

**KUZEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİ'NDE ALVEOLAR
EKİNOKOKKOZİSİN YAYGINLIĞINDA KÖPEKLERİN
ROLÜ**

Muzaffer AKYÜZ
Parazitoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Hamza AVCIOĞLU

Doktora Tezi-2022

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KUZEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİ'NDE ALVEOLAR
EKİNOKOKKOZİSİN YAYGINLIĞINDA KÖPEKLERİN
ROLÜ**

Muzaffer AKYÜZ

**Parazitoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Hamza AVCIOĞLU**

**ERZURUM
2022**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PARAZİTOLOJİ ANA BİLİM DALI

**KUZEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİ'NDE ALVEOLAR
EKİNOKOKKOZİSİN YAYGINLIĞINDA KÖPEKLERİN ROLÜ**

Muzaffer AKYÜZ

Tez Savunma Tarihi : 21.12.2022

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Hamza AVCIOĞLU (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof.Dr. Esin GÜVEN (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof.Dr. M. Özkan TİMURKAN (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof.Dr. Alparslan YILDIRIM (Erciyes Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç.Dr. A. Tümay GÜRLER (Ondokuz Mayıs Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Elif ÇADIRCI
Enstitü Müdürü

Doktora Tezi
ERZURUM - 2022

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. <i>Echinococcus</i> cinsi.....	5
2.1.1. Tarihçe	5
2.1.2. Taksonomi	6
2.2. <i>Echinococcus multilocularis</i> (Leuckart, 1863).....	7
2.2.1. Erişkin.....	8
2.2.2. Yumurta	9
2.2.3. Alveolar Kist.....	10
2.2.4. Yaşam Döngüsü.....	11
2.2.4.1. Son Konaklarda Gelişim.....	13
2.2.4.2. Ara Konaklarda Gelişim	14
2.2.5. Epidemiyoloji	16
2.2.5.1. Avrupa	18
2.2.5.2. Asya	30
2.2.5.3. Amerika	37
2.2.5.4. Dünyada İnsanlarda Alveolar Ekinokokkozisin Dağılımı	40

2.2.5.5. Türkiye.....	42
2.2.5.6. <i>E. multilocularis</i> 'in Moleküler Epidemiyolojisi.....	46
2.2.6. İmmunonoloji.....	48
2.2.6.1. Son Konaklarda İmmunoloji.....	48
2.2.6.2. Ara Konaklarda ve İnsanlarda İmmunoloji	48
2.2.7. Patogenez ve Klinik	53
2.2.7.1. Son Konaklarda Patogenez ve Klinik	53
2.2.7.2. Ara Konak Rodentlerde Patogenez ve Klinik.....	54
2.2.7.3. Farklı Hayvan Türlerinde Patogenez ve Klinik	54
2.2.7.4. İnsanlarda Patogenez ve Klinik	56
2.2.8. Tanı	58
2.2.8.1. Son Konaklarda Tanı	58
2.2.8.2. Ara Konaklarda Tanı	66
2.2.8.3. İnsanlarda Tanı	67
2.2.9. Tedavi, Korunma ve Kontrol	68
3. MATERYAL VE METOT.....	73
3.1. Saha Çalışması.....	73
3.1.1. Çalışma Alanı	73
3.1.2. Çalışma Materyali.....	74
3.1.2.1. Dışkı Örneklerinin Toplanması	75
3.2. Laboratuvar Çalışmaları	76
3.2.1. Dışkı Örneklerinin Sequential Sieving/Flotasyon Yöntemi ile İncelenmesi	76
3.2.2. DNA Ekstraksiyonu.....	78
3.2.3. PCR.....	79
3.2.4. Jel Elektrophoresis	82

3.2.4.1. AgaroZ Jel Hazırlanışı.....	82
3.2.4.2. Elektroforez	82
3.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler	82
3.3.1. Sequential Sieving/Flotasyon İşlemi Sırasında Kullanılan Solüsyonlar.....	82
3.3.2. DNA Ekstraksiyonu İçin Gerekli Solüsyonlar.....	83
3.3.3. Polimerase Chain Reaksiyonu İçin Gerekli Solüsyonlar	84
3.3.4. Jel Elektroforezinde Kullanılan Solüsyonlar	84
3.4. Sekans Analizi ve Filogenetik Analiz.....	85
3.5. İstatistiksel Analiz	85
4. BULGULAR.....	86
4.1. Sequential Sieving/Flotasyon Yöntemi Sonuçları	86
4.2. Moleküler Analiz	87
4.3. Sekans ve Filogenik Analiz	91
5. TARTIŞMA.....	97
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	111
KAYNAKÇA.....	113
EKLER	177
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	177
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU.....	178
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU	179
EK-4. KURUM İZİNLERİ	180

TEŞEKKÜR

Doktoraya başladığım ilk günden itibaren her zaman ilgi ve desteğini hissettiğim, hayata dair birçok yönden çok değerli tecrübe ve fikirleri ile gelişmemde katkı sağlayan, doktora eğitimim boyunca bilgi ve birikimlerinden çokca yararlandığım, öğrencisi olduğum için her zaman gurur duyacağım danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Hamza AVCIOĞLU'na en derin saygı ve muhabbetlerimle teşekkürlerimi sunarım.

Lisans eğitimimimden bu zamana kadar hem kişisel hem de akademik bilgi ve deneyimlerini her daim benimle paylaşan, kişilik ve duruşunu örnek aldığım hocam, Sayın Prof. Dr. Esin GÜVEN'e en kalbi duygularımla teşekkürlerimi sunarım. Doktora eğitim sürecim boyunca beni destekleyen, bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim hocam, Sayın Prof. Dr. İbrahim BALKAYA'ya teşekkürlerimi sunarım. Lisans eğitimimden bugüne kadar her zaman destek ve ilgisiyle yanımda olan sevgili Dr. Öğr. Üyesi Rıdvan KIRMAN'a teşekkürlerimi sunarım. Bu tez çalışmasını TDK-2019-7467 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne ve aileme teşekkür ederim.

Muzaffer AKYÜZ

ÖZET

Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde Alveolar Ekinokokkozisin Yaygınlığında

Köpeklerin Rolü

Amaç: Alveolar ekinokokkozis (AE), tedavi edilmediği takdirde yüksek mortalite ile seyreden, *E. multilocularis*'in neden olduğu zoonoz bir hastalıktır. Bu çalışmanın amacı, Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi sokak köpeklerinde *E. multilocularis*'in varlığı ve yaygınlığının ortaya konularak, sokak köpeklerinin AE'nin yayılmasındaki rolünü belirlemektir.

Materyal ve Metot: Çalışma alanı Ağrı, Ardahan, Bayburt, Erzincan, Erzurum, Iğdır ve Kars illerinin yer aldığı Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'dir. Bu illerdeki hayvan barınaklarında bulunan sokak köpeklerinden, Haziran 2019 ile Eylül 2020 tarihleri arasında, prazikuantel uygulaması sonrası bireysel olarak 1069 dışkı örneği alındı. Dışkı örnekleri, tenya yumurtaların izolasyonu amacıyla sequential sieving/flotasyon yöntemiyle incelendi. Tenya tip yumurta ile pozitif örneklerin tamamı, sırasıyla EmNest (F/R) ve Cest1 (F) / Cest2 (R) primerleri ile 12S ribozomal RNA ve NAD1 gen bölgelerinin kısmi amplifikasyonu için PCR'ye tabi tutuldu ve ardından PCR ürünleri, çift yönlü sekans analizi ile incelendi.

Bulgular: Dışkı örneklerinde %26.8 (286/1069) oranında tenya tip yumurta pozitifliği belirlendi. Bu örneklerin PCR analizleri sonucunda, %8.7 (93/1069) *E. multilocularis* varlığı ortaya konuldu. İller arasında en yüksek *E. multilocularis* pozitifliğine Bayburt ilinde [%14.4 (15/104)] rastlandı. Iğdır [%13.2 (14/106)], Kars [%10.4 (12/115)], Erzurum [%8.3 (35/420)], Erzincan [%6.9 (7/101)] ve Ağrı [%6.9 (8/116)] illerinde de yüksek yaygınlık belirlenirken en düşük yaygınlık ise Ardahan ilinde [%1.9 (2/107)] tespit edildi. Elde edilen izolatların hem 12S rRNA gen bölgesinde hem de NAD1 gen bölgesinde kendi aralarında %100, referans izolatlar ile 12S rRNA gen bölgesinde %77.4-100 ve NAD1 gen bölgesinde %99.7-100 oranlarında benzer oldukları tespit edildi.

Sonuç: Bu çalışmanın sonuçları, Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi illerindeki sokak köpeklerinde *E. multilocularis*'in varlığını ve yüksek yaygınlık oranlarına sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bölgede yaşayan insanlar için önemli bir halk sağlığı problemi olan AE'nin bulaşmasında köpeklerin oldukça önemli bir role sahip olabileceği yine bu sonuçlar ile vurgulanmaktadır. Bölgede AE'ye karşı geliştirilecek olan kontrol stratejilerinin sadece kırsalda değil aynı zamanda şehir merkezinde, özellikle de sokak köpekleri üzerinde yürütülmesinin gerekliliği elde edilen bu veriler ile ön plana çıkmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Alveolar ekinokokkozis, *E. multilocularis*, Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi, sokak köpeği, Türkiye

ABSTRACT

The Role of Stray Dogs on Alveolar Echinococcosis in the Northeastern Turkey

Aim: Alveolar echinococcosis (AE) is a zoonotic disease caused by *E. multilocularis*, which has a high mortality if left untreated. The aim of this study was to determine the role of stray dogs through the presence and prevalence of *E. multilocularis* in stray dogs in Northeastern Region.

Material and method: The study area is the Northeastern Region, involving the provinces of Ağrı, Ardahan, Bayburt, Erzincan, Erzurum, Iğdır, and Kars. In these provinces, 1069 fecal samples were collected individually from stray dogs after praziquantel application in animal shelters between June 2019 and September 2020. The fecal samples were analyzed by sequential flotation/sieving method for isolation of taeniid eggs. Each sample which positive taeniid egg was subjected to PCR for amplification of partial fragments of 12S ribosomal RNA and NAD1 of *E. multilocularis* with EmNest (F/R) and Cest1 (F) / Cest2 (R) primers, respectively. The PCR products were analyzed by bidirectional sequencing.

Results: Taeniid-type egg positivity was determined as 26.8% (286/1069) in fecal samples. As a result of PCR analysis of these samples, the presence of *E. multilocularis* was revealed as 8.7% (93/1069). In all the provinces, the highest *E. multilocularis* positivity was in Bayburt [14.4% (15/104)]. Iğdır [13.2% (14/106)], Kars [10.4% (12/115)], Erzurum [8.3% (35/420)], Erzincan [6.9% (7/101)] and Ağrı [6.9% (8/116)] provinces also have high prevalences, while the lowest prevalence was in Ardahan [1.9% (2/107)] province. The obtained isolates showed 100% identity with each other both in the 12S rRNA and in the NADI gene regions; in the 12S rRNA gene region 77.4-100% identity with the reference isolates and in the NADI gene region 99.7-100% identity as well.

Conclusion: The results of this study reveal the presence and high prevalence of *E. multilocularis* in stray dogs in the provinces of the Northeastern Region. These results also highlighted that dogs have a very important role in the transmission of AE, which is an important public health problem for humans in the region. The necessity of bringing out the control strategies to be designed for AE in the region not only in the rural areas but also in the urban areas, especially on stray dogs, burst into prominence with these data.

Key Words: Alveolar echinococcosis, *E. multilocularis*, Northeastern Turkey, stray dogs, Turkey

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrat derece
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
bç	: Baz çifti
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
Cox1	: Mitokondriyal sitokrom c oksidaz subunit 1
DHSÖ	: Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DNase	: Deoksiribonükleaz
dNTP	: Dinükleotittrifosfat
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	: Etilendiamin tetra-asetik asit
ELISA	: Enzime bağlı immünosorbent analizleri
IFN- γ	: İnterferon-gama
IgE	: İmmunglobulin E
IgG	: İmmunglobulin G
IL	: İnterlökin
kg	: Kilogram
km²	: Kilometre kare
KYK	: Kuzey Yarım Küre
M	: Makrofaj
m	: Metre
mg	: Miligram
MgCl₂	: Magnezyum klorür

ml	:	Mililitre
mm	:	Milimetre
mM	:	Mili mol
nad1	:	nikotinamid adenin dinükleotit dehidrogenaz subunit 1
NO	:	Nitrik oksit
PBS	:	Phosphate Buffered Saline
pmol	:	Pikomol
RNA	:	Ribonükleik asid
RNAse	:	Reoksiribonükleaz
rpm	:	Revolutions Per Minute
sn	:	Saniye
Taq	:	Thermus aquaticus
Th	:	T yardımcı hücre
UV	:	Ultraviyole
ZnCl₂	:	Çinko klorür
µl	:	Mikrolitre
µm	:	Mikrometre

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Erişkin <i>E. multilocularis</i>	9
Şekil 2.2. Tenya tip yumurtanın yapısı.....	10
Şekil 2.3. Alveolar kist	11
Şekil 2.4. <i>Echinococcus multilocularis</i> 'in yaşam döngüsü.....	13
Şekil 2.5. <i>Echinococcus multilocularis</i> 'in temel yaşam döngüsü: son ve ara konakta gelişim aşamaları	16
Şekil 2.6. Dünyada insan AE vakalarının dağılımı	41
Şekil 2.7. Türkiye’de insan AE vakalarının dağılımı	45
Şekil 3.1. Çalışma sahası (orijinal).....	74
Şekil 3.2. Sequential sieving/flotasyon yöntemi (orijinal)	77
Şekil 4.1 Sequential sieving/flotasyon yöntemiyle elde edilen tenya tip yumurtalar (kırmızı oklar, orijinal)	87
Şekil 4.2 12S rRNA gen bölgesi PCR ürünleri	88
Şekil 4.3 PCR sonucu <i>E. multilocularis</i> pozitifliğinin illere göre dağılımı (orijinal)	90
Şekil 4.4 NADH dehydrogenase subunit I gen bölgesi PCR ürünleri.....	91
Şekil 4.5. <i>Echinococcus multilocularis</i> izolatlarının parsiyel 12S rRNA gen bölgesine göre filogenetik ilişkileri (Neighbour-joining metodu-Kimura 2 parametre modeli)	93
Şekil 4.6. <i>Echinococcus multilocularis</i> izolatlarının parsiyel NADH dehydrogenase subunit- I gen bölgesine göre filogenetik ilişkileri (Neighbour-joining metodu-Kimura 2 parametre modeli).....	96

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. <i>Echinococcus</i> spp.'nin Sistematigi.....	7
Tablo 2.2. Avrupa Kıtasında Son Konaklarda <i>E. multilocularis</i> 'in Yaygınlığı Üzerine Yapılmış Çalışmalar.	20
Tablo 2.3. Avrupa Kıtasında Ara Konaklarda <i>E. multilocularis</i> 'in Yaygınlığı Üzerine Yapılmış Çalışmalar.	28
Tablo 2.4. Asya Kıtasında Son Konaklarda <i>E. multilocularis</i> 'in Yaygınlığı Üzerine Yapılmış Çalışmalar.	32
Tablo 2.5. Asya Kıtasında Ara Konaklarda <i>E. multilocularis</i> 'in Yaygınlığı Üzerine Yapılmış Çalışmalar.	36
Tablo 2.6. Amerika Kıtasında Son Konaklarda <i>E. multilocularis</i> 'in Yaygınlığı Üzerine Yapılmış Çalışmalar.	38
Tablo 2.7. Amerika Kıtasında Ara Konaklarda <i>E. multilocularis</i> 'in Yaygınlığı Üzerine Yapılmış Çalışmalar.	40
Tablo 2.8. Türkiye’de Son ve Ara Konaklarda <i>E. multilocularis</i> 'in Yaygınlığı Üzerine Yapılmış Çalışmalar.	44
Tablo 3.1. İllere Göre Köpeklerden Toplanan Dışkı Örnekleri.	75
Tablo 3.2. PCR’de Kullanılan Primer ve Nükleotid Dizilimleri.....	79
Tablo 3.3. EmNest (F/R) Primer Çifti ile Bir Reaksiyonluk PCR Karışımı.	80
Tablo 3.4. EmNest (F/R) Primerleri ile PCR Isı Profili.	80
Tablo 3.5. Cest1 / Cest2 (F/R) Primer Çifti ile Bir Reaksiyonluk PCR Karışımı.	81
Tablo 3.6. Cest1 / Cest2 (F/R) Primerleri ile PCR Isı Profili.	81
Tablo 3.7. <i>Echinococcus multilocularis</i> İzolatlarının GenBank Erişim Numaraları.	85
Tablo 4.1. Sequential Sieving/Flotasyon Yöntemi Sonuçlarının İllere Göre Dağılımı. .	86

Tablo 4.2. EmNest (F/R) Primeri ile <i>E. multilocularis</i> pozitifliğinin İllere Göre Dağılımı.	88
Tablo 4.3 Sequential Sieving/Flotasyon Pozitif Örneklerde <i>E. multilocularis</i> Pozitifliğinin Yumurta Yoğunluğuna Göre Dağılımı.	89
Tablo 4.4 <i>Echinococcus multilocularis</i> Pozitifliğinin Köpek Cinsiyetine Göre Dağılımı.	89
Tablo 4.5. EmNest (F/R) Primer Çifti ile Elde Edilen İzolatların Genbank’a Kayıtlı İzolatlarla Benzerlik Oranları.	92
Tablo 4.6. Cest1 (F) / Cest2 (R) Primer Çifti ile Elde Edilen İzolatların Genbank’a Kayıtlı İzolatlarla Benzerlik Oranları.	94

1. GİRİŞ

Echinococcus multilocularis, Cestoda sınıfı Taenidae ailesinde yer alan, erişkinleri başta kırmızı tilkiler (*Vulpes vulpes*) olmak üzere çeşitli karnivor hayvanların ince bağırsaklarında, larval dönemi (alveolar kist) ise başta rodentler olmak üzere insanların karaciğer, akciğer ve diğer doku ve organlarında gelişen zoonoz karakterli bir parazittir.¹

Erişkin parazitler “küçük tip” cestodlar olarak tanımlanır ve son konakları olan tilki, kurt, köpek ve çakal gibi evcil ve yabani karnivorların ince bağırsaklarına yerleşir. Erişkin parazitin son konak olan karnivora önemli bir zararı yoktur. Binlerce erişkin parazit dahi son konaklarda herhangi bir klinik belirtiyeye yol açmaz. Larval dönemi olan alveolar kist ise rodent, tek/çift tırnaklılar ve lagomorf (tavşanımsılar) gibi herbivorların primer karaciğer olmak üzere, doku ve organlarına yerleşir.²⁻⁵ Rastlantısal ara konak olan insanlar, parazitin yumurtalarını iyi yıkanmamış çiğ sebze ve meyvelerin tüketilmesi, toprak ve son konaklar ile temas sonrası ellerin yıkanmaması ve hijyen kurallarına dikkat edilmemesi sonucu ağız yoluyla alarak enfekte olurlar.^{1, 6} Alveolar ekinokokkozis (AE), insanlarda biyolojik seyir olarak malign neoplazm (kötü huylu tümör) gibi davranarak; kistik, solid ve semisolid kitle şeklindeki lezyonlar halinde görülebilir. Yüksek infiltrasyon özelliğine sahip bir hastalık olan AE, insanlarda başta karaciğer olmak üzere akciğer, beyin, dalak, böbrek, pankreas, lenfoid dokular, kemik ve kemik iliği gibi çeşitli organ ve dokulara tutunur. Kisti çevreleyen bir kapsül olmadığından, özellikle akciğer ve beyin olmak üzere çevre organ ve dokulara metastaz yapar.⁵ Hastalık ilaç tedavisine olumlu cevap verse de genellikle prognozu kötüdür. Küratif tedavi seçeneği cerrahi rezeksiyondur ancak kistin yapısı gereği lezyonun cerrahi olarak tamamen çıkarılması mümkün olmayabilir. Bu nedenle radikal organ rezeksiyonu gerekebilmektedir.⁷

Echinococcus multilocularis Doğu, Orta ve Kuzey Avrupa, Türkiye, İran, Rusya, Orta Asya Cumhuriyetleri, Kuzey Japonya, Kuzeybatı Çin ve Alaska Arktik Tundra bölgeleri başta olmak üzere Kuzey Yarım Kürede (KYK) bulunur.^{8,9} Parazitin varlığı ve yaygınlığı, bölgedeki son konak ve ara konak popülasyonlarına göre değişkenlik göstermektedir. Parazit kutup tundrası, yüksek rakıma sahip otlaklar, tarımsal araziler ve kentsel yaşam alanları da dahil olmak üzere geniş bir yayılıma sahip olmakla beraber, soğuk iklime sahip coğrafyalarda daha yüksek yaygınlıkta görülmektedir.^{4,10} Dünyada *E. multilocularis* için asıl son konak olabilen iki tilki türü bulunmaktadır. Bunlar Kuzey Yarım Küre’de (KYK) bulunan ve dünyada en yoğun yabani karnivor popülasyonuna sahip olan kırmızı tilkiler (*Vulpes vulpes*) ve yaygınlığı arktik bölgelerde sınırlı olan kutup tilkileridir (*Alopex lagopus*). Tilki haricinde evcil köpek (*Canis lupus familiaris*) ve kedi (*Felis silvestris catus*), kurt (*Canis lupus*), çakal (*Canis latrans*), rakun köpeği (*Nyctereutes procyonoides*), yaban kedisi (*Felis silvestris*) ve vaşak (*Lynx lynx*) gibi evcil ve yabani karnivorlar son konaklık yapmaktadır.⁴ Parazitin ara konak dağılımı geniş olmakla beraber asıl ara konakları Cricetidae ve Muridae ailelerine bağlı rodentlerdir. Bu rodentlerin cins/tür dağılımı ülke ve bölgelerin coğrafik durumuna göre değişkenlik göstermektedir. Ayrıca birçok lagomorf, insan olmayan primat ve evcil memeli türü ara konak veya tesadüfi konak rolünde ortaya çıkmaktadır.^{4, 11, 12} *Echinococcus multilocularis*’in yaşamsal dinamiğinin silvatic yaşamdaki av-avcı ilişkisine dayalı olduğu bilinmektedir. Ancak son zamanlarda yapılan yapılan çalışmalar ile parazitin yaygınlığının sadece vahşi yaşam ve kırsal alanlar ile sınırlı kalmadığı, yaygınlığının evcil yaşam ve kentsel alanlara doğru genişlediği ortaya konulmuştur.^{4, 13, 14} Hastalığın epidemiyolojisini belirleyen birçok faktöre ek olarak, hastalık hakkında farkındalığın olmaması, insan AE vakalarının bildirilmemesi ve yanlış veya yetersiz tanı yöntemlerinin kullanılması gibi durumlar göz önüne alındığında hastalığın endemik olduğu birçok yeni

bölgenin olabileceği de ifade edilmektedir.¹⁵ Tüm bu durumlara ilaveten son yıllarda tilki popülasyonlarının artması ve tilkilerin göç hareketleri sebebiyle de *E. multilocularis* dağılımının değişkenliğe uğradığı bildirilmiştir.¹⁶⁻¹⁸

Alveolar ekinokokkozis, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından ihmal edilen tropikal hastalıklar (Neglected Tropical Diseases) listesinde yer almaktadır. İnsan vakaları baz alındığında Türkiye, DSÖ ve Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (DHSÖ) raporlarında dünyadaki birkaç yüksek endemik bölgeden birisi olarak yer almaktadır. Ülkemizde 1872 yılında ilk insan AE vakasının Katibian tarafından bildirilmesinden bu zamana kadar, hastalığın giderek artan bir yaygınlık gösterdiği bildirilmektedir.^{19, 20} Türkiye’de bildirilen insan AE vakalarının çoğunun ülkenin kuzey doğusunda yer alan illere ait olduğu ve bu iller içerisinde ise en fazla vakanın Erzurum iline ait olduğu bildirilmiştir.^{21, 22} Türkiye’de *E. multilocularis*’in son ve ara konaklardaki varlığına yönelik çalışmalar sınırlıdır. İnsan vaka sayısının en fazla olduğu Erzurum ilinde, parazitin son ve ara konaklardaki varlığına yönelik çalışmalar incelendiğinde; tilki karkaslarında %42 ve tilki dışkılarında %10.5²³, rodentlerde %1²⁴ ve sokak köpeklerinde %3.6²⁵ oranında *E. multilocularis* pozitifliğinin tespit edildiği görülmektedir. Ayrıca bir vaşak²⁶ ve bir kurtta²⁷ da *E. multilocularis* varlığı tespit edilmiştir.

Echinococcus multilocularis hayat döngüsünü silvatik siklusta yabani karnivorlar özellikle de tilkiler sayesinde devam ettirirken, evcil yaşamın bir parçası olan köpekler parazitin silvatik ve evcil yaşam arasında taşınmasında köprü görevi üstlenir. Köpeklerin hem insanlar ile yakın temasa sahip olması hemde parazit için uygun son konak olabilmesi nedeniyle AE’nin insanlara bulaşmasında ve hastalığın yayılmasında önemli rollere sahiptirler.^{1, 11, 28} Bu tez çalışmasının yürütüldüğü illerden biri olan Erzurum’da, daha önce yürütülmüş çalışmaların sonuçları değerlendirildiğinde, *E. multilocularis* varlığı kırsal bölgelere kıyasla şehir merkezinden toplanan tilki, rodent ve köpek

örneklerinde daha yüksek oranda tespit edilmiştir.¹⁴ Erzurum ili sokak köpeklerinde *E. multilocularis* pozitifliği ile insan AE'in endemik olduğu tüm Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi sokak köpeklerinin *E. multilocularis* ile karşılaşma ihtimallerinin yüksek olduğu ve bölgedeki tüm illerde bulunan sokak köpeklerinin *E. multilocularis* yönünden araştırılması oldukça önem arz etmektedir.

Bu doktora tezinde, Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde yer alan Ağrı, Ardahan, Bayburt, Erzincan, Erzurum, Iğdır ve Kars illeri sokak köpeklerinde *E. multilocularis*'in varlığı ve yaygınlığının moleküler yöntemlerle araştırılarak, sokak köpeklerinin bölgede AE'nin yayılmasındaki rolünün ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Echinococcus* cinsi

2.1.1. Tarihçe

Ekinokokkozis hakkındaki ilk bilgiler tarihin çok eski dönemlerine dayanmaktadır. Milattan önce (M.Ö) 16. yüzyılda eski Mısır medeniyetine dair hekimlik kayıtları olan “Ebers Papirusları” *Echinococcus* hakkında bilgiler içermektedir. O dönemlerde koyun ve sığırların iç organlarında içi sıvı dolu keselerin bulunduğu kayıt altına alınmıştır. Daha sonra, Hipokrat (M.Ö. 460-347) sığır ve domuzda hidatik kistin varlığını bildirmiş ve insan karaciğerinde saptadığı hidatik kisti “su dolu kese” olarak tanımlamıştır. Milattan sonra (M.S) ise Galenos, sığır karaciğerinde rastladığı içi sıvı dolu keseleri insanlarda da gördüğünü belirtmiştir. İçleri sıvı dolu olan bu keseler uzun dönem boyunca tanımlanamamış, ur veya kistleşmiş doku olarak kabul edilmiştir.^{29, 30}

Alveolar ekinokokkozis insanlarda ilk defa Ludwig Buhl (1852, Münih Üniversitesi/Almanya) tarafından karaciğerde tanımlanmıştır. Başlangıçta “alveolar kolloid” (kolloid kanseri) olarak adlandırılan lezyon sonrasında *Echinococcus* lezyonu olarak tanımlamıştır. Diğer taraftan, Virchow (1855) karaciğerde gelişmiş alveol (küçük boşluklar halinde) yapılı oluşumları, çok boşluklu “*Echinococcus* urları” olarak tanımlamıştır. Leuckart (1863) ise bal peteği görünümündeki yapıları *Echinococcus granulosus*’un varyetesi kabul etmiş ve “*Taenia echinococcus*” olarak adlandırmıştır. Kleman (1883) ise bu yapıları “*Echinococcus alveolaris*” olarak adlandırmıştır.^{29, 30}

Köpeklerin, *E. multilocularis*’in son konağı olabileceği Posselt (1928)’in bir insandan elde ettiği metacestod ile köpekte deneysel enfeksiyon oluşturması sonucu ortaya konulmuştur.^{5, 29, 30}

Ülkemizde ekinokokkozis, ilk olarak C.R. Katibian (1872) tarafından “Kyste hydatique multiloculaire” ismiyle tanımlanmıştır (Merdivenci ve Aydınoglu, 1982).

Ekinokokkozis üzerine ilk kitap Dr. Abdullah Bey (1799-1874) tarafından yazılmış ve ölümünden sonra 1876 yılında Miralay Raşit Bey tarafından bastırılmıştır. Prof. Dr. Ekrem Kadri UNAT, 1950 yılında protoskoleks çengellerini Ziehl-Nielsen boya ile boyayarak incelemiş, bu araştırması 1973 yılında Brundeler tarafından tekrarlanmış ve yayımlanmıştır.^{19, 31}

2.1.2. Taksonomi

Echinococcus spp. insanlarda ve hayvanlarda ekinokokkozise neden olan Taenidae ailesine ait cestodlardır. Moleküler biyoloji ve genetik alanındaki tanı tekniklerinin yaygınlaşmasından önce, *Echinococcus* cinsine ait toplam 16 tür ve 13 alt tür tanımlanmış; ancak bu taksonların çoğu daha sonra geçersiz kabul edilmiştir. Geçersiz alt türler de dahil olmak üzere tür içi belirsiz taksonomik çeşitlilikleri tanımlamak için suş kavramı kullanılmıştır.^{32, 33} Başlangıçta suşlar konak seçiciliği, coğrafik dağılım, morfoloji ve yaşam biyolojisindeki farklılıklar esas alınarak belirlenmiş ve çoğu suş *E. granulosus* türüne atfedilmiştir. Daha sonraki çalışmalarda, hem morfolojik³⁴ hem de mitokondriyal DNA (mt DNA) dizi verilerinin^{35, 36} filogenetik analizlerinden *E. granulosus*'un parafiletik bir grup olduğu ve bazı suşlarının kompleks içindeki diğer suşlara kıyasla *E. multilocularis* ile daha yakından ilişkili olduğu ileri sürülmüştür.³⁷ Taksonomik olarak gelişen değişikliklere ek olarak yeni *Echinococcus* türleri tanımlanmıştır.³⁸⁻⁴⁰

Günümüzde *Echinococcus* cinsinin gerek tür, gerekse suş bazında taksonomik olarak dokuz türü olduğu kabul edilmektedir. Bunlar sırasıyla; *E. granulosus sensu stricto*, *E. equinus*, *E. ortleppi*, *E. canadensis*, *E. felidis*, *E. multilocularis*, *E. shiquicus*, *E. oligarthra* ve *E. vogeli* türleridir.^{3, 40, 41} Belirtilen türlerin sistematigi Tablo 2.1'de şematize edilmiştir.

Tablo 2.1. *Echinococcus* spp.'nin Sistematigi.

Üst alem: Eukaryota
Alem: Animalia
Alt alem: Metazoa
Şube: Platyhelminthes
Sınıf: Cestoda
Alt sınıf: Eucestoda
Üst aile: Cyclophyllidea
Aile: Taenidae
Cins: <i>Echinococcus</i>
Tür: <i>E. granulosus sensu stricto</i>
<i>E. equinus</i>
<i>E. ortleppi</i>
<i>E. canadensis</i>
<i>E. felidis</i>
<i>E. multilocularis</i>
<i>E. shiquicus</i>
<i>E. oligarthra</i>
<i>E. vogeli</i>

2.2. *Echinococcus multilocularis* (Leuckart, 1863)

Alveolar ekinokokkozisin etkeni olan *E. multilocularis*, dünyada kuzey yarım kürede sınırlı olan bir yayılıma sahiptir. Yaşam siklusunda primer olarak tilkilerin son konak ve rodentlerin ara konak görevi üstlendiği, zoonotik karakterli bir helminttir.² Ergin cestodlar tilki, kurt, çakal ve köpek gibi yabani ve evcil karnivorların ince bağırsaklarına yerleşir. Metacestod olarak bilinen larval formları ise rodent, tek tırnaklı ve lagomorf gibi herbivorların iç organlarına yerleşir. İnsanlar tesadüfi konak olarak tanımlanmaktadır.^{2, 4}

Alveolar ekinokokkozis, küresel ölçekte nadir olarak görülüyor olmasına rağmen sebep olduğu morbidite, mortalite ve ekonomik kayıplar nedeniyle KYK'de büyük bir halk sağlığı problemidir. İnsanlardaki enfeksiyon, DSÖ tarafından ihmal edilen tropikal hastalıklardan biri olarak kabul edilmektedir.^{7, 42}

2.2.1. Erişkin

Erişkin *E. multilocularis*'in vücut uzunluğu 1.2-4.5 mm'dir. Vücut skoleks (baş), genç, olgun ve gebe halkalardan ibaret olup, genellikle 3-5 halkalıdır. Skoleksin çapı 0.24-0.29 mm'dir ve üzerinde iki sıra halinde dizilmiş 14-34 adet çengel bulunmaktadır. Önde bulunan çengeller arkadakilere göre daha büyüktür. Büyük çengeller 24.9-34 (ort. 31) µm, küçük çengeller 20.4-31 (ort. 27) µm uzunluğundadır. Skoleks üzerinde, 0.105-0.125 mm çapında ve yüzeyi düz yapılı dört adet çekmen vardır. Erişkin parazitin boyun kısmı ince yapılıdır.^{5, 43}

Boyun kısmından sonra gelen ilk halka erkek ve dişi üreme organlarının henüz gelişmediği genç halkadır. Genital organların gelişmiş ve fonksiyonel olduğu halkalar olgun halkalardır ve sayısı parazitin toplam halka sayısına göre değişkenlik gösterir. Olgun halkada bulunan yumurtalık, vitellus bezi, uterus ve testisler iki yana doğru uzanmış olan boşaltım kanallarının arasında yer alır. Genital delik halkanın ön yarısında yer alır ve halkanın lateralinden tek taraflı olarak dışarı açılır. Genital deliğin arka kısmında yerleşmiş 16-35 adet testis bulunur. Kıvrımlı yapıya sahip vasa deferens, halkanın ön yarısının arka kısmında bulunan armut şeklindeki sirrus kesesine girer. Üzüm salkımı şeklindeki ovaryum iki büyük loptan oluşur. Sirrus kesesinin altına yerleşmiş kalın boru biçimindeki vajina, genital deliğin alt kısmına açılmaktadır.^{5,43}

Genital organların fonksiyonel olmadığı ve uterus dışındaki organların atrofiye uğradığı son halka gebe halkadır. Gebe halkanın uzunluğu 0.44-1.11 mm'dir. İçerisinde

250-400 adet yumurta bulunduran uterus torba şeklindedir. Genital delik halkanın ön yarısında bulunmaktadır.^{5, 43} Erişkin *E. multilocularis* Şekil 2.1’de gösterilmiştir.⁴⁴



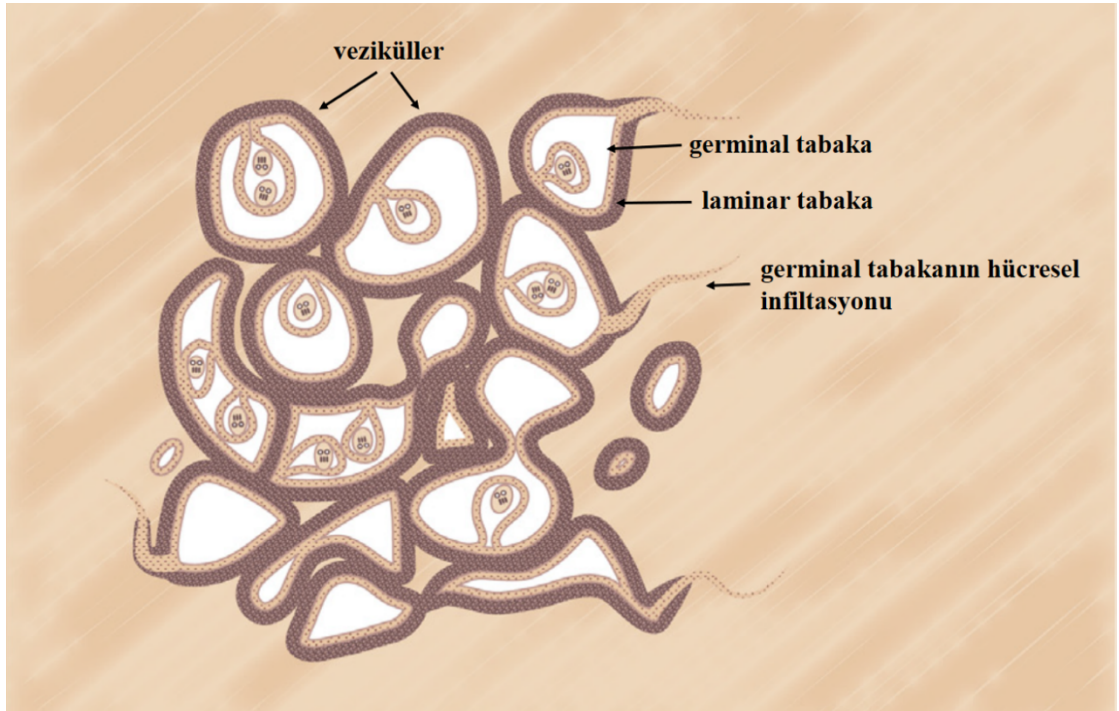
Şekil 2.1. Erişkin *E. multilocularis*

2.2.2. Yumurta

Echinococcus multilocularis yumurtaları, Taenidae ailesine dahil olan tüm *Taenia* ve *Echinococcus* cinsine ait türlerin yumurtaları ile benzer morfolojiye sahiptir. Bu yapıdaki yumurtalar tenya tip yumurta olarak isimlendirilir. Tenya tip yumurtalar, küreselden elipsoidale kadar değişen şekillere sahiptir. Yumurtaların büyüklüğü 30-50 x 22-44 µm aralığındadır. Yumurta içerisinde cestodların birinci larva dönemi olan üç çift çengelli onkosfer bulunur. Yumurtalar gebe halka içerisindeyken en dışta vitellin tabakası (yumurta kabuğu veya yumurta kapsülü) ile kaplıdır. Ancak dışkı ile atıldıklarında bu tabaka parçalanır. Onkosfere fiziksel koruma sağlayan keratin yapılı ve geçirgen olmayan ana katman embriyofordur. Embriyofor oldukça kalın bir yapıya sahip olup yumurtaya radial çizgili bir görünüm vermektedir.⁵

Echinococcus yumurtalarının son konaklar tarafından dışkı ile atıldıklarında ara konaklar için enfektif oldukları varsayılmaktadır. Ancak *Taenia* yumurtaları atılma sırasında farklı olgunlaşma aşamalarında olabilir ve yumurtalar uygun koşullar altında dış ortamda enfektif hale gelebilir. Tenya tip yumurtalar dış ortam şartlarına dayanıklıdır.

laminar tabaka, endojen proliferasyon sonucu ise kist içerisinde protoskoleksler meydana gelmektedir.⁴⁸⁻⁵⁰ Protoskoleks gelişmiş kistler fertil, gelişmemiş kistler ise steril olarak tanımlanmaktadır. Germinal katmanda bulunan hücre filemanları ağı, infiltrasyona sebep olmakta ve bu hücreler zamanla ince ve uzun kistik yapılara dönüşmektedirler. Alveolar kistler özellikle karaciğer dokusunda oluşsa da, kistten kopan bazı germinal hücreler kan veya lenf dolaşımı aracılığı ile diğer organlara ulaşip metastatik kistler oluşturabilirler.^{48, 51-53} İnsanlarda kist hacimsel olarak büyüdükçe merkezinde kalan kısımlar canlılığını kaybeder ve dejenere olur. Bu kısımlarda purulent bir materyal birikir. Ancak kist dokusunun periferinde kalan kısımlar canlılığını ve üremesini devam ettirir.⁵ Alveolar kist Şekil 2.3’de gösterilmiştir. ⁵



Şekil 2.3. Alveolar kist

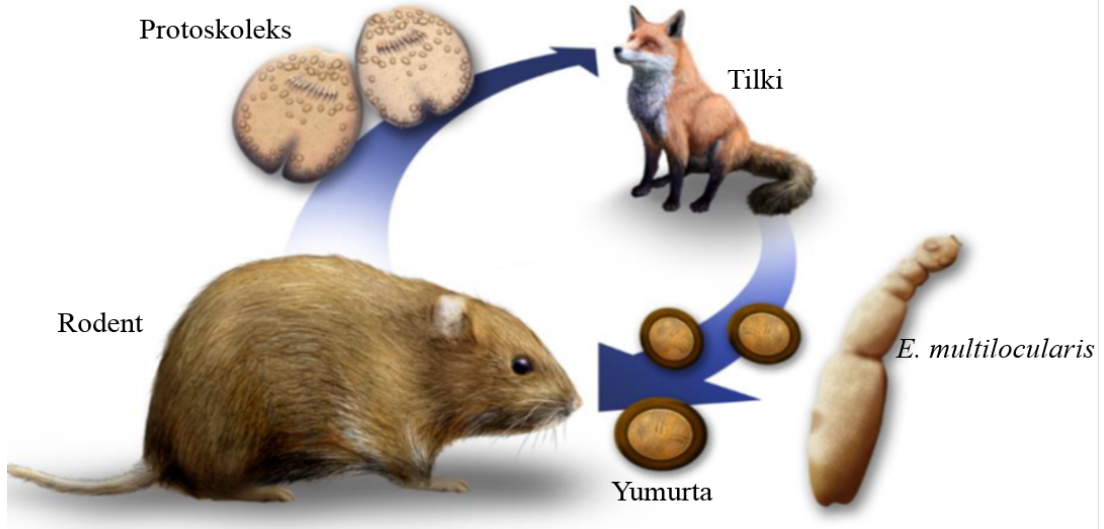
2.2.4. Yaşam Döngüsü

Echinococcus multilocularis'in yaşamsal dinamiği büyük oranda kırmızı tilki ve avı konumundaki çeşitli kemirici türleri arasındadır.¹ Ayrıca çakal, kurt, yabani kediler ve evcil köpekler ile rodent ve lagomorf gibi birçok tür yaşam döngüsüne dahildir.¹⁶

İnsanlar metacestod formu olan alveolar kist gelişse de parazitin biyolojisinin tamamlanmasında rol oynamazlar ve rastlantısal konak olarak tanımlanırlar.¹

Erişkin *E. multilocularis*'ler son konaklarının ince bağırsaklarında, metacestod alveolar kistler ise ara konaklarının iç organlarında bulunmaktadır.⁵⁴ Son konakları kızıl tilki (*Vulpes vulpes*), kuzey kutup tilkisi (*Vulpes lagaopus*), korsak tilkisi (*Vulpes corsac*), rakun köpeği (*Nyctereutes procyonoides*), kurt (*Canis lupus*), koyote (*Canis latrans*), yabani kedi (*Felis silvestris*), vaşak (*Lynx lynx*), köpek (*Canis lupus familiaris*) ve evcil kedi (*Felis silvestris catus*) gibi çeşitli karnivorlardır.¹ Genel olarak *E. multilocularis* için uygun bir son konak, intestinal enfeksiyon sırasında enfektif erişkin parazitlerin gelişimine uygun fizyolojiye sahip olması, diyetinde uygun ara konakları bulundurması ve kendi popülasyon yoğunluğunun fazla olması gibi yetkinliklerin birleşimi ile ortaya çıkmaktadır.⁵⁵ Ara konakları ise başlıca Cricetidae ve Arvicolidae ailesine bağlı kemirgenler olup, Soricidae, Talpidae, Sciuridae, Muridae, Dipodidae ve Ochotonidae ailesine bağlı birçok memeli türü de metacestod ile enfekte olabilmektedir. Ayrıca evcil köpek ve kedi, at, evcil ve yabani domuz, bataklık kunduzu, maymun ve goril gibi bazı hayvanlar da rastlantısal konak olabilmektedir.^{4, 56}

Son konak karnivorlar, dışkıları ile erişkin cestodun gebe halkasını atarak, ara konaklar için enfektif form olan yumurtaların çevreye saçılmasını sağlarlar. Ara konak herbivorlar ise bu yumurtaları çoğunlukla ağız nadiren de solunum yoluyla alarak enfekte olurlar. Ara konakların iç organlarında gelişen ve protoskoleks taşıyan kistlerin son konaklar tarafından alınması sonucu intestinal enfeksiyon meydana gelmektedir. *Echinococcus multilocularis* kutup bölgeleri, yüksek rakımlı araziler, tarımsal araziler ve hatta şehirler gibi farklı ekosistemleri kapsayan geniş coğrafik yelpazede, çok çeşitli son ve ara konak türleri ile yaygın bir yaşam döngüsü dinamiğine sahiptir.^{1, 5} *Echinococcus multilocularis*'in yaşam döngüsü Şekil 2.4'de gösterilmiştir.⁵⁷



Şekil 2.4. *Echinococcus multilocularis*'in yaşam döngüsü.

