AE. Molecular discrimination of sheep and cattle isolates of *Echinococcus granulosus* by SSCP and conventional PCR in Turkey. *Vet Parasitol* 2011; 178: 367-9.
46. Blutke A, Hamel D, Hüttner M, Gehlen H, Romig T, Pfister K, et al. Cystic echinococcosis due to *Echinococcus equinus* in a horse from southern Germany. *J Vet Diagn Invest* 2010; 22: 458-62.
47. Thompson RC. Parasite zoonoses and wildlife: One Health, spillover and human activity. *Int J Parasitol* 2013; 43: 1079-88.