2.2.4.1. Son Konaklarda Gelişim

Son konaklar, fertil kistler içerisindeki canlı protoskoleksleri ağız yoluyla alma sonucu enfekte olurlar. Ağız yoluyla alınan kistlerin çiğnenmesi ile protoskoleksler açığa çıkar veya son konağın midesine ulaştıktan sonra pepsin enziminin etkisiyle kist dokuları yıkımlanır ve protoskoleksler serbest kalır. Kist içerisindeyken protoskoleksler, çekmen, rostellum ve çengellerin bulunduğu apikal bölge mukopolisakkarit içeren bir katman ile kaplıdır ve invagine halde dış etmenlere karşı korunma halindedir. İnvagine protoskolekslerin evaginasyonu için ısı, ozmotik basınç, konaklara spesifik enzimler, aerobik ortam ve safra tuzları gibi faktörler etkilidir. Evagine hale gelen protoskoleksler aktive olup enerji kaynağı olarak depo glikojenlerini kullanırlar.^{5, 33, 58}

İntestinal bölgeye ulaşan protoskoleksler çengel ve çekmenleri yardımıyla bağırsak villuslarına ve lieberkühn bezlerine tutunurlar. Bağırsağa tutunan genç parazitlerde germinal ve somatik hücrelerin gelişmesi ile sırasıyla proglotidlerin oluşması

(halkalanma), olgunlaşma, büyüme ve segmentasyon meydana gelmektedir. Germinal hücrelerin farklılaşması ile yeni proglotidler (halka) oluşur. Somatik hücrelerin gelişmesi sonucu ise parazitin boyu artar ve segmentasyon ile her proglotid arasında somatik sınırlar oluşur.⁵⁹ Olgunlaşan *E. multilocularis*'ler, uygun fizyolojik şartlar ihtiva etmesinden dolayı ince bağırsağın son 1/3'lük kısmına tutunma eğilimi göstermektedirler.⁶⁰ Erişkin parazitler hermafrodit özellikte olup bağırsağa tutulundan 28-35 gün sonra yumurta üretimi başlamakta ve 45-120 gün boyunca yumurta üretimi devam edebilmektedir. Olgunlaşmış bir *E. multilocularis* gebe halkasında 250-400 adet yumurta bulunabilmektedir. İntestinal evrede, *E. multilocularis* erişkini yaklaşık 6 ay boyunca canlılığını devam ettirmektedir.^{5, 11, 59}

2.2.4.2. Ara Konaklarda Gelişim

Ara konak memeliler onkosfer taşıyan yumurtaları ağız yoluyla alarak enfekte olurlar.¹ Yumurtaların embriyoforunu oluşturan keratin katmanlar, ara konağın mide asidi ve bağırsağındaki pepsin ve pankreatin gibi proteolitik enzimlerin etkisi ile parçalanır ve onkosfer açığa çıkar. Onkosfer açığa çıkarken, embriyoforun parçalanmasında etkisi bulunmaz ve pasif olarak bekler.⁶¹⁻⁶³ Ortamdaki safra tuzları onkosfer zarında değişikliklere sebep olur ve onkosfer aktif hale gelir. Ancak onkosferin aktifleşmesinde sadece safra tuzlarının yeterli olmadığı bildirilmiştir.^{5, 64}

Serbest kalan onkosferler ritmik hareketler ile ince bağırsak villuslarının mikrovillerine tutunurlar. Daha sonra villusların epitelyal katmanından hızlıca geçerek kısa sürede lamina propiye tabakasına ulaşırlar.^{61, 63} Penetrasyon, çengeller ve penetrasyon bez salgılarının etkisi ile gerçekleşmektedir. Onkosferdeki üç çift çengel kassal bir yapıya sahip olup penetrasyon sırasında bıçak gibi görev yaparak dokuların parçalanmasını sağlamaktadır. Onkosferden salgılanan salgılar ise konak dokusuna litik etki göstererek penetrasyonun gerçekleşmesini sağlar. Ayrıca salgıların yapışkan ve

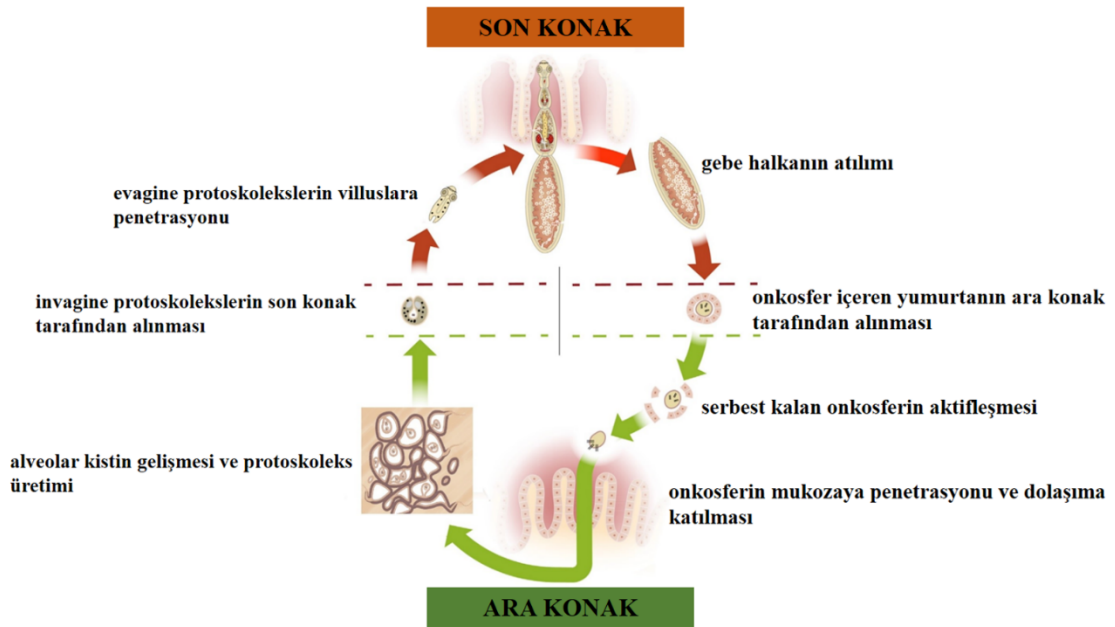
kayganlaştırıcı etikisi, onkosferi konağın sindirim enzimlerinden ve immunolojik etkisinden korumaktadır.^{5, 61, 65, 66}

Bağırsak duvarını delen onkosferler kan ve lenf dolaşımına karışarak karaciğere ulaşırlar. Çoğunluğu karaciğere tutunurken buraya tutunamayan onkosferler portal sistem ile kalbe oradan da akciğer dokusuna ulaşır. Akciğerlere de tutunamayan onkosferler pulmoner venler ile tekrar kalbe oradan da sistemik dolaşım ile diğer doku ve organlara ulaşırlar. Onkosferin tutunup metacestodun gelişeceği son organ veya doku, konağa ve parazite bağlı olarak değişmektedir. Ancak onkosferin karşılaştığı ilk geniş kılcal damar ağına sahip organ başta karaciğer ve akciğer olduğu için alveolar kistler daha çok bu organlarda gelişir.^{5, 67}

Onkosferin organa yerleşiminden sonraki 1-14 gün içerisinde hücre proliferasyonu, onkosfer çengellerinin kaybolması, kas atrofisi, vezikülleşme, orta boşluğun oluşması, germinal ve laminar tabakaların oluşması ile metacestodun gelişimi başlamaktadır.^{50, 68, 69} Bu gelişim için gerekli değişikliklerin onkosferin arka kutbunda yer alan beş çift germinal hücrenin çoğalması ve farklılaşması sonucu olduğu ortaya konulmuştur.^{65, 70} Bu onkosferal germinal hücreler, metacestodun germinal tabakasındaki ve erişkin parazitin boyun bölgesindeki germinal hücreler ile aynı sinsityal hücrelerdir.^{71, 72} *Echinococcus multilocularis* yumurtalarının kemirgenler tarafından alınmasından 20 saat sonra onkosferin karaciğere ulaştığı, 140 saat sonra karaciğerin paranzim dokusunda fibrotik reaksiyon dokusu ile ayrılmış nekroz odaklarının olduğu ve 212 saat sonra yavru veziküllerin geliştiği belirlenmiştir. Gelişen alveolar kistlerde protoskolekslerin oluşması ara konağa ve parazite göre değişiklik gösterse de genellikle yumurtanın alınmasından 2-4 ay sonra protoskoleksler oluşmaktadır.^{5, 73} Ancak Deplazes ve Eckert (2001),⁷⁴ kısa yaşam süresine sahip ara konaklarda 40-45 gün içerisinde germinal tabakadaki hücrelerin proliferasyonu ile protoskolekslerin oluştuğunu bildirmektedir.

Onkosferin alınmasından sonra 14 gün içinde laminar tabakanın geliştiği ve protoskoleks içeren üreyici kapsüllerin ise birkaç hafta içerisinde geliştiği belirlenmiştir.⁵ İnsanlarda gelişen alveolar kistlerde nadiren protoskoleks oluşmaktadır.^{49, 75}

Alveolar kistler, adventisya tabakasına sahip olmaması ve germinal tabakadan ayrılmış hücrelerin kan veya lenf yoluyla vücuda dağılımı nedeniyle metastatik kist odakları oluşturabilirler. Bu durum alveolar kistlerin yüksek infiltratif kapasiteye sahip olduğunu göstermektedir.^{5, 48, 51, 52, 76} *Echinococcus multilocularis*'in temel yaşam döngüsü Şekil 2.5'de gösterilmiştir.⁵



Şekil 2.5. *Echinococcus multilocularis*'in temel yaşam döngüsü: son ve ara konakta gelişim aşamaları

2.2.5. Epidemiyoloji

Echinococcus multilocularis'in coğrafik dağılımı kuzey yarımküre ile sınırlıdır. Dünyada Orta-Doğu Avrupa, Çin, Rusya, Orta Asya Cumhuriyetleri, Kuzey Japonya ve Arktik Tundura bölgelerinden rapor edilmiştir. Parazitin yaygınlığı bölge ve kıtalarda potansiyel son konak ve ara konak varlığına göre değişkenlik göstermekle beraber yaygınlık soğuk iklime sahip coğrafyalarda daha fazladır. Çoğunlukla kutup tundrası,

yüksek rakıma sahip otlaklar, tarımsal araziler ve kentsel yaşam alanları da dahil olmak üzere geniş bir ekosistem içerisinde yaygınlık gösterir.^{4, 55}

Echinococcus multilocularis için bir bölgenin endemik kabul edilmesinde, sürveyans çalışmalarının kapasitesi ve teşhis yöntemlerinin duyarlılığı, son ve ara konakların popülasyon değişkenlikleri gibi faktörler esas alınır. İnsan AE hakkında farkındalığın olmadığı, AE vakalarının bildirilmediği ve yanlış veya yetersiz tanı yöntemlerinin kullanıldığı durumlar göz önüne alındığında hastalığın endemik olduğu birçok yeni bölgenin olabileceği de muhtemeldir.¹⁵ Son yıllarda tilki popülasyonlarının artması ve tilkilerin göç hareketleri sebebiyle de *E. multilocularis*'in yaygınlığı değişkenlik göstermektedir.¹⁶⁻¹⁸

Dünya genelinde ekinokokkozis ile enfekte bir milyondan fazla insan olduğu kabul edilmektedir. Bu insanların çoğu, tedavi uygulanmadığı takdirde hayatı tehdit eden ağır klinik semptomlarla karşılaşırken, tedavi edilenlerde de sıklıkla hayat kalitesinde düşme görülür. Alveolar ekinokokkozis nedeniyle işlev kaybına uyarlanmış yaşam yılı (DALYs, Disability Adjusted Life Years) kaybının yıllık en az 871.000 kadar olduğu ve hastalık yükünün büyük çoğunluğunun batı Çin'de yoğunlaştığı bildirilmiştir.⁷ Alveolar ekinokokkozis küresel ölçekte nadir görülen bir hastalık olmasına rağmen Çin gibi hiperendemik bölgelerde ölüme neden olan hastalıkların önde gelenlerinden bir tanesidir. Dünyada AE'in yıllık mortalitesi (yaklaşık 18.235), göz ardı edilen tropikal hastalıklar grubu (neglected tropical disease cluster: trypanosomiasis, Chagas hastalığı, schistosomiasis, leishmaniasis, lenfatik filariasis, onchocerciasis, intestinal nematod enfeksiyonları, Japon encephalitisi, Dang humması ve cüzzam)'ndaki toplam 10 hastalığın yıllık mortalitesi (177.000)'nin onda birinden daha fazladır.⁴²

Alveolar ekinokokkozis, Orta ve Doğu Avrupa, Kuzey Asya ve Kuzey Amerika kıtalarında endemik seyir göstermektedir. Bu kıtalardaki Orta Avrupa, Baltık ülkeleri,

Çin, Japonya, Moğolistan, Kırgızistan, Rusya, Alaska'nın batı bölgeleri ve Türkiye gibi bazı ülkelerin yüksek yaygınlık oranına sahip olduğu bildirilmiştir.⁸ Dünyada *E. multilocularis*'in son konaklardaki yayılışı ile alveolar kistin doğal ve rastlantısal ara konaklardaki yayılışı üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Kuzey arktik bölgede son konak kutup tilkilerindeki (*Vulpes lagopus*) ortalama yaygınlığın %70'in üzerinde, ara konaklardaki yaygınlığın ise %40 civarında olduğu bildirilmektedir. Avrupa'da kırmızı tilkilerde (*Vulpes vulpes*) erişkin parazitin prevalansı %0.1-80 olarak bildirilirken, bu oran evcil ve yabani kedilerde %0.5-5.5 olarak kaydedilmiştir.^{8, 77-79} Ergin parazitin prevalansının Kuzey Amerika'da tilkilerde %2-89, Asya'da tilkilerde %60'ın üzerinde olduğu, ara konaklardaki metacestod oranının ise %1-11 arasında değiştiği bildirilmektedir.^{8, 80}

2.2.5.1. Avrupa

Avrupa kıtasında, 1990 yıllarına kadar yalnızca Doğu Fransa, Güney Almanya, İsviçre ve Avusturya'nın bazı kısımlarının oluşturduğu çekirdek bir bölge *E. multilocularis* açısından endemik olarak kabul edilmekteydi. Daha sonraları Avrupa'nın orta ve doğu kısımlarında yer alan ülkelere parazitin varlığına dair raporlar bildirilmiştir. Bildirimlerin yapılmasından bu zamana kadar Baltık ülkeleri, Danimarka, Hollanda, Polonya, Romanya, Slovakya ve Slovenya gibi ülkelere, son ve ara konaklarda *E. multilocularis* yaygınlığı artmaya devam etmiştir.⁸

Almanya'nın güneyi, Fransa'nın kuzeydoğusu ve İsviçre'nin kuzeyindeki ılıman ve soğuk bölgeler *E. multilocularis* açısından yüksek endemiktir. Ayrıca Litvanya, Polonya ve Slovakya gibi bazı ülkelere de parazit yüksek oranlarda yaygınlık göstermektedir. Bu durumlara ilaveten, parazitin varlığına ait raporlar Balkanlar, Yunanistan ve İtalya gibi Avrupa'nın güney bölgelerinde de artmaktadır. *Echinococcus multilocularis*'in yaygınlığı homojen olmayıp Avrupa kıtasında, kırmızı tilkilerde ortalama

prevalansı %0.1 ile %50 arasındadır. Tilkilerdeki prevalans farklılıkları ara konak rodentlerin popüslayon büyüklüğü ve çeşitliliğini etkileyen toprak yapısına ve parazitin varlığını devam ettirmesinde etkili olan mikroklima koşullarına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır.⁸

Kızıl tilkinin (*Vulpes vulpes*) yüksek popülasyon büyüklüğüne sahip olmasının yanında *E. multilocularis* için duyarlı olması, yüksek yoğunlukta erişkin parazit barındırabilmesi ve diğer son konaklara kıyasla daha yüksek oranda pozitiflik oranına sahip olması nedeniyle Avrupa ve Asya'da ana son konak olarak kabul edilmektedir. Doğu Avrupa ve Doğu Almanya'da rakun köpeklerinde *E. multilocularis* pozitifliği tilkilerdeki oranlara yaklaşmıştır ve çakal, kurt gibi diğer vahşi karnivorlar da son konak olarak değerlendirilmektedir. Ancak *E. multilocularis*'in kırmızı tilkilerin yokluğunda yaşam döngüsünü devam ettirebileceğine dair hiçbir bir kanıt ortaya konulmamıştır.⁴ Benzer şekilde, evcil köpek ve kedilerde de bulunmasına rağmen tilkilerin olmadığı durumda parazitin varlığını sürdüremeyeceği düşünülmektedir.⁸

Avrupa'da, *Microtus*, *Arvicola*, *Myodes* ve *Lemmus* cinsi tarla farelerinin saha çalışmaları ve/veya deneysel enfeksiyonlar sonucunda *E. multilocularis* için uygun ara konak oldukları ortaya konulmuştur.⁴ Yaygın rodent türü olan *Microtus arvalis*, Kuzeydoğu Fransa ve İsviçre gibi bölgelerde en önemli ara konak olarak kabul edilirken, *Arvicola* spp. Macaristan ve Orta Avrupa'nın kentsel alanlarında bulaşmanın sürdürülmesinde ön plandadır. *Ondatra zibethicus*, *Myocastor coypus* ve *Castor fiber* *E. multilocularis* için uygun ara konaklardır ancak büyüklükleri ve habitat özgünlükleri nedeniyle tilkiler için nadiren av olabilmektedirler.^{8, 91} Avrupa kıtasında *E. multilocularis*'in son konaklarda yaygınlığı Tablo 2.2.'de verilmiştir.

Tablo 2.2. Avrupa Kıtasında Son Konaklarda *E. multilocularis*'in Yaygınlığı Üzerine Yapılmış Çalışmalar.

Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
Fransa	Köpek ⁹²	36	5.6	1978-1983	Nekropsi
	Tilki ⁹³	552	24.6	1983-1996	Nekropsi
	Tilki ⁹⁴	222	19.4-63.3	1996-1999	Nekropsi
	Tilki ⁹⁵	149	53	2001-2005	Nekropsi
	Tilki ⁹⁶	127	30	2004-2006	Nekropsi
	Köpek ⁹⁷	817	0.5	2006-2008	PCR
	Köpek ⁹⁸	860	0	2008-2010	PCR
	Tilki ⁹⁹	3307	17	2005-2010	Nekropsi
	Tilki ¹⁰⁰	358	32.7	2011	Nekropsi
	Tilki ¹⁰¹	478	42	2008-2012	Nekropsi
	Tilki ¹⁰²	142	19.7	2012-2014	PCR, Nekropsi
	Kurt	110	0.9		
	Tilki ¹⁰³	585	9.8-52.1	2012-2015	PCR
	Köpek	748	1.2-4.2		
	Kedi	171	3.9-30		
	Tilki ¹⁰⁴	69	24.8	2011-2013	PCR

n: örnek sayısı.

Tablo 2.2. (Devamı)

Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
Fransa	Köpek ¹⁰⁴	18	11.1	2011-2013	PCR
	Kedi ¹⁰⁴	86	7	2011-2013	PCR
	Tilki ¹⁰⁵	278	25.2	2017-2018	PCR
	Köpek ¹⁰⁵	431	3.5	2017-2018	PCR
	Kedi ¹⁰⁵	54	9.3	2017-2018	PCR
Belçika	Tilki ⁴⁶	260	35.4	1993-1998	Nekropsi
	Tilki ¹⁰⁶	709	20.2	1998-2002	Nekropsi
	Tilki ¹⁰⁷	237	1.7	1996-1999	Nekropsi
	Tilki ¹⁰⁸	1018	16.1	1996-2002	Nekropsi
	Tilki ¹⁰⁹	990	24.6	2003-2004	Nekropsi
	Tilki ¹¹⁰	923	2.1	2012-2015	PCR, Nekropsi
Almanya	Tilki ⁴⁶	42 545	04-37	1988-1998	Nekropsi
	Kedi ⁴⁶	751	1.6	1974-1992	Nekropsi
		2748	12.1	1991-1994	
	Tilki ¹¹¹	2617	14.9	1994-1997	Nekropsi
		3094	19.7	2003-2005	
	Tilki ¹¹¹	2757	17.4	1998-2005	Nekropsi
	Tilki ¹¹²	5526	97.3		
	Kedi	5000	0.04		
	Rakun	5542	1.66	2004-2019	*
	köpeği	5512	1.27		
	Köpek				
	Tilki ¹¹³	80	26.3	2013-2016	Nekropsi
	Tilki ¹¹⁴	3797	2.4	1995-1997	Nekropsi
	Tilki ¹¹⁵	4375	3.4-36.6	1992-1997	Nekropsi
	Tilki ¹¹⁶	268	51	2002-2003	Nekropsi
	Tilki ¹¹⁷	181	15-80	2010	Nekropsi

n: örnek sayısı, *: veriye ulaşılamamıştır.

Tablo 2.2. (Devamı)

Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
Almanya	Tilki ¹¹⁸	26 220	11.9-42	1990-2009	Nekropsi
	Rakun köpeği ¹¹⁹	74	2.7	2001	Nekropsi
	Rakun köpeği ¹²⁰	1252	4.79	2000-2008	Nekropsi
	Tilki ¹²¹	98	41.8	2001-2005	Nekropsi
		95	28.4		PCR
	Köpek ¹²²	21 588	0.24	2004-2005	PCR
	Kedi	9064	0.25		
Hollanda	Tilki ¹²³	272	1.8	1996-1997	PCR, Nekropsi
	Tilki ¹²⁴	106	9.4	1998-2000	PCR, Nekropsi
	Tilki ¹⁰⁸	184	8.1	2002-2003	Nekropsi
	Tilki ¹²⁵	196	12.6	2002-2003	PCR
	Kedi ¹²²	361	0.27	2004-2005	PCR
	Tilki ¹²⁶	235	11	2005-2006	Nekropsi
	Tilki ¹²⁷	262	0.7	2010-2012	PCR
	Tilki ¹²⁸	37	59	2012-2013	PCR, Nekropsi
	Tilki ¹²⁹	95	2	2016-2017	Nekropsi
İsveç	Tilki ¹³⁰	2985	0.1	2000-2009	Nekropsi
	Tilki ¹³¹	1444	0.1	2010-2011	Nekropsi
	Tilki ¹³²	177	52.5	2012	Nekropsi
	Tilki ¹³³	714	5.7	2013-2015	PCR
	Tilki ¹³⁴	500	4.8	2001-2004	PCR
İtalya	Köpek ¹²²	249	0	2004-2005	PCR
	Tilki ¹³⁵	2872	1.04	2012-2018	PCR
İngiltere	Tilki ¹³⁶	588	0	1999-2000	PCR, Nekropsi
Avusturya	Tilki ⁵⁵	3778	7.8	1989-1998	Nekropsi
	Tilki ¹³⁷	516	3.6	1993-1994	Nekropsi
	Tilki ¹³⁸	5600	2.4-3.9	1991-2004	Nekropsi

n: örnek sayısı.

Tablo 2.2. (Devamı)

Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
Avusturya	Tilki ¹³⁹	77	74.3	2018-2020	PCR
	Çakal	5	20		
Çekya	Tilki ¹⁴⁰	824	10.6	1994-1996	Nekropsi
	Tilki ¹⁴¹	10	50	1997	Nekropsi
	Tilki ¹⁴²	50	60	1997-1999	PCR
	Köpek	55	1.8		Nekropsi
Slovakya	Tilki ¹⁴³	56	10.7	1998	PCR
	Kurt ¹⁴⁴	31	9.7	1998-1999	PCR
	Tilki ¹⁴⁵	662	7.4 22.2	2000	Nekropsi ELISA
	Tilki ¹⁴⁶	1328	33.6 56	2000-2002	Nekropsi ELISA
	Tilki ¹⁴⁷	152	38.8	2000-2002	Nekropsi
	Tilki ¹⁴⁸	302	10.6	2000-2004	Nekropsi
	Tilki ¹⁴⁹	2226	31.8	2000-2004	Nekropsi
	Tilki ¹⁵⁰	427	35	2001-2004	Nekropsi
	Köpek ¹⁵¹	138	2.9	2002-2005	PCR
	Köpek ¹⁵²	289	2.8	2002-2005	PCR, ELISA
	Tilki ¹⁵³	4026	31.1	2000-2006	Nekropsi
	Köpek ¹⁵⁴	752	0.1	2006	PCR, ELISA
	Tilki ¹⁵⁵	328	42.7	2009	Nekropsi
	Rakun köpeği	2	50		
	Tilki ¹⁵⁶	4726	30.3	2000-2010	Nekropsi
	Tilki ¹⁵¹	1875	41.6	2000-2013	Nekropsi

n: örnek sayısı.

Tablo 2.2. (Devamı)

Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
Slovakya	Kurt ¹⁵⁷	112	35.7	2014-2017	PCR
	Köpek	110	2.7	2016-2019	
Slovenya	Tilki ¹⁵⁸	428	2.6	2002-2005	Nekropsi
	Tilki ¹⁵⁹	20	10	1995	Nekropsi
Polonya	Tilki ¹⁶⁰	2951	2.6	1993-1998	Nekropsi
	Tilki ¹⁶¹	1042	5.09	1994-1997	Nekropsi
	Tilki ¹⁶²	1909	1.2	1994-1997	Nekropsi
	Tilki ¹⁶³	157	0.6	1997-1998	Nekropsi
	Tilki ¹⁵⁰	392	45.7	2001-2004	Nekropsi
	Tilki ¹⁶⁴	1514	23.8	2001-2004	Nekropsi
	Tilki ¹⁶⁵	155	5.8	2002	Nekropsi
	Rakun köpeği	25	8		
	Tilki ¹⁶⁶	208	29.8	2003	Nekropsi
	Rakun köpeği	25	8		
	Tilki ¹⁶⁷	214	20.1	2005	Nekropsi
	Tilki ¹⁶⁸	1546	16.5	2009-2013	Nekropsi
	Tilki ¹⁶⁹	473	25.6	2011-2013	Nekropsi
	Tilki ¹⁷⁰	35	51.4	2014	Nekropsi
	Köpek ¹⁷¹	148	1.4	2015	PCR
	Tilki ¹⁷²	110	48.2	2016-2017	Nekropsi
	Köpek ¹⁷²	268	1.5	2017-2018	PCR
	Kedi	67	6		
	Tilki ¹⁷³	620	2.9	2018	Nekropsi
	Tilki ¹⁷⁴	215	18.5	2020	Nekropsi

n: örnek sayısı.

Tablo 2.2. (Devamı)

Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
Polonya	Tilki ¹⁷⁵	91	4.4	2019	PCR
Belarus	Tilki ¹⁷⁶	93	7.5	1981-2001	Nekropsi
Litvanya	Tilki ¹⁷⁷	269	58.7	2001-2006	Nekropsi
	Rakun köpeği	85	8.2		
	Tilki ¹⁷⁸	206	57.3	2001-2004	Nekropsi
	Köpek ¹⁷⁹	240	0.8	2005-2006	PCR
	Köpek ¹⁸⁰	34	5.9	2007	PCR
Letonya	Tilki ¹⁸¹	45	35.6	2003-2008	Nekropsi
	Kurt ¹⁸²	34	5.9	2003-2008	Nekropsi
Estonya	Tilki ¹⁸³	538	17.1	2010- 2014	Nekropsi
	Rakun köpeği	407	8.1		
	Tilki ¹⁸⁴	17	29.4	2003	Nekropsi
	Tilki ¹⁸⁵	111	31.5	2010-2011	Nekropsi
	Rakun köpeği	249	1.6		
	Tilki ¹⁸⁶	28	7.1	2012-2013	PCR
Sırbistan	Tilki ¹⁸⁷	223	13	2015-2018	Nekropsi
Romanya	Tilki ¹⁸⁸	561	4.8	2007-2010	Nekropsi
Hırvatistan	Tilki ¹⁸⁹	388	7.2	2015-2016	PCR
Macaristan	Tilki ¹⁹⁰	100	5	2002	Nekropsi
	Tilki ¹⁹¹	150	12.7	2003	Nekropsi

n: örnek sayısı.

Tablo 2.2. (Devamı)

Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
Macaristan	Tilki ⁸⁸	840	10.7	2008-2009	Nekropsi
	Tilki ¹⁹²	1612	7.9-10.7	2008-2013	Nekropsi
	Çakal ¹⁹³	11	9.1	2007-2013	Nekropsi
	Tilki ¹⁹⁴	68	41.2	2018-2020	Nekropsi
	Çakal	94	12.5		
	Çakal ¹⁹⁵	173	15.6	2016-2020	Nekropsi
İsviçre	Tilki ¹⁹⁶	1252	35	1990-1991	Nekropsi
	Köpek ¹⁹⁷	86	7	1996-1997	PCR
	Kedi	33	3		
	Tilki ¹⁹⁸	3793	30.1	1990-1995	Nekropsi
	Kedi ¹⁹⁹	263	0.4	1995	Seroloji
	Tilki ²⁰⁰	388	44.3	1996-1998	Nekropsi
	Tilki ²⁰¹	195	49	1997-1998	Nekropsi
	Tilki ⁹²	4700	33	*	*
	Köpek	48 400	0.3		
	Kedi	145 200	0.2		
	Tilki ²⁰²	604	25.8	1998-2000	Seroloji
	Tilki ²⁰³	267	45.7	1998-2002	Nekropsi
	Tilki ²⁰⁴	228	46.3	1998-2002	Nekropsi
	Tilki ²⁰⁵	*	25.4-47.1	1999-2000	Seroloji
	Tilki ²⁰⁶	404	7.7-9.5	1990-2006	Nekropsi
		79	6.3	2010-2012	PCR
	Tilki ²⁰⁷	543	6.4	2006	Nekropsi
	Köpek ²⁰⁸	505	0.4	2006	Seroloji, PCR
	Tilki ²⁰⁹	46	28.3	2011	Nekropsi
	Tilki ²¹⁰	300	59.5	2012-2014	Nekropsi
Danimarka	Tilki ²¹¹	1040	0.3	1997-2002	Nekropsi
	Kedi ¹²²	169	0.59	2004-2005	PCR

n: örnek sayısı, *: veri elde edilememiştir.

Tablo 2.2. (Devamı)

Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
Danimarka	Tilki ²¹²	384	0.3	2009-2012	Nekropsi
	Tilki ²¹³	546	31	2012-2013	Nekropsi
	Tilki ²¹⁴	1073	1.8	2012-2015	Nekropsi
	Rakun köpeği	272	0.7		
Norveç	Tilki ²¹⁵	473	5-41	2000-2004	Seroloji
	Rakun köpeği ²¹⁶	11	0	2011	Nekropsi
	Tilki ²¹⁷	353	8.5	1996-2004	Nekropsi
	Tilki ²¹⁸	3405	0	2002-2013	PCR
Finlandiya	Tilki ²¹⁹	2759	0	2000-2014	PCR, Seroloji
	Rakun köpeği	2353	0		
Lüksemburg	Tilki ⁴⁶	255	5.1	1990-1992	Nekropsi
Lihtenştay	Tilki ⁴⁶	129	34.9	1990-1992	Nekropsi
Romanya	Tilki ¹⁸⁸	561	4.8	2007-2010	Nekropsi

n: örnek sayısı.

Tablo 2.3. Avrupa Kıtasında Ara Konaklarda *E. multilocularis*'in Yaygınlığı Üzerine Yapılmış Çalışmalar.

Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
Çekya	Rodent ¹⁴¹	229	0.4	1997	Nekropsi
Polonya	At ²²⁰	365	4.7	2013	PCR
Norveç	Rodent ²²¹	224	26.3	1999-2000	Nekropsi
	Rodent ²¹⁷	387	19	2001-2006	Nekropsi
	Maymun ⁷⁴	15	100	1987-2000	Nekropsi
	Köpek	10	100		
	Rodent ²⁰¹	47	26	1997-1998	PCR, Nekropsi
	Rodent ²⁰⁰	135	14	1997-1998	PCR, Nekropsi
	Rodent ²⁰²	889	9.1	1999-2000	PCR, Nekropsi
	Rodent ²⁰⁵	1229	11.3-35.3	1999-2000	Nekropsi
İsviçre	Kunduz ²²²	1	Olgu	2002	Nekropsi
	Rodent ²⁰⁴	658	6	2003-2004	PCR, Nekropsi
	Rodent ²²³	856	15.1	2007-2008	Nekropsi
	Rodent ²²⁴	1918	4.7	2013-2015	PCR
	Domuz ⁷⁴	90	10	1998-2001	Nekropsi
		522	2.9		
	Domuz ²²⁵	2 143 996	0.009	2017-2018	PCR
İsveç	Rodent ⁵⁷	1566	0.6	2013-2015	Nekropsi

n: örnek sayısı.

Tablo 2.3. (Devamı)

Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
İngiltere	Maymun ²²⁶	1	Olgu	2006	PCR
Büyük Britanya	Kunduz ²²⁷	1	Olgu	2010	PCR, Nekropsi
Sırbistan	Kunduz ²²⁸	1	Olgu	2008	Nekropsi
Litvanya	Sıçan ²²⁹	5	20	1999-2001	Nekropsi
	Domuz ¹⁷⁹	612	0.5	2005-2006	PCR
Polonya	Domuz ²³⁰	256	1.2	2011	PCR
	Rodent ²³¹	15	6.7	2019	Nekropsi
	Rodent ²³²	2010	0.2	1980	Nekropsi
	Rodent ²³³	492	4.3	1982	Nekropsi
Fransa	Rodent ²³⁴	1807	3.6	1980-1995	Nekropsi
	Rodent ²³⁵	*	2.4-5.7	*	*
	Rodent ¹⁰²	227	2.3	2012-2014	PCR
	Maymun ¹¹²	76	13.2		
	Kunduz	76	11.8		
	Evcil Domuz	76	10.5		
	İnek	76	4	2004-2019	*
	Yabani Domuz	76	45		
	Rodent	380	2.1		
Romonanya	Rodent ²³⁶	*	1.1	*	*
	Rodent ²³⁷	1854	0.44-1.67	*	Nekropsi

n: örnek sayısı, *: veri elde edilememiştir.

2.2.5.2. Asya

Echinococcus multilocularis, Başta Çin'in Tibet Eyaleti olmak üzere, Sichuan, İç Moğolistan, Gansu, Ningxia, Qinghai Sincan, Heilongjiang ve Shaanxi özerk bölgelerinde, ayrıca Rusya ve çevresindeki ülkelerden Ukrayna, Moldova, Türkiye, Ermenistan, Azerbaycan, Kazakistan, Türkmenistan, Özbekistan, Tacikistan, Kırgızistan ve Moğolistan'da ve Japonya'nın Hokkaido adasında yaygın olarak görülmektedir.^{42, 8,}

80

Dünyada insan AE vakalarının büyük çoğunluğu (%90) Asya kıtasından özellikle de Çin'den bildirilmektedir. Bölgenin daha kuzeyinde, 1950'lerden beri çok sayıda insandan AE vakası bildirilmiştir. Son yıllarda, fazla sayıda vaka bildirilmesi ile özellikle Kırgızistan olmak üzere Asya kıtasının ortasında AE ciddi bir halk sağlığı problemi haline gelmiştir.²³⁸⁻²⁴⁰ Ayrıca Japonya'nın kuzeyinde yer alan Hokkaido adasında da hastalık yüksek oranda yaygınlığa sahiptir. Kıtanın güneyinde yer alan Hindistan ve Pakistan'da ise hastalık sporadik seyir göstermektedir.⁸

Rusya'nın çoğu bölgesi *E. multilocularis* için endemik kabul edilir ve insan AE vakalarına göre güney Sibiry'a'nın bazı kısımları (örneğin Altay, Omsk ve Tomsk), Orta Yakutya ve Uzak Doğu'nun bazı kısımları yüksek endemikliğe sahiptir. Rusya'nın ılıman bölgelerinde, kurt, rakun köpeği ve evcil köpekler *E. multilocularis*'in yaşam döngüsüne katkıda bulunabilmektedir ancak asıl kesin konakları kızıl tilkilerdir.^{10, 241} Bölgede tarla fareleri, hamsterler, sincaplar, pikalar ve Bobak dağ sıçanı gibi farklı rodent türleri potansiyel ara konaklar olarak tanımlanmıştır. Ancak bu türlerin hastalığın yaygınlığına katkı açısından gerçek durum ortaya konulmamıştır.^{4, 8}

Çin'de, karnivorlarda *E. multilocularis*'in ilk raporları 1990'lı yıllarda rapor edilmeye başlanmıştır. Parazitin asıl konağı olarak kırmızı tilki (*Vulpes vulpes*) ve Tibet tilkisi (*Vulpes ferrata*) ön plana çıkmaktadır. Özellikle Tibet platosunun doğu kesiminde

Tibet tilkisinin kırmızı tilkilerden daha yaygın ve önemli son konak olduğuna dair raporlar bildirilmektedir.^{16, 242} Ayrıca, köpeklerin AE'in yayılımındaki rolü özellikle kuzeybatı Sichuan'daki Tibet topluluklarında olduğu gibi tüm Çin'de ön plandadır.^{56, 243}

Japonya'da 1960'lı yıllardan beri son konaklar üzerinde çalışmalar yürütülmektedir. Özellikle Hokkaido adasında, tilkilerde intestinal enfeksiyon süregelen bir şekilde takip edilmektedir. Moğolistan'da günümüze kadar ülkenin kuzeybatısından sınırlı sayıda insandan AE vakası bildirilmiştir.²⁴⁴ Güney Kore, *E. multilocularis* açısından endemik kabul edilmemekte ve bu ülkeden sadece bir insan AE vakası bildirilmiştir.²⁴⁵ Kuzey Kore'de hastalığa dair bir veri bulunmamaktadır. Kafkasya olarak tanımlanan bölgede, *E. multilocularis* hakkında sınırlı sayıda veri bulunmaktadır. Bu bölgeden Azerbaycan ve Gürcistan'da son konaklarda parazit varlığı tespit edilmiştir. Yüksek endemikliğe sahip Kırgızistan, Kazakistan ve Özbekistan'da ise 1990 yıllarından beri hem son konak karnivorlar hem de ara konak rodentlere dair kayıtlar bulunmaktadır.⁸

Suriye, Ürdün, Lübnan, Filistin, İsrail ve Arap Yarımadası'nda *E. multilocularis* ile ilgili bir kayıt belgelenmemiştir.⁸

İran'da 1970'de tilkilerde *E. multilocularis*'in ilk defa belirlenmesinin ardından, insanlarda AE vakaları rapor edilmeye başlanmış ve devam etmektedir. Kuzeybatı İran'da ara konaklar üzerinde çalışmalar yürütülmüş ancak başarılı olunamamıştır.^{8, 246} Özellikle 2000 yılından sonra kırmızı tilki, sırtlan, çakal, kurt ve köpek gibi birçok son konakta *E. multilocularis* ve rodentlerde ve bir maymunda da metacestod varlığı rapor edilmiştir. Bu çalışmalar neticesinde İran'ın kuzeydoğusu (Khorasan Razavi eyaleti) yeni endemik bölge olarak tanımlanmıştır.⁸

Irak'ta, ülkenin kuzeyindeki Türkiye sınırına yakın Zaho'da bir insandan AE vakası bildirilmiştir.²⁴⁷ Ancak bugüne kadar bir son konak veya ara konaktan bildirim

yapılmamıştır. Asya kıtasında *E. multilocularis*'in son konaklarda yaygınlığı Tablo 2.4.'de verilmiştir.

Tablo 2.4. Asya Kıtasında Son Konaklarda *E. multilocularis*'in Yaygınlığı Üzerine Yapılmış Çalışmalar.

Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
Ukrayna	Tilki ²⁴⁸	164	2.4	2005	Nekropsi
		*	65.1-80	1963-1980	
	Tilki ²⁴⁹	*	27-80	1951-1962	*
		*	43	1964	
Rusya	Tilki ²⁴¹	*	15-76	*	*
	Köpek ²⁵⁰	307	18	*	*
	Tilki ²⁴⁹	*	24-33	1964	*
	Tilki ²⁵¹	*	15	*	*
	Tilki ⁸	84	22.6	*	*
	Tilki ²⁵²	*	15-40	*	*
	Tilki ²⁵³	91	22	*	*
	Tilki ²⁵⁴	*	33	*	*
	Tilki ²⁵⁵	193	23.8		
	Rakun köpeği	16	18.7	2007-2018	Nekropsi
	Köpek	28	3.6		
	Kurt	6	50		
Kazakistan	Tilki ²⁵⁶	*	5.5-26.5	1980-1991	Nekropsi
	Köpek ²⁵⁷	131	4.6	2002	PCR

n: örnek sayısı, *: veri elde edilememiştir.

Tablo 2.4. (Devamı)

Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
Kazakistan	Köpek ²⁵⁸	632	5	2003-2005	Arekolin purgasyon
	Köpek ²⁵⁹	466	11	2005	PCR
Kırgızistan	Tilki ²⁶⁰	151	64	2006-2007	Nekropsi
	Köpek ²⁶¹	204	2	2012	PCR
		8	12.5		Seroloji
Moğolistan	Tilki ²⁶²	2	50	2001	Seroloji
	Köpek	67	25.4		
	Tilki ²⁶³	191	7.8	2009-2011	Nekropsi
	Kurt	118	3.4		
Japonya	Tilki ²⁶⁴	22 253	17.7	1966-1999	Nekropsi
	Köpek	9849	1.0		
	Kedi	91	5.5		
	Tilki ²⁶⁵	23 852	19.1		
	Köpek	99	1.0	1966-2003	Nekropsi
	Kedi ²⁶⁶	108	4.6		
	Kedi ²⁶⁶	486	1.8	1997-2007	Seroloji
		4768	0.4	1997-2007	PCR
	Tilki ²⁶⁷	534	53.4	1997-1998	Seroloji
	Tilki ²⁶⁸	67	56.7	1999	Nekropsi
	Rakun	13	23.1		
	Köpeği			2004	Seroloji
	Köpek ²⁶⁹	69	2.9		
	Tilki ²⁷⁰	209	12.9	2004	PCR
	Köpek ²⁷¹	1460	0.3	2004-2005	PCR
	Köpek ²⁷²	550	0.2	2005	PCR
	Tilki ²⁷³	131	16	2005	PCR
			49		ELISA

n: örnek sayısı.

Tablo 2.4. (Devamı)

Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
Japonya	Köpek ²⁷⁴	183	1.1	2006	Seroloji
	Köpek ²⁷⁵	156	1.9	2013-2017	PCR
	Köpek ²⁷⁶	98	7.1	2018-2019	PCR
	Tilki ²⁷⁷	465	33.8	1985-2006	*
	Tilki ²⁷⁸	42	4.8	1997-1998	Nekropsi
	Köpek ²⁷⁹	23	34.8	2000	Nekropsi
	Tilki ³⁸	16	14.3	2001-2003	Nekropsi
	Köpek ²⁸⁰	371	12	2002-2003	Arekolin purgasyon
	Köpek ²⁸¹	30	3.3	2004-2005	Nekropsi
	Köpek ²⁸²	74	5.4	2004-2007	Nekropsi
Çin	Köpek ²⁸³	9	5.5	2007	Nekropsi
	Tilki ²⁴³	13	15.4	2006-2007	PCR
	Köpek	142	22.5		
	Köpek ²⁸⁴	276	11.2	2006-2008	PCR
	Köpek ²⁸⁵	750	14.1	2012	PCR
	Tilki ²⁷⁷	465	33.8	1985-2006	*
	Köpek ²⁸⁶	365	15.3	2013	Seroloji
			6.6		PCR
	Köpek ²⁸⁷	21	76.2	2015	PCR
	Köpek ²⁸⁸	120	9.2	2016	PCR
	Köpek ²⁸⁹	105	23.8	2015-2017	PCR
	Tilki ²⁹⁰	362	36.2		
	Kurt	2	50	*	*
	Köpek	781	13.1		

n: örnek sayısı, *: veri elde edilememiştir.

Tablo 2.4. (Devamı)

Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
Çin	Tilki ²⁹¹	528	4	2022	PCR
	Köpek	277	12.6		
Pakistan	Tilki ²⁹²	68	4.4	2018	PCR
	Köpek	105	0		
İran	Tilki ²⁹³	30	10	1968-1969	Nekropsi
	Tilki ²⁹⁴	198	6	1969-1971	Nekropsi
	Tilki ²⁴⁶	70	22.9	1992-1994	Nekropsi
	Çakal	25	16		
	Köpek ²⁹⁵	77	6.5	2009-2010	PCR
	Çakal	9	100		
	Tilki	3	100		
	Sırtlan	1	Olgu		
	Kurt	1	Olgu		
	Tilki ²⁹⁶	84	0	2013	PCR
	Köpek	59			
	Çakal	1			
	Köpek ²⁹⁷	100	0	2013	PCR
	Çakal ²⁹⁸	61	13.1	2013-2014	Nekropsi
	Tilki	23	8.7		
	Köpek ²⁹⁹	167	0	2013-2014	PCR
Özbekistan	Tilki ³⁰⁰	-	8.6	*	*
	Köpek ³⁰¹	678	0.15	*	*
	Tilki	189	10		

n: örnek sayısı, *: veri elde edilememiştir.

Tablo 2.5. Asya Kıtasında Ara Konaklarda *E. multilocularis*'in Yaygınlığı Üzerine Yapılmış Çalışmalar.

Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
Rusya	Rodent ³⁰¹	*	3.6-7.8	*	*
	Rodent ²⁴¹	*	1-52	*	*
	Rodent ³⁰²	40	45.5	2012	Nekropsi
Japonya	Domuz ³⁰³	5291	0.1	2005-2008	Nekropsi
	Domuz ²⁶⁴	18 857 078	0.1	1983-1999	Nekropsi
	At	15 583	0.15		
	Rodent ³⁰⁴	42	2.4	1992	Nekropsi
	At ³⁰⁵	1100	0.82	1993-1994	Nekropsi
	Domuz	1x10 ⁶	0.16		
	Rodent ³⁰⁶	8	12.5	2009	Nekropsi
Çin	Rodent ³⁰⁷	2024	0.9	1985-1992	Nekropsi
	Rodent ²⁷⁸	3717	5.4	1998-1999	Nekropsi
	Rodent ²⁹⁰	19 808	1.6	*	*
	Rodent ²⁷⁷	19 655	1.8	1989-2001	*
	Rodent ²⁸²	219	1.8	2004-2007	Nekropsi
	Koyun	1021	0.3		
	Tibet sığırı	634	0.3		
	Rodent ²⁸⁷	6	100	2015	Nekropsi
	Rodent ³⁰⁸	6	100	2017	PCR
	Rodent ³⁰⁹	346	10.7	2014	Nekropsi
	Rodent ³¹⁰	102	31.4	2018	Nekropsi
	Rodent ³¹¹	1411	9.14	2017	Nekropsi

n: örnek sayısı, *: veri elde edilememiştir.

Tablo 2.5. (Devamı)

Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
Kazakistan	Rodent ³¹²	13 818	1-6	1972-2000	Nekropsi
	Rodent ²⁴⁹	14 933	0.05-0.1	*	*
	Rodent	7694	0.1-9	*	*
	Rodent	2557	0.3-4.4	*	*
Kırgızistan	Rodent ³¹³	*	0.3-3.9	*	*
Moğolistan	Rodent ⁴⁶	2635	2.4	*	*
İran	Rodent ³¹⁴	85	35.3	2010-2011	PCR

n: örnek sayısı, *: veri elde edilememiştir.

2.2.5.3. Amerika

Echinococcus multilocularis, Kuzey Amerika'da, Alaska ile Kanada'nın Kuzey Tundra Bölgesi ve Kanada'nın üç eyaletini (Alberta, Saskatchewan ve Manitoba) kapsayan Kuzey Merkez Bölgesi'nin dahil olduğu geniş bir coğrafyada yayılıma sahiptir.⁸⁰ Bu geniş coğrafik dağılım boyunca, *E. multilocularis*'in yaşam döngüsünde son ve ara konak türleri de değişkenlik gösterir. Kuzey Tundra Bölgesi ve Kanada'da asıl son konak kutup tilkisi (*Vulpes lagopus*), ara konak olarak ise tundra tarla faresi (*Microtus oeconomus*), kahverengi lemming (*Lemmus sibiricus*) ve daha az ölçüde kuzey kırmızı sırtlı tarla faresi (*Myodes rutilus*) ön plandadır. Kuzey Tundra Bölgesi'nin Alaska kısmındaki St. Lawrence Adası ve Nunivak Adası'nda kutup tilkilerinde (*Vulpes lagopus*) *E. multilocularis* varlığı %70-80 iken diğer bölgelerinde %2-8 kadardır. Kuzey Merkez Bölgesi'nde ise son konak benzerdir ancak ara konak olarak geyik faresi (*Peromyscus maniculatus*), çayır tarla faresi (*Microtus pennsylvanicus*), ev faresi (*Mus musculus*) ve

gür kuyruklu ağaç faresi (*Neotoma cinerea*) türlerinde yaygınlık gözlemlenmiştir.³¹⁵ Bu bölgenin ABD sınırına yakın kısımlarındaki kızıl tilkilerde (*Vulpes vulpes*) yaygınlık %5-89 arasındadır ve güney ile doğu sınırlarına doğru yayılım artmaktadır. Ayrıca, Kuzey Merkez Bölgesi'nde koyote (*Canis latrans*), parazitin yayılmasında önemli bir son konaktır ve prevalansı %19 ile %35 arasında değişmektedir.^{8, 316}

Kanada'nın batı sınırında köpeklerde metacestod ve Britanya Kolombiya'sında çakallarda (*Canis latrans*) intestinal *E. multilocularis* varlığı bildirilmiştir.^{317, 318} Ülkenin güneyinde ise Ontario'da köpeklerde ve ABD'de Illinois, Indiana, Ohio ve Michigan eyaletlerindeki vahşi son konaklarda AE vakaları rapor edilmiştir.³¹⁹⁻³²¹ Kıtanın kuzeyinde ise kurtlarda *E. multilocularis* varlığı bildirilmiştir.^{8, 322-324}

Grönland'ta kutup tilkileri mevcut olmasına rağmen, tek potansiyel ara konak olan kemirgenin (*Dicrostonyx rubricates*) uygun ara konak olmaması sebebiyle *E. multilocularis* varlığı rapor edilmemiştir.^{8, 325-327}

Amerika Birleşik Devletleri'nin güneyinden ve Meksika'dan *E. multilocularis*'e ait veri bildirilmemiştir.⁸ Amerika kıtasında *E. multilocularis*'in son konaklarda yaygınlığı Tablo 2.6'da verilmiştir.

Tablo 2.6. Amerika Kıtasında Son Konaklarda *E. multilocularis*'in Yaygınlığı Üzerine Yapılmış Çalışmalar.

Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
ABD	Tilki ³²⁸	1540	8.5	1965-1969	Nekropsi
	Koyote	171	4.1		
	Tilki ³²⁹	1153	16	1965-1972	Nekropsi
	Tilki ³³⁰	148	13.5	1980	Nekropsi
	Tilki ³³¹	137	74.5	1987-1991	Nekropsi
	Koyote	9	44.4		

n: örnek sayısı.

Tablo 2.6. (Devamı)

Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
ABD	Tilki ³³²	176	7.4	1993-1994	Nekropsi
	Koyote	61	3.3		
	Tilki ³³²	64	42.2	1994-1996	Nekropsi
	Tilki ³³³	1579	80	1990	Nekropsi
	Tilki ³³⁴	46	15.2	2010	PCR
Kanada	Kedi ³³⁵	131	2.29	1971	Nekropsi
	Koyote ³¹⁶	61	29.5	2009-2010	Nekropsi
		247	6.1		PCR
	Koyote ³³⁶	91	25.3	2009-2011	Nekropsi
	Tilki ³²²	404	0.7	2010-2011	PCR
	Kurt ³²³	93	12.9	2009-2011	Nekropsi
	Koyote ³¹⁸	27	37	2010-2012	Nekropsi
	Tilki	6	17		
	Koyote ³³⁷	385	10.3	2012-2013	PCR
	Koyote ³³⁸	24	33	2012-2016	PCR
	Tilki	16	19		
	Tilki ³³⁹	44	21	2015-2017	PCR
	Koyote	416	24		
	Koyote ³⁴⁰	23	65.2	2016-2017	Nekropsi
	Tilki ³⁴¹	1	100	2018	PCR
	Koyote	124	7.3		
	Koyote ³⁴²	112	70	2017-2020	PCR
		112	48		Nekropsi
	Köpek ³⁴³	775	0.2	2020	PCR

n: örnek sayısı.

Tablo 2.7. Amerika Kıtasında Ara Konaklarda *E. multilocularis*'in Yaygınlığı Üzerine Yapılmış Çalışmalar.

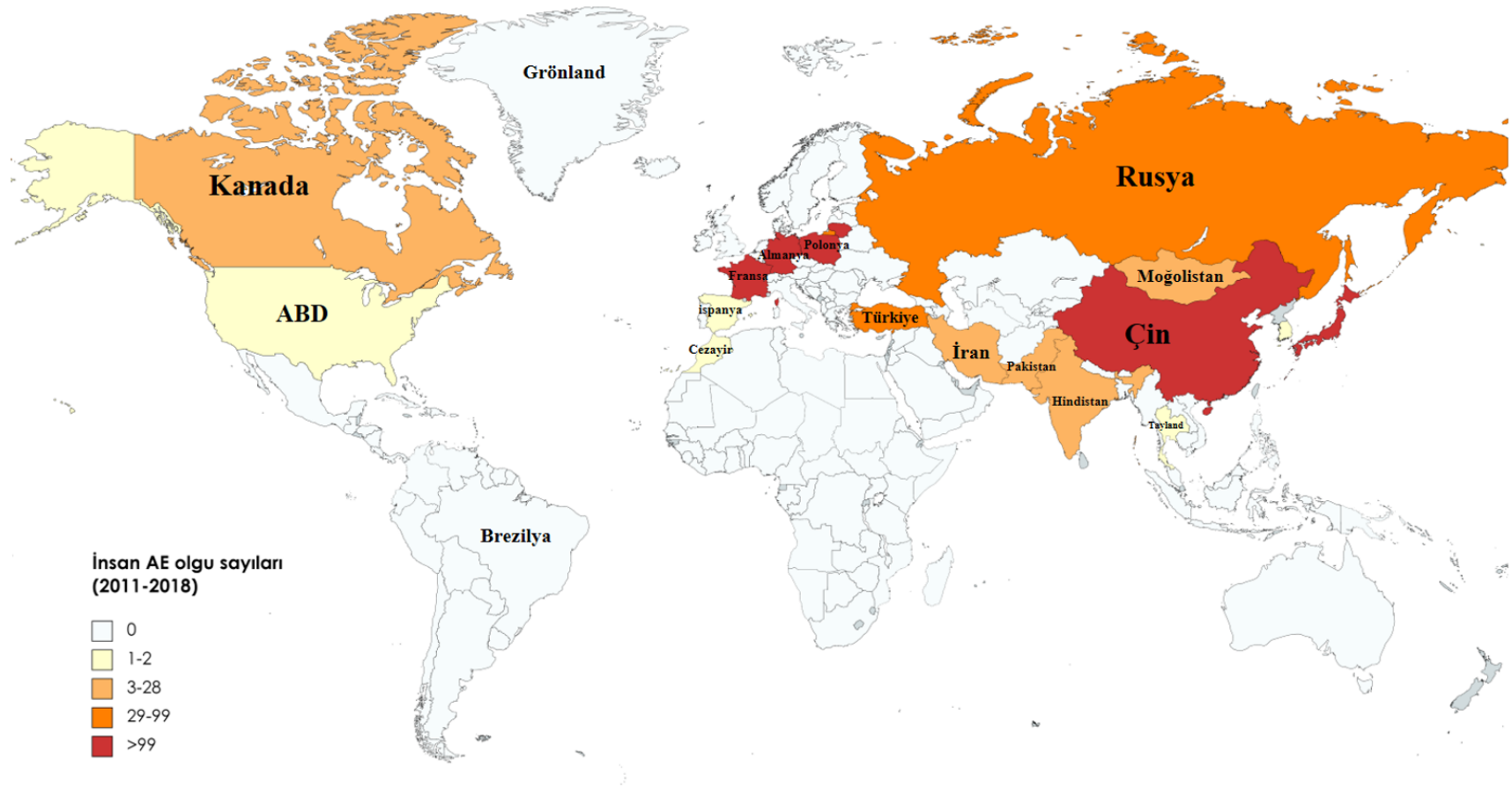
Ülke	Konak	n	%	Tarih	Yöntem
ABD	Rodent ³²⁸	5333	4.2	1965-1969	Nekropsi
	Rodent ³⁴⁴	1899	3.2	1966-1969	Nekropsi
	Rodent ³²⁶	467	0.8	1995-2000	Nekropsi
Kanada	Rodent ³⁴⁵	180	1.1	1972	Nekropsi
	Rodent ³⁴⁶	338	18.6	1970	Nekropsi
	Rodent ³³⁷	982	0.5	2012-2013	Nekropsi

n: örnek sayısı.

2.2.5.4. Dünyada İnsanlarda Alveolar Ekinokokkozisin Dağılımı

Dünyada, yıllık 18.000'den fazla insanda AE vakası olduğu tahmin edilmektedir. Bu vakalarının %91'i Çin'de ortaya çıkmaktadır.⁴² Alveolar ekinokokkozis, DSÖ tarafından ihmal edilen 20 tropikal hastalıktan birisi olarak belirlenmiştir. *Echinococcus multilocularis* gıda kaynaklı parazit olarak tanımlanmış ve küresel etkiye sahip 24 hastalık içerisinde üçüncü sırada listelenmiştir.⁹

İnsan AE vakaları hastalığın hayvanlarda endemik olduğu her bölgede görülmez.⁹ İnsan AE'nin ortaya çıkmasında ve yayılmasında, son ve ara konaklara bağlı bulaşma modelleri, bölgenin coğrafik özellikleri, halk sağlığı yöneticileri ve insanlarda hastalığın farkındalığı dahil olmak üzere sosyo-ekonomik koşullar ve genel nüfus yapısı gibi çeşitli faktörler etkilidir. Bir diğer belirleyici faktörün de *E. multilocularis*'in tür içindeki insan patojenitesi ve duyarlılığındaki önemli farklılıklardan ileri geldiği ifade edilmiştir.³⁴⁷⁻³⁴⁹ Dünyada insanlardan bildirilen AE vakaları Şekil 2.6'da özetlenmiştir.⁹



Şekil 2.6. Dünyada insan AE vakalarının dağılımı

2.2.5.5. Türkiye

Türkiye ve komşu ülkeler AE bakımından değerlendirildiğinde tropikal ve subtropikal iklim kuşağında yer alması nedeniyle hastalığın nadir olarak görülmesi beklenmektedir. Ancak yüksek rakıma sahip bölgelerden ve hastalığın farkındalığının olduğu kısımlarında bildirimler bulunmaktadır.³⁵⁰

Türkiye’de insanlardan bildirilen AE olguları ele alındığında, ilk vakanın 1939 yılında rapor edildiği³⁵¹ ve o tarihten günümüze kadar vakaların olgu sunumu, olgu serisi, retrospektif çalışma ve derleme şeklinde sunulduğu belirlenmiştir.²² Altıntaş ve ark. (1998), 1980 ve 1998 yılları arasında toplam 202 yeni insan AE vaka bildirimini rapor etmiştir.²² Uzunlar ve ark. (2003)³⁵²’nın hastalığın yaygınlığı üzerine sunduğu raporda 1980-2000 yılları arasında Diyarbakır, Şanlıurfa ve Batman illerinin dahil edildiği Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde insan AE vaka insidansı 0.4/100.000 (vaka/nüfus) olarak bildirilmiştir. Miman ve ark. (2012)²¹ Türkiye’de insanlardan bildirilen AE vakalarını derledikleri araştırmada; 1939 yılından 2000 yılına kadar bildirilen 786 AE olgusu rapor etmiş ve çoğu vakanın doğu illerine ait olduğunu ifade etmiştir. Ülkemizin farklı bölgelerinden 2000-2010 yılları arasında 162 AE vakası bildirilmiş ve bu vakaların 89’unun Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi’ne ait olduğu kaydedilmiştir.²¹ Güncel olarak, Türkiye’de günümüze kadar bildirilen insan AE vakaları Gürler ve ark. (2019)²² tarafından derlenmiş ve 641 ile 918 arasında vakanın varlığı rapor edilmiştir. Elde edilen sonuçlardan sadece 350 vakaya ait ikamet kaydı olduğu bildirilmiş ve bu vakaların il bazında dağılımı Şekil 2.7’de özetlenmiştir.²² Tüm bu verilere ek olarak Türkiye, DSÖ/DHSÖ raporlarında insan vakaları baz alındığında dünyadaki birkaç yüksek endemik bölgeden birisi olarak değerlendirilmiştir.^{1, 8, 42}

Türkiye’de *E. multilocularis*’in son ve ara konaklardaki yaygınlığı üzerine sınırlı sayıda çalışma bulunmakta olup, *E. multilocularis*’in asıl son konağı olarak kırmızı tilkiler ve asıl ara konak olarak ise rodentlerin olduğu tahmin edilmektedir.⁸ Türkiye’nin doğusunda

yer alan Erzurum ilinde daha önce yürütülen çalışmalarda, *E. multilocularis*'in yaygın konakları olarak kırmızı tilkiler (*Vulpes vulpes*) ve *Microtus irani* türleri tanımlanmıştır.²³

24

Hastalığın son konaklardaki yaygınlığı üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde, Mimioğlu ve ark. (1965)³⁵³ Ankara'da 51, Gıcık ve ark. (2009)³⁵⁴ Kars'ta 20 tilkide nekropsi yöntemi ile etken varlığını incelemiş, ancak *E. multilocularis* tespit edilemediği bildirilmiştir. Merdivenci (1963)³⁵⁵, Kırklareli'nde bir tilkide, nekropsi yöntemi ile *E. multilocularis* saptamıştır. Avcıoğlu ve ark. (2021a)²³, 50 tilki karkasının 21 tanesinde ve 500 tilki dışkısının 63 tanesinde pozitiflik bildirmiştir. Erzurum ilinde, bir vaşakta Avcıoğlu ve ark. (2018)²⁶ ve bir kurtta Avcıoğlu ve ark. (2021c)²⁷ nekropsi yöntemi uygulamış ve ergin *E. multilocularis* saptamışlardır. Ayrıca 446 sokak köpeğinin dışkı örneklerinde moleküler yöntemlerle %3.6 oranında *E. multilocularis* tespit edilmiştir.²⁵ Gürler ve ark. (2018)³⁵⁶, Türkiye'nin Trakya ve Orta Anadolu bölgesinin farklı noktalarından tilkilere ait olduğu düşünülen 405 dışkı örneğini incelemiş ve 8 tanesinde *E. multilocularis* DNA'sını PCR yöntemi ile belirlemişlerdir.

Türkiye'de hastalığın ara konaklardaki varlığı ve yaygınlığı üzerine yalnızca bir çalışma rapor edilmiştir. Avcıoğlu ve ark. (2017b)²⁴, Erzurum yöresinde 498 rodent örneğini nekropsi ile incelemiş ve 48 tanesinde karaciğer lezyonları tespit etmişlerdir. Lezyonlu karaciğer örnekleri PCR ile incelenmiş ve 5 rodent örneğinde *E. multilocularis* DNA'sı belirlemişlerdir.

Türkiye'de günümüze kadar son ve ara konaklar üzerinde yürütülen çalışmalardan elde edilen sonuçlar Tablo 2.8'de özetlenmiştir.

Tablo 2.8. Türkiye’de Son ve Ara Konaklarda *E. multilocularis*’in Yaygınlığı Üzerine Yapılmış Çalışmalar.

İl	Konak	Materyal	n	%	Tarih	Yöntem
Kırklareli	Tilki ³⁵⁵	Karkas	1	Olgu	1963	Nekropsi
Ankara	Tilki ³⁵³	Karkas	51	0	1965	Nekropsi
Kars	Tilki ³⁵⁴	Karkas	20	0	2009	Nekropsi
Erzurum	Tilki ²³	Karkas	50	42	2015-2019	PCR ve Nekropsi
		Dışkı	600	10.5		
	Köpek ²⁵	Dışkı	446	3.6	2015-2016	PCR
	Kurt ²⁷	Karkas	1	Olgu	2021	PCR, Nekropsi
	Vaşak ²⁶	Karkas	1	Olgu	2016	PCR, Nekropsi
	Rodent ²⁴	Karkas	498	1	2015-2019	PCR, Nekropsi
Trakya ve Orta Anadolu Bölgesi	Tilki ³⁵⁶	Dışkı	405	2	2018	PCR
Bingöl	Domuz ³⁵⁷	Karkas	1	Olgu	2019	Nekropsi

n: örnek sayısı.



Şekil 2.7. Türkiye’de insan AE vakalarının dağılımı

2.2.5.6. *E. multilocularis*'in Moleküler Epidemiyolojisi

Echinococcus multilocularis'in genetik yapısı üzerine son on yılda yapılan çalışmalarda Avrupa, Asya, Kuzey Amerika ve Çin'den elden edilen örneklerde çok farklı genetik çeşitlilik olduğu belirlenmiştir. Bu genetik farklılıklar literatürlerde Avrupa, Asya, Moğolistan ve Kuzey Amerika suşu olarak adlandırılmıştır.⁸¹⁻⁸⁴ Ancak bu suşların taksonomik olarak tür içi ayırma sebep olduğuna dair bir çalışma bulunmamaktadır ve bu genetik varyasyonların epidemiyolojik önemi üzerine de bir çalışma yürütülmemiştir. Moleküler tabanlı epidemiyolojik çalışmalar ile Avrupa suşunun Kuzey Amerika'daki silvatic varyantlardan daha öldürücü olduğu kanıtlanmıştır. Bu Avrupa suşunun, Kanada'daki evcil köpekler ve kırmızı tilkilerdeki türler ile benzerliği ortaya konulmuştur.⁸⁵

Avrupa orjinli varyantların, moleküler epidemiyolojik çalışmalar ile daha az türde ara konağa ihtiyaç duyduğu ve daha fazla zoonotik potansiyele sahip olduğu ortaya belirlenmiştir.⁸⁶ Epidemiyolojik olarak, 2013'ten önce yalnızca bir otokton vakanın bildirildiği Kanada'ya kıyasla Avrupa'da çok daha fazla insanda *E. multilocularis* vakası bildirilmiştir.⁸⁵ Çin'deki moleküler tabanlı epidemiyolojik çalışmalarda, Asya orjinli *E. multilocularis*'in birden fazla genotipe sahip olduğu ve bu genotipler arasında da insanlar için farklı patojenik potansiyeller olduğu ifade edilmiştir.⁸⁷

Avrupa ve Japonya'da *E. multilocularis*'in kırmızı tilkiler ile şehir hayatına adapte olduğu belirtilmektedir.⁸⁵ Benzer durumun, Kuzey Amerika'nın kentsel alanlarında *E. multilocularis* ile enfekte çakallar aracılığıyla ortaya çıktığı bildirilmiştir.⁸⁵ Kızıl tilkilere benzer şekilde çakalların da kentsel yaşama başarılı bir şekilde adapte oldukları ve Kuzey Amerika'daki kentsel ortamlarda giderek artan bir halk sağlığı riski taşıdıkları ifade edilmektedir.^{85, 86, 88}

Echinococcus multilocularis'in biyolojik çeşitliliği, farklı filogenik ve moleküler epidemiyolojik çalışmalarda biyolojik belirteçler aracılığıyla araştırılmaya çalışılmıştır.

Echinococcus multilocularis'teki polimorfizmi araştırmak için *E. multilocularis* mikrosatellite (EmsB) analizi, özellikle Avrupa izolatlarında, ayrıca Asya ve Kuzey Amerika'da yaygın olarak kullanılmıştır. Bu EmsB belirteci, fragman analizlerinde, birlikte çalışılan farklı lokuslar arasındaki polimorfizm nedeniyle daha önce hiç ulaşılmamış bir genetik çeşitlilik seviyesinin tanımlanmasına olanak sağlamaktadır. Böylece bölgesel ve yerel coğrafik ölçeklerde çeşitli profillerin ortaya konulmasına imkan sağladığı rapor edilmiştir. Mikrosatellite çalışmalarından elde edilen genetik çeşitlilik tanımı ile muhtemelen "yeni" olarak belirtilen endemik bir alandaki dağılım ve kontaminasyon kökeninin anlaşılabileceği ifade edilmiştir. Çalışmalarda *E. multilocularis*'in kuzey Polonya'daki genetik çeşitliliğinin, İsviçre veya Fransa gibi tarihi endemik bölgelerden çok daha düşük olduğu ortaya konulmuştur. Ancak üç ülkede ortak genetik profiller de tespit edilmiştir. Bu ortak profil, eski endemik bölgelerden yeni endemik alanlara doğru dağılım, taşınma veya kurucu olarak tanımlanan olayların meydana gelmesi sonucu olduğu ifade edilmiştir. Mikrosatellite genotiplemesi ile gerçekleştirilen tüm çalışmalardan elde edilen veri setleri ile *E. multilocularis*'in dağılımının coğrafik haritalanması ve izolatlar arasındaki genetik mesafeyi ölçen istatistiksel bir analiz kullanılması sayesinde hayvanlardaki veya insanlardaki enfeksiyonun potansiyel kontaminasyon kaynağının belirlenebileceği belirtilmiştir.⁸⁹

Türkiye'den elde edilen izolatların mikrosatellite analizi sonucu, Ermenistan ve Türkiye arasında paylaşılan bir Asya EmsB profili ile Türkiye ve Rusya arasında paylaşılan iki Asya EmsB profilleri elde edilmiştir. Ayrıca Türkiye'deki iki tilkide, hem Avrupa hem de Asya kladlarını içeren iki Avrupa profili tanımlanmıştır. Erzurum ilinden elde edilen bu izolatlarda hem Asya hem de Avrupa profillerinin tespit edildiği bildirilmiştir.⁹⁰

2.2.6. İmmunonoji

2.2.6.1. Son Konaklarda İmmunoloji

Ekinokokkozisin son konaklarına yönelik immunolojik çalışmalar sınırlıdır. Hem deneysel enfeksiyonlarda hem de saha çalışmalarında kesin konaklarda *Echinococcus* türlerine karşı koruyucu bir bağışıklığın varlığı öne sürülmüş olsa da bu konu tam bir netlik kazanmamıştır.³⁵⁸ Genel olarak, *Echinococcus* antiijenlerinin özellikle Th2 hücrelerini aktive ederek, bu hücrelerin IL-4 ve IL-5 salgılamalarını stimüle ettiği bildirilmiştir. İnterlökin-4 plasma hücrelerinden IgE salgılanmasını, IL-5'in ise eozinofillerin aktifleşmesini sağladığı tespit edilmiştir. Aktif hale gelen eozinofillerin agranülasyonu ile cestodun lize edilmeye çalışıldığı ortaya konulmuştur. Th1 hücreleri ise sitokin salgılayarak granülamatöz yangı gelişmesine sebep olur.^{359, 360}

Kato ve ark. (2005)³⁵⁸ tarafından, *E. multilocularis*'in intestinal yaşamdaki immunolojik etkisi üzerine köpeklerde deneysel bir enfeksiyon oluşturulmuştur. Bu çalışma ile protoskoleks ve erişkin *E. multilocularis*'lerin somatik ve boşaltım-salgı (E/S) antiijenlerine karşı Th2 hücre stimülasyonu ile serum IgG1, Th1 hücre stimülasyonu ile de serum IgG2 salınım seviyelerinin enfeksiyondan 7 gün sonra artış gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca en yüksek Ig seviyesine protoskoleks boşaltım-salgı antiijeni (PES)'nin sebep olduğu tespit edilmiştir.³⁵⁸ Son konaklarda, intestinal enfeksiyona karşı kazanılmış bir bağışıklık gelişmediği, ancak konağın türüne göre farklı genetik faktörlere bağlı olarak *E. multilocularis*'in biyotik gücü üzerine etki ettiği deneysel çalışmalar ile ortaya konulmuştur.¹¹

2.2.6.2. Ara Konaklarda ve İnsanlarda İmmunoloji

Alveolar ekinokokkozis, insan karaciğerinde yıllar boyunca kalır ve yüksek mortaliteye sahip tümör benzeri bir hastalık oluşturur. Hastalığın tedavi edilmediği durumların büyük çoğunluğu ölümle sonuçlanır.³⁶¹

Echinococcus multilocularis yumurtalarının uygun ara konaklar tarafından alınmasının ardından, onkosferin karaciğere göçü ile enfeksiyonun erken devresinde, ilk birkaç gün içerisinde bir vezikül şeklinde germinal tabaka şekillenir. Takiben 7-10 gün içerisinde de ara konağın doğuştan gelen veya sonradan kazanmış olduğu immun yanıtından korunmak için gelişen vezikül laminar tabaka ile çevrelenir.³⁶² Gelişen vezikül uzun süre küçük boyutta kalır ve devamında ya bağımlı ya da bağımsız şekilde yeni veziküller meydana gelir. Bu vezikülleşme konağın immun yanıtına bağlı olarak hızlı veya yavaş, sürekli veya durağan şekilde meydana gelebilir. Alveolar kistin bu proliferasyon sürecine, genellikle metacestodun laminar tabakasının yakın çevresinde konak kaynaklı fibröz ve bağ doku yapılı granüloamatöz proliferasyon yanıtı eşlik eder. Bu süreçte, kistin merkezi nekroze olma eğiliminde iken periferinden sürekli olarak gelişimini devam ettirir. Bu gelişim süreci, tamamen etkili bir bağışıklık ve/veya kemoterapi ve/veya fiziksel bir müdahale olmadığı sürece devam eder.^{363, 364}

Doğuştan gelen bağışıklık, AE ile mücadele eden ilk savunma hattıdır. Bu ilk hattın etkinliği konağın immunogenetik geçmişine ve farklı ara konak türlerinde ve suşlarında bulunan diğer genetik ve fizyolojik parametrelere bağlıdır.³⁶⁵ Farelerde birçok genetik faktörün *E. multilocularis*'e karşı direnci veya duyarlılığı belirlediği, aynı zamanda kistin gelişim aşamasında bu genetik faktörler dışında konağın türüne özgü faktörlerin de etkili olduğu belirlenmiştir.³⁶⁶ Genetik yatkınlığın sekonder enfeksiyon gelişmesi üzerine de etkisi olduğu fare modellerinde farklı fare türlerinin kullanılması ile ortaya konulmuştur. Duyarlı veya dirençli olmayı belirleyen en önemli faktörün CD4 T hücre aktivasyonu olduğu belirlenmiştir.³⁶⁷

Alveolar kist konakta bulunduğu sürece, konağa ait fagositik hücreler ile kistin yüzeyi arasında güçlü bir bağlantı bulunur. Kistin bu özelliği ile laminar tabaka, germinal tabakayı konağın makrofajlarından salınan NO'dan koruduğu gibi germinal tabakanın

antijenik yapısını da gizleyebilir.³⁶⁸ Ara konakta onkosfer yüzeyine karşı daha önce gelişmiş olan bir immun yanıt, sekonder kist gelişimini engelleyebilir veya kısmi supresyona uğramasına sebep olabilir. Ancak alveolar kiste karşı korunma sağlamayacağı ve gelişme aşamasında olan onkosferin laminar tabaka sayesinde konağın immun reaksiyonlarından korunduğu *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar ile ortaya konulmuştur.^{362, 369}

Alveolar kistin, enfeksiyonun erken dönemlerinde yavaş, ilerleyen evrelerinde ise daha agresif bir gelişme gösterdiği tespit edilmiştir. Ara konağın intestinal sistemindeki onkosferal tutunma bölgesinde meydana gelen reaksiyonlar, gelişen immun yanıtın “erken safhası”, onkosferlerin karaciğere tutunmasının ardından metacestod oluşması ile gelişen reaksiyonlar ise immun yanıtın “gecikmiş safhası” olarak tanımlanır. B lenfositleri, eozinofiller, nötrofiller ve makrofajların gelişmekte olan onkosferin tutunduğu alana infiltre olduğu belirtilmiştir. Hastalığın erken safhasında, parazitin ara konağa başarılı şekilde penetre olmasının, larvanın gelişimi ile konağın savunmacı immun yanıtının oluşması arasındaki rekabete bağlı olduğu ifade edilmiştir.^{362, 369, 370} Uygun bir ara konakta tutunan alveolar kist, konağın immun yanıtından korunabildiği durumlarda progresif karakterde proliferasyona sahip olur ve konaktaki lenfoproliferatif aktivasyona rağmen metastaz yapabilir. Alveolar kistli farelerin kan değerlerindeki tüm değişikliklerin metacestod boyutu ile direkt ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ancak AE enfeksiyonunda, helmintlerde olduğu gibi tipik bir eozinofil varlığı görülmediği ifade edilmiştir.³⁷¹

Alveolar ekinokokkozisde, hem ara konak rodentlerde hem de tesadüfi konak insanlarda doğuştan bağışık veya duyarlı olunmasının konağın genetik faktörlerine bağlı olduğu bildirilmiştir.^{372, 373} Bu faktörlerin farklı rodent türlerinde de değişken olduğu ve insanların nadiren protoskoleks üretmesi ile AE’e karşı kısmen dirençli olduğu rapor edilmiştir.³⁶⁸ Onkosferin ara konağa penetrasyonundan metastatik sürece kadar, parazitin konak immun sistemini kontrol ettiği ve konağın immun sisteminin aktifliğine göre farklı

reaksiyonların geliştiği rapor edilmiştir. Aynı zamanda, tekrarlayan enfeksiyon ve immunsupresyon durumlarında AE'in gelişim göstermesinin ve metastaz yapabilmesinin, parazite karşı kesinç direncin gelişmemesi sonucunda ortaya çıktığı ifade edilmiştir.^{368, 374}

Humoral İmmun Yanıt

Alveolar ekinokokkozisli ara konakların çoğunda, immunglobulinlerin tüm izotipleri dahil olmak üzere parazite spesifik antikorlar ölçülebilir seviyede ortaya çıkmaktadır.^{375, 376} Enfekte ara konakların çoğu, spesifik IgE ve IgG üretimi ile parazite özel antikorlar aracılığıyla immün yanıt oluştururlar. İnsanlarda total IgE ve *E. multilocularis*-spesifik IgE'nin serum seviyelerinin AE durumunda yüksek olduğu ve spesifik IgE'lerin dolaşımdaki bazofillere bağlı olduğu belirlenmiştir.³⁷⁵ İnsan AE olgularında serumdaki IgG1 ve IgG4 seviyelerindeki yükseliş, hastalığa karşı gelişen en aktif alt sınıf immün yanıt olarak belirlenmiştir. Düşük moleküler yapıdaki *E. multilocularis* antijenini en iyi tanıyan antikor olan IgG4 seviyesi, hastalığın elimine edildiği durumlarda azalırken nüks geliştiği zaman tekrar artmaktadır.³⁷⁷⁻³⁷⁹ Hastalığa dirençli ara konakların, Em2 antijenine spesifik olarak IgG3 ve IgG1 izotiplerinde antikor sentezlediği bildirilmiştir.^{364, 370, 380, 381} Abortif veya ölü alveolar kist lezyonuna sahip insanların serumunda “anti-Em2” antikorunun uzun süre varlığını devam ettirdiği ve kistin tamamen uzaklaştırılması sonrası bu antikor konsantrasyonunun hızla negatif değerlere düştüğü saptanmıştır.³⁸²

Hücrel İmmun Yanıt

Paraziter hastalıkların çoğunda olduğu gibi AE'de de klinik tablo, yardımcı T (Th1/Th2) hücre reaksiyonunun türüne göre sonuçlanır. Enfeksiyonun başlangıcında, primer hücrel yanıt Th1 hücre aracılı olup ilerleyen aşamalarda Th2 aracılı bir immün yanıt gelişir.³⁸³ Larval gelişime karşı T lenfositlerin önemi timusu olmayan fareler ile ortaya konulmuştur; bu farelerde alveolar kistin çok hızlı gelişim gösterdiği ve konağa ait doku reaksiyonlarının timuslu farelere göre çok daha az olduğu tespit edilmiştir. Çünkü larval

lezyonu drene eden lenf nodüllerindeki T lenfositlerin tükendiği ve malign sarkomların *E. multilocularis*'li farelerde daha kolay geliştiği gözlemlenmiştir. Bu durum anti-tümör mekanizmalarının parazit tarafından baskılandığı fikrini ortaya çıkarmıştır.^{370, 384}

Alveolar kist varlığında konaklarda hem sitokin hem de kemotaktik sitokinlerin (kemokin) salınımının gerçekleştiği tespit edilmiştir. Güncel çalışmalar metacestod üzerindeki granülomatöz infiltratın korunmasında sitokin ve kemokinlerin önemli olduğunu ortaya koymuştur.³⁸⁵⁻³⁸⁷ Enfeksiyonun tüm safhalarında, IL-10 varlığını devam ettiren en güçlü sitokin olarak saptanmıştır.^{388, 389} Ayrıca IL-5 sitokini, Periferik Kan Mononükleer Hücreler (PBMC) tarafından eksprese edilen baskın sitokinlerden biri olarak kabul edilir.^{390, 391} İmmün sistemi bağışık ancak AE'e karşı duyarlı olan bir insanda, çoğunlukla Th2 aracılı sitokin profili sergilendiği ifade edilmiştir.³⁹² Parazitik veziküllerin çevresindeki mononükleer hücrelerin granülomatöz infiltrasyonu larva gelişiminin konak tarafından önlenmediği en önemli yol olarak ifade edilmiştir.³⁹³

İnsanlarda AE enfeksiyonlarında, akut veya kronik safhada monosit, makrofaj ve Kupffer hücrelerinin immün yanıtta nasıl bir etkiye sahip olduğu tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Ancak özellikle T hücrelerinin, Th1/Th2 polarizasyonuna sebep olan klasik olarak aktive edilmiş (IFN- γ 'ye bağımlı) M1 hücrelerinde veya alternatif olarak aktive edilmiş (IL-4/IL-13) M2 hücrelerinde monosit türevli makrofajların polarizasyonu belirlenmiş ve fibrotik sürece farklı katkılarda bulunduğu tespit edilmiştir.³⁹⁴ Fakat bu durum, AE için bir kesinlik kazanmamıştır. Larvanın hacimsel olarak büyümesi ve metacestodun aktivitesinin artması ile lenfoproliferatif yanıtın paralel olarak baskılandığı ortaya konulmuştur. İnaktif halde olan veya cerrahi olarak uzaklaştırılmış larvaların immünsupresyon etkisinin sona erdiği ve devamında etkili bir hücre aracılı immün yanıtın geliştiği bildirilmiştir.³⁹⁵

2.2.7. Patogenez ve Klinik

2.2.7.1. Son Konaklarda Patogenez ve Klinik

Echinococcus multilocularis bağırsak villusları arasına tutunur ve rostellumları ile apikal bölgesini derince bağırsakların Lieberkühn kriptlerine kadar uzatır ki bu kriptler ergin parazitin beslenmesi açısından büyük öneme sahiptir. Rostellumun kriptlere kadar genişlemesi, rostellar bezin salgı aktivitesinin başlaması ve salgıların bir holokrin süreçle parazit-konak arasındaki ara yüze salınması ile aynı zamanda gerçekleşmektedir.^{60, 64, 396} Ergin parazitin apikal bölgesinden salgılanan, aminoasit (sistein) ve lipid bu salgı parazit ile konak arasındaki etkileşimi düzenlemektedir. Hastalığın prepatent döneminde değişiklik görülmesede, parazitin tutunduğu bağırsak kriptlerinin yapısının bozularak düzleştiği belirlenmiştir. Çoğu zaman, parazitin tutunma noktasında çekmenlerin temas ettiği kısım nekroza uğrarken, çengellerin temasının bağırsakta zarara sebep olmadığı tespit edilmiştir.³⁹⁷ Ergin *E. multilocularis*'lerin bağırsağın lamina propriyasına penetrasyonu nadir olarak görülmektedir.^{60, 397}

Son konak karvivorların, deneysel veya doğal enfeksiyonlarda, yüksek intestinal parazit yüküne sahip olsalar bile hastalık tipik olarak semptomsuzdur. Ergin *E. multilocularis* ile enfeksiyonlarda önemli bir patoloji gözlemlenmemiştir. Ancak protoskoleks, skoleks ve onkosferal antijenlere karşı peyer plakları ve bölgesel lenf düğümlerinde spesifik serum antikorlarının üretilmesine ve lenfosit hücre çoğalmasına yol açan immunolojik tepkilerin meydana geldiği belirlenmiştir.^{60, 397-399} Epidemiyolojik çalışmalarda, immun sistemle ya da genç bireylerin alveolar kist ile daha fazla karşılaşmasıyla mı alakalı olduğu kesinlik kazanmamış olsa da genç tilkilerde yaşlılara kıyasla daha yüksek oranda *E. multilocularis* varlığı tespit edilmiştir.^{1, 200}

2.2.7.2. Ara Konak Rodentlerde Patogenez ve Klinik

Onkosferin ilk tutunduğu ve alveolar kistin primer yerleştiği organ karaciğerdir. Germinal hücrelerin proliferasyonu ile kist çok sayıda kese şeklinde yapılır. Primer organın karaciğer olmasının nedeni tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak sebebin onkosferin hepatik portal sistemi direkt karaciğere giden enfeksiyon yolu olarak kullanması olduğu düşünülmektedir.⁵⁴ Onkosfer karaciğere penetre olduktan sonra metacestod metamorfozu başlar. Metamorfoz, onkosfere ait olan az sayıdaki kök hücreler ile başlatılır ve yönlendirilir.^{400, 401} Onkosferin penetrasyonu sırasında penetrasyon bezi salgılarının lizise sebep olmasından dolayı konak dokusu dejenarasyona uğrar.⁴⁰² Metacestod iç kısımdan ziyade kistin dış tarafından gelişim gösterir. Veziküler yapıdaki kistler 1-10 mm çapındadır. Özellikle uygun ara konak rodentlerde, 2-4 ay içerisinde germinal membrandan köken alan yüzlerce hatta binlerce protoskoleks gelişir.⁴⁰³ Kist tümör benzeri bir gelişim gösterir ve merkezi nekroze olabilir. Metacestod granümatöz bir infiltrasyon ile çevrilidir. Bu infiltrasyon ileri lezyonlarda karaciğerin normal yapısının bozulmasına sebep olan kollajen demetleri içeren yoğun fibrozise dönüşebilir. Fibroz yapı, paraziti çevreleyen bölgelerde vasküler neogeneze sebep olan yoğun damarsal yapılar içerir.^{404, 405} Gelişen metacestod karaciğerin tamamını kaplar ve çoğu zaman çevre organ ve dokulara invaze olur. Ayrıca kan ve lenf yoluyla karaciğerden uzak dokulara veya organlara metastaz yapabilir. Tümoral karakterdeki alveolar kistlerin, uygun ara konak olan rodentlerin birkaç hafta içerisinde ölümüne sebep olabileceği bildirilmiştir.⁴⁰⁶

2.2.7.3. Farklı Hayvan Türlerinde Patogenez ve Klinik

Alveolar kistlerin atların karaciğerinde nodül şeklinde geliştiği ve nodüllerin çoğunlukla organın yüzeyinde, nadir olarak parankimine gömülü halde olduğu tespit edilmiştir. Beyaz renkli, 3-10 mm çapında ve küresel veya düzensiz şekle sahip nodüller; sert ve kalın bir dış katmanla çevrilidir. Nodüllerin histolojik incelemesinde eozinofilik

granülosit, fokal granüloamatöz nekroz ve kalsifikasyon belirlenmiştir. Nodüler lezyon şeklindeki metacestodlarda protoskoleks tespit edilmemiştir.⁴⁰⁷

Domuzlarda, metacestodun karaciğer yüzeyinde veya parankiminde beyaz renkli, içerisi denejere olmuş veya sıvı bulunan nodüler yapıda (6-10 mm) veya kalın duvarlı kese (10-30 mm) şeklinde yapılanma gösterdiği bildirilmiştir. Çoğu kistte protoskoleks gelişmediği ve bu durumun domuzlardaki immünolojik tepkiler ile direkt bağlantılı olduğu bildirilmiştir. Yüksek antikor seviyesine sahip domuzlarda, küçük (1-6 mm), kompakt, fibrotik ve sınırları belirgin olmayan kistler gelişirken; düşük antikor seviyesindeki domuzlarda, büyük (8-10 mm), oval şekilli ve sınırları belirgin yapılı kistlerin geliştiği ortaya konulmuştur.^{230, 408}

Köpekler, AE açısından tesadüfi konak olarak tanımlanmaktadır ve tipik olarak karaciğer veya diğer organlara tutulum sonucu klinik olarak ortaya çıkmaktadır. Genellikle köpeklerin AE ile iki yoldan enfekte olabileceği ifade edilmiştir. Birincisi, çok sayıda enfektif yumurtanın ağız yolu ile alınması; ikincisi ise köpeğin bağırsağındaki ergin *E. multilocularis* gebe halkasının bağırsakta açılması sonucu yumurtaların bağırsak duvarını delip iç organlarda onkosferin gelişme göstermesi olarak ifade edilmektedir.⁴⁰⁹ Vaka olarak sunulan raporlarda, karaciğerde kavitasyon ve mineralizasyon bulguları ile seyreden kitlelerin tespit edildiği bildirilmiştir.^{410, 411} Klinik olarak karın şişkinliği, uyuşukluk, anoreksi ve kusma en yaygın bulgular olarak değerlendirilmiştir. Aynı zamanda hastalığın, hepatik neoplaziler ve proliferatif karaciğer hastalıkları ile benzer gelişim gösterdiği bildirilmiştir.⁴¹² Alveolar kistin, insanlara kıyasla köpeklerde daha hızlı bir gelişim gösterdiği ve çoğu kistin infertil olduğu ifade edilmiştir.^{413, 414} Köpeklerdeki alveolar kistlerin, karaciğer,^{411, 415, 416} akciğer,⁴¹⁷ abdominal boşluk⁴¹⁸ ve prostat bezi⁴¹⁹ gibi çeşitli organlarda gelişim gösterdiği bildirilmiştir.⁷⁴ Benzimidazol kullanımının köpeklerde kemik iliğini baskılaması ve kistin hızlı gelişim göstermesi sebebiyle özellikle karında şişkinliğin

tespit edildiği aşamada kist rezeksiyonunun mümkün olmadığı ve bu nedenle çoğu vakada ötenazi uygulandığı rapor edilmiştir.^{254, 411}

Alveolar ekinokokkozisin endemik olduğu bölgelerde, insan haricindeki primatlarda enfeksiyona dair rapor sayısının son yıllarda arttığı bildirilmektedir.^{74, 420} İnsan olmayan primatlarda tesadüfi (anormal) konak olarak tanımlanmaktadır. Ara konaklarda olduğu gibi primatlarda da çoğu AE'nin karaciğerde, daha az oranda ise diğer dokularda gelişim gösterdiği ve çoğu kistin protoskoleks üretebildiği bildirilmiştir.⁴²⁰⁻⁴²² Alveolar kistin primatlarda insanlar ile benzer gelişime ve patogeneze sahip olduğu, ilerleyen vakalarda tedavinin mümkün olmadığı ve öldürücü olduğu ifade edilmiştir.^{1, 420} Goril, lemur,⁴²³ maymun^{420, 424-427} ve birkaç makak türü^{226, 428} dahil olmak üzere hem serbest yaşayan hem de hayvanat bahçelerinde yaşayan primatlarda AE varlığı bildirilmiştir.

2.2.7.4. İnsanlarda Patogenez ve Klinik

Echinococcus multilocularis yumurtaları ile enfeksiyon sonucu onkosfer çoğunlukla karaciğere tutunur. Gelişen kistlerin büyüklüğü, birkaç mm'den 15-20 cm'ye kadar ulaşabilir. Alveolar kistler, nadir durumlarda primer olarak karaciğer dışında gelişim gösterir.⁴²⁹ Metacestod özellikle karaciğerin sağ lobunda tutunurken bazen hilus bölgesi olmak üzere sağ ve sol iki loba da tutunabilir. Karaciğer haricinde, infiltrasyon veya metastaz yoluyla komşu veya uzak doku ve organlara ulaşip yerleşim sağlayabilir. Karaciğer dışında rastlanan alveolar kistler, sekonder metastatik lezyonlar olarak değerlendirilir. Metastaz çoğu zaman akciğer, dalak veya beyinde gelişmektedir.⁴³⁰ Metastaz, kiste ait germinal hücrelerin kan ve lenf damarları yoluyla taşınması sonucu gerçekleşir.¹

Karaciğerin makroskobisinde, metacestod tipik olarak, çapları 1-30 mm arasında değişen çok sayıda düzensiz kistlerin oluşturduğu bir alveolar yapı şeklinde görünür. Alveolar kistler, hepatik lezyon oluşturmaktan ziyade çoğu zaman karaciğer dokusunu invaze etme eğilimindedir. Makroskobik olarak malign neoplazi veya sirozu andıran

lezyonlara sebep olurlar.⁴⁹ Gelişen nekroz nedeniyle kistin merkezi kısımları, sıvı ve nekrotik materyal içeren boşluklar ile doludur. Kist içerisindeki berrak renkli sıvı, sitotoksik ve sitolitik etkiye sahiptir. Kist, mikroskopik olarak, nispeten PAS (Periodic Acid-Schiff) ile pozitif boyanabilen ince bir laminar tabakadan ve germinal tabakadan oluşur. İnsanlarda üreyici kapsül ve protoskoleks nadiren gelişir.^{1, 348, 362, 431}

Alveolar kistler, içerden nekrotik bir doku ile dıştan ise histiyosit ve lenfosit hücrelerin infiltrasyonu sonucu oluşan katmanlar ile çevrilidir. İlerleyen safhalarda kistin çevresinde sıklıkla dev hücreli yabancı cisim, fibröz doku ve kalsifikasyonlar ile birlikte kronik inflamasyon doku reaksiyonları görülür. Çoğu zaman, yoğun gelişen fibröz doku reaksiyonları sonucu, kist çok yoğun ve sert bir stromaya gömülü haldedir. Ancak kistin tamamı hidatik kistlerde olduğu gibi fibröz bir kapsül ile dışardan çevrelenmiş değildir. Alveolar ekinokokkozis, 5-15 yıl sürebilen semptomsuz bir gelişim gösterir ve kronik seyir göstermesi ile karakterizedir. Tedavi edilmeyen veya yetersiz tedavi uygulanan kişilerde ölüm oranı yüksektir. Alveolar kistin, konağın ölümüne kadar proliferasyon yeteneğini koruyarak geliştiği düşünülmüş olsa da, konağın göstermiş olduğu immun reaksiyonlar sonucu metacestodun dejenerasyona uğrayabileceği, kalsifiye olabileceği veya canlılığını yitirebileceği belirlenmemiştir.^{1, 74, 431}

Alveolar ekinokokkozisli insanlarda, klinik olarak çoğunlukla kolestatik sarılık ve/veya epigastrik ağrı meydana gelmektedir. Vakaların %25'inde sarılık görülür. Daha az olarak da yorgunluk, kilo kaybı ve titreme gibi semptomlar ortaya çıkmaktadır.⁷⁴ Abdominal palpasyonda hepatomegali tespit edilebilir. Portal hipertansiyon ile komplike olmuş durumlarda dalak büyümesi ortaya çıkmaktadır.¹ İlerlemiş vakalarda torasik ve abdominal bölgelerde inferiör ve süperior vena cava arasında kollateral dolaşım görülebilir. Bu semptomlar dışında kistin geliştiği organ ve lokasyonuna göre farklı fiziksel belirtiler ortaya çıkabilir.^{74, 431}

2.2.8. Tanı

2.2.8.1. Son Konaklarda Tanı

Son yıllarda, *E. multilocularis* tanısına yönelik son derece hassas ve spesifik yeni yöntemler geliştirilmekte ve parazitin bölgesel dağılımı üzerine veriler her geçen yıl artmaktadır. Ancak parazitin yayılım aralığı ve enfeksiyon yükü, bağlı olduğu birçok faktöre göre değişkenlik gösterir ve dinamiktir. Bu sebeple, epidemiyolojik durumu değerlendirmek ve farklı ülke/bölgeler üzerinde karşılaştırılabilir sonuçlar elde edebilmek için minimum gereksinim içeren stratejilere ve yaklaşımlara ihtiyaç vardır.^{80, 432}

Tilkilerin ölmüş ve/veya avlanmış olarak toplanması ve diseksiyonu, *E. multilocularis*'in varlığını ve yaygınlığını belirlemek için en iyi yöntem olarak kabul edilmektedir ve günümüzde halen yaygın olarak uygulanmaktadır. Bu yöntem, yüksek özgünlüğe ve yeterli duyarlılığa sahiptir. Ancak tilki karkaslarına ulaşılması ve yöntemin uygulanması zahmetlidir ve yüksek güvenlik önlemleri gerektirmektedir.⁴³² Bu yönteme ait materyallerin temini, uygulanan ülke veya bölgeye göre farklı olabilir. Karkaslar, çoğu zaman av mevsiminde avlanan veya yol kenarında ölmüş tilkilerden oluşmaktadır. Tilki karkaslarının örneklenmesinde, avlanma yöntemi özellikle kış aylarında yapıldığından, mevsimsel bir kısıtlama ile karşılaşılır. Ayrıca yol kenarından yapılan örneklemeler, rastgele yapılması gereken örnekleme yöntemi açısından zayıftır.⁴³³ Avlanma ile yapılan örneklemede, tilkilerin popülasyon dinamiği, popülasyonun yaş yapısı ve incelenen tilki popülasyonunun mekansal davranışı etkilenebilir ki bu durumda *E. multilocularis*'in yaşamsal dinamiklerinin de doğrudan değişkenliğe uğrayacağı ifade edilmiştir.^{432, 434}

Köpeklerde *E. multilocularis*'in varlığı ve yaygınlığını belirlemek için kullanılan mevcut yöntem ve yaklaşımlar, tilkiler için kullanılan nekropsi, copro-ELISA ve copro-PCR ile aynıdır. Bunlara ek olarak, arekolin purgasyon köpeklerde uygulanabilir bir tekniktir. Bununla birlikte; düşük parazit yükü durumlarında, *E. multilocularis*'in küçük boyutundan

dolayı tespiti bazen zor olabilmektedir. Dışkının beş gün boyunca -80°C’de bekletilmesinin ardından, tek bir erişkin *E. multilocularis* varlığını bile tespit edilebilmesi nedeniyle Sedimentation ve Counting Teknik (SST) köpeklerde de altın standart olarak kabul edilmektedir.²⁰⁰ Alveolar ekinokokkozis ve kistik ekinokokkozis (KE)’in ortak endemik seyir gösterdiği bölgelerde, köpeklerden alınan ergin parazit veya yumurtanın morfolojik veya PCR yöntemi ile tür bazında belirlenmesi epidemiyolojik veriler açısından oldukça önemlidir.^{280, 435} Arekolin purgasyon yöntemi uygulandığında, elde edilen içeriğin temizlenmesi ve daha sonra siyah bir zemin üzerinde bir büyüteçle veya düşük ışık güçlü bir mikroskop ile dikkatlice incelenmesi gerekir. Dışkıda antijen (copro antijen) tespiti, köpeklerde *Echinococcus* spp. için kullanılabilir bir tarama testidir, ancak *E. multilocularis* ile *E. granulosus* s.l ayrımı için güvenilir bir yöntem olarak kabul edilmez.^{6, 436, 437} Tür spesifik DNA amplifiye etmek için kullanılan copro- DNA, köpeklerde *E. multilocularis* varlığını doğrulamada uygulanabilen tek test yöntemi olarak ifade edilmektedir.⁴³⁸⁻⁴⁴⁰ Copro-DNA teknikleri, copro antijen yöntemlerine göre köpeklerin toplu taranmasında daha zor, yüksek maliyetli ve daha fazla zaman gerektirir. Ancak özellikle AE ve KE’nin ortak endemik olduğu bölgelerde, kontrol veya tedavi programları ve epidemiyolojik çalışmalar açısından daha kıymetli veriler sağladığı bildirilmiştir.^{259, 284} Ayrıca mikrosatellite gibi DNA bazlı moleküler yöntemler ile bir bölgedeki köpeklerin ve tilkilerin, aynı *E. multilocularis* haplotipi ile enfekte olup olmadığının doğrulanabileceği rapor edilmiştir.⁴⁴¹

Son konaklarda *E. multilocularis*’in tanısında kullanılan başlıca yöntemler;

- Sedimentasyon ve Sayım Tekniği (Sedimentation and Counting Technique)
- Segmental Sedimentasyon ve Sayım Tekniği (Segmental Sedimentation and Counting Technique)
- Bağırsak Sıyırma Tekniği (Intestinal Scraping Technique)
- Çalkalama Tekniği (Shaking in a Vessel Technique)

- Dışkı Muayene Yöntemleri
Copro antigen-ELISA (Copro-ELISA)
Polimerase Chain Reaksiyonu (PCR)

Sedimentasyon ve Sayım Tekniği (Sedimentation and Counting Technique)

Nekropsi sonrası intestinal incelemeyi kapsayan bu teknik, ilk defa Rausch ve ark. (1990)³³³ tarafından kullanılmış, Hofer ve ark. (2000)²⁰⁰ ve sonrasında Conraths ve Deplazes (2015)⁴³² tarafından modifiye edilmiştir. Parazit varlığını ve yükünü belirlemede SST, diğer yöntemlerin duyarlılığının ve özgüllüğünün ölçülmesinde “altın standart” olarak kabul edilmektedir.⁴⁶ Bu yöntemle, *E. multilocularis*’in genç, olgun ve gebe olmak üzere tüm gelişim aşamaları belirlenebilir ve parazit yükünün nicel analizi yapılabilir. Epidemiyolojik çalışmalarda, SST ile parazitin toplam biyokütlesinin belirlenmesi mümkündür.⁴³²

Karkasın diseksiyonu sonrası elde edilen bağırsaklar, öncelikle 5 gün boyunca -80 °C’de onkosferlerin inaktivasyonu için bekletilir. Bekleme sonrası, bağırsaklar uzunlamasına kesilir ve gözle görülebilir parazitler etkenlerin varlığı açısından incelenir. Ardından, bağırsaklar 20 cm uzunluğunda parçalar halinde kesilir. Kesilmiş bağırsak bölümleri, 1 litre fizyolojik tuzlu su (FTS) çözeltisi içeren bir cam şişeye aktarılır. Birkaç saniye kuvvetlice çalkalanır, daha sonra iki parmak arasına sıkıştırılmış halde bağırsakların mukozası şişe içerisine sıyrılır ve bağırsak bölümleri şişeden çıkarılır. Bağırsak içeriği ve FTS’nin karışımı ile oluşan sıvı birkaç defa tekrarlanmak suretiyle 15-20 dk kadar bekletilip çöktürülür ve üstte kalan süpernatant uzaklaştırılır. Son olarak elde edilen sediment, uygun büyüklük ve özellikteki petri kaplarına aktarılarak stereo mikroskop altında incelenir.⁴⁴²

Parazitin intestinal yükü çok düşük olsa dahi bu yöntem ile teşhis edilebilmesinden dolayı, SST’nin duyarlılığı %100 olarak kabul edilmektedir. Muhtemel kişisel hatalar baz alınarak optimum duyarlılığın %98 olduğu, parazitlerin morfolojik tanımlaması ile de özgünlüğün %100 olduğu belirtilmiştir.⁹³ Bununla birlikte, Wahlstrom ve ark. (2016)⁴⁴⁰

SST'nin spesifik bir copro-PCR yöntemi ile karşılaştırması sonrası tahmini duyarlılığını %83 olarak belirlemiştir.

Segmental Sedimentasyon ve Sayım Tekniği (Segmental Sedimentation and Counting Technique)

Post mortem dönemde *E. multilocularis*'in tespit edilmesi amacıyla, Umhang ve ark. (2011)¹⁰⁰ tarafından SST'nin modifiye edilmesi ile geliştirilmiştir. Bu yöntemde klasik SST'den farklı olarak ince bağırsak eşit uzunlukta beş parçaya bölünür ve bu segmentler önden arka kısma doğru S1, S2, S3, S4 ve S5 olarak adlandırılır. Her bağırsak segmenti, *E. multilocularis* yönünden ayrı ayrı incelenir. Tüm bağırsak parçalarında önce kalitatif değerlendirme yapılır. Daha sonra, pozitif segmentlerin %20'lik kısmının dahil edilmesi ile parazit yükü hesaplanır. Bu yöntem ile pre-patent dönemde etken tespit edilebileceği bildirilmiştir.¹⁰⁰ Bu yöntemde, S1/S2 ve S4 bağırsak kısımlarında %98.3 duyarlılığa sahip olduğu ve özellikle son konaklarda *E. multilocularis*'in prevalansının düşük olduğu veya varlığının bilinmediği durumlarda, büyük epidemiyolojik çalışmalar için kullanışlı ve güvenilir bir teknik olduğu bildirilmiştir.¹⁰⁰

Bağırsak Sıyırma Tekniği (Intestinal Scraping Technique)

Son yıllarda, büyük tilki popülasyonlarını hedef alan birçok çalışmada bu yöntem kullanılmaktadır. Prensip olarak, bağırsaklardan hazırlanan en az 15 kalın yayma preparatın stereo mikroskop altında incelenmesi hedeflenmektedir.⁴⁴³ İlk olarak, ince bağırsak eşit uzunlukta ön, orta ve arka kısımları içerecek şekilde düzenlenir ve kesilir. Daha sonra, bu bağırsak kısımları uzunlamasına kesilir ve *E. multilocularis* ve/veya diğer helmintlerin varlığı açısından makroskobik olarak incelenir. Ardından, kaba bağırsak içeriği dikkatli bir şekilde uzaklaştırılır ve mukoza cam mikroskop lamı ile kazınarak her üç kısımdan da ince bağırsağın toplam uzunluğuna bağlı olarak 5-10 cm'lik düzenli aralıklarla mukoza smear örnekleri alınır. Alınan bu kalın smear örneklerinin üzerine lamel kapatılmadan stereo

mikroskop altında incelenir. Yaklaşık 15 smear örneği ile total bağırsağın ortalama %50'si incelenebilir. Enfeksiyonun prepatent döneminde, bu yöntemin yetersiz olduğu ifade edilmiştir. Dinkel ve ark. (1998),⁴⁴⁴ copro-DNA esasına dayalı bir yöntem ile kıyaslamasında BST'in %76'lık bir duyarlılığa sahip olduğunu rapor etmiştir. Hofer ve ark. (2000)²⁰⁰ ise çalışmalarında BST'nin duyarlılığının %78 ve özgüllüğünün ise %100 olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca Tackmann ve ark. (2006),⁴⁴⁵ 24 adet mukozal smear incelenmesi ile yöntem duyarlılığının %100'e çıkarılabileceğini bildirmiştir.

Çalkalama Tekniği (Shaking in a Vessel Technique)

Echinococcus multilocularis gibi küçük helmintleri tespit etmek için geliştirilmiş modifiye bir sedimentasyon tekniğidir.⁴⁴⁶ Açılan bağırsakların tüm içeriği, uygun büyüklükte deliklere sahip bir süzgeç ve kapağa sahip bir kap içerisine boşaltılır. Üzerine su eklendikten sonra çalkalanır ve su kaptan boşaltılır. Eklenen su berrak hale gelinceye kadar kap içerisine tekrar su eklenip boşaltılır. Son olarak, bağırsaklar iki parmak arasında sıyrıldıktan sonra bağırsakların olduğu kap yeniden su doldurulup çalkalanır ve su boşaltılır. Kap içerisinde kalan sediment, *E. multilocularis* yönünden incelenir. Yüksek özgünlük ve duyarlılığa sahip olduğu bildirilen ÇT'in, BST sonrası duyarlılığı %96.2 olarak belirlenmiştir. Prepatent dönemde etkenin tespit edilmesinde ise yetersiz olduğu bildirilmiştir.⁴⁴⁶

Dışkı Muayene Yöntemleri

Son konaklarda, *E. multilocularis*'in tanısı amacıyla dışkı esaslı kullanılan başlıca yöntemler copro-ELISA veya copro-PCR'dir. Dışkı materyali ile yapılan araştırmaların birçok avantajı vardır. Ölü hayvana ihtiyaç olmamasından dolayı örneklemede etik veya kanuni kısıtlamalardan ve mevsimsel olan avlanmanın zamana bağımlılığından etkilenmez. Ayrıca avlanma olmaması ile konak popülasyonu da etkilenmez. Bunlara ek olarak, copro antijen veya copro DNA esaslı yöntemler ile geniş alanları kapsayan

Çalışmaların yapılması da mümkündür.^{199, 438, 447} Ancak tüm bu avantajlara rağmen, dışkı esaslı saha çalışmalarının bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Sahadan rnekleme yapılan dışkıya, moleküler bir analiz yapılmadıa morfolojik olarak tilki dışında başka karnivor dışkıları ile karışma ihtimali vardır. En önemlisi ise örnekleme bireysel olarak yapılmadığı zaman, aynı bireyden tekrar tekrar örnekleme yapılması da muhtemeldir.²⁸

Coproantigen-ELISA (Copro-ELISA)

Bu teknik, tilkilerden ve diğer son konaklardan alınan dışkı örneklerinde *E. multilocularis*'e ait metabolik ürünlerin tespiti amacıyla Deplazes ve ark. (1992)¹⁹⁹ tarafından geliştirilmiştir. Copro-antijenlerin atılımı, bağırsak parazitlerinin varlığı ile yakından ilişkilidir ki dışkı örneklere, dışkıdaki patojene özgü antijenleri (copro-antijen) saptamak amacıyla incelenir. Copro-ELISA'da *Echinococcus* antijenlerine karşı özgüllüğün genellikle yüksek olduğu bildirilmiştir. *Echinococcus multilocularis* ile enfekte tilkiler için <100 adet erişkin varlığında duyarlılık %18, 100-1000 adet erişkin ile %39 ve >1000 adet erişkin ile enfekte olanlar için ise %100 duyarlılık rapor edilmiştir. Aynı zamanda, *Echinococcus* olmayan cestodlar veya nematodlar ile enfekte tilkilerden alınan numunelerde çapraz reaksiyon gelişmediği bildirilmiştir.^{448, 449} Ancak tam aksine, EFSA (2015)⁹¹ tarafından sunulan raporda çapraz reaksiyon gelişebileceği ve yöntemin özgünlükten yoksun olduğu bildirilmiştir.

Geniş popülasyon çalışmalarında bu yöntemin kullanılmasının faydalı olduğu, ancak düşük veya bilinmeyen endemikliğe sahip bölgelerde tercih edilirken PCR ile pozitifliğin doğrulanması gerektiği ifade edilmiştir.²⁸ Aynı zamanda, hem canlı hem de l hayvanlarda ve hastalığın prepatent dnemindedeki antijenlerin tespit edilebilir olduğu bildirilmiştir.²⁸ Al-Sabi ve ark. (2007)⁴⁵⁰ tarafından yürütülen bir çalışmada, düşük parazit yüküne sahip enfeksiyonlarda duyarlılığın mikroskopi ile %77 ve yumurta-DNA PCR ile %80 iken, ELISA'da daha yüksek oranda olduğu saptanmıştır. Ayrıca sandviç ELISA ile saha

örneklerinde copro antijenlerin başarılı bir şekilde tespit edilebildiği ve PCR yöntemine kıyasla çok az zaman aldığı rapor edilmiştir.⁴³²

Echinococcus multilocularis'in ham antijenleri veya saflaştırılmış Em2 antijeninin ELISA ile tespitinde, konağın tedavi edilmesinden sonra dahi antikorların kalıcı olması ve kan serumunda spesifik antikorların varlığı ile bağırsaktaki *E. multilocularis*'ler arasında zayıf bir korelasyon olması nedeniyle ELISA'nın serolojik taramalar için uygun bir yöntem olmadığı bildirilmiştir.^{432, 451}

Polimerase Chain Reaction (PCR)

Hem ante-mortem hem de post-mortem dönemde tanı imkânı sunan PCR, *E. multilocularis* DNA'sını belirlemek amacıyla kullanılmaktadır. Yöntemin uygulanmasında; DNA ekstraksiyonu, *E. multilocularis* DNA'sının spesifik amplifikasyonu ve ardından PCR ürünlerinin görselleştirilmesi veya ölçümünü içeren aşamaları içermektedir.

Dışkı örneklerinden ekstrakte edilen genetik materyalin PCR ile amplifikasyonu, dışkıda bulunan inhibitörler tarafından bozulabileceği ve yanlış negatif sonuçlar elde edilebileceği bildirilmiştir.⁴⁵² İnhibisyonu ortadan kaldırmak için farklı teknikler önerilmiştir. Bunlardan birincisi, DNA ekstraksiyonu öncesi dışkıdan tenya yumurtaların ayrılarak toplanmasıdır. İkinci teknik ise dışkıdan direkt DNA ekstraksiyonu yapmak ve elde edilen ürünün seyreltilmesidir.^{170, 450, 453} Seyreltme ile ekstrasit içerisindeki inhibitör konsantrasyonu düşürüldüğü gibi spesifik DNA miktarı da azalacağından, seyreltme sonrası daha hassas PCR tekniklerinin uygulanması önerilmiştir.⁴⁵² Bu tekniklere ek olarak, ekstraksiyon öncesi dışkının dondurulup tekrar çözündürülmesinin yumurta kabuklarının mekanik olarak yıkımlanması ve DNA'nın açığa çıkmasına yardımcı olduğu ve PCR duyarlılığını önemli ölçüde artırdığı rapor edilmiştir.^{452, 454} Ancak, çok defa tekrarlanan dondurma ve çözündürme işlemi sonucunda, "serbest DNA"nın yıkımlandığı ve yumurta sayısı çok az olduğunda PCR'nin hassasiyetinin olumsuz etkilendiği bildirilmiştir.^{170, 444}

Ekstraksiyon aşaması farklı yöntemler ile gerçekleştirilebilir; 1) modifiye edilmiş bir teknik olan sequential flotasyon/sieving yöntemi⁴⁵³ ile tenya yumurtalar, uygun büyüklükteki filtreler kullanılarak dışkıdan toplanır. Daha sonra, elde edilen tenya tip yumurtalardan uygun prosedürler ile DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilir. Fazla miktarda dışkı örneği incelenebilmesi avantajına sahipken dışkı içerisindeki cestod halkalarının elde edilememesi ve prepatent dönemde etkenin teşhis edilememesi dezavantajdır.^{450, 452} 2) Genel bir DNA ekstraksiyon yöntemi kullanılarak, doğrudan dışkıdan ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilebilir. Az miktarda dışkı kullanılabilmesi dezavantajına sahipken hem yumurta hem de halkaların dahil edilmesi avantajına sahiptir.^{444, 447} 3) DNA avlama yöntemi veya manyetik yakalama olarak tanımlanan manyetik boncuklara bağlı spesifik hibridizasyon probuna sahip Magnetic Capture (MC), tenya DNA'sının dışkıdan seçici ekstraksiyonunu gerçekleştirir. Kullanılan probun tenya DNA'sına özel hibritleşmesi ile dışkıda bulunan büyük miktardaki bakteri DNA'sını ekstraksiyon işlemi sırasında hariç tutar. Aynı zamanda hem yumurta hem de halkalardan DNA elde edebilme imkânı sağlamaktadır. Magnetic Capture yönteminde, 3 g dışkı kullanılır ancak numune miktarının 10 g'a kadar artırılabilceği ve optimize edilebileceği bildirilmiştir.^{132, 455} Bu yaklaşımlardan birinci ve üçüncü ekstraksiyon yöntemlerinin hem hedefi seçici olarak zenginleştirmesi hem de fazla miktarda dışkı numunesi kullanılması ile potansiyel olarak tanıda duyarlılığın artmasına sebep olduğu bildirilmiştir.^{432, 456}

Ekstraksiyon sonrası ikinci aşama ise *E. multilocularis*'e ait hedef dizinin PCR tabanlı yöntemler ile amplifikasyonudur. Bu aşamada mitokondriyal (mt) DNA molekülleri (12S, nad1 ve cox1 gen bölgeleri) tek bir mitokondri için birkaç kopya halinde mevcut olan ve bir hücrede toplamda on binlerce kopyaya varan miktarlara sahip olması nedeniyle en önemli amplifikasyon hedefleridir. PCR analizlerinde *E. multilocularis* için konvensiyonel PCR,^{123, 439} multipleks PCR,¹⁸⁰ nested PCR^{170, 444} ve real time PCR^{438, 447} yöntemleri

geliştirilmiştir. Bu yöntemler içerisinde MC ekstraksiyonu sonrasında real-time PCR analizi ile yüksek hassasiyet ve yüksek özgüllük elde edildiği bildirilmiştir.^{97, 132, 455}

2.2.8.2. Ara Konaklarda Tanı

Echinococcus multilocularis'in varlığı ve yaygınlığı üzerine yürütülen çalışmalar genellikle son konakların hedef alındığı araştırmalara dayanmaktadır. Bunun nedeni son konakların yaygınlığı ile birlikte popülasyon yoğunluğunun değerlendirilmesi, *E. multilocularis* yumurtaları ile çevresel kontaminasyon durumu doğrudan ilişkilendirilmektedir. Ayrıca, son konakların, ara konak rodentlerden çok daha geniş alanlarda hareketlilik göstermesi *E. multilocularis*'in popülasyon dinamiklerini daha büyük ölçekte yansıtmaktadır. Ancak bu durumlara rağmen, belirli bir bölgedeki bulaş ve yayılma yollarını anlayabilmek için, hangi rodent türlerinin uygun ara konak potansiyeline sahip olduğunu belirlemenin önemli olduğu bildirilmiştir.⁴⁵⁷

Rodentlerde *E. multilocularis*'in varlığı üzerine yapılan araştırmalar, tuzak kurulup rodentin yakalanmasından sonra hayvanların diseksiyonuna ve diseksiyon sonrası göğüs ve periton boşluğu, beyin ve iç organların makroskobik olarak *E. multilocularis* metacestodları yönünden incelenmesine dayanır. Metacestod varlığı yönünden şüpheli lezyonlar, eksize edilerek moleküler incelemeler için %70'lik etanol ve histopatolojik incelemeler için %10'luk formalin içerisinde saklanır. Büyüklüğü 6 mm'den fazla olan şüpheli lezyonlardan alınan sıvı, ışık mikroskobu altında protoskoleks varlığı yönünden incelenir. Fertilite durumunun belirlenmesi özellikle farklı rodent türleri arasındaki ara konaklık potansiyelinin değerlendirilmesi açısından önemlidir. Çapı 6 mm'den küçük şüpheli lezyonların %10'luk formalin içerisinde fiksasyonu sonrası doku kesitlerinin histolojik incelemesi, hematoksilin/eozin (H&E) ve periyodik asit-Schiff (PAS) ile boyanmalarının ardından yapılır.^{458, 459}

Görsel ve mikroskopik olarak tanımlanamayan lezyonların *E. multilocularis*'e spesifik PCR analizleri ile incelenmesi önerilmektedir. Rodent popülasyonlarında yaş yapısı yıllara ve mevsimlere göre değişmektedir. Enfeksiyon oranının da artan yaş ile paralellik göstermesinden dolayı örneklenen rodentlerin yaş tayinine tabi tutulmasının önemli olduğu bildirilmiştir. Rodentlerde örnekleme yapılırken, tilki dışkısı bulunan bölgelerin belirlenmesi ve tilki-rodent arasında avcı-av ilişkisinin muhtemel olduğu bölgelerin tercih edilmesi gerektiği belirtilmiştir. Belirlenen bu bölgeler, *E. multilocularis* açısından sıcak noktalar olarak tanımlanır ve potansiyel farklı rodent türlerinin belirlenmesinde başlangıç olarak kabul edilmektedir.^{223, 459}

2.2.8.3. İnsanlarda Tanı

Alveolar ekinokokkozis semptomlarına sahip bir insanın değerlendirilmesi, anamnez bilgilerini ve ardından karaciğer dokusu içindeki *E. multilocularis* metacestodlarının veziküler konglomeratlarını gösteren fiziksel görüntüleme tetkiklerini içeren bir tanı sürecinden ibarettir.^{49, 460} Bu ilk tanı sürecinin doğrulanması, hastalardan alınan serum örneklerinde *E. multilocularis* için spesifik antikorların belirlendiği serolojik yöntemler ile sağlanır. Ancak serolojik tanı yöntemlerinin AE'in asemptomatik seyrettiği hastalığın erken aşamalarında iken kullanılmasının daha uygun olduğu bildirilmiştir.⁴⁶⁰ Son yıllarda *E. multilocularis*'in yeni antijenlerinin keşfedilmesinin ve serolojik yöntemlerdeki ilerlemelerin, özellikle AE'li hastaların tedavi sonrası izlenmesi noktasında önemli yer tuttuğu da ifade edilmektedir.⁴⁵⁹

Görüntüleme teknikleri arasında ultrasonografi, tarama için en çok tercih edilen yöntemdir. Ultrasonografik görüntüleme sonrası fazla sayıda lezyon bulunması veya karakteristik kalsifikasyonların tespit edilmesi amacıyla bilgisayarlı tomografi kullanımı da önerilmektedir. Manyetik rezonans (MR) ise görüntülemenin belirsiz olduğu olgularda tanıyı kolaylaştırmak ve kesinleştirmek için kullanılır.^{1, 461, 462} Alveolar kist vakalarının

%70'inde lezyonların iki şekilde ortaya çıktığı bildirilmiştir. İlk lezyon metacestodun invaziv büyümesi nedeniyle ortaya çıkan, düzensiz sınırlara sahip karaciğer dokusu ile karakterizedir. İkincisi ise parazitik fibröz doku ile çevrili ve merkezi bir nekrotik alan içeren büyük bir karaciğer lezyonu şeklinde ortaya çıkmaktadır. Vakaların geri kalan kısmında ise karaciğer dokusunda küçük fibröz nodüller görüntülenir ve bu görüntünün erken dönem AE enfeksiyonlarında elde edildiği ifade edilmiştir. Bu fibröz nodüllerin sıklıkla hemanjiyom olarak yanlış teşhis edildiği rapor edilmiştir.^{403, 463-465}

Alveolar kistin cerrahi veya biyopsi materyalinin histolojik incelenmesi ile de parazit tanımlanması yapılabilir ancak ince iğne ile alınan biyopsi örneklerinde veya kalsifiye olmuş kist durumlarında karakteristik yapıların tanınmasının zor veya imkânsız olduğu bildirilmiştir. Bu gibi durumlarda, kalsifiye kistlerde bulunan monoklonal antikorların araştırılması ile sonucun teyit edilebileceği ifade edilmiştir.³⁸⁰ Ayrıca kist materyali spesifik PCR analizleri ile de değerlendirilebilir.⁴⁴⁴ Ancak alveoler kistten örnek alınması sırasında oluşan perforasyon, vücutta sekonder kistlerin oluşmasına sebep olabilir. Bu durumu engellemek için kemoterapi uygulanması tavsiye edilmiştir.^{1, 459}

2.2.9. Tedavi, Korunma ve Kontrol

Son ve Ara Konaklarda Tedavi, Korunma ve Kontrol

Son konaklarda, ekinokokkozisin tedavisinde en yaygın kullanıma sahip etken maddeler; praziquantel (izoquinolin-pirazin türevi), epsiprantel (izoquinolin-pirazin türevi), nitroskonat ve niklosamid'dir.^{46, 429, 466, 467} Ekinokokkozis hem teşhisi hem tedavisi amacıyla arekolin hidrobromüt kullanımının da tercih edildiği bildirilmiştir.^{468, 469} Bunlar içerisinde en çok tercih edilen praziquantel'in, karnivorlarda 5 mg/kg dozda kullanımının *E. multilocularis*'e karşı %100 etkili olduğu belirlenmiştir.^{1, 429} Evcil son konaklarda deri altı, oral ve kas içi uygulamalar ile kullanım alanı bulan praziquantel, vahşi son konaklara özellikle tilkilere yem (bait) içerisinde verilmektedir.^{470, 471} Tilkilerde praziquantel ile

tedavi, kontrol amacıyla yapılmaktadır ve 50 mg praziquantel içeren yemlerin (1 km² için 20 yem) kullanımı ile tilki popülasyonunda *E. multilocularis* enfeksiyon yükünü büyük oranda azalttığı bildirilmiştir.^{77, 472, 473} Ayrıca köpek, kedi, tilki veya diğer son konakların, endemik bölgelerden endemik olmayan bölgelere taşınması sırasında, *E. multilocularis*'in yayılmasının önlenmesi amacıyla, sevkiyat öncesinde karantinaya alınarak iki gün boyunca terapötik dozlarda praziquantel ile tedavi edilmesi önerilmiştir.⁹³ Alveolar kistin ara konaklarda tedavisi üzerine benzimidazoller ile terapötik denemeler yapılmıştır. Albendazol, fenbendezol ve mebendezol ile deneysel olarak uzun süreli tedavi uygulanmış, kist hacminde büyük oranda küçülme gözlemlenmesine rağmen canlılığını koruduğu belirlenmiştir.⁴⁷⁴

Echinococcus multilocularis'in yaşam döngüsü esas olarak vahşi yaşamda son ve ara konaklar arasında geçmektedir. Ancak insanlara AE'in ana bulaş kaynağının evcil köpekler olduğu düşünülmektedir.^{28, 347, 475, 476} İnsanlara bulaşın asıl kaynağı köpekler olsa da parazit, yaşamını yabani siklus çerçevesinde sürdürdüğü için korunma ve kontrol önlemlerinin sadece evcil yaşamda uygulanması insan AE'in önlenmesi için yeterli değildir. Bu nedenle, geniş alanlarda varlığını devam ettiren *E. multilocularis*'in kontrolü için asıl hedefler, çoğunlukla adaptif ve her yerde bulunan kırmızı tilkiler ve onların ana besin kaynağı olan rodentlerdir (özellikle Cricetidae ailesine dahil olanlar). Praziquantel içeren yemler ile yapılan düzenli yemleme programlarının tilkilerde *E. multilocularis* yükünü azalttığı ortaya konmuştur. Ancak bu tekniğin başarısının yemleme yönteminin tasarımına, uygulanan bölgede kesin ve ara konak hayvanların popülasyon yoğunluğuna ve yem için rekabet eden diğer hayvan türlerinin varlığına göre değiştiği rapor edilmiştir.^{1, 28}

Avrupa ülkelerinde prevalans oranlarındaki önemli artışın ve *E. multilocularis*'in endemik olmayan yeni bölgelere yayılmasının kızıl tilki popülasyonunun büyümesine bağlı olduğu tespit edilmiştir.⁴⁷⁷ Bu nedenle, tilkilerin avlanması *E. multilocularis* prevalansını düşürmesi açısından faydalı olabileceği düşünülmüş ancak birtakım ekolojik yeni

problemlere neden olduğu da bildirilmiştir.^{200, 203, 267, 478} Avrupa’da kuduzun kontrolü için başlatılan kırmızı tilkilerin ağız yoluyla aşılınması sırasında, *E. multilocularis* için de ağız yoluyla intestinal tedavi uygulanmasının faydalı olacağı bildirilmiştir. Ancak *E. multilocularis*’in kuduza kıyasla bazı zorluklar içerdiği bildirilmiştir.²⁸ Tilkilerde intestinal tedavinin düzenli aralıklar ile devamlı yapılmasının gerekliliği faydalı bulunmuştur. Ancak kırmızı tilkilerde *E. multilocularis*’in tedavisinin geniş alanlarda yapılmasının mümkün olmadığı ifade edilmiştir.⁷⁷ Tüm bu durumlara rağmen Almanya, İsviçre, Japonya, Slovakya ve Fransa’da kırmızı tilkilerde düzenli yemleme kampanyalarına dayalı olarak *E. multilocularis* enfeksiyon oranının düşürüldüğü rapor edilmiştir.^{28, 479, 480} Arazi yönetimi uygulamaları ile yaşam alanlarının bozulması sonucu ara konak sayısında azalma olabileceği bildirilmiştir.^{56, 77, 403}

Köpeklerin *E. multilocularis* için uygun son konak olduğu hem doğal hem de deneysel enfeksiyonlarda ortaya konmuştur.^{11, 280, 481} Köpeklerin insanlar ile yakın teması olmasından dolayı insan AE’ine karşı korunmada birincil olarak, evcil yaşamda asıl çevresel kontaminasyon kaynağı olan köpeklerin tedavi edilmesinin gerekli olduğu bildirilmiştir. İnsan AE’nin endemik olduğu bölgelerin çoğunda insan KE de yüksek insidansa sahiptir ki bu bölgelerde *E. granulosus s.l* ve *E. multilocularis* köpeklerde ortak bir şekilde yüksek prevalansa sahiptir.²⁸ Endemik bölgelerdeki köpeklerin, dört haftada bir 5 mg/kg dozda praziquantel ile tedavisinin etkili olduğu deneysel olarak belirlenmiştir.^{11, 429} Bu yöntem, özellikle hem AE hem KE’in endemik olduğu bölgelerde altın standart olarak kabul edilmektedir.^{11, 28, 284, 333, 482}

Alternatif veya tamamlayıcı bir tedavi ve kontrol sağlaması amacıyla *E. multilocularis*’e karşı son yıllarda EM95,⁴⁸³ 14-3-3,⁴⁸⁴ TSPs,⁴⁸⁵ EMY162,⁴⁸⁶ ve LTB-EMY162⁴⁸⁷ gibi *E. multilocularis* antijenleri kullanılarak aşı geliştirilmiştir. Bu antijenik

yapıların hem ara hem de son konaklarda spesifik bağışıklık tepkilerine neden olabildiği ve koruyucu rollere sahip oldukları bildirilmiştir.^{28, 487}

İnsanlarda AE için kontrol ve korunma önlemleri, bireysel ve çevresel olmak üzere farklı seviyelerde alınabilir. Kişisel hijyen kurallarına dikkat edilmesi, köpeklerin uygun aralıklar ile tedavi edilmesi ve izlenmesi bireysel olarak uygulanabilir. Vahşi son konakların intestinal yükünün azaltılması ile doğrudan kontrol veya vahşi konak popülasyonlarının kontrolü ile de çevresel düzeyde önlemlerin alınabileceği bildirilmiştir.²⁸

İnsanlarda Tedavi

İnsanlarda AE için mevcut olan tek küratif tedavi yöntemi, enfekte organın invaziv cerrahi rezeksiyonudur. Alveolar ekinokokkozisde, karaciğerin yakınındaki lenf nodülleri larvanın metastaz göstermesinden dolayı etkilenmektedir. Ancak hastalığın nüks etmesinin lenf düğümlerinin alınmasına bağlı olmadığı, karaciğerdeki kistin tam rezeksiyonunun başarısına bağlı olduğu bildirilmiştir.⁴⁸⁸⁻⁴⁹⁰

Yapılan çalışmalarda, kısmi veya tamamen cerrahi rezeksiyon ile birlikte ilaç tedavisinin kombine edilmesi durumunda, kistlerin gelişmesinde gerileme olduğu gözlemlenmiştir.⁴⁹¹ Ancak kistin cerrahi rezeksiyonu ile kistin metastaz yaptığı durumlarda tüm parazit biyokütlesini çıkarmanın mümkün olmamasından dolayı, AE'li hastaların yalnızca %20-50'sine uygulanabildiği ifade edilmiştir.⁴⁶⁴ Cerrahi rezeksiyon ile kombine ilaç tedavisi veya sadece ilaç tedavisi uygulanan vakalarda başarı tedavinin erken başlaması, kistin özellikle metastaz yapmadığı erken dönemde saptanmış olması ve hastada kronik inflamatuvar hastalıkların olmaması gibi faktörlere bağlıdır.⁴⁹¹

Cerrahi müdahaleye, benzimidazol (BMZ) tedavisinin eşlik etmesi ve cerrahinin mümkün olmadığı durumlarda da sadece BMZ tedavisi önerilmektedir. Ancak BMZ, *E. multilocularis* için düşük affinite göstermesi ve kısa yarılanma ömrüne sahip olması nedeniyle AE için öldürücü değil gelişimini sınırlandırıcı etkiye sahiptir.⁴⁰³ Ayrıca BMZ

tedavisinin hastalarda toksikasyona sebep olması da bir dezavantajdır. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, sıtma tedavisinde kullanılan bir bileşik olan meflokinin AE'ye karşı etkin olduğu tespit edilmiştir. Bu etken maddenin metacestodu öldürmediği ancak gelişimini sınırladığı belirlenmiştir. Bu çalışmada meflokinin insanlarda bir kurtarma tedavisi olarak kullanılabileceği ve benzer etki biçimlerine sahip diğer sıtma önleyici bileşiklerin de araştırılması gerektiği ifade edilmiştir.^{403, 492}

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Saha Çalışması

Çalışma, Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde yer alan Ağrı, Ardahan, Bayburt, Erzincan, Erzurum, Kars ve Iğdır illerinde yürütüldü. Çalışma materyali, bu illerde serbest dolaşıma sahip sokak köpeklerinden elde edildi. Çalışmaya dahil edilen illere bağlı belediyelerin hayvan barınakları ziyaret edilerek köpeklerden dışkı örnekleri alındı.

3.1.1. Çalışma Alanı

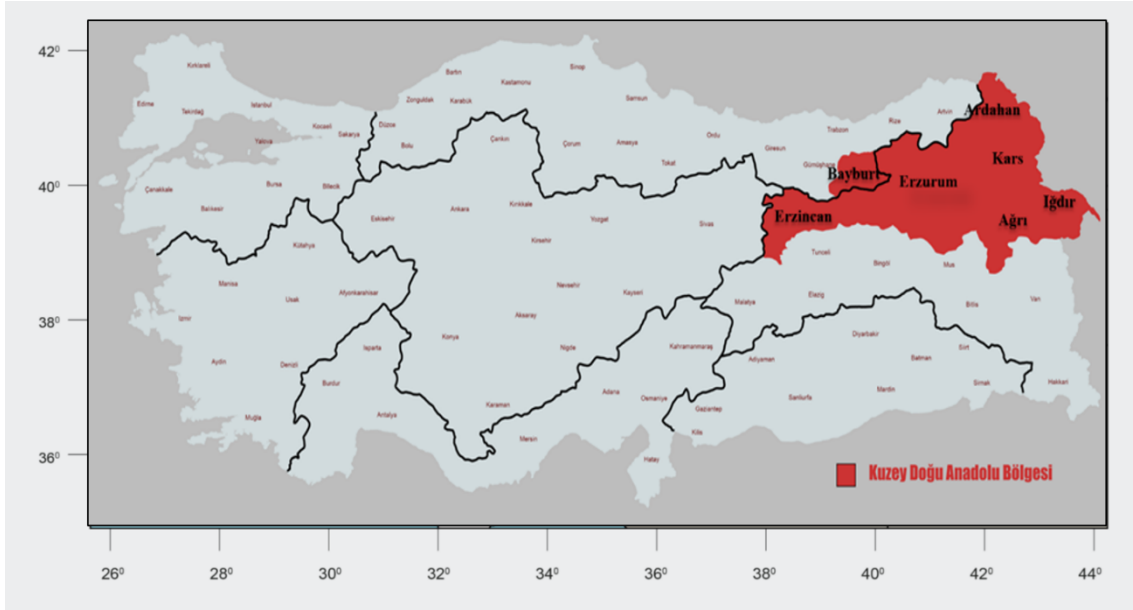
Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi; Ağrı, Ardahan, Bayburt, Erzincan, Erzurum, Iğdır ve Kars illerini kapsamaktadır (Şekil 3.1). Bölgenin batısında Sivas; kuzeyinde Giresun, Gümüşhane, Trabzon, Rize, Artvin ve Gürcistan; doğusunda İran, Nahcivan ve Ermenistan; güneyinde Van, Bitlis, Muş, Bingöl ve Tunceli bulunmaktadır.

Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi, 70 990 km²'lik bir alanla Türkiye yüz ölçümünün %9.05'ni kaplamaktadır. Bölgede en düşük rakım 805 m'dir ve yükselti Ağrı Dağı'nda 5137 m'ye kadar yükselir. Ortalama yükseltisinin 2000-2200 m olması ile Türkiye'de yükseltisi en fazla olan bölgedir.⁴⁹³

Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde denizler uzak ve yükseltisinin fazla olması nedeniyle karasal iklim etkilidir. Kış ayları soğuk ve kar yağışlı, yaz ayları yüksek kesimleri serin, alçak kesimleri ise sıcak ve kurak geçer. Bölgede kaydedilen meteorolojik kayıtlara göre sıcaklık en yüksek 37.3°C, en düşük -31.6°C, ortalama 7.2°C'dir. Yıllık ortalama yağış 460.9 mm, nem %66.2'dir. Ortalama güneşli gün sayısı 124, ortalama donlu gün sayısı ise 145.2'dir.⁴⁹³

Gerçek sıcaklık ile indirgenmiş sıcaklık arasındaki farkın en fazla olduğu bölgede, gerçek yüzölçümü ile izdüşüm yüz ölçümü arasındaki fark da fazladır. Bölgede birinci

ekonomik faaliyet hayvancılık olup ve tarımsal nüfus yoğunluğunun en fazla olduğu bölgedir.⁴⁹⁴



Şekil 3.1. Çalışma sahası (orijinal)

3.1.2. Çalışma Materyali

Bu çalışma, Haziran 2019 ve Eylül 2020 tarihleri arasında, Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'ne bağlı yedi ilde yürütüldü. Bu illerdeki belediyelere bağlı hayvan barınakları ziyaret edilerek sokak köpeklerinden dışkı örnekleri toplandı. Örnekleme yapılan köpekler, illerin merkez ve illere bağlı ilçelerinden ya periyodik olarak ya da ihbar çağrısı üzerine barınak yetkilileri tarafından toplanmış ve barınaklara getirilmiş olan köpeklerdi. Ziyaret planı, her ile en az üç ziyaret yapılacak şekilde hedeflendi. Örnek sayısı hesaplanırken Erzurum İli merkez olarak kabul edildi, merkezden en az 400, çevre illerden en az 100'er olmak üzere genel toplamda 1000'in üzerinde köpek dışkısı toplanması planlanmıştır. Barınağa ulaşımın daha kolay olması, diğer illere kıyasla daha gelişmiş barınak yapısına sahip olması ve kayıtlı insan AE vakası en yüksek il olması sebebiyle Erzurum'un örnek sayısı diğer illere göre daha yüksek sayıda planlandı. Barınak ziyaretleri, daha önce tarafımızdan örnek alınmamış köpeklerin toplanması sonrasında, yetkililerin haber vermesi

suretiyle gerçekleştirildi. Çalışmaya, 1069 adet sokak köpeği dahil edilmiş olup, illere göre yapılan ziyaret sayısı ve toplanan dışkı örneği sayısı Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1. İllere Göre Köpeklerden Toplanan Dışkı Örnekleri.

İl	Ziyaret Sayısı	Dişi/Erkek	Örnek Sayısı
Ağrı	3	81/35	116
Ardahan	3	66/41	107
Bayburt	2	80/24	104
Erzincan	3	66/35	101
Erzurum	8	300/120	420
Iğdır	2	70/36	106
Kars	2	80/35	115
Toplam	23	743/326	1069

3.1.2.1. Dışkı Örneklerinin Toplanması

Dışkı örneklerini toplamak için gerekli etik kurul izni, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu’ndan (EK-3) ve çalışmaya dahil edilen illerin belediyelerine ait Veteriner İşleri Müdürlükleri’nden (EK-4) alındı.

Dışkı örneği alınacak köpekler, belirlenen çalışma sahasındaki barınaklara yeni getirilmiş ve barınakta ilaç uygulaması henüz yapılmamış olan sokak köpekleri arasından rastgele seçildi. Çalışma dahilinde dışkı örneği alınan köpeklerin, en az bir yaşından büyük olmasına dikkat edildi. Köpekler, öncelikle bireysel kafeslere alındı. Köpeklere, “praziquantel (56.8 mg/1 ml)” etken maddeli preparat (Tenidur, Teknovet, Türkiye), uygun dozda (1 ml/10 kg canlı ağırlık) deri altı yolla uygulandı. İlaç uygulamasını takip eden ilk 24 saat içerisindeki dışkılar bireysel kafeslerden alındı. Dışkı örnekleri, sızdırmaz dışkı kaplarına konuldu. Kapların üzerine örnekleme tarihi, cinsiyet ve lokasyon bilgileri kaydedildi ve örnekler numaralandırıldı. Uygun taşıma koşulları altında Atatürk Üniversitesi

Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı rutin laboratuvarına getirildikten sonra, biyogüvenlik önlemleri gereğince 7 gün -80°C’de bekletildi ve sonraki inceleme aşamasına kadar -20°C’de saklandı.

3.2. Laboratuvar Çalışmaları

3.2.1. Dışkı Örneklerinin Sequential Sieving/Flotasyon Yöntemi ile İncelenmesi

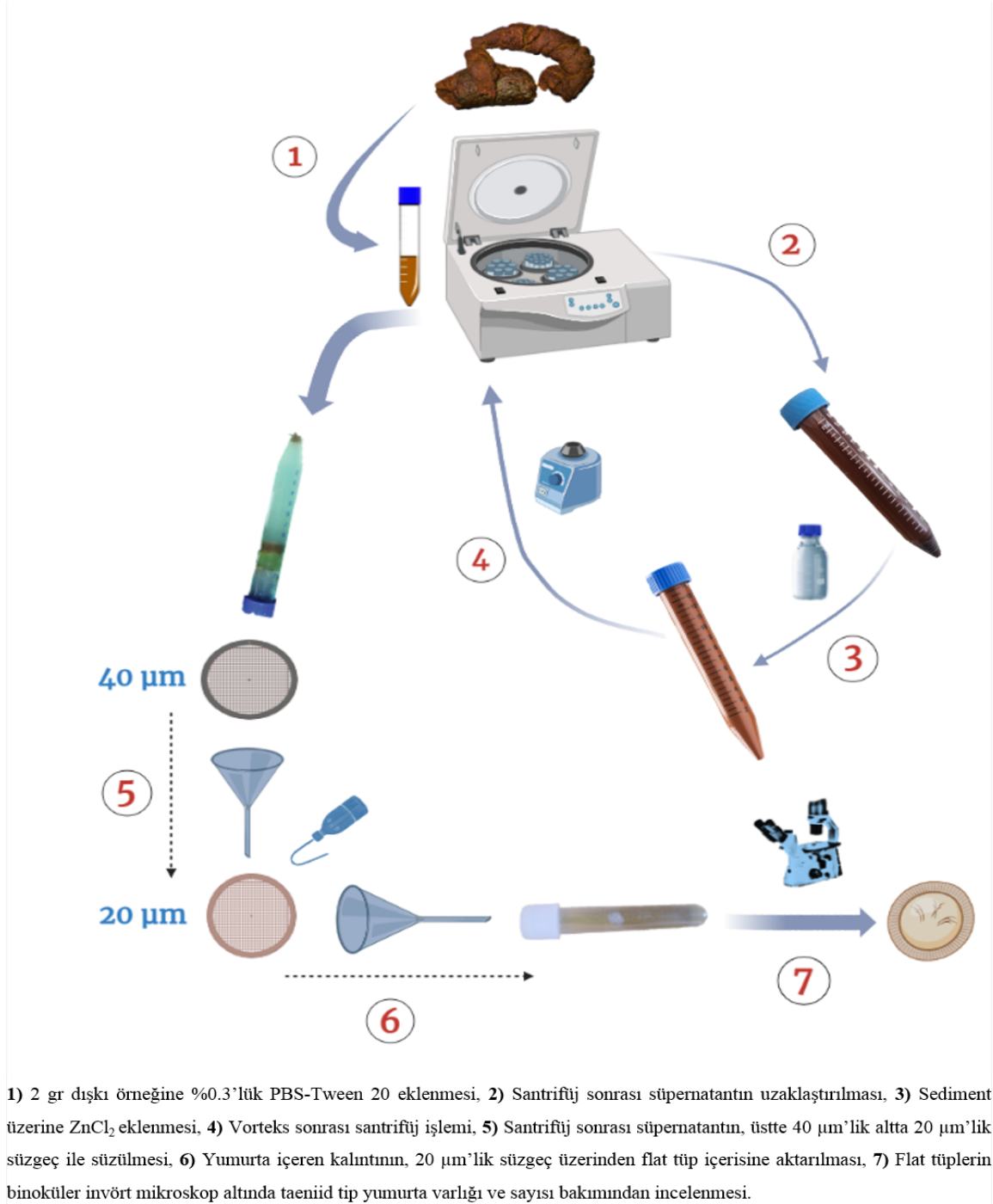
Dışkıda tenya tip yumurtaların elde edilmesi amacıyla sequential sieving/flotasyon yöntemi uygulandı (Şekil 3.2).⁴⁵³

- 2 gr dışkı örneği alınıp üzerine %0.3’lük PBS-Tween 20 solüsyonu eklenerek +4°C’de bir gece bekletildi.
- Bekletilen örnekler vorteks aracılığıyla iyice homojenize edildikten sonra 4500 rpm’de 10 dk santrifüj yapıldı ve süpernatant uzaklaştırıldı.
- Tüp içerisindeki sediment üzerine 8 ml ZnCl₂ ilave edilerek 3500 rpm’de 30 dk santrifüj edildi.
- Üst kısmında 40 µm, altta ise 20 µm’lik elekler olacak şekilde, her bir dışkı örneği için ayrı özel düzenek hazırlandı. Santrifüj sonucunda elde edilen süpernatant, süzme işlemine tabi tutularak tenya tip yumurtaların 20 µm’lik elek üzerinde toplanması sağlandı.
- Yumurta içeren sediment, bir piset yardımıyla 20 µm’lik elek üzerinden flat tüp içerisine aktarıldı.
- Flat tüpler, binoküler invört mikroskop altında tenya tip yumurta varlığı ve sayısı yönünden incelendi.
- Tenya tip yumurta sayısına göre örnekler iki gruba ayrıldı;

Grup-1: >20 adet yumurta içeren örnekler

Grup-2: <20 adet yumurta içeren örnekler

- Tenya tip yumurta içeren flat tüpler 3500 rpm’de 5 dk santrifüj edildi ve yumurta içeren sediment 2 ml’lik mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.
- Örnekler sonraki aşamaya kadar -20°C’de saklandı.



Şekil 3.2. Sequential sieving/flotasyon yöntemi (orijinal)

3.2.2. DNA Ekstraksiyonu

Tenya tip yumurta içeren örnekler, -20°C'den çıkarıldı ve oda sıcaklığında çözünmeleri için bekletildi. Örnekler 5 dk boyunca 3500 rpm'de santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırıldı ve mikrosantrifüj tüpleri içerisinde sadece yumurta içeren sedimentin kalması sağlandı. DNA ekstraksiyonu için ticari DNA (Patho Gene-spin™ Total DNA/RNA Extraction Kit, Intron, Kore) ekstraksiyon kiti kullanıldı. Kitin total DNA ekstraksiyonu için önerilen prosedüründe çeşitli modifikasyonlar yapıldı. Buna göre;

- Tenya yumurta içeren 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpleri, önce -80°C'de 10 dk boyunca donduruldu ve daha sonra +65°C'de çözdürüldü. Bu işlem üç kez tekrarlandı.
- Dondur/çöz işlemi sonrası tüp içerisine 200 µl distile su, 20 µl Proteinase K ve 5 µl RNase A eklenerek karıştırıldı.
- Tüpler termal çalkalayıcı cihazında, Proteinase K aktivasyonu için 56°C'de 3 saat bekletildi.
- Lysis buffer solüsyonu eklenerek karıştırıldı ve oda ısısında 2 dk bekletildi.
- 300 µl binding buffer solüsyonu eklenerek hafifçe karıştırıldı.
- Karışım, spin columna alınarak 13000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
- Spin columnun altı değiştirildi ve üzerine 500 µl washing buffer A solüsyonu eklenerek 13000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
- Spin columnun altı değiştirildi ve üzerine 500 µl washing buffer B solüsyonu eklenerek 13000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
- Spin columnun altı değiştirildi ve membranın kuruması için boş olarak 13000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.

- Spin columnun altına 1.5 ml'lik steril eppendorf tüp yerleştirilip, spin column merkezine yumurta yoğunluğuna göre 30-60 µl elution buffer solüsyonu eklenerek oda ısısında 1 dk bekletildi ve 13 000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.

Elde edilen genomik DNA miktarları, NanoDrop One (Thermo Scientific, ABD) cihazı kullanılarak ölçüldü. Ekstraksiyonu yapılan örnekler, moleküler analizler yapılincaya kadar -20°C'de saklandı.

3.2.3. PCR

Echinococcus multilocularis DNA'sını tespit etmek amacıyla mitokondrial 12S rRNA geninin 204 baz çifti (bç)'lik kısmını amplifiye eden, *E. multilocularis* tür spesifik Em-nest-for ve Em-nest-rev primerleri¹²² kullanıldı. Daha sonra sekans analizi ve filogenik analizlerde kullanılmak üzere *E. multilocularis* DNA'sı belirlenmiş örneklerde, NADH-1 geninin 395 bç'lik kısmını amplifiye eden *E. multilocularis* tür spesifik Cest1-for ve Cest2-rev primer¹⁸⁰ çiftleri ile PCR yapıldı. PCR'de kullanılan primerler ve nükleotid dizilimleri Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. PCR'de Kullanılan Primer ve Nükleotid Dizilimleri.

Primer	Sekans (5'-3')	Gen Bölgesi	bç
EmNest (F) ¹²²	GTGAGTGATTCTTGTTAGGGGAAGA	SSU rRNA	204
EmNest (R)	ACAATACCATATTACAACAATATTCCTATC		
Cest 1 ¹⁸⁰	TGCTGATTGTAAAGTTAGTGATC	NADH-1	395
Cest 2	CATAAATCAATGGAAACAACAACAAG		

SSU rRNA; small subunit ribosomal RNA, NADH-1; NADH dehydrogenase subunit I, bç: baz çifti.

Toplam hacmi 25 µl olan, EmNest (F/R) primerlerinin kullanıldığı bir reaksiyonluk PCR karışımının içeriği Tablo 3.3'de verilmiştir.

Tablo 3.3. EmNest (F/R) Primer Çifti ile Bir Reaksiyonluk PCR Karışımı.

İçerik	Miktar
10x PCR Buffer	2.5 µl
MgCl ₂	2.5 mM
dNTP	0.2 mM
Taq DNA polymerase	0.5 U
Forward primer (20 pmol)	0.3 µM
Reverse primer (20 pmol)	0.3 µM
Örnek DNA	2.5 µl
DNase/RNase free su	15.8 µl

EmNest (F/R) primerlerinin kullanıldığı PCR'nin ısı profili Tablo 3.4'te verilmiştir.

Tablo 3.4. EmNest (F/R) Primerleri ile PCR Isı Profili.

Sıcaklık (°C)	Süre	Tekrar
95	2 dk	1
94	40 sn	35
51	40 sn	
72	1 dk	
72	7 dk	1

Toplam hacmi 25 µl olan, Cest1 (F) / Cest2 (R) primerlerinin kullanıldığı bir reaksiyonluk PCR karışımının içeriği Tablo 3.5'te verilmiştir.

Tablo 3.5. Cest1 / Cest2 (F/R) Primer Çifti ile Bir Reaksiyonluk PCR Karışımı.

İçerik	Miktar
10x PCR Buffer	2.5 µl
MgCl ₂	2.5 mM
dNTP	0.2 mM
Taq DNA polymerase	0.5 U
Forward primer (2 pmol)	0.3 µM
Reverse primer (2 pmol)	0.3 µM
Örnek DNA	2 µl
DNase/RNase free su	16.3 µl

Cest1 (F) / Cest2 (R) primerlerinin kullanıldığı PCR'nin ısı profili Tablo 3.6'da verilmiştir.

Tablo 3.6. Cest1 / Cest2 (F/R) Primerleri ile PCR Isı Profili.

Sıcaklık (°C)	Süre	Tekrar
95	15 dk	1
94	30 sn	
58	90 sn	40
72	10 sn	
72	5 dk	1

PCR analizlerinde, negatif kontrol olarak bi-distile (DNase/RNase free) su ve pozitif kontrol olarak daha önce laboratuvarımızda teşhis edilen ve moleküler analiz ile doğrulanan *E. multilocularis* DNA'ları (GenBank Erişim No: MT321279, MN820635) kullanıldı. PCR işlemleri, laminar kabin (Hedlab, Türkiye) içerisinde yapıldı. Çalışmalarda kullanılan bütün alet ve ekipmanlar, düzenli olarak UV ile steril hale getirildi. Polimerase

Chain Reaksiyonları, Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystems, Singapur) cihazı kullanılarak gerçekleştirildi.

3.2.4. Jel Elektroforezis

Amplifikasyon sonunda elde edilen PCR ürünleri, jel elektroforezde yürütüldü.

3.2.4.1. Agaroz Jel Hazırlanışı

Jel örneği (%1.5'lik) için 1.5 gr toz agaroz (İnvitrogen, ABD), 100 ml 1x Tris-Borat-EDTA (TBE) (İnvitrogen, ABD) içerisine eklenerek mikrodalga fırın içerisinde homojen şekilde çözünmesi sağlandı. Soğuması için 2 dk oda ısısında bekletildikten sonra çözeltiliye 5 µl ethidium bromide (Merck, Almanya) eklenip karıştırıldı. Elektroforez tankına aktarılmadan önce, bu karışım soğuması için oda ısısında 3 dk daha bekletildi. Hazırlanan jel, içerisinde kuyucuk oluşmasına sebep olan tarakların bulunduğu tankın içerisine aktarıldı. Elektroforez işlemine uygun kıvamı alması amacıyla, hazırlanan jel 25 dk süreyle oda ısısında bekletildi.

3.2.4.2. Elektroforez

Elektroforez işlemi için hazır olan jel, üzerindeki taraklar çıkarılarak, içinde 1x TBE bulunan elektroforez tankına yerleştirildi. Kuyucuklara sırasıyla 100 bç'lik DNA marker (İntron, Kore), 1 ul loading dye (Thermo Scientific™, Litvanya) ile karıştırılmış PCR ürünleri, pozitif ve negatif kontroller ve yine 100 bç'lik DNA marker yüklendi. Örneklerin yüklenmesinin ardından, PCR ürünleri 110 voltta 30 dk yürütüldü. Amplifikasyonun belirlenebilmesi amacıyla elektroforezis sonrası jel, UV transilluminatör (Vilber Lourmat, Fransa) cihazı kullanılarak görüntülendi. Elde edilen görüntüler kayıt altına alındı.

3.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler

3.3.1. Sequential Sieving/Flotasyon İşlemi Sırasında Kullanılan Solüsyonlar

- Çinko (II) klorür (Tekkim, Türkiye)

Bir litre su içinde 880 gr çinko (II) klorür çözündürülerek, özkütlesi 1.50 olan doymuş çözelti hazırlandı. Dışkı örneklerinde tenya tip yumurtaların yüzdürülmesi amacıyla kullanıldı.

- Tween 20 (Merck, Almanya)

Bir litre Phosphate-Buffered Saline (PBS) solüsyonu içerisine stok solüsyondan 3 ml eklenerek kullanıldı. Dışkı örneklerinde, yüzey geriliminin artırılması sağlanarak tenya tip yumurtaların dışkıdan daha kolay ayrılabilmesi için kullanıldı.

- PBS (BioShop, Kanada)

Stokta tablet olarak temin edilen PBS, her 100 ml distile suda 1 tabletin çözündürülmesi ile hazırlandı. Tween 20 hazırlanmasında, solüsyonun asitliğinin tamponlanması amacıyla kullanıldı.

3.3.2. DNA Ekstraksiyonu İçin Gerekli Solüsyonlar

- Lysis buffer (İntron, Kore)

Hücrelerin parçalanması amacıyla kullanıldı.

- Proteinase K (İntron, Kore)

Deoksiribonükleik asit molekülüne bağlı halde bulunan protein yapılarının ayrılması amacıyla kullanıldı.

- RNase A (İntron, Kore)

Ribonükleik asitin yıkımlanması amacıyla kullanıldı.

- Binding buffer (İntron, Kore)

Deoksiribonükleik asitin bağlanması ve spin column ile DNA'nın teması sırasında DNA'nın zarar görmesini engellemek amacıyla kullanıldı.

- Washing buffer A (İntron, Kore)

Deoksiribonükleik asitin yıkanması aşamasında kullanıldı.

- Washing buffer B (İntron, Kore)

Deoksiribonükleik asitin yıkanması aşamasında kullanıldı.

- Elution buffer (İntron, Kore)

Spin columna bağlanan DNA'nın elüsyonu amacıyla kullanıldı.

3.3.3. Polimerase Chain Reaksiyonu İçin Gerekli Solüsyonlar

- 10x PCR buffer (İntron, Kore)

PCR aşamasında kullanıldı.

- $MgCl_2$

PCR aşamasında kullanıldı.

- dNTP

PCR aşamasında kullanıldı.

- taq DNA polymerase

PCR aşamasında kullanıldı.

- Primer

Echinococcus multilocularis'in tespiti amacıyla tür spesifik olan EmNest (F/R) ve Cest1/Cest2 (F/R) primer çiftleri kullanıldı.

3.3.4. Jel Elektroforezinde Kullanılan Solüsyonlar

- Toz agaroz (İnvitrogen, ABD)

Jel elektroforezinde kullanıldı.

- Tris-Borat-EDTA (İnvitrogen, Kuzey Amerika)

Jel elektroforezinde kullanıldı.

- Ethidium bromide (Merck, Almanya)

Jel elektroforezinde kullanıldı.

- DNA marker (İntron, Kore)

Jel elektroforezin görüntülenmesinde kullanıldı.

- DNA jel loading dye (6x) (Thermo Scientific™, Litvanya)

Jel elektroforezinde kullanıldı.

3.4. Sekans Analizi ve Filogenetik Analiz

Polimerase Chain Reaksiyonu analizleri sonucu, EmNest (F/R) ve Cest1 (F) / Cest2 (R) primerleri ile *E. multilocularis* pozitif olduğu belirlenen örnekler içerisinde, jel elektroforezde kuvvetli bant verenler sekans analizi için seçildi. Seçilen bu örnekler, ticari firmaya (Macrogen Europe B.V., Hollanda) gönderilerek çift yönlü sekans analizi yaptırıldı.

Elde edilen sekans sonuçları, BioEdit v7.0.5 yazılımı ile düzenlendi. Düzenlenen dizilimler, “nucleotide Basic Local Alignment Search Tool (nBLAST)” (National Center for Biotechnology Information, www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) analizi kullanılarak, GenBank veri tabanında kayıtlı olan Türkiye’den ve farklı ülkelerden bildirilmiş izolatlarla karşılaştırıldı ve benzerlik oranları belirlendi. Daha sonra Cest1/Cest2 primerleri ile elde edilen dizilimlerin, MEGAX genetik analiz yazılımında “Neighbour-joining” metodu kullanılarak, 1000 tekrarlı bootstrap ile filogenetik analizleri yapıldı ve moleküler karakterizasyonları ortaya konuldu. Elde edilen izolatlara ait tüm dizilimler, GenBank veri tabanına kaydedildi. İzolatların GenBank erişim numaraları Tablo 3.7’de verilmiştir.

Tablo 3.7. *Echinococcus multilocularis* İzolatlarının GenBank Erişim Numaraları.

Primer	Erişim Numarası
EmNest (F/R)	ON840122-ON840214
Cest1/Cest2 (F/R)	ON960099-ON960148

3.5. İstatistiksel Analiz

Kategorik değişkenler Ki-kare (Chi-square) testi ile analiz edildi. Önem değeri $p < 0.05$ olarak kabul edildi. *E. multilocularis* pozitifliği, illere göre pozitiflik oranları, örneklerdeki tenya tip yumurta yoğunluğu ve cinsiyet kriterlerine göre değerlendirildi.

4. BULGULAR

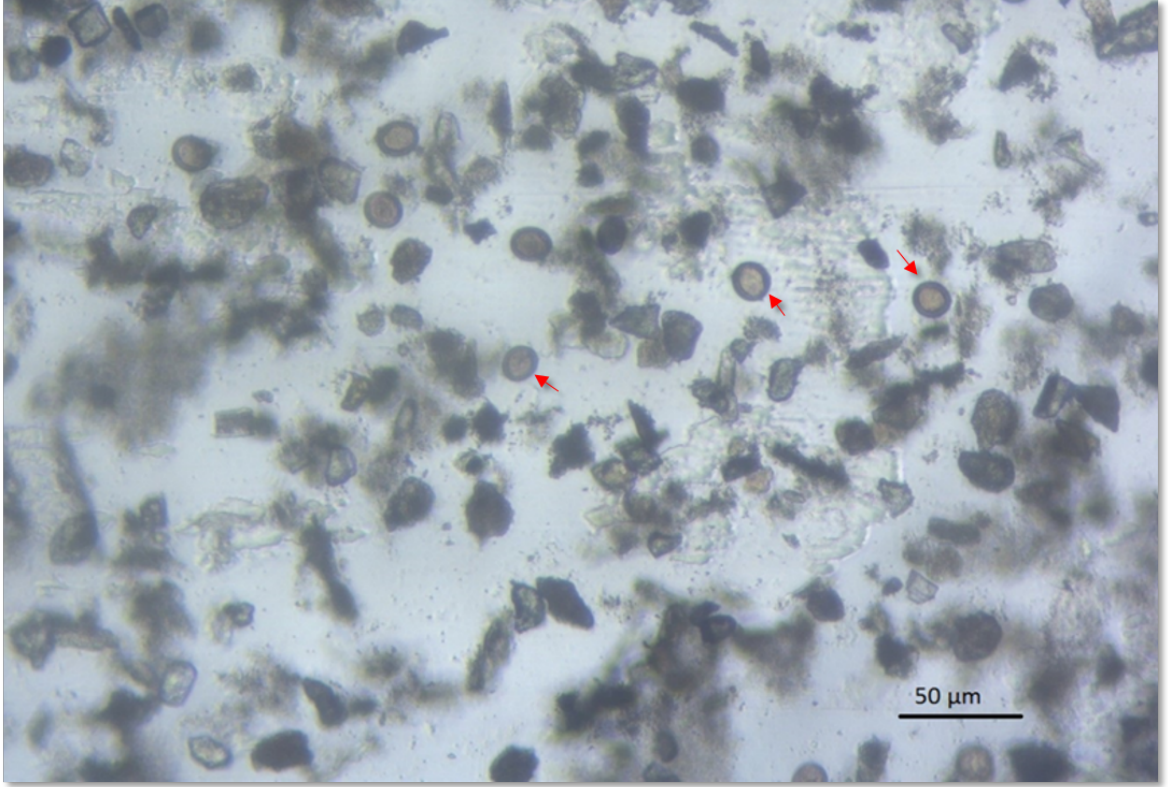
4.1. Sequential Sieving/Flotasyon Yöntemi Sonuçları

Çalışmaya dahil edilen illerdeki, barınaklar ziyaret edilerek, 1069 sokak köpeğinden dışkı örneği alındı. Örneklerin tamamı flotasyon/sieving yöntemi ile incelendi. Buna göre yedi ilin tamamında %26.8 (286/1069) oranında tenya tip yumurta tespit edildi. Tenya tip yumurta varlığına göre elde edilen sonuçların illere göre dağılımı Tablo 4.1’de sunulmuştur.

Tablo 4.1. Sequential Sieving/Flotasyon Yöntemi Sonuçlarının İllere Göre Dağılımı.

İl	n	np	%
Ağrı	116	43	37.1
Ardahan	107	14	13.1
Bayburt	104	39	37.5
Erzincan	101	13	12.9
Erzurum	420	107	25.5
Iğdır	106	34	32.1
Kars	115	36	31.3
Toplam	1069	286	26.8

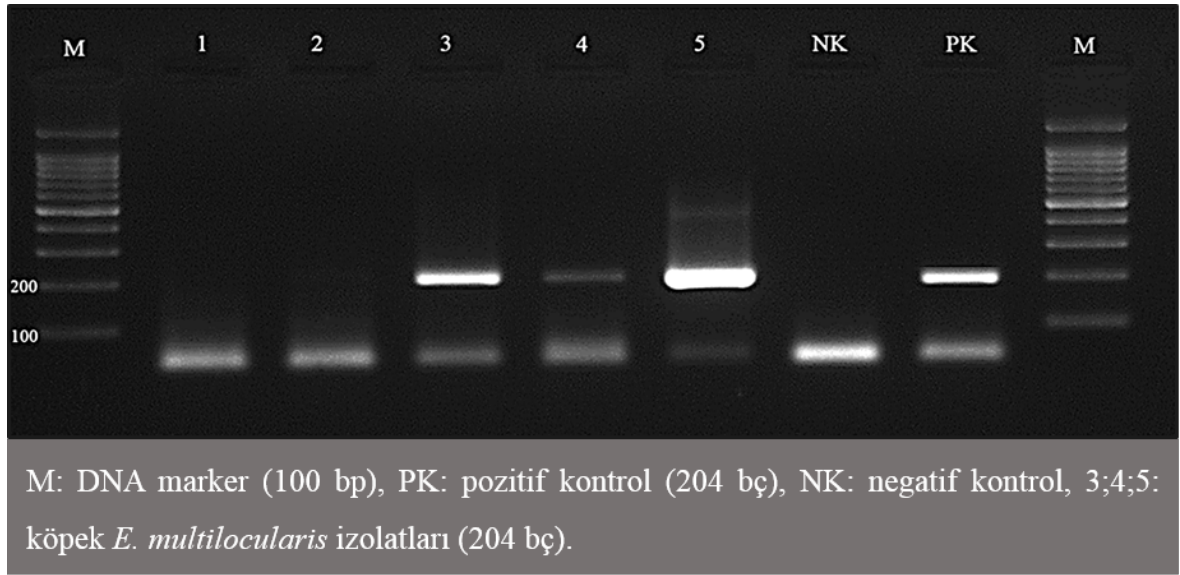
n: incelenen örnek sayısı, np: pozitif örnek sayısı.



Şekil 4.1 Sequential sieving/flotasyon yöntemiyle elde edilen tenya tip yumurtalar (kırmızı oklar, orijinal)

4.2. Moleküler Analiz

Tenia tip yumurta elde edilen bütün örnekler PCR analizi ile incelendi. Tür spesifik EmNest (F/R) primer çifti ile %8.7 (93/1069) oranında *E. multilocularis* DNA'sı tespit edildi. EmNest (F/R) primer çifti ile *E. multilocularis* pozitifliği en fazla Bayburt (%14.4) daha sonra Iğdır (%13.2), Kars (%10.4), Erzurum (%8.3), Erzincan (%6.9), Ağrı (%6.9) ve en düşük Ardahan (%1.9) ilinde tespit edildi ($p < 0.05$). Pozitifliğin illere göre dağılımı Tablo 4.2 ve Şekil 4.3'te sunulmuştur.



Şekil 4.2 12S rRNA gen bölgesi PCR ürünleri

Tablo 4.2. EmNest (F/R) Primeri ile *E. multilocularis* pozitifliğinin İllere Göre Dağılımı.

İl	n	np	%	P
Ağrı	116	8	6.9	<0.05
Ardahan	107	2	1.9	
Bayburt	104	15	14.4	
Erzincan	101	7	6.9	
Erzurum	420	35	8.3	
Iğdır	106	14	13.2	
Kars	115	12	10.4	
Toplam	1069	93	8.7	

n: Toplam örnek sayısı, np: pozitif örnek sayısı.

Sequential sieving/flotasyon yöntemi ile tenya yumurta pozitif olan örneklerin %32.5 (93/286)'i moleküler analizler ile *E. multilocularis* olarak tespit edildi. Bunun illere göre dağılımı; Ağrı %18.6 (8/43), Ardahan %14.3 (2/14), Bayburt %38.5 (15/39), Erzincan %54 (7/13), Erzurum %32.7 (35/107), Iğdır %41.2 (14/34) ve Kars %33.6 (12/36) şeklindedir.

Tenya tip yumurta tespit edilen örneklerde, yumurta sayısına göre örnekler Grup 1 (G1); >20 adet (n= 104) ve Grup 2 (G2); <20 (n= 182) olarak ayrılmıştır. Grup 2'nin G1'e göre daha yüksek oranda *E. multilocularis*'e sahip olduğu belirlendi (Tablo 4.3).

Tablo 4.3 Sequential Sieving/Flotasyon Pozitif Örneklerde *E. multilocularis* Pozitifliğinin Yumurta Yoğunluğuna Göre Dağılımı.

Yumurta Yoğunluğu	n/np	%	P
G1	29/104	27.9	>0.05
G2	64/182	35.2	
Toplam	93/286	32.5	

n: toplam örnek sayısı, np: pozitif örnek sayısı.

Echinococcus multilocularis pozitifliği erkek köpeklerde dişilere kıyasla daha yüksek oranda bulundu ($p>0.05$, Tablo 4.4).

Tablo 4.4 *Echinococcus multilocularis* Pozitifliğinin Köpek Cinsiyetine Göre Dağılımı.

Cinsiyet	n/np	%	P
Dişi	55/743	7.4	<0.05
Erkek	38/326	11.7	
Toplam	93/1069	8.7	

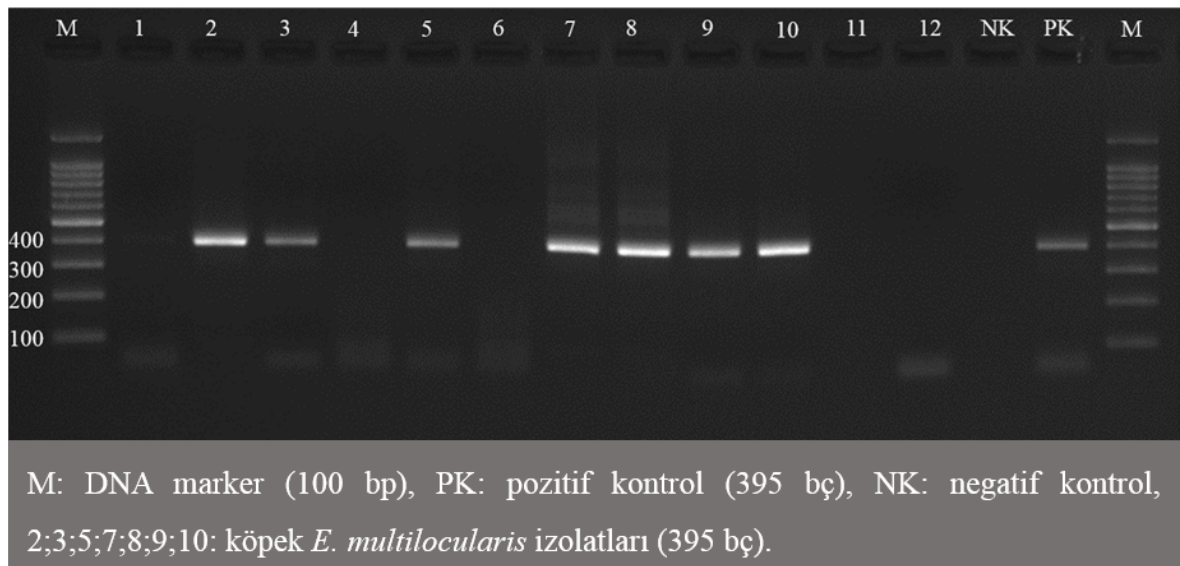
n: toplam örnek sayısı, np: pozitif örnek sayısı.



Şekil 4.3 PCR sonucu *E. multilocularis* pozitifliğinin illere göre dağılımı (orijinal)

4.3. Sekans ve Filogenik Analiz

Moleküler analizler sonucunda, *E. multilocularis* tür spesifik PCR [EmNest (F/R); 204 bç] ile 93 (%8.7) örnekte pozitiflik tespit edildi. Daha sonra pozitif örneklerin tamamı [Cest1 (F) / Cest2 (R) (395 bç)] primer çifti kullanılarak PCR ile çoğaltıldı (Şekil 4.4). EmNest (F/R) primer çifti ile pozitif örneklerin tamamı ve Cest1 (F) / Cest2 (R) primer çifti ile PCR’de kuvvetli bant veren örnekler çift yönlü sekans analizine gönderildi.



Şekil 4.4 NADH dehydrogenase subunit I gen bölgesi PCR ürünleri

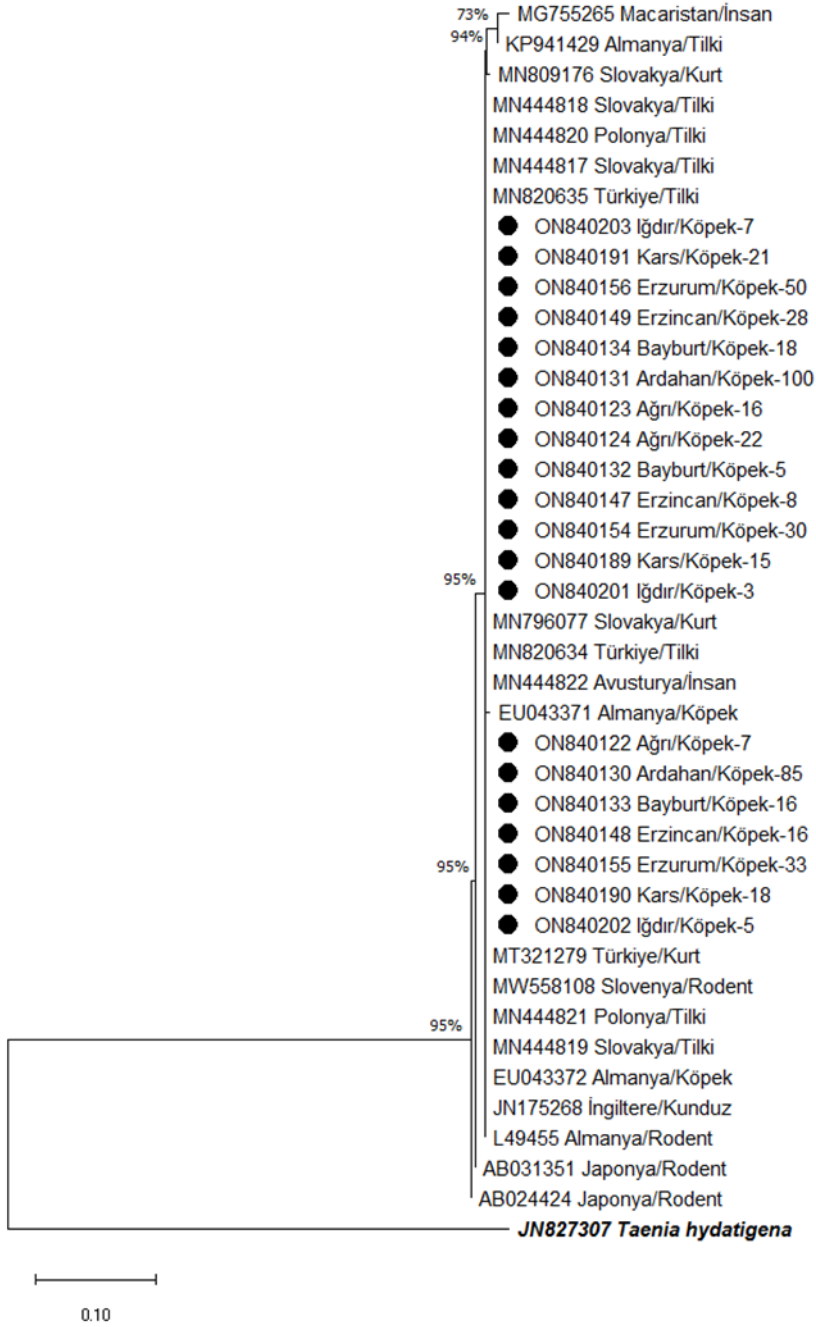
Elde edilen sekans verileri, BLAST analizine tabi tutularak GenBank veri tabanına kayıtlı referans *E. multilocularis* izolatları ile benzerlikleri değerlendirildi. Benzerlik oranları Tablo 4.5’te verilmiştir. Bu çalışmada EmNest (F/R) primer çifti ile elde edilen izolatların kendi aralarında %100 benzer oldukları belirlendi.

Tablo 4.5. EmNest (F/R) Primer Çifti ile Elde Edilen İzolatların Genbank’a Kayıtlı İzolatlarla Benzerlik Oranları.

Erişim No	Ürün	Ülke	Konak	Benzerlik Oranı (%)
MN809176	SSU rRNA	Slovakya	Kurt	99.5
MN796077	SSU rRNA	Slovakya	Kurt	100
MN444817	SSU rRNA	Slovakya	Tilki	100
MN444818	SSU rRNA	Slovakya	Tilki	100
MN444819	SSU rRNA	Slovakya	Tilki	100
KP941429	SSU rRNA	Almanya	Tilki	77.4
EU043372	SSU rRNA	Almanya	Köpek	100
EU043371	SSU rRNA	Almanya	Köpek	99.5
L49455	SSU rRNA	Almanya	Rodent	100
MG755265	SSU rRNA	Macaristan	İnsan	96.5
MN444822	SSU rRNA	Avusturya	İnsan	100
MW558108	SSU rRNA	Slovenya	Rodent	100
MN444821	SSU rRNA	Polonya	Tilki	100
MN444820	SSU rRNA	Polonya	Tilki	100
MN820634	SSU rRNA	Türkiye	Tilki	100
MN820635	SSU rRNA	Türkiye	Tilki	100
MT321279	SSU rRNA	Türkiye	Kurt	100
JN175268	SSU rRNA	İngiltere	Kunduz	100
AB024424	SSU rRNA	Japonya	Rodent	99.5

SSU rRNA: small subunit ribozomal RNA.

EmNest (F/R) primer çifti ile elde edilen izolatların, GenBank veri tabanında kayıtlı referans *E. multilocularis* izolatlarıyla oluşturduğu filogenetik ağaç Şekil 4.5’de gösterilmiştir.



Taenia hydatigena dış grup olarak kullanıldı. Bu çalışmada elde edilen izolatlar koyu-yuvarlak şekil ile vurgulandı. Dalların yanındaki numaralar 1000 tekrarlı bootstrap değerlerini ‘%’ olarak göstermektedir. Ölçek çizgisi yerleşim yeri başına nükleotid değişimini göstermektedir.

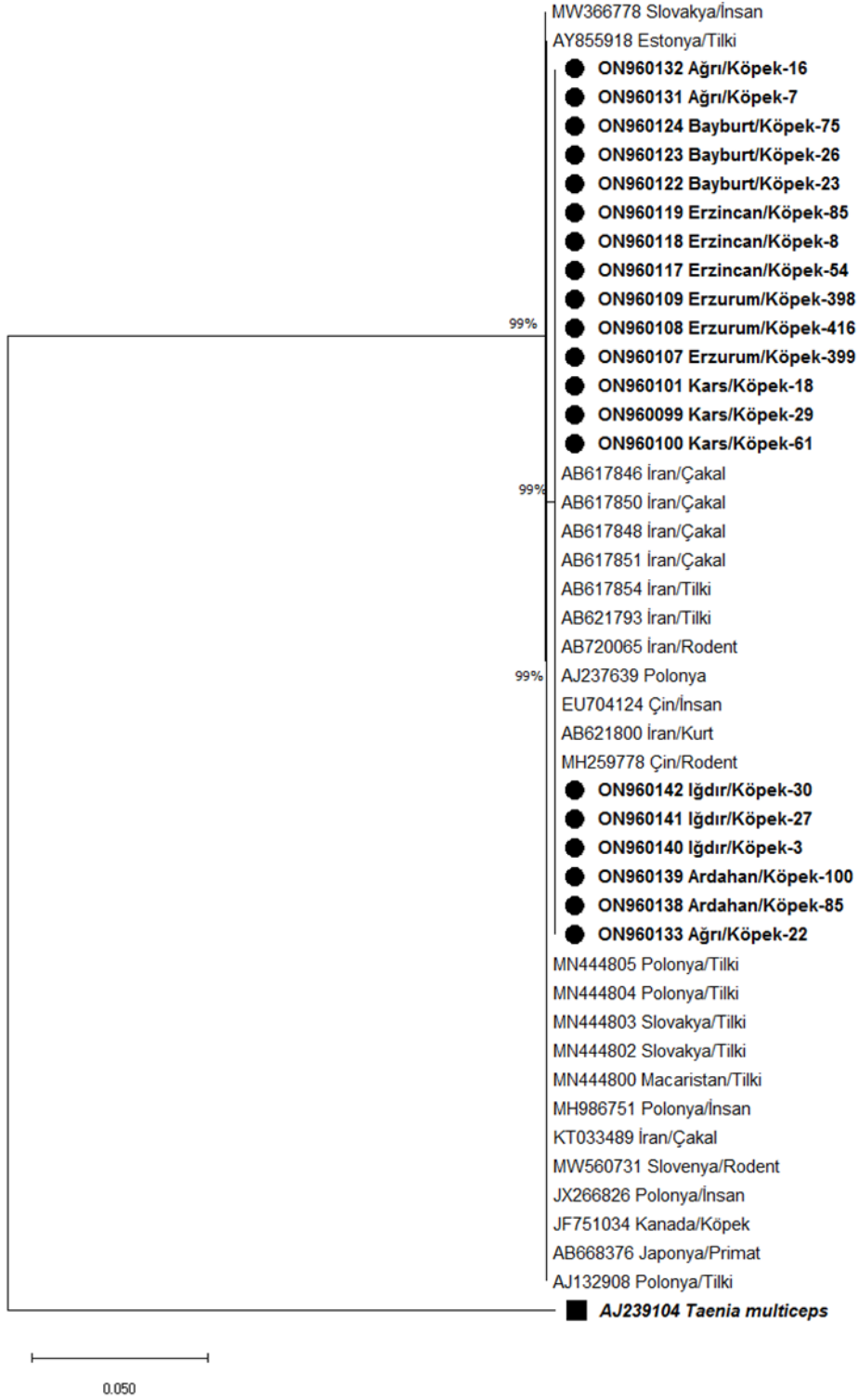
Şekil 4.5. *Echinococcus multilocularis* izolatlarının parsiyel 12S rRNA gen bölgesine göre filogenetik ilişkileri (Neighbour-joining metodu-Kimura 2 parametre modeli)

Elde edilen sekans verileri BLAST analizine tabi tutularak Genbank veri tabanına kayıtlı referans *E. multilocularis* izolatları ile benzerlikleri değerlendirildi. Benzerlik oranları Tablo 4.4'te verilmiştir. Bu çalışmada Cest1 (F) / Cest2 (R) primer çifti ile elde edilen izolatların kendi aralarında %100 benzer oldukları belirlendi.

Tablo 4.6. Cest1 (F) / Cest2 (R) Primer Çifti ile Elde Edilen İzolatların Genbank'a Kayıtlı İzolatlarla Benzerlik Oranları.

Erişim No	Ürün	Ülke	Konak	Benzerlik Oranı (%)
MH259778	NADH dehydrogenase subunit I	Çin	Rodent	100
AB621800	NADH dehydrogenase subunit I	İran	Kurt	100
AB621793	NADH dehydrogenase subunit I	İran	Tilki	100
AB617854	NADH dehydrogenase subunit I	İran	Tilki	100
AB617851	NADH dehydrogenase subunit I	İran	Çakal	100
AB617848	NADH dehydrogenase subunit I	İran	Çakal	100
AB617846	NADH dehydrogenase subunit I	İran	Çakal	100
AB617850	NADH dehydrogenase subunit I	İran	Çakal	100
AB720065	NADH dehydrogenase subunit I	İran	Rodent	100
MN444805	NADH dehydrogenase subunit I	Polonya	Tilki	99.7
MN444804	NADH dehydrogenase subunit I	Polonya	Tilki	99.7
MN444803	NADH dehydrogenase subunit I	Slovakya	Tilki	99.7
MN444802	NADH dehydrogenase subunit I	Slovakya	Tilki	99.7
MN444800	NADH dehydrogenase subunit I	Macaristan	Tilki	99.7
MH986751	NADH dehydrogenase subunit I	Polonya	İnsan	99.7
KT033489	NADH dehydrogenase subunit I	İran	Çakal	99.7
MW560731	NADH dehydrogenase subunit I	Slovenya	Rodent	99.7
JX266826	NADH dehydrogenase subunit I	Polonya	İnsan	99.7
JF751034	NADH dehydrogenase subunit I	Kanada	Köpek	99.7
MW366778	NADH dehydrogenase subunit I	Slovakya	İnsan	99.7
AB668376	NADH dehydrogenase subunit I	Japonya	Primat	99.7

Cest1 (F) / Cest2 (R) primer çifti ile elde edilen izolatların, GenBank veri tabanında kayıtlı referans *E. multilocularis* izolatlarıyla oluşturduğu filogenetik ağaç Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



Taenia multiceps dış grup olarak kullanıldı. Bu çalışmada elde edilen izolatlar koyu-yuvarlak şekil ile vurgulandı. Dalların yanındaki numaralar 1000 tekrarlı bootstrap değerlerini “%” olarak göstermektedir. Ölçek çizgisi yerleşim yeri başına nükleotid değişimini göstermektedir.

Şekil 4.6. *Echinococcus multilocularis* izolatlarının parsiyel NADH dehydrogenase subunit- I gen bölgesine göre filogenetik ilişkileri (Neighbour-joining metodu-Kimura 2 parametre modeli)

5. TARTIŞMA

Echinococcus multilocularis erişkini, başta kırmızı tilkiler olmak üzere vahşi ve evcil karnivorların ince bağırsaklarında, larval dönemi ise başta rodentler olmak üzere nadiren diğer evcil hayvanlar ve insanların karaciğer, akciğer ve diğer organlarında gelişen zoonoz karakterli bir parazittir.¹ Alveolar ekinokokkozis, DSÖ tarafından ihmal edilen tropikal hastalıklardan biri olarak kabul edilmektedir.^{42, 495}

Ekinokokkozisin yaşam döngüsünde, vahşi hayvanlar bulaşmaya marjinal olarak katkıda bulunabilse de, evcil köpekler ve çiftlik hayvanları başlıca konaklar olduğunda “evcil yaşam döngüsü” terimi, bulaşma esas olarak vahşi memeliler tarafından gerçekleştirildiğinde ise “silvatik yaşam döngüsü” terimi kullanılır.⁴ *Echinococcus multilocularis*, yaşamsal dinamiğini büyük oranda kırmızı tilki ve tarla faresi arasındaki avcı-av ilişkisine dayalı olarak silvatik yaşam döngüsünde devam ettirir.¹ Ayrıca kurt, çakal ve yabani kediler de silvatik yaşamda son konak olarak ortaya çıkmaktadır. Köpekler ise sahip olduğu intestinal kapasite ile evcil yaşam döngüsünden *E. multilocularis*’in silvatik döngüsüne dahil olmaktadır.⁷⁷ Evcil memelilerde çoğu zaman fertil kist gelişmemesi ve evcil köpeklerin çoğunlukla ara konak rodentler ile protoskolekslere ulaşabiliyor olması köpeklerin vahşi yaşamdan evcil yaşama bağlantı sağlayan bir köprü görevi üstlendiğini göstermektedir.^{284, 289, 337} Köpeklerdeki bu duruma ek olarak, kırmızı tilkilerin popülasyon büyüklüklerinin geçmişten günümüze sürekli artması, fırsatçı beslenme davranışları göstererek insan kaynaklı gıdalar ile beslenme alışkanlığını benimsemiş olmaları ve insanların yaşam alanlarının kırsal alanlara doğru genişlemesi *E. multilocularis*’in yaşamsal dinamiğini silvatik ve evcil yaşam döngüsünün iç içe geçtiği karmaşık bir hale getirmiştir.^{97, 270, 496-498}

Alveolar ekinokokkozisin hem yüksek hem de düşük endemikliğe sahip olduğu kırsal ve kentsel bölgelerde, tilkilerin %81-96, köpeklerin ise %4.1-15.4 oranlarında çevresel

kontaminasyona sebep olduğu bildirilmiştir.¹⁰³ Tilkilerin sebep olduğu çevresel kontaminasyon, serbest köpeklerin enfekte olmasına sebep olmaktadır.⁹⁸ Kırsal bölgelerde serbest dolaşan köpeklerin de *E. multilocularis*'in ana son konağı olabileceği bildirilmiştir.^{280, 499} Evcil yaşamda parazitin insanlara asıl bulaş yolunun köpeklere ait olduğu bilinmektedir.^{476, 500}

Alveolar ekinokokkozis, esas olarak gıda kaynaklı bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Genellikle köpekler aracılığıyla kontamine olmuş gıdaların tüketimi (çiğ tüketilen meyve ve sebze) yada *E. multilocularis* yumurtalarının kazara yutulması gibi durumlar insanlarda esas bulaş yolu olarak tanımlanmıştır.^{500, 501} Ayrıca son konak köpekler, insanlara *E. multilocularis* bulaşmasında doğrudan (sevme veya dokunma)^{13, 209} veya dolaylı olarak (çevrenin dışkı ile kontaminasyonu) katkıda bulunabileceği bildirilmiştir.^{97, 270}

İnsan AE, Orta ve Doğu Avrupa, Kuzey Asya ve Kuzey Amerika kıtalarında endemiktir. Özellikle Orta Avrupa, Baltık ülkeleri, Çin, Japonya, Moğolistan, Kırgızistan, Rusya, Alaska'nın batı bölgeleri ve Türkiye gibi bazı ülke ve bölgeler yüksek endemikliğe sahiptir.⁸ Türkiye, insan AE vakaları göz önüne alındığında, yüksek endemikliğe sahip ülkeler içerisinde dünyada üçüncü sırada yer almaktadır.⁴² Ülkemizde yıllık insan AE vaka sayısı 100 olarak hesaplanmış ve vakalar en fazla ülkenin kuzeydoğusundan bildirilmiştir.²² Kistik ekinokokkozisin ve AE'nin birlikte bu bölgede yüksek endemikliğe sahip olması ile ekinokokkozis önemli bir halk sağlığı problemi haline gelmiştir.^{25, 502}

Türkiye'de *E. multilocularis*'in son ve ara konakları üzerinde yürütülen çalışmalar sınırlı olup son konak olarak kırmızı tilkilerin (*Vulpes vulpes*) ara konak olarak ise *Microtus irani*'nin parazitin hayat döngüsünde rol oynadığı belirlenmiştir.^{8, 23, 24} Son on yılda yapılan çalışmalara bakıldığında, kırmızı tilkilere ait dışkı örneklerinde %2-10.5^{23, 356} ve tilki karkaslarında %0-42^{23, 354} oranlarında *E. multilocularis* bulunmuş, ayrıca bir vaşak²⁶ ve bir

kurt²⁷ karkasında erişkin parazit tespit edilmiştir. Sokak köpeklerinin enfektivitesi ise sadece Erzurum ilinden (%3.6) bildirilmiştir.²⁵

Türkiye'nin de dahil olduğu bir durum olarak, dünyada sokak köpeklerinin AE'nin yayılmasındaki rolü üzerine yürütülen çalışmalar irdelendiğinde, çalışmalar daha çok insan AE vakaları yönünden endemik kabul edilen bölgelerde yürütülmüştür.⁵⁰³ Ancak, *E. multilocularis*'in endemik olduğu her bölge veya ülkede araştırma bulunmamaktadır.^{42, 503} Türkiye için de aynı durum geçerli olup özellikle ülkenin kuzeydoğusu insan AE yönünden yüksek endemik olmasına rağmen bu bölgede *E. multilocularis*'in köpeklerdeki gerçek durumu bugüne kadar ortaya konulmamıştır. Sunulmuş olan bu çalışmada, Türkiye'de ilk olarak bölgesel kapsamda, sokak köpeklerinin *E. multilocularis* yönünden enfeksiyon durumunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

Köpeklerde *E. multilocularis*'in varlığı ve yaygınlığını belirlemek için kullanılan mevcut yöntem ve yaklaşımlar nekropsi, arekolin purgasyon, copro-ELISA ve copro-PCR'dir. Ülkemizde epidemiyolojik açıdan nekropsi yönteminin kullanılması mümkün değildir.⁵⁰⁴ Aynı zamanda, *E. multilocularis*'in bulaşması ve yayılmasına dair çalışmalarda dışkı materyalinin kullanılması, çevre kontaminasyonunu temsil ettiği için, nekropsi bakımından daha uygun olduğu bilinmektedir.¹⁰³ Arekolin purgasyon sonrası, *E. multilocularis*'in küçük boyutundan dolayı parazitin teşhis edilmesi zordur.²⁵⁹ Dışkıda antijen tespiti, köpeklerde *Echinococcus* spp. için kullanılabilir bir tarama testidir,^{432, 505} ancak *E. multilocularis* ile *E. granulosus s.l* varlığı, özellikle AE ve KE'nin ortak endemik seyir gösterdiği bölgelerde güvenilir şekilde ayırt edici bir yöntem olarak kabul edilmemektedir.^{6, 436, 437} Türe özgü DNA amplifiye etmek için kullanılan copro-PCR, antemortem dönemde köpeklerde *E. multilocularis* enfeksiyonunu doğrulamada uygulanabilir en uygun teşhis yöntemi olarak ifade edilmektedir.^{132, 180, 438-440}

Bu çalışmada köpeklerden elde edilen *E. multilocularis* pozitifliği, ante-mortem dönemde copro-PCR analizleri ile belirlenmiştir. Köpeklere praziquantel uygulaması sonrası dışkı örnekleri alınmıştır. Praziquantel intestinal evrede *E. multilocularis* üzerine %100 etkilidir.⁴⁶⁶ Praziquantel uygulaması sonrası özellikle 24 saat içerisinde dışkıda bol miktarda erişkin parazite ait doku, parça ve yumurta bulunabileceği ve teşhis edilebileceği bildirilmiştir.¹⁸⁰ Daha sonra, total dışkıdan tenya tip yumurtaların izolasyonu amacıyla sequential sieving/flotasyon yöntemi⁴⁵³ uygulanmıştır. Sequential sieving/flotasyon yönteminin düşük yumurta yoğunluğuna sahip *Echinococcus* spp. enfeksiyonları için yüksek duyarlılığa sahip olduğu bildirilmiştir.³¹⁶ Tenya tip yumurtaların dışkı içerisinde heterojen dağılımı yanlış negatif sonuçlara sebep olabilir.^{438, 506} Bu çalışmada sequential sieving/flotasyon yöntemi, çoğu dışkı örneğinde birkaç defa tekrarlanmış ve yanlış negatif sonuçların engellenmesine çalışılmıştır.

Dışkıda *E. multilocularis*'in yumurtalarına ait DNA'nın tespiti parazitin sadece patent dönemini kapsamaktadır.²⁷⁵ Tenya tip yumurta izolasyonu sonrası PCR ile teşhis *E. multilocularis* için %60 duyarlılık içermektedir.²⁵⁹ Dışkıdan DNA ekstraksiyonu aşaması, hücre lizisinin mekanik veya enzimatik yöntemler ile gerçekleşmesi ve ekstraksiyon sırasında PCR inhibitörlerinin uzaklaştırılması gibi kritik yaklaşımlar içermektedir.^{506, 507} Bu durumlara ek olarak, dışkıdan elde edilen yumurta konsantrasyonu ve diğer parazitler DNA'ların varlığı da yöntemin duyarlılığını etkilemektedir.^{122, 257, 453, 508} Tenya tip yumurtaların izolasyonu sonrası, yumurtalar ilk olarak dondurma ve çözündürme işlemine tabi tutularak DNA'nın mekanik olarak serbest kalması sağlanmıştır. Bu işlem yumurtanın yapısına zarar vererek DNA'nın serbest kalmasına ve mekanik olarak PCR inhibitörlerinin zarar görmesine sebep olmaktadır.⁵⁰⁶ Ancak ekstraksiyon sonrası inhibitör varlığını belirlemeye yönelik bir işlem gerçekleştirilmemiştir. Ayrıca, amplifikasyon sonucu az

miktarda PCR ürünü elde edilen örneklerde, ekstrakte edilen DNA'nın 1:100 veya 1:1000 oranında sulandırılması ile inhibitör miktarının azaltılması sağlanmıştır.⁴⁵⁶

Dışkıdan DNA ekstraksiyonu için Isaksson ve ark.¹³² tarafından, Magnetic Capture tabanlı, çok az miktarda inhibitör içermesi ile sonuçlanan bir ekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir. Qines ve ark.⁴⁵⁵ ise bu yöntemin sequential sieving/flotasyon yöntemine göre çok daha duyarlı olduğunu ortaya koymuştur. Ancak bu yöntemin çok daha pahalı olması ve daha fazla laboratuvar ekipmanı gerektirmesi^{132, 456} sebebiyle sequential sieving/flotasyon sonrası ticari DNA ekstraksiyon kiti kullanılarak, tenya tip yumurtadan total DNA ekstraksiyonu protokolü tercih edilmiştir. Ticari DNA ekstraksiyon kitleri, *E. multilocularis* yumurtalarından DNA elde edilmesi için iyi bir alternatif olarak değerlendirilmektedir.^{122, 257, 453, 506, 508} Total DNA ekstraksiyonu sonrası, farklı gen bölgelerini (12S rRNA¹²²; NADH dehydrogenase subunit I¹⁸⁰) kısmi amplifiye eden *E. multilocularis* türüne spesifik primerler kullanılarak PCR analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri ticari olarak çift yönlü (forward/reverse) sekans analizine tabi tutulmuş ve *E. multilocularis*'in moleküler karakterizasyonu ortaya konulmuştur.

Toews ve ark.⁵⁰³ tarafından, dünyada *E. multilocularis*'in köpeklerdeki prevalansı meta-analiz yöntemiyle incelenmiştir. Bu derlemede görünür yaygınlığın (görünür yaygınlık tahmini) dünyada %0 ile %56.1 arasında değiştiği, kıtalardaki dağılımın ise Asya (%4.76) kıtası köpeklerinde Avrupa (%0.19) kıtasından daha yüksek olduğu ve Kuzey Amerika (%0.8) kıtasındaki çalışmaların prevalansı yetersiz temsil ettiği ifade edilmiştir. Köpeklerdeki bu pozitiflik dağılımı, insan AE vakalarının dünyadaki dağılımı ile benzerlik göstermektedir.^{9, 503}

Echinococcus multilocularis'in köpeklerdeki varlığına ülkeler bazında bakıldığında zaman zaman Avrupa kıtasındaki ülkelere Fransa'da %0-11.1^{97, 98, 103-105, 122}, Almanya'da %0.24-1.27^{112, 122}, Polonya'da %1.4-1.5^{171, 172}, Avusturya'da %0¹²², Hollanda'da %0^{122, 128},

Çekya’da %1.8¹⁴⁴, Slovakya’da %0.1-2.9^{151, 152, 154, 157}, Litvanya’da %0.8-5.9^{179, 180}, Danimarka’da %0¹²², İsviçre’de %0.1-7^{92, 197, 208, 377} ve İtalya ve Büyük Britanya’da %0¹²² yaygınlık bildirilmiştir. Asya kıtasındaki ülkelerde, Rusya’da %3.6²⁵⁵, Kazakistan’da %4.6-5^{257, 505}, Kırgızistan’da %2-11^{259, 261}, Moğolistan’da %25.4²⁶², Japonya’da %0.2-7.1^{264, 265, 269-272, 274-276}, Çin’de %3.3-76.2^{243, 279-291} ve İran’da %0-6.5^{295-297, 299} parazitin varlığı bildirilmiştir. Amerika kıtasında ise sadece Kanada’dan %0.2³⁴³ oranında bir bildirim yapılmıştır. Bu çalışmada ise Türkiye’nin yedi ilinin dahil edildiği Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi sokak köpeklerinde, *E. multilocularis*’in yaygınlığı %8.7 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonucun, Asya kıtası köpeklerinden bildirilen prevalans oranları ile benzer aralıkta iken Avrupa kıtası köpeklerinden bildirilen değerlerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Köpekler üzerindeki çalışmalardan elde edilen *E. multilocularis*’in prevalans sonuçları, parazitin farklı coğrafyalardaki farklı ekolojik etkileşimi, köpeklerin farklı ülke ve bölgelerde insanlarla farklı yaşayış biçimlerine sahip olması, çalışmanın kapsamı, çalışmanın ante mortem veya post mortem dönemde yapılması ve kullanılan teşhis yönteminin duyarlılığı gibi birçok faktöre göre değişkenlik gösterebilmektedir.⁵⁰³

Köpeklerde *E. multilocularis*’in intestinal gelişimi, tilkiler ile benzer son konak karakteristiğine sahiptir. Üreme hızı ve yüksek biyotik potansiyel ile neredeyse aynı yumurta üretim periyoduna sahiptir.^{11, 199} Ancak parazitin endemik olduğu bölgelerde, köpeklerdeki parazit yaygınlığı genellikle tilkilerden daha düşüktür ve bu durum köpeklerin beslenme alışkanlıkları gereği daha az oranda ara konaklar ile temas etmesinden kaynaklanmaktadır.⁵⁰³ Ekolojik olarak *E. multilocularis*’in endemik olduğu alanlarda, vahşi son konaklar ile özellikle serbest dolaşıma sahip sokak köpekleri arasında, yaşamsal bir örtüşme ortaya çıkmaktadır. Bunun sonucu olarak, silvatik yaşamdaki *E. multilocularis*, köpekler sayesinde evcil yaşamda devamlılığını sürdürebilmektedir.^{97, 152, 270, 503} Nitekim vahşi son konaklar ve evcil köpeklerin kentsel ve kente yakın bölgelerde insanlar ile beraber bulunduğu ifade

edilmektedir.^{13, 509} Dolayısıyla köpeklerin *E. multilocularis* ile ilişkisini değerlendirirken, ana son konak tilkiler ve ara konak rodentler ile ilişkisini ve bu konaklardaki *E. multilocularis* yükünü dikkate almak önemlidir.⁷⁷ Tilki ve köpeklerin *E. multilocularis* yüklerine dair bildirimlere bakıldığı zaman, Avrupa kıtasında Fransa’da tilkilerde %9.8-63, köpeklerde %0-11.1; Almanya’da tilkilerde %0.4-80, köpeklerde %0.4-1.27; İsviçre’de tilkilerde %6.3-59.5, köpeklerde %0.1-7; İtalya’da tilkilerde %1.04-4.8, köpeklerde %0; Çekya’da tilkilerde %10.6-60, köpeklerde %1.8; Slovakya’da tilkilerde %7.4-42.7, köpeklerde %0.1-2.9; Polonya’da tilkilerde %0.6-51.4, köpeklerde %1.4-1.5 ve Litvanya’da tilkilerde %57.3-58.7 köpeklerde %0.8-5.9’dur. Asya kıtasında, Rusya’da tilkilerde %15-80, köpeklerde %3.6-18; Kazakistan’da tilkilerde %5.5-26.5, köpeklerde %4.6-5; Kırgızistan’da tilkilerde %64, köpeklerde %2-11; Moğolistan’da tilkilerde %7.8-50, köpeklerde %25.4; Japonya’da tilkilerde %12.9-56.7, köpeklerde %0.2-7.1; Çin’de tilkilerde %4-36.2, köpeklerde %3.3-76.2; Pakistan’da tilkilerde %4.4, köpeklerde %0; Özbekistan’da tilkilerde %8.6-10, köpeklerde %0.15 ve İran’da tilkilerde %0-22.9, köpeklerde %0.15’dir.⁵⁰³ Türkiye’de ise tilkilerde %2-10.5, köpeklerde ise %3.6 oranında pozitiflik bildirilmiştir.^{23,}
^{25, 356} Tilki ve köpeklerdeki genel prevalans farkına bakıldığı zaman, Asya kıtası köpeklerindeki oran Avrupa kıtasındaki köpeklere kıyasla tilkilerdeki pozitifliğe daha yakındır. Sunulmuş olan bu çalışmada da, köpeklerden elde edilen pozitiflik oranı (%8.7), Asya kıtasındaki köpekler ile benzer şekilde tilkilerdeki yaygınlık değerlerine yakındır. Bu durum, tilkilerdeki enfeksiyon yükünün köpekler için potansiyel enfeksiyon kaynağı olabilmesi, aynı zamanda bu bölgede köpeklerin enfekte rodentlere daha kolay ulaşabiliyor olması ile açıklanabilir. Ayrıca köpeklerin insanlara yakın teması nedeni ile Asya kıtasının bazı bölgeleri için AE’nin yayılması ve bulaşmasında köpeklerin tilkilerden daha önemli role sahip olduğu^{261, 510} ve benzer durumun Türkiye’nin kuzeydoğusu için de geçerli olabileceği düşünülmektedir.

İnsan AE ile ilişkili potansiyel risk faktörlerinin meta-analizinin yapıldığı bir çalışmada, Avrupa'da köpeklerin rolünün Çin ve Kuzey Amerika'daki kadar önemli olmadığı ancak köpek sahipliğinin küresel olarak insan AE'sinin yayılmasında en önemli risk faktörü olduğu belirlenmiştir.⁵¹¹ Köpekler, tilki dışkılarıyla enfekte olan rodentleri avlayarak enfekte olmaktadır. Köpeklerin enfekte olabilmesi, hareketlerinin kentsel/kırsal alanlarda ne kadar kontrollü olduğu ve sahipli/sahipsiz olması ile alakalı olduğu durumuna bağlıdır.^{152, 503, 512} Sahipli köpeklerden ziyade serbest dolaşıma sahip olan av köpekleri veya sokak köpeklerinin daha yüksek enfeksiyon riskiyle karşı karşıya kaldığı bildirilmiştir.^{98, 152, 259} Köpeklerdeki bu farklılığa dair veriyi Antolova ve ark.¹⁵², Slovakya'dan bildirmiş olup sahipli köpeklerde pozitiflik oranını %0, serbest köpeklerde ise %5 tespit etmişlerdir. Benzer şekilde, İsviçre'de sahipli köpeklerde oran %0.3 iken serbest dolaşıma sahip köpeklerde %7 *E. multilocularis* pozitifliği bildirilmiştir.^{197, 481} Ayrıca köpeklerin bulunduğu bölgedeki yaşamsal durumunun önemi Çin'deki bir çalışmada ortaya konulmuştur. Tibet'de, geleneksel olarak erkek köpeklerin çobanlar tarafından daha çok tercih edildiği ve çalışmada *E. multilocularis* pozitifliğinin erkek köpeklerde daha yüksek oranda bulunduğu bildirilmiştir.²⁸⁹ Bu durum, çoban köpeklerinin daha fazla serbest dolaşıma sahip olması ve alveolar kist taşıyan rodent ile daha fazla karşılaşmasından kaynaklanmaktadır.^{97, 98} Bu çalışmanın yürütüldüğü bölgede, örnek alınan köpekler serbest dolaşıma sahip sokak köpekleridir. Örneklerin alınması sırasında, barınak yetkililerinden edinilen bilgilere göre barınaktaki köpekler, genellikle ihbar çağrısı üzerine ilçeler de dahil olmak üzere ya şehir merkezinden yada şehir merkezine yakın yerlerden toplanmaktadır. Barınağın kapasitesine göre toplanan köpekler, belirli bir sayıya ulaşıktan sonra rutin olarak kısırlaştırma ve antiparaziter ilaç uygulaması sonrası tekrar serbest bırakılmaktadır. Ancak gözlemlerimiz sonucunda yedi ile ait barınakların tamamına yakınında yeterli antiparaziter ilaç olmadığı ve toplanan köpeklerin tümüne rutin olarak ilaç uygulaması yapılmadığı görülmüştür. Aynı

zamanda, köpekler çoğunlukla ihbar çağrısı üzerine toplandığı için birçok serbest köpeğin barınağa getirilmediği (bölge köpek hareketliliği açısından rutin olarak kontrol altında değildir) ve paraziter tedavi uygulanmadığı da gözlemlenmiştir. Köpeklerin sahipli/sahipsiz veya kontrollü/kontROLSÜZ olma durumlarına göre yapılan çalışmaların sonuçlarını sunulmuş olan bu çalışma ile karşılaştırdığı zaman; Avrupa kıtasında %0.1-2.7^{97, 151, 157, 172, 179, 208} oranlarında, Asya kıtasında %0.3-18.4^{255, 257, 259, 270, 271, 276, 289, 291, 295} arasında pozitiflik bildirilmiştir. Yukarıda verilen çalışmalarda, bu çalışma ile aynı metodoloji kullanılmıştır ve bu çalışmada elde edilen sonuç (%8.7) Asya kıtasındaki raporlar ile benzerlik göstermektedir. Bu durum Asya kıtasında serbest dolaşıma sahip köpeklerin, Avrupa kıtasında ise sahipli köpeklerin çalışmalara dahil edilmesi ile açıklanabilir. Sunulmuş olan bu çalışmaya, sadece sokak ve serbest dolaşıma sahip köpeklerin dahil edilmesinden dolayı, sahipli köpeklerdeki *E. multilocularis* varlığı ve yaygınlığı ile mukayese yapılamamaktadır. Ancak bu çalışmanın yürütüldüğü Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde, hareketleri kontrol edilmeyen ve rutin anti paraziter uygulaması yapılmayan çok sayıda serbest dolaşıma sahip sokak köpeğinin olması ve bu köpeklerde yüksek oranda *E. multilocularis* varlığı tespit edilmesinin insan AE' si için köpek sahibi olunmasına göre çok daha fazla risk içerdiğini göstermektedir. Aynı zamanda köpeklerdeki yüksek pozitiflik, enfeksiyon odaklarının belirsizliği ve barınaklardan tekrar serbest bırakılan köpeklerin toplandığı bölgeden farklı lokasyonlarda serbest bırakılması; hastalığın endemik olmayan yeni yerlere taşınmasına sebep olabileceği için hastalığın yaygınlaşması açısından büyük riskler içermektedir. Nitekim köpekler insanlar için, *E. multilocularis*'in endemik olmayan yeni alanlara girmesi ve endemik bölgelerde parazit yayılımına sebep olması açısından potansiyel olarak önemli son konaklar olarak kabul edilirler.^{80, 513}

Bu çalışmada, erkek köpeklerde (%11.7) dişi köpeklere (%7.4) kıyasla daha yüksek oranda *E. multilocularis* pozitifliği belirlenmiştir ($p<0.05$). Köpeklerde avlanma eğiliminin

cinsiyete göre farklılık gösterdiğine dair bir veri bulunmamaktadır.⁵¹⁴ Bu çalışmada, dışkı örneği alınan köpeklerin cinsiyetlerine göre farklı yaşamsal koşullara sahip olmadığı, tamamının serbest dolaşıma sahip köpekler olduğu bilinmektedir. Böylece *E. multilocularis* pozitifliğinin köpeklerin cinsiyeti açısından değerlendirilmesi mümkün olmayabilir. Ancak daha önce yapılan çalışmalarda, erkek köpeklerin dişilere kıyasla yaşam alanlarından daha uzak mesafelerde harekete sahip olduğu bildirilmiştir.^{243, 261} Bu veriye dayanarak, erkek köpeklerin rodent ile karşılaşma ihtimallerinin daha yüksek olabileceği düşünülmektedir. Benzer şekilde Antalova ve ark.¹⁵², cinsiyetin köpeklerde *Echinococcus* spp. enfeksiyonu üzerine etkisi olmadığını, asıl faktörün köpek hareketlerinin kısıtlı olup olmamasına bağlı olduğunu bildirmiştir.

Dışkı örneklerinden sequential sieving/flotasyon yöntemi ile elde edilen tenya tip yumurtalar, *Taenia* spp., *E. granulosus* s.l ve *E. multilocularis* türlerine ait olabilir⁷⁴. Yumurtadan total DNA ekstraksiyonu sonrası spesifik *E. multilocularis* PCR analizlerinde diğer paraziter DNA'ların varlığı reaksiyonun duyarlılığını etkilemektedir.^{122, 257, 453, 508} Bu çalışmada, <20 adet yumurta (%35.2) içeren örneklerde >20 adet yumurta (%27.9) içeren örneklere göre daha yüksek oranda *E. multilocularis* DNA'sı tespit edilmiştir (p>0.05). Bu durum yüksek yoğunlukta yumurta içeren örneklerde, *E. multilocularis* spesifik PCR reaksiyonunun diğer *Taenia* türleri ve paraziter DNA'lar tarafından inhibisyona uğratılması ile açıklanabilir.

Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde yürütülmüş olan bu çalışmada, tüm illerdeki sokak köpeklerinde *E. multilocularis* varlığı tespit edilmiştir. *Echinococcus multilocularis* pozitifliği en yüksek Bayburt (%14.4) ilinde, daha sonra Iğdır (%13.2), Kars (%10.4), Erzurum (%8.3), Ağrı (%6.9), Erzincan (%6.9) ve Ardahan (%1.9)'da tespit edilmiştir. Tüm illerden toplanan dışkı örnekleri için aynı örnekleme ve teşhis yöntemleri uygulanmıştır. İllerdeki prevalans farklılıkları, dışkı örneklerinin alınması sırasında *E. multilocularis*'in

patent veya prepatent dönemde olması durumuna ve dışkı ile yumurtaların düzensiz aralıklar ile atılmasına veya tenya tip yumurtaların dışkı içerisinde homojen dağılmamasına göre farklılık gösterebilir.^{180, 292, 450, 515} Ayrıca çalışma bölgesinde, köpeklerin barınak yetkililerince bulunduğu konumdan farklı illerin dışına taşındığı tarafımızca bilinmektedir. Dolayısıyla çalışma bölgesinde elde edilen genel prevalans (%8.7) bölgesel kapsamda sokak köpeklerindeki *E. multilocularis* varlığını yansıtıyor olsa da, illere göre değişkenlik gösteren enfeksiyon değerleri, kontrol altında olmayan köpek hareketliliğinin etkisi ile ortaya çıkmış olabilir. Bölgedeki illerden, Erzurum ili haricinde bugüne kadar son konak ve ara konaklarda *E. multilocularis*'in varlığına dair bir kayıt bulunmamaktadır. Bu çalışmada Erzurum ili sokak köpeklerinde %8.3 oranında pozitiflik belirlenmiştir. Daha önce yürütülen bir çalışmada (2015-2016) ise Erzurum ilinde köpeklerde %3.6²⁵ oranında pozitiflik bildirilmiş olup sunulmuş olan bu çalışmada oran daha yüksektir. Aynı çalışma sahasına ait köpeklerdeki bu prevalans farkı, çalışmaların farklı tarihlerde gerçekleştirilmesi ve *E. multilocularis*'in örnek alındığı sıradaki yaşamsal evresine (prepatent/patent dönem) göre farklılık gösterebileceği ile açıklanabilir. Türkiye genelinde, kırmızı tilkilerin popülasyonu ile alakalı bir kayıt sistemi bulunmamaktadır. Ancak, kırmızı tilkilerin avlanmasının yasak olması ve özellikle tarım arazilerinde tarla farelerini avlaması sebebiyle tilkilerin faydalı olduğu düşüncesiyle tilki popülasyonunda artış olduğu düşünülmektedir.²² Ayrıca, tilkilerin insanların yaşam alanlarına adapte olması ve bu alanlarda çevresel kontaminasyon ile birlikte hem ara konak rodentlerin hem de köpeklerin enfekte olmasına sebep olmaktadır.^{481, 516} Erzurum ilinde tilki karkaslarında %42 ve tilki dışkılarında ise %10.5 oranında pozitiflik bildirilmiştir.²³ Erzurum ili sokak köpeklerindeki oran (%8.3), tilkilerden bildirilen pozitiflik oranlarından daha düşüktür ve bu fark normal kabul edilmektedir.

Türkiye'de insanlardan bildirilen AE vakaları güncel olarak Gürler ve ark.²² tarafından derlenmiştir. Sunulan rapora göre günümüze kadar ikamet kaydı ile toplamda 350

insan AE vakası bildirilmiş olup, bu vakaların çalışma bölgesindeki illere göre dağılımı; Erzurum'dan 143, Kars'tan 58, Ağrı'dan 18, Erzincan 9, Ardahan 7, Bayburt'tan 4 ve Iğdır'dan 3 şeklindedir. Türkiye genelinde ise günümüze kadar 603 ile 916 insan AE vakası rapor edilmiş ve vakaların çoğunun bu çalışmaya dahil edilen illerin olduğu Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nden bildirilmiştir.²² Türkiye'de insan AE vakalarının bu bölgede yoğunlaşması, bu çalışmada sokak köpeklerinden elde edilen yüksek orandaki (%8.7) *E. multilocularis* pozitifliği ile paralellik göstermektedir.

İnsanlara AE bulaşmasında asıl konakların köpekler olduğu düşünüldüğünden^{11, 59, 60}, köpeklerdeki *E. multilocularis* pozitifliği ile insan AE vakalarının paralellik göstermesi beklenmektedir. Ancak sunulmuş olan bu çalışmada, en yüksek pozitiflik Bayburt ilinde tespit edilmişken, Bayburt'daki insan AE olgu sayısı yedi il içerisinde en az olan iller içerisinde. Benzer şekilde, insan AE riskinin en fazla olduğu illerin Erzurum ve Kars olduğu bildirilmiş²² ancak çalışmamızda köpeklerdeki pozitiflik dağılımı insan olgu sayıları ile paralellik taşımamaktadır. Bu çalışmadaki sonuçların, insan AE olgu sayıları ile bire bir benzerlik göstermemesi; vaka kayıtlarının eski yıllara ait olması, Türkiye'de insan ekinokokkozis olgularının kayıt edilmesinin 2005 yılından sonra zorunlu hale gelmesi, AE'nin 5-15 yıllık prepatent süresine bağlı olarak insanların bulunduğu konumdan farklı bir yerde etkeni alması ve Erzurum ilinde sağlık kuruluş ve hizmetlerinin diğer illere kıyasla çok daha kapsamlı olmasından dolayı farklı illere ait vakaların Erzurum iline kaydedilmesi gibi sebepler ile açıklanabilir.^{22, 517}

Çalışmaya dahil edilen illerin demografik ve coğrafik yapılarını irdelemek hem köpek *E. multilocularis* pozitifliğini hem de insan AE riskini daha kapsamlı değerlendirmeye imkan sağlar. Demografik olarak Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi, Türkiye'de insan nüfus yoğunluğunun en az olduğu bölgedir. Bölgede en fazla nüfus Erzurum ve Kars illerinde bulunmaktadır. Sanayi faaliyetlerinin azlığı sebebiyle özellikle hayvancılık olmak üzere

tarım yapılmaktadır. Kentleşme gelişmiş bir yapı göstermemekle beraber genel olarak tarım arazileri, çayır ve meralar kentsel yaşam alanlarına yakın ve iç içedir.⁴⁹⁴ İklimsel olarak ise Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde karasal iklim hakim olup Türkiye'de yükseltisi en fazla olan bölgedir. Yıllık ortalama sıcaklık 10.2°C ve ortalama yıllık bağıl nem %50.2'dir.⁴⁹³ *Echinococcus multilocularis* ise KYK'nın soğuk ve ılıman bölgelerinin çoğunda bulunur^{4, 93} ve son konakların dışkıları ile atılan yumurtalar doğada ortalama nem ve -18°C'de aylarca enfekte kalabilir.⁴⁵ Çalışma bölgesindeki bu demografik ve iklimsel özellikler, *E. multilocularis*'in hem kırsalda hem de şehir merkezinde yaşamını devam ettirebileceğine işaret etmektedir. Daha önce yürütülen çalışmalar¹⁴ ile birlikte bu çalışmada da elde edilen sonuç (%8.7), yüksek insan AE vakalarının bu bölgeden bildirilmesini açıklar niteliktedir.

Echinococcus multilocularis'in biyolojik çeşitliliği, farklı filogenik ve moleküler epidemiyolojik çalışmalarda araştırılmaya çalışılmıştır. Bu çalışmalarda, *E. multilocularis*'in Avrupa, Asya, Kuzey Amerika ve Çin'den elde edilen örneklerinin çok farklı genetik çeşitliliğe sahip olduğu bildirilmektedir.²⁷⁰ Bu doktora tez çalışmasında da elde edilen izolatlar, daha önce bölgede yürütülen çalışmalardan ve dünyadan bildirilen izolatlar ile karşılaştırılmış ve epidemiyolojik açıdan değerlendirilmiştir. Elde edilen izolatların hem 12S rRNA gen bölgesinde hem de NADH dehydrogenase subunit I gen bölgesinde kendi aralarında %100 benzer oldukları belirlenmiştir. Dünyanın farklı bölgelerinden ve farklı konaklardan bildirilen izolatlar ile yapılan karşılaştırmalarda ise 12S rRNA gen bölgesinde benzerliğin %77.4-100 oranlarında, NADH dehydrogenase subunit I gen bölgesinde ise %99.7-100 oranlarında olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca son yıllarda *E. multilocularis*'in polimorfizmini araştırmak için mikrosatellite (EmsB) analizi yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu EmsB belirteci, fragman analizlerinde, genetik çeşitlilik seviyesinin tanımlanmasına olanak sağlayarak bölgesel ve yerel coğrafik ölçeklerde çeşitli profillerin ortaya konulmasına imkan sunmaktadır.⁸⁹ Daha önceki çalışmalarda, Türkiye'den elde

edilen izolatların mikrosatellite analizi sonucu, Erzurum ilinde hem Asya hem de Avrupa profillerinin tespit edildiği bildirilmiştir.⁹⁰ Bu çalışmada ise mikrosatellite analizi çalışma bütçesinin yetersizliği nedeniyle gerçekleştirilememiştir, ancak elde edilen izolatların polimorfimizinin ortaya konulması adına mikrosatellite analizlerinin yapılması gerekmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Alveolar ekinokokkozis, KYK'nın zoonoz karakterli, tedavi edilmeyen durumlarda öldürücü olan bir helmint hastalığıdır ve yıllık mortalitesi (yaklaşık 18000) göz ardı edilen tropikal hastalıklar grubundaki hastalıkların yıllık mortalitesi (177000)'nin onda birinden daha fazladır. Dünya'da ve Türkiye'de, sokak köpeklerinin AE'nin yayılmasındaki rolü üzerine yürütülen çalışmalar, daha çok insan AE vakaları yönünden endemik kabul edilen bölgelerde yürütülmüştür. Türkiye'nin Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi, dünyada insan AE yönünden yüksek endemikliğe sahiptir ve *E. multilocularis*'in köpeklerdeki varlığına ve yaygınlığına dair bölgesel kapsamdaki ilk araştırma bu doktora tez çalışması ile tamamlanmıştır.

Sunulmuş olan bu doktora tez çalışması, Türkiye'nin Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde yer alan Ağrı, Ardahan, Bayburt, Erzincan, Erzurum, Iğdır ve Kars illerine ait sokak köpeklerinde yüksek oranda *E. multilocularis* varlığını rapor etmektedir. Aynı zamanda, AE'nin yayılmasında son konak olarak köpeklerin rolünün ortaya konulmasına dair çıkarımlar sunmaktadır. Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde sokak köpeklerinden örneklenen dışkılarda, sequential sieving/flotasyon yöntemi ile tenya tip yumurta izole edilmiştir. Tenya tip yumurtalardan total DNA ekstraksiyonu sonrası PCR analizleri ile *E. multilocularis* DNA'sı belirlenmiştir. Çalışmaya dahil edilen tüm illerdeki köpeklerde *E. multilocularis* varlığı tespit edilmiştir: Bayburt (%14.4), Iğdır (%13.2), Kars (%10.4), Erzurum (%8.3), Ağrı (%6.9), Erzincan (%6.9) ve Ardahan (%1.9). Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi, sokak köpeklerinde *E. multilocularis* pozitifliği %8.7 (93/1069) olarak belirlenmiştir. Bu tez çalışması ile Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde, insan AE'nin yayılmasında köpeklerin rolü ortaya konulmaya çalışılmıştır. İnsanlara yakın teması nedeniyle yüksek oranda enfeksiyon yüküne sahip olmalarından dolayı köpeklerin, AE'nin insanlara bulaşmasında tilkilerden daha ön planda olduğu bu çalışma ile de vurgulanmıştır.

Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde insan AE'nin yayılmasına yönelik koruma ve kontrol stratejilerinin geliştirilmesine ve uygulanmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu stratejilere yönelik öneriler aşağıda sunulmuştur;

- Bölgede yer alan yerel ve merkezi yönetimler ile AE'nin kontrolüne yönelik çalışmalarda işbirliği sağlanması,
- Bölgede yaşayan halkın hastalık hakkında bilgilendirilmesi ile farkındalığın oluşturulması,
- Bölgede enfeksiyon yükünün takip edilmesi için düzenli sürveyans çalışmalarının uygulanması,
- Bölgede yaşayan insanların periyodik olarak AE yönünden taranması ve hastalığın erken dönemde teşhisinin sağlanması,
- Serbest dolaşıma sahip köpeklerin iller arasında ve il içerisinde hareketlerinin kontrol altına alınması ve sınırlandırılması,
- Son konak köpeklerin periyodik aralıklar ile tedavi edilmesi,
- Kırmızı tilkilerin ve diğer vahşi son konak rolündeki karnivorların tedavi edilmesi.

KAYNAKÇA

1. Eckert J, Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clinical Microbiology Reviews*, 2004, 17: 107-135.
2. McManus DP, Zhang W, Li J, Bartley PB. Echinococcosis. *The Lancet*, 2003, 362: 1295-1304.
3. Nakao M, Lavikainen A, Yanagida T, Ito A. Phylogenetic systematics of the genus *Echinococcus* (Cestoda: Taenidae). *International Journal for Parasitology*, 2013, 43: 1017-1029.
4. 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. *Advances in Parasitology*, 2017, 95: 213-314.
5. Thompson R. Biology and systematics of *Echinococcus*. *Advances in Parasitology*, 2017, 95: 65-109.
6. Mathis A, Deplazes P. Copro-DNA tests for diagnosis of animal taenia cestodes. *Parasitology International*, 2006, 55: 87-90.
7. Organization WH. *World health statistics 2015*. Baskı. World Health Organization, 2015.
8. Deplazes P, Rinaldi L, Rojas CA, Torgerson P, Harandi M, Romig T, Antolova D, Schurer J, Lahmar S, Cringoli G. Global distribution of alveolar and cystic echinococcosis. *Advances in Parasitology*, 2017, 95: 315-493.
9. Baumann S, Shi R, Liu W, Bao H, Schmidberger J, Kratzer W, Li W. Worldwide literature on epidemiology of human alveolar echinococcosis: a systematic review of research published in the twenty-first century. *Infection*, 2019, 47: 703-727.

10. Konyaev SV, Yanagida T, Ingovatova GM, Shoikhet YN, Nakao M, Sako Y, Bondarev AY, Ito A. Molecular identification of human echinococcosis in the Altai region of Russia. *Parasitology International*, 2012, 61: 711-714.
11. Kapel C, Torgerson P, Thompson R, Deplazes P. Reproductive potential of *Echinococcus multilocularis* in experimentally infected foxes, dogs, raccoon dogs and cats. *International Journal for Parasitology*, 2006, 36: 79-86.
12. Knapp J, Gottstein B, Saarma U, Millon L. Taxonomy, phylogeny and molecular epidemiology of *Echinococcus multilocularis*: from fundamental knowledge to health ecology. *Veterinary Parasitology*, 2015, 213: 85-91.
13. Deplazes P, Hegglin D, Gloor S, Romig T. Wilderness in the city: the urbanization of *Echinococcus multilocularis*. *Trends in Parasitology*, 2004, 20: 77-84.
14. Avcıoğlu H, Akyüz M, Kirman R, Balkaya İ, Güven E. Alveolar Echinococcosis Riski Kırsalda mı Yoksa Şehirde mi Daha Fazla?. 22. Parazitoloji Kongresi 11–15 Ekim 2021, Didim, Aydın.
15. Tappe D, Kern P, Frosch M, Kern P. A hundred years of controversy about the taxonomic status of *Echinococcus* species. *Acta Tropica*, 2010, 115: 167-174.
16. Vuitton D, Zhou H, Bresson-Hadni S, Wang Q, Piarroux M, Raoul F, Giraudoux P. Epidemiology of alveolar echinococcosis with particular reference to China and Europe. *Parasitology*, 2003, 127: 87-107.
17. Romig T, Thoma D, Weible A-K. *Echinococcus multilocularis*—a zoonosis of anthropogenic environments? *Journal of Helminthology*, 2006, 80: 207-212.
18. Vuitton D, Demonmerot F, Knapp J, Richou C, Grenouillet F, Chauchet A, Vuitton L, Bresson-Hadni S, Millon L. Clinical epidemiology of human AE in Europe. *Veterinary Parasitology*, 2015, 213: 110-120.

19. Altintas N. Past to present: echinococcosis in Turkey. *Acta Tropica*, 2003, 85: 105-112.
20. Merdivenci A. History of Veterinary Parasitology in Turkey. *Istanbul University, Cerrahpasa School of Medicine Publications, Istanbul*, 1976.
21. Miman Ö, Yazar S. Alveolar echinococcosis in Turkey: in the light of the literature. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 2012, 36: 116.
22. Gürler AT, Bölükbaş CS, Açııcı M, Umur Ş. Overview of *Echinococcus multilocularis* in Turkey and in the World. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 2019, 43: 18-35.
23. Avcioglu H, Guven E, Balkaya I, Kirman R, Akyuz M, Bia MM, Gulbeyen H, Yaya S. *Echinococcus multilocularis* in Red Foxes in Turkey: Increasing risk in urban. *Acta Tropica*, 2021, 216: 105826.
24. Avcioglu H, Guven E, Balkaya I, Kirman R, Bia MM, Gulbeyen H, Kurt A, Yaya S, Demirtas S. First detection of *Echinococcus multilocularis* in rodent intermediate hosts in Turkey. *Parasitology*, 2017, 144: 1821-1827.
25. Avcioglu H, Guven E, Balkaya I, Kirman R, Akyuz M, Bia MM, Gulbeyen H, Yaya S. The situation of echinococcosis in stray dogs in Turkey: the first finding of *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus orteppi*. *Parasitology*, 2021, 148: 1092-1098.
26. Avcioglu H, Guven E, Balkaya I, Kirman R. *Echinococcus multilocularis* in a Eurasian lynx (*Lynx lynx*) in Turkey. *Parasitology*, 2018, 145: 1147-1150.
27. Avcioglu H, Akyuz M, Kirman R, Balkaya İ, Güven E. Bir kurtta (*Canis lupus*) *Echinococcus granulosus sensu stricto* ve *Echinococcus multilocularis* olgusu. 22. Parazitoloji Kongresi 11–15 Ekim 2021, Didim, Aydın.
28. Craig P, Hegglin D, Lightowers M, Torgerson PR, Wang Q. Echinococcosis: control and prevention. *Advances in Parasitology*, 2017, 96: 55-158.

29. Tınar R. Echinococcosis'in tarihçesi. *İçinde Altıntaş N, Tınar R, Çoker A (editörler), Echinococcosis. Hidatidoloji Derneği Yayın*, 2004: 1-12.
30. Eckert J, Thompson R. Historical aspects of echinococcosis. *Advances in Parasitology*, 2017, 95: 1-64.
31. Unat E. History of *Echinococcus* and their infections. *Hydatidosis (echinococcosis) in humans and animals. Turkish Society of Parasitology Publications*, 1991: 43-54.
32. Thompson R, Lymbery A. The nature, extent and significance of variation within the genus *Echinococcus*. *Advances in Parasitology*, 1988, 27: 209-258.
33. Thompson RA, Lymbery AJ. *Echinococcus and hydatid disease*. Baskı. Cab International, 1995.
34. Lymbery A, Thompson R. Species of *Echinococcus*: pattern and process. *Parasitology Today*, 1996, 12: 486-491.
35. Bowles J, Blair D, McManus D. A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus*. *Parasitology*, 1995, 110: 317-328.
36. Thompson R, Lymbery A, Constantine C. Variation in *Echinococcus*: towards a taxonomic revision of the genus. *Advances in Parasitology*, 1995, 35: 145-175.
37. Lymbery A. Phylogenetic pattern, evolutionary processes and species delimitation in the genus *Echinococcus*. *Advances in Parasitology*, 2017, 95: 111-145.
38. Xiao N, Qiu J, Nakao M, Li T, Yang W, Chen X, Schantz PM, Craig PS, Ito A. *Echinococcus shiquicus* n. sp., a taenia cestode from Tibetan fox and plateau pika in China. *International Journal for Parasitology*, 2005, 35: 693-701.
39. Hüttner M, Nakao M, Wassermann T, Siefert L, Boomker JD, Dinkel A, Sako Y, Mackenstedt U, Romig T, Ito A. Genetic characterization and phylogenetic position of *Echinococcus felidis* (Cestoda: Taenidae) from the African lion. *International Journal for Parasitology*, 2008, 38: 861-868.

40. Vuitton DA, McManus DP, Rogan MT, Romig T, Gottstein B, Naidich A, Tuxun T, Wen H, da Silva AM. International consensus on terminology to be used in the field of echinococcoses. *Parasite*, 2020, 27.
41. Nakao M, Yanagida T, Konyaev S, Lavikainen A, Odnokurtsev VA, Zaikov VA, Ito A. Mitochondrial phylogeny of the genus *Echinococcus* (Cestoda: Taenidae) with emphasis on relationships among *Echinococcus canadensis* genotypes. *Parasitology*, 2013, 140: 1625-1636.
42. Torgerson PR, Keller K, Magnotta M, Ragland N. The global burden of alveolar echinococcosis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2010, 4: e722.
43. Şenlik B, Aİ D. *Echinococ*'ların taksonomisi ve morfolojisi. *Echinococcosis. Hidatidoloji Derneği Yayın*, 2004: 13-30.
44. Goodfellow M, Shaw S, Morgan E. Imported disease of dogs and cats exotic to Ireland: *Echinococcus multilocularis*. *Irish Veterinary Journal*, 2006, 59: 1-3.
45. Veit P, Bilger B, Schad V, Schäfer J, Frank W, Lucius R. Influence of environmental factors on the infectivity of *Echinococcus multilocularis* eggs. *Parasitology*, 1995, 110: 79-86.
46. Eckert J, Gemmell M, Meslin Fo-X, Pawlowski Z, Organization WH. *WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern*. Baskı. World Organisation for Animal Health, 2001.
47. Federer K, Armua-Fernandez MT, Hoby S, Wenker C, Deplazes P. In vivo viability of *Echinococcus multilocularis* eggs in a rodent model after different thermo-treatments. *Experimental Parasitology*, 2015, 154: 14-19.
48. Mehlhorn H, Eckert J, Thompson R. Proliferation and metastases formation of larval *Echinococcus multilocularis*. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 1983, 69: 749-763.

49. Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review. *International Journal of Infectious Diseases*, 2009, 13: 125-133.
50. Sakamoto T, Sugimura M. Studies on Echinococcosis XXIII: Electron Microscopical Observations on histogenesis of larval *Echinococcus multilocularis*. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 1970, 18: 131-144.
51. Ali-Khan Z, Siboo R, Gomersall M, Faucher M. Cystolytic events and the possible role of germinal cells in metastasis in chronic alveolar hydatidosis. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 1983, 77: 497-512.
52. Eckert J, Thompson R, Mehlhorn H. Proliferation and metastases formation of larval *Echinococcus multilocularis*. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 1983, 69: 737-748.
53. Gillespie SH, Pearson RD. *Principles and practice of clinical parasitology*. Bask1. Wiley Online Library, 2001.
54. Brehm K, Koziol U. *Echinococcus*–host interactions at cellular and molecular levels. *Advances in Parasitology*, 2017, 95: 147-212.
55. Oksanen A, Siles-Lucas M, Karamon J, Possenti A, Conraths FJ, Romig T, Wysocki P, Mannocci A, Mipatrini D, La Torre G. The geographical distribution and prevalence of *Echinococcus multilocularis* in animals in the European Union and adjacent countries: a systematic review and meta-analysis. *Parasites & Vectors*, 2016, 9: 1-23.
56. Giraudoux P, Raoul F, Afonso E, Ziadinov I, Yang Y, Li L, Li T, Quéré J-P, Feng X, Wang Q. Transmission ecosystems of *Echinococcus multilocularis* in China and Central Asia. *Parasitology*, 2013, 140: 1655-1666.
57. Miller A. The role of rodents in the transmission of *Echinococcus multilocularis* and other tapeworms in a low endemic area. 2016.
58. Hemer S, Konrad C, Spiliotis M, Koziol U, Schaack D, Förster S, Gelmedin V, Stadelmann B, Dandekar T, Hemphill A. Host insulin stimulates *Echinococcus*

- multilocularis* insulin signalling pathways and larval development. *BMC Biology*, 2014, 12: 1-22.
59. Thompson R, Kapel C, Hobbs R, Deplazes P. Comparative development of *Echinococcus multilocularis* in its definitive hosts. *Parasitology*, 2006, 132: 709-716.
 60. Thompson R, Eckert J. Observations on *Echinococcus multilocularis* in the definitive host. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 1983, 69: 335-345.
 61. Lethbridge R In *The biology of the oncosphere of cyclophyllidean cestodes*, Helminthological abstracts. Series A. Animal and human helminthology, 1980; 59-72.
 62. Heath DD, Holcman B. Vaccination against *Echinococcus* in perspective. *Acta Tropica*, 1997, 67: 37-41.
 63. Jabbar A, Swiderski Z, Mlocicki D, Beveridge I, Lightowlers M. The ultrastructure of taenia cestode oncospheres and localization of host-protective antigens. *Parasitology*, 2010, 137: 521-535.
 64. Thompson R. Biology and systematics of *Echinococcus*. *Echinococcus and Hydatid disease*, 1995.
 65. Swiderski Z. *Echinococcus granulosus*: hook-muscle systems and cellular organisation of infective oncospheres. *International Journal for Parasitology*, 1983, 13: 289-299.
 66. Fairweather I, Threadgold L. *Hymenolepis nana*: the fine structure of the 'penetration gland' and nerve cells within the oncosphere. *Parasitology*, 1981, 82: 445-458.
 67. Harris A, Heath D, Lawrence S, Shaw R. *Echinococcus granulosus*: ultrastructure of epithelial changes during the first 8 days of metacestode development in vitro. *International Journal for Parasitology*, 1989, 19: 621-629.

68. Rausch R. Studies on the Helminth Fauna of Alaska: XX. The Histogenesis of the Alveolar Larva of *Echinococcus* Species. *The Journal of Infectious Diseases*, 1954, 94: 178-186.
69. Heath D, Lawrence S. *Echinococcus granulosus*: development in vitro from oncosphere to immature hydatid cyst. *Parasitology*, 1976, 73: 417-423.
70. Šlais J. Functional morphology of cestode larvae. *Advances in Parasitology*, 1973, 11: 395-480.
71. Gustafsson MK. Basic cell types in *Echinococcus granulosus* (cestoda, cyclophyllidea). 1976.
72. Galindo M, Paredes R, Marchant C, Mino V, Galanti N. Regionalization of DNA and protein synthesis in developing stages of the parasitic platyhelminth *Echinococcus granulosus*. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2003, 90: 294-303.
73. Woolsey ID, Jensen PM, Deplazes P, Kapel CMO. Establishment and development of *Echinococcus multilocularis* metacestodes in the common vole (*Microtus arvalis*) after oral inoculation with parasite eggs. *Parasitology International*, 2015, 64: 571-575.
74. Deplazes P, Eckert J. Veterinary aspects of alveolar echinococcosis-a zoonosis of public health significance. *Veterinary Parasitology*, 2001, 98: 65-87.
75. Liance M, Bresson-Hadni S, Meyer J, Houin R, Vuitton D. Cellular immunity in experimental *Echinococcus multilocularis* infection. I. Sequential and comparative study of specific in vivo delayed-type hypersensitivity against *E. multilocularis* antigens in resistant and sensitive mice. *Clinical & Experimental Immunology*, 1990, 82: 373-377.
76. Ammann RW, Eckert J. Cestodes: *echinococcus*. *Gastroenterology Clinics*, 1996, 25: 655-689.

77. Hegglin D, Deplazes P. Control of *Echinococcus multilocularis*: Strategies, feasibility and cost–benefit analyses. *International Journal for Parasitology*, 2013, 43: 327-337.
78. Carmena D, Cardona GA. Echinococcosis in wild carnivorous species: epidemiology, genotypic diversity, and implications for veterinary public health. *Veterinary Parasitology*, 2014, 202: 69-94.
79. Beugnet F, Halos L, Beugnet F, Halos L. *Parasitoses & Vector Borne Diseases of Cats*. Baskı. Merial Lyon, 2015.
80. Davidson RK, Romig T, Jenkins E, Tryland M, Robertson LJ. The impact of globalisation on the distribution of *Echinococcus multilocularis*. *Trends in Parasitology*, 2012, 28: 239-247.
81. Bart J, Knapp J, Gottstein B, El-Garch F, Giraudoux P, Glowatzki M-L, Berthoud H, Maillard S, Piarroux R. EmsB, a tandem repeated multi-loci microsatellite, new tool to investigate the genetic diversity of *Echinococcus multilocularis*. *Infection, Genetics and Evolution*, 2006, 6: 390-400.
82. Archak S, Meduri E, Kumar PS, Nagaraju J. InSatDb: a microsatellite database of fully sequenced insect genomes. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35: 36-39.
83. Nakao M, Xiao N, Okamoto M, Yanagida T, Sako Y, Ito A. Geographic pattern of genetic variation in the fox tapeworm *Echinococcus multilocularis*. *Parasitology International*, 2009, 58: 384-389.
84. Ito A, Agvaandaram G, Bat-Ochir O-E, Chuluunbaatar B, Gonchigsenghe N, Yanagida T, Sako Y, Myadagsuren N, Dorjsuren T, Nakaya K. Histopathological, serological, and molecular confirmation of indigenous alveolar echinococcosis cases in Mongolia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2010, 82: 266.

85. Valot B, Knapp J, Umhang G, Grenouillet F, Millon L. Genomic characterization of EmsB microsatellite loci in *Echinococcus multilocularis*. *Infection, Genetics and Evolution*, 2015, 32: 338-341.
86. Thompson RA. The molecular epidemiology of *Echinococcus* infections. *Pathogens*, 2020, 9: 453.
87. Nakao M, Sako Y, Ito A. Isolation of polymorphic microsatellite loci from the tapeworm *Echinococcus multilocularis*. *Infection, Genetics and Evolution*, 2003, 3: 159-163.
88. Casulli A, Széll Z, Pozio E, Sréter T. Spatial distribution and genetic diversity of *Echinococcus multilocularis* in Hungary. *Veterinary Parasitology*, 2010, 174: 241-246.
89. Knapp J, Damy S, Brillaud J, Tissot J-D, Navion J, Mélior R, Afonso E, Hormaz V, Gottstein B, Umhang G. EWET: Data collection and interface for the genetic analysis of *Echinococcus multilocularis* based on EmsB microsatellite. *PLoS One*, 2017, 12: e0183849.
90. Umhang G, Bastid V, Avcioglu H, Bagrade G, Bujanić M, Čabrilo OB, Casulli A, Dorny P, Van Der Giessen J, Guven E. Unravelling the genetic diversity and relatedness of *Echinococcus multilocularis* isolates in Eurasia using the EmsB microsatellite nuclear marker. *Infection, Genetics and Evolution*, 2021, 92: 104863.
91. Authority EFS. Assessment of *Echinococcus multilocularis* surveillance reports submitted in 2015 in the context of Commission Regulation (EU) No 1152/2011. *EFSA Journal*, 2015, 13: 4310.
92. Eckert J, Deplazes P. Alveolar echinococcosis in humans: the current situation in Central Europe and the need for countermeasures. *Parasitology Today*, 1999, 15: 315-319.

93. Eckert J. Epidemiology of *Echinococcus multilocularis*, *Echinococcus vogeli*, and *Echinococcus oligarthrus*. *WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals.*, 2001: 164-194.
94. Raoul F, Deplazes P, Nonaka N, Piarroux R, Vuitton D, Giraudoux P. Assessment of the epidemiological status of *Echinococcus multilocularis* in foxes in France using ELISA coprotests on fox faeces collected in the field. *International Journal for Parasitology*, 2001, 31: 1579-1588.
95. Guislain M-H, Raoul F, Giraudoux P, Terrier M-E, Froment G, Ferté H, Poulle M-L. Ecological and biological factors involved in the transmission of *Echinococcus multilocularis* in the French Ardennes. *Journal of Helminthology*, 2008, 82: 143-151.
96. Robardet E, Giraudoux P, Caillot C, Boue F, Cliquet F, Augot D, Barrat J. Infection of foxes by *Echinococcus multilocularis* in urban and suburban areas of Nancy, France: influence of feeding habits and environment. *Parasite*, 2008, 15: 77-85.
97. Umhang G, Comte S, Raton V, Hormaz V, Boucher J-M, Favier S, Combes B, Boué F. *Echinococcus multilocularis* infections in dogs from urban and peri-urban areas in France. *Parasitology Research*, 2014, 113: 2219-2222.
98. Umhang G, Raton V, Comte S, Hormaz V, Boucher J-M, Combes B, Boué F. *Echinococcus multilocularis* in dogs from two French endemic areas: no evidence of infection but hazardous deworming practices. *Veterinary Parasitology*, 2012, 188: 301-305.
99. Combes B, Comte S, Raton V, Raoul F, Boué F, Umhang G, Favier S, Dunoyer C, Woronoff N, Giraudoux P. Westward spread of *Echinococcus multilocularis* in foxes, France, 2005–2010. *Emerging Infectious Diseases*, 2012, 18: 2059.
100. Umhang G, Woronoff-Rhen N, Combes B, Boue F. Segmental sedimentation and counting technique (SSCT): an adaptable method for qualitative diagnosis of

- Echinococcus multilocularis* in fox intestines. *Experimental Parasitology*, 2011, 128: 57-60.
101. Comte S, Umhang G, Raton V, Raoul F, Giraudoux P, Combes B, Boué F. *Echinococcus multilocularis* management by fox culling: An inappropriate paradigm. *Preventive Veterinary Medicine*, 2017, 147: 178-185.
 102. Umhang G, Lahoreau J, Hormaz V, Boucher J-M, Guenon A, Montange D, Grenouillet F, Boue F. Surveillance and management of *Echinococcus multilocularis* in a wildlife park. *Parasitology International*, 2016, 65: 245-250.
 103. Knapp J, Giraudoux P, Combes B, Umhang G, Boué F, Said-Ali Z, Aknouche S, Garcia C, Vacheyrou M, Laboissière A. Rural and urban distribution of wild and domestic carnivore stools in the context of *Echinococcus multilocularis* environmental exposure. *International Journal for Parasitology*, 2018, 48: 937-946.
 104. Poulle M-L, Bastien M, Richard Y, Josse-Dupuis É, Aubert D, Villena I, Knapp J. Detection of *Echinococcus multilocularis* and other foodborne parasites in fox, cat and dog faeces collected in kitchen gardens in a highly endemic area for alveolar echinococcosis. *Parasite*, 2017, 24.
 105. Da Silva AM, Courquet S, Raoul F, Rieffel D, Giraudoux P, Millon L, Knapp J. Assessment of the exposure to *Echinococcus multilocularis* associated with carnivore faeces using real-time quantitative PCR and flotation technique assays. *International Journal for Parasitology*, 2020, 50: 1195-1204.
 106. Losson B, Kervyn T, Detry J, Pastoret P-P, Mignon B, Brochier B. Prevalence of *Echinococcus multilocularis* in the red fox (*Vulpes vulpes*) in southern Belgium. *Veterinary Parasitology*, 2003, 117: 23-28.

107. Vervaeke M, Dorny P, Vercammen F, Geerts S, Brandt J, Van Den Berge K, Verhagen R. *Echinococcus multilocularis* (Cestoda, Taenidae) in red foxes (*Vulpes vulpes*) in northern Belgium. *Veterinary Parasitology*, 2003, 115: 257-263.
108. Vervaeke M, van der Giessen J, Brochier B, Losson B, Jordaens K, Verhagen R, de Lezenne Coulander C, Teunis P. Spatial spreading of *Echinococcus multilocularis* in Red foxes (*Vulpes vulpes*) across nation borders in Western Europe. *Preventive Veterinary Medicine*, 2006, 76: 137-150.
109. Hanosset R, Saegerman C, Adant S, Massart L, Losson B. *Echinococcus multilocularis* in Belgium: prevalence in red foxes (*Vulpes vulpes*) and in different species of potential intermediate hosts. *Veterinary Parasitology*, 2008, 151: 212-217.
110. Jansen F, Claes M, Bakkers E, Aryal A, Madimba K, Gabriël S, Dermauw V, Van Hul A, Vervaeke M, Dorny P. *Echinococcus multilocularis* in red foxes in North Belgium: Prevalence and trends in distribution. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 2020, 22: 100470.
111. Berke O, Romig T, von Keyserlingk M. Emergence of *Echinococcus multilocularis* among red foxes in northern Germany, 1991–2005. *Veterinary Parasitology*, 2008, 155: 319-322.
112. Conraths F, Maksimov P. Epidemiology of *Echinococcus multilocularis* infections: A review of the present knowledge and of the situation in Germany. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 2020, 133.
113. Waindok P, Raue K, Grilo ML, Siebert U, Strube C. Predators in northern Germany are reservoirs for parasites of One Health concern. *Parasitology Research*, 2021, 120: 4229-4239.
114. Staubach C, Thulke H-h, Tackmann K, Hugh-Jones M, Conraths FJ. Geographic information system-aided analysis of factors associated with the spatial distribution of

Echinococcus multilocularis infections of foxes. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2001, 65: 943-948.

115. Tackmann K, Löschner U, Mix H, Staubach C, Thulke H-H, Ziller M, Conraths F. A field study to control *Echinococcus multilocularis*-infections of the red fox (*Vulpes vulpes*) in an endemic focus. *Epidemiology & Infection*, 2001, 127: 577-587.
116. König A, Romig T, Thoma D, Kellermann K. Drastic increase in the prevalence of *Echinococcus multilocularis* in foxes (*Vulpes vulpes*) in southern Bavaria, Germany. *European Journal of Wildlife Research*, 2005, 51: 277-282.
117. König A, Romig T. Fox tapeworm *Echinococcus multilocularis*, an underestimated threat: a model for estimating risk of contact. *Wildlife Biology*, 2010, 16: 258-266.
118. Staubach C, Hoffmann L, Schmid VJ, Ziller M, Tackmann K, Conraths FJ. Bayesian space-time analysis of *Echinococcus multilocularis*-infections in foxes. *Veterinary Parasitology*, 2011, 179: 77-83.
119. Thiess A, Schuster R, Nöckler K, Mix H. Helminth findings in indigenous raccoon dogs *Nyctereutes procyonoides* (Gray, 1843). *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 2001, 114: 273-276.
120. Schwarz S, Sutor A, Staubach C, Mattis R, Tackmann K, Conraths FJ. Estimated prevalence of *Echinococcus multilocularis* in raccoon dogs *Nyctereutes procyonoides* in northern Brandenburg, Germany. *Current Zoology*, 2011, 57: 655-661.
121. Janko C, Linke S, Romig T, Thoma D, Schröder W, König A. Infection pressure of human alveolar echinococcosis due to village and small town foxes (*Vulpes vulpes*) living in close proximity to residents. *European Journal of Wildlife Research*, 2011, 57: 1033-1042.

122. Dyachenko V, Pantchev N, Gawlowska S, Vrhovec MG, Bauer C. *Echinococcus multilocularis* infections in domestic dogs and cats from Germany and other European countries. *Veterinary Parasitology*, 2008, 157: 244-253.
123. Van der Giessen J, Rombout Y, Franchimont J, Limper L, Homan W. Detection of *Echinococcus multilocularis* in foxes in The Netherlands. *Veterinary Parasitology*, 1999, 82: 49-57.
124. van der Giessen JW, Rombout Y, Teunis P. Base line prevalence and spatial distribution of *Echinococcus multilocularis* in a newly recognized endemic area in the Netherlands. *Veterinary Parasitology*, 2004, 119: 27-35.
125. van der Giessen J, de Vries A, Chu M, Stortelder V, de Lezenne Coulander C, Mulder J, Teunis P. *The prevalence of Echinococcus multilocularis in foxes in Limburg 2002-2003*. Baski. RIVM, 2004.
126. Takumi K, de Vries A, Chu ML, Mulder J, Teunis P, van der Giessen J. Evidence for an increasing presence of *Echinococcus multilocularis* in foxes in The Netherlands. *International Journal for Parasitology*, 2008, 38: 571-578.
127. Franssen F, Nijssse R, Mulder J, Cremers H, Dam C, Takumi K, van der Giessen J. Increase in number of helminth species from Dutch red foxes over a 35-year period. *Parasites & Vectors*, 2014, 7: 1-10.
128. Maas M, Dam-Deisz W, Van Roon A, Takumi K, Van Der Giessen J. Significant increase of *Echinococcus multilocularis* prevalence in foxes, but no increased predicted risk for humans. *Veterinary Parasitology*, 2014, 206: 167-172.
129. van den Bosch J. Prevalence of *Echinococcus multilocularis* in red foxes in Groningen and Drenthe. 2018.
130. Wahlström H, Lindberg A, Lindh J, Wallensten A, Lindqvist R, Plym-Forshell L, Lind EO, Ågren E, Widgren S, Carlsson U. Investigations and actions taken during 2011

due to the first finding of *Echinococcus multilocularis* in Sweden. *Eurosurveillance*, 2012, 17: 20215.

131. Lind EO, Juremalm M, Christensson D, Widgren S, Hallgren G, Ågren E, Uhlhorn H, Lindberg A, Cedersmyg M, Wahlström H. First detection of *Echinococcus multilocularis* in Sweden, February to March 2011. *Eurosurveillance*, 2011, 16: 19836.
132. Isaksson M, Hagström Å, Armua-Fernandez MT, Wahlström H, Ågren EO, Miller A, Holmberg A, Lukacs M, Casulli A, Deplazes P. A semi-automated magnetic capture probe based DNA extraction and real-time PCR method applied in the Swedish surveillance of *Echinococcus multilocularis* in red fox (*Vulpes vulpes*) faecal samples. *Parasites & Vectors*, 2014, 7: 1-10.
133. Miller AL, Olsson GE, Sollenberg S, Skarin M, Wahlström H, Höglund J. Support for targeted sampling of red fox (*Vulpes vulpes*) feces in Sweden: a method to improve the probability of finding *Echinococcus multilocularis*. *Parasites & Vectors*, 2016, 9: 1-11.
134. Casulli A, Manfredi M, La Rosa G, Di Cerbo A, Dinkel A, Romig T, Deplazes P, Genchi C, Pozio E. *Echinococcus multilocularis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) of the Italian Alpine region: is there a focus of autochthonous transmission? *International Journal for Parasitology*, 2005, 35: 1079-1083.
135. Citterio CV, Obber F, Trevisiol K, Dellamaria D, Celva R, Bregoli M, Ormelli S, Sgubin S, Bonato P, Da Rold G. *Echinococcus multilocularis* and other cestodes in red foxes (*Vulpes vulpes*) of northeast Italy, 2012–2018. *Parasites & Vectors*, 2021, 14: 1-12.

136. Smith G, Gangadharan B, Taylor Z, Laurenson M, Bradshaw H, Hide G, Hughes J, Dinkel A, Romig T, Craig P. Prevalence of zoonotic important parasites in the red fox (*Vulpes vulpes*) in Great Britain. *Veterinary Parasitology*, 2003, 118: 133-142.
137. Laßnig H, Prosl H, Hinterdorfer F. Zur parasitenfauna des rotfuchses (*Vulpes vulpes*) in der Steiermark. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*, 1998, 85: 116-122.
138. Duscher G, Pleydell D, Prosl H, Joachim A. *Echinococcus multilocularis* in Austrian foxes from 1991 until 2004. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 2006, 53: 138-144.
139. Bagó F, Hoelzl F, Knauer F, Kübber-Heiss A, Smith S. Rapid and reliable detection of *Echinococcus multilocularis* from faeces using droplet digital PCR. *Acta Parasitologica*, 2021, 66: 553-559.
140. Pavlásek I, Chalupský J, Kolárová L, Horyna B, Ritter J. Occurrence of *Echinococcus multilocularis* Leuckart, 1863, in foxes (*Vulpes vulpes*) in the Czech Republic. *Epidemiologie, Mikrobiologie, Imunologie: Casopis Společnosti pro Epidemiologii a Mikrobiologii České Lekarské Společnosti JE Purkyne*, 1997, 46: 158-162.
141. Martínek K, Kolárová L, Cervený J, Andreas M. *Echinococcus multilocularis* (Cestoda: Taenidae) in the Czech Republic: the first detection of metacestodes in a naturally infected rodent. *Folia Parasitologica*, 1998, 45: 332-333.
142. Martinek K, Kolarova L, Cervený J. *Echinococcus multilocularis* in carnivores from the Klatovy district of the Czech Republic. *Journal of Helminthology*, 2001, 75: 61-66.
143. Dubinsky P, Svobodová V, Turcekova L, Literák I, Martinek K, Reiterová K, Kolarova L, Klimes J, Mrlík V. *Echinococcus multilocularis* in Slovak Republic: The first record in red foxes (*Vulpes vulpes*). *Helminthologia*, 1999, 36: 105-110.

144. Martinek K, Kolářová L, Hapl E, Literák I, Uhrin M. *Echinococcus multilocularis* in European wolves (*Canis lupus*). *Parasitology Research*, 2001, 87: 838-839.
145. Dubinský P, Várady M, Reiterová K, Miterpáková M, Turčeková L. Prevalence of *Echinococcus multilocularis* in red foxes in the Slovak Republic. *Helminthologia*, 2001, 38: 215-219.
146. Reiterová K, Miterpáková M, Antolová D, Dubinský P. Field evaluation of an intravital diagnostic test of *Echinococcus multilocularis* infection in red foxes. *Veterinary Parasitology*, 2005, 128: 65-71.
147. Reiterová K, Dziemian E, Miterpáková M, Antolová D, Kołodziej-Sobocińska M, Machnicka B, Dubinský P. Occurrence of *Echinococcus multilocularis* in red foxes from the Carpathian regions of Slovakia and Poland. *Acta Parasitologica*, 2006, 51: 107-110.
148. Letková V, Lazar P, Čurlík J, Goldová M, Kočišová A, Košuthová L, Mojžišová J. The red fox (*Vulpes vulpes*) as a source of zoonoses. *Veterinarski Arhiv*, 2006, 76: 73-81.
149. Miterpáková M, Dubinsky P, Reiterová K, Stanko M. Climate and environmental factors influencing *Echinococcus multilocularis* occurrence in the Slovak Republic. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2006, 13: 235-242.
150. Dubinský P, Malczewski A, Miterpakova M, Gawor J, Reiterova K. *Echinococcus multilocularis* in the red fox (*Vulpes vulpes*) from the East Carpathian region of Poland and the Slovak Republic. *Journal of Helminthology*, 2006, 80: 243-247.
151. Antolová D, Miterpakova M, Radoňak J, Hudačková D, Szilagyiova M, Žáček M. Alveolar echinococcosis in a highly endemic area of northern Slovakia between 2000 and 2013. *Eurosurveillance*, 2014, 19: 20882.

152. Antolova D, Reiterová K, Miterpakova M, Dinkel A, Dubinský P. The first finding of *Echinococcus multilocularis* in dogs in Slovakia: an emerging risk for spreading of infection. *Zoonoses and Public Health*, 2009, 56: 53-58.
153. Miterpáková M, Hurníková Z, Antolová D, Dubinský P. Endoparasites of red fox (*Vulpes vulpes*) in the Slovak Republic with the emphasis on zoonotic species *Echinococcus multilocularis* and *Trichinella* spp. *Helminthologia*, 2009, 46: 73-79.
154. Szabová E, Juriš P, Miterpáková M, Antolová D, Papajová I, Šefčíková H. Prevalence of important zoonotic parasites in dog populations from the Slovak Republic. *Helminthologia*, 2007, 44: 170-176.
155. Hurníková Z, Miterpáková M, Chovancová B. The important zoonoses in the protected areas of the Tatra National Park (TANAP). *Wiadomosci Parazytologiczne*, 2009, 55: 395-398.
156. Miterpáková M, Dubinský P. Fox tapeworm (*Echinococcus multilocularis*) in Slovakia-summarizing the long-term monitoring. *Helminthologia*, 2011, 48: 155-161.
157. Jarošová J, Antolova D, Šnábel V, Guimaraes N, Štofík J, Urban P, Cavallero S, Miterpakova M. The fox tapeworm, *Echinococcus multilocularis*, in grey wolves and dogs in Slovakia: epidemiology and genetic analysis. *Journal of Helminthology*, 2020, 94.
158. Vergles Rataj A, Posedi J, Žele D, Vengušt G. Intestinal parasites of the red fox (*Vulpes vulpes*) in Slovenia. *Acta Veterinaria Hungarica*, 2013, 61: 454-462.
159. Malczewski A, Rocki B, Ramisz A, Eckert J. *Echinococcus multilocularis* (Cestoda), the causative agent of alveolar echinococcosis in humans: first record in Poland. *The Journal of Parasitology*, 1995: 318-321.

160. Malczewski A, Ramisz A, Rocki B, Bienko R, Balicka-Ramisz A, Eckert J. *Echinococcus multilocularis* in red foxes [*Vulpes vulpes*] in Poland: an update of the epidemiological situation. *Acta Parasitologica*, 1999, 1.
161. Rocki B, Malczewski A, Eckert J. Studies on the incidence of *Echinococcus multilocularis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in north-east, central and south of Poland. *Wiadomosci Parazytologiczne*, 1999, 45: 391-393.
162. Ramisz A, Eckert J, Balicka-Ramisz A, Bieńko R, Pilarczyk B. Epidemiological studies on *Echinococcus multilocularis* in red foxes in north-west Poland. *Wiadomosci Parazytologiczne*, 1999, 45: 369-373.
163. Rocki B. Helminths of intestinal tract of red foxes with special attention to *Echinococcus multilocularis*. Ph.D. dissertation, Library W. Stefański Institute of Parasitology, 2000.
164. Malczewski A, Gawor J, Malczewska M. Infection of red foxes (*Vulpes vulpes*) with *Echinococcus multilocularis* during the years 2001-2004 in Poland. *Parasitology Research*, 2008, 103: 501-505.
165. Machnicka-Rowińska B, Rocki B, Dziemian E, Kołodziej-Sobocińska M. Raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*)-the new host of *Echinococcus multilocularis* in Poland. *Wiadomosci Parazytologiczne*, 2002, 48: 65-68.
166. Machnicka B, Dziemian E, Rocki B, Kołodziej-Sobocińska M. Detection of *Echinococcus multilocularis* antigens in faeces by ELISA. *Parasitology Research*, 2003, 91: 491-496.
167. Borecka A, Gawor J, Malczewska M, Malczewski A. Occurrence of *Echinococcus multilocularis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in southern Poland. *Helminthologia*, 2008, 45: 24-27.

168. Karamon J, Kochanowski M, Sroka J, Cencek T, Różycki M, Chmurzyńska E, Bilaska-Zajac E. The prevalence of *Echinococcus multilocularis* in red foxes in Poland-current results (2009-2013). *Parasitology Research*, 2014, 113: 317-322.
169. Karamon J, Dąbrowska J, Kochanowski M, Samorek-Pieróg M, Sroka J, Różycki M, Bilaska-Zajac E, Zdybel J, Cencek T. Prevalence of intestinal helminths of red foxes (*Vulpes vulpes*) in central Europe (Poland): a significant zoonotic threat. *Parasites & Vectors*, 2018, 11: 1-10.
170. Karamon J. Detection of *Echinococcus multilocularis* in faeces by nested PCR with the use of diluted DNA samples. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 2014.
171. Karamon J, Samorek-Pierog M, Kochanowski M, Dabrowska J, Sroka J, Golab E, Umhang G, Cencek T. First detection of *Echinococcus multilocularis* in dogs in a highly endemic area of Poland. *Folia Parasitologica*, 2016, 63: 1.
172. Karamon J, Sroka J, Dąbrowska J, Bilaska-Zajac E, Zdybel J, Kochanowski M, Różycki M, Cencek T. First report of *Echinococcus multilocularis* in cats in Poland: a monitoring study in cats and dogs from a rural area and animal shelter in a highly endemic region. *Parasites & Vectors*, 2019, 12: 1-8.
173. Tylkowska A, Pilarczyk B, Pilarczyk R, Zyśko M, Tomza-Marciniak A. Presence of tapeworms (Cestoda) in red fox (*Vulpes vulpes*) in north-western Poland, with particular emphasis on *Echinococcus multilocularis*. *Journal of Veterinary Research*, 2019, 63: 71.
174. Karamon J, Sroka J, Dąbrowska J, Bilaska-Zajac E, Skrzypek K, Różycki M, Zdybel J, Cencek T. Distribution of parasitic helminths in the small intestine of the red fox (*Vulpes vulpes*). *Pathogens*, 2020, 9: 477.
175. Gawor J, Laskowski Z, Myczka AW, Zwijacz-Kozica T, Sałamatin R. Occurrence of *Echinococcus* spp. in red foxes and wolves in the protected area of the Tatra National

- Park in southern Poland—a threat to human health. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2021, 28: 579-584.
176. Shimalov V. Helminth fauna of the red fox (*Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758) in southern Belarus. *Parasitology Research*, 2002, 89: 77-78.
 177. Bružinskaitė-Schmidhalter R, Šarkūnas M, Malakauskas A, Mathis A, Torgerson PR, Deplazes P. Helminths of red foxes (*Vulpes vulpes*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) in Lithuania. *Parasitology*, 2012, 139: 120-127.
 178. Bružinskaitė R, Marcinkutė A, Strupas K, Sokolovas V, Deplazes P, Mathis A, Eddi C, Šarkūnas M. Alveolar echinococcosis, lithuania. *Emerging Infectious Diseases*, 2007, 13: 1618.
 179. Bružinskaitė R, Šarkūnas M, Torgerson PR, Mathis A, Deplazes P. Echinococcosis in pigs and intestinal infection with *Echinococcus* spp. in dogs in southwestern Lithuania. *Veterinary Parasitology*, 2009, 160: 237-241.
 180. Trachsel D, Deplazes P, Mathis A. Identification of taenia eggs in the faeces from carnivores based on multiplex PCR using targets in mitochondrial DNA. *Parasitology*, 2007, 134: 911-920.
 181. Bagrade G, Šnábel V, Romig T, Ozoliņš J, Hüttner M, Miterpáková M, Ševcová D, Dubinský P. *Echinococcus multilocularis* is a frequent parasite of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Latvia. *Helminthologia*, 2008, 45: 157-161.
 182. Bagrade G, Kirjušina M, Vismanis K, Ozoliņš J. Helminth parasites of the wolf *Canis lupus* from Latvia. *Journal of Helminthology*, 2009, 83: 63-68.
 183. Bagrade G, Dekšne G, Ozoliņa Z, Howlett SJ, Interisano M, Casulli A, Pozio E. *Echinococcus multilocularis* in foxes and raccoon dogs: an increasing concern for Baltic countries. *Parasites & Vectors*, 2016, 9: 1-9.

184. Moks E, Saarma U, Valdmann H. *Echinococcus multilocularis* in Estonia. *Emerging Infectious Diseases*, 2005, 11: 1973.
185. Laurimaa L, Moks E, Soe E, Valdmann H, Saarma U. *Echinococcus multilocularis* and other zoonotic parasites in red foxes in Estonia. *Parasitology*, 2016, 143: 1450-1458.
186. Laurimaa L, Davison J, Plumer L, Süld K, Oja R, Moks E, Keis M, Hindrikson M, Kinkar L, Laurimäe T. Noninvasive detection of *Echinococcus multilocularis* tapeworm in urban area, Estonia. *Emerging Infectious Diseases*, 2015, 21: 163.
187. Miljević M, Bjelić Čabrilo O, Simin V, Čabrilo B, Miljević JB, Lalošević D. Significance of the red fox as a natural reservoir of intestinal zoonoses in Vojvodina, Serbia. *Acta Veterinaria Hungarica*, 2019, 67: 561-571.
188. Sikó SB, Deplazes P, Ceica C, Tivadar C, Bogolin I, Popescu S, Cozma V. *Echinococcus multilocularis* in south-eastern Europe (Romania). *Parasitology Research*, 2011, 108: 1093-1097.
189. Beck R, Mihaljević Ž, Brezak R, Bosnić S, Janković IL, Deplazes P. First detection of *Echinococcus multilocularis* in Croatia. *Parasitology Research*, 2018, 117: 617-621.
190. Sréter T, Széll Z, Egyed Z, Varga I. *Echinococcus multilocularis*: an emerging pathogen in Hungary and Central Eastern Europe? *Emerging Infectious Diseases*, 2003, 9: 384.
191. Sréter T, Széll Z, Sréter-Lancz Z, Varga I. *Echinococcus multilocularis* in northern Hungary. *Emerging Infectious Diseases*, 2004, 10: 1344.
192. Tolnai Z, Széll Z, Sréter T. Environmental determinants of the spatial distribution of *Echinococcus multilocularis* in Hungary. *Veterinary Parasitology*, 2013, 198: 292-297.

193. Széll Z, Marucci G, Pozio E, Sréter T. *Echinococcus multilocularis* and *Trichinella spiralis* in golden jackals (*Canis aureus*) of Hungary. *Veterinary Parasitology*, 2013, 197: 393-396.
194. Halász T, Nagy G, Nagy I, Csivincsik Á. Micro-Epidemiological Investigation of *Echinococcus multilocularis* in Wild Hosts from an Endemic Area of Southwestern Hungary. *Parasitologia*, 2021, 1: 158-167.
195. Balog T, Nagy G, Halász T, Csányi E, Zomborszky Z, Csivincsik Á. The occurrence of *Echinococcus* spp. in golden jackal (*Canis aureus*) in southwestern Hungary: Should we need to rethink its expansion? *Parasitology International*, 2021, 80: 102214.
196. Ewald D, Eckert J, Gottstein B, Straub M, Nigg H. Parasitological and serological studies on the prevalence of *Echinococcus multilocularis* Leuckart, 1863 in red foxes (*Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758) in Switzerland. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 1992, 11: 1057-1061.
197. Gottstein B, Saucy F, Deplazes P, Reichen J, Demierre G, Busato A, Zuercher C, Pugin P. Is high prevalence of *Echinococcus multilocularis* in wild and domestic animals associated with disease incidence in humans? *Emerging Infectious Diseases*, 2001, 7: 408.
198. Brossard M, Andreutti C, Siegenthaler M. Infection of red foxes with *Echinococcus multilocularis* in western Switzerland. *Journal of Helminthology*, 2007, 81: 369-376.
199. Deplazes P, Alther P, Tanner I, Thompson RA, Eckert J. *Echinococcus multilocularis* coproantigen detection by enzyme-linked immunosorbent assay in fox, dog, and cat populations. *The Journal of Parasitology*, 1999: 115-121.

200. Hofer S, Gloor S, Müller U, Mathis A, Hegglin D, Deplazes P. High prevalence of *Echinococcus multilocularis* in urban red foxes (*Vulpes vulpes*) and voles (*Arvicola terrestris*) in the city of Zürich, Switzerland. *Parasitology*, 2000, 120: 135-142.
201. Deplazes P, Mathis A, Hofer S, Gloor S, Bontadina F, Hegglin U, Müller U, Eckert J. Urban cycle of *Echinococcus multilocularis* and risk assessment of infections of domestic dogs and cats. *Parasitology International*, 1998: 163.
202. Stieger C, Hegglin D, Schwarzenbach G, Mathis A, Deplazes P. Spatial and temporal aspects of urban transmission of *Echinococcus multilocularis*. *Parasitology*, 2002, 124: 631-640.
203. Fischer C, Reperant L, Weber J, Hegglin D, Deplazes P. *Echinococcus multilocularis* infections of rural, residential and urban foxes (*Vulpes vulpes*) in the canton of Geneva, Switzerland. *Parasite*, 2005, 12: 339-346.
204. Reperant LA, Hegglin D, Fischer C, Kohler L, Weber J-M, Deplazes P. Influence of urbanization on the epidemiology of intestinal helminths of the red fox (*Vulpes vulpes*) in Geneva, Switzerland. *Parasitology Research*, 2007, 101: 605-611.
205. Hegglin D, Ward PI, Deplazes P. Anthelmintic baiting of foxes against urban contamination with *Echinococcus multilocularis*. *Emerging Infectious Diseases*, 2003, 9: 1266.
206. Guerra D, Hegglin D, Bacciarini L, Schnyder M, Deplazes P. Stability of the southern European border of *Echinococcus multilocularis* in the Alps: evidence that *Microtus arvalis* is a limiting factor. *Parasitology*, 2014, 141: 1593-1602.
207. Tanner F, Hegglin D, Thoma R, Brosi G, Deplazes P. *Echinococcus multilocularis* in Graubünden: verbreitung bei Füchsen und Vorkommen potentieller Zwischenwirte. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 2006, 148: 501-510.

208. Sager H, Moret C, Grimm F, Deplazes P, Doherr M, Gottstein B. Coprological study on intestinal helminths in Swiss dogs: temporal aspects of anthelmintic treatment. *Parasitology Research*, 2006, 98: 333-338.
209. Nagy A, Ziadinov I, Schweiger A, Schnyder M, Deplazes P. Hair coat contamination with zoonotic helminth eggs of farm and pet dogs and foxes. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 2011, 124: 503-511.
210. Otero-Abad B, Armua-Fernandez MT, Deplazes P, Torgerson PR, Hartnack S. Latent class models for *Echinococcus multilocularis* diagnosis in foxes in Switzerland in the absence of a gold standard. *Parasites & Vectors*, 2017, 10: 1-14.
211. Saeed I, Maddox-Hyttel C, Monrad J, Kapel C. Helminths of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Denmark. *Veterinary Parasitology*, 2006, 139: 168-179.
212. Al-Sabi MNS, Chriél M, Jensen TH, Enemark HL. Endoparasites of the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) and the red fox (*Vulpes vulpes*) in Denmark 2009-2012-A comparative study. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 2013, 2: 144-151.
213. Enemark HL, Al-Sabi M, Knapp J, Staahl M, Chriél M. Detection of a high-endemic focus of *Echinococcus multilocularis* in red foxes in southern Denmark, January 2013. *Eurosurveillance*, 2013, 18: 20420.
214. Petersen H, Al-Sabi M, Enemark H, Kapel C, Jørgensen J, Chriél M. *Echinococcus multilocularis* in Denmark 2012-2015: high local prevalence in red foxes. *Parasitology Research*, 2018, 117: 2577-2584.
215. Fuglei E, Stien A, Yoccoz NG, Ims RA, Eide NE, Prestrud P, Deplazes P, Oksanen A. Spatial distribution of *Echinococcus multilocularis*, Svalbard, Norway. *Emerging Infectious Diseases*, 2008, 14: 73.

216. Davidson RK, Øines Ø, Hamnes IS, Schulze JE. Illegal wildlife imports more than just animals-*Baylisascaris procyonis* in raccoons (*Procyon lotor*) in Norway. *Journal of Wildlife Diseases*, 2013, 49: 986-990.
217. Stien A, Voutilainen L, Haukisalmi V, Fuglei E, Mørk T, Yoccoz N, Ims R, Henttonen H. Intestinal parasites of the Arctic fox in relation to the abundance and distribution of intermediate hosts. *Parasitology*, 2010, 137: 149-157.
218. Madslien K, Øines Ø, Handeland K, Urdahl AM, Albin-Amiot C, Jore S, Davidson RK. The surveillance programme for *Echinococcus multilocularis* in red foxes (*Vulpes vulpes*). 2014.
219. Wahlström H, Enemark HL, Davidson RK, Oksanen A. Present status, actions taken and future considerations due to the findings of *E. multilocularis* in two Scandinavian countries. *Veterinary Parasitology*, 2015, 213: 172-181.
220. Tomczuk K, Hirzmann J, Köhler K, Szczepaniak K, Studzinska M, Demkowska-Kutrzepa M, Roczeń-Karczmarz M, Bauer C. *Echinococcus multilocularis* infection in horses in Poland. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 2020, 22: 100486.
221. Henttonen H, Fuglei E, Gower C, Haukisalmi V, Ims RA, Niemimaa J, Yoccoz NG. *Echinococcus multilocularis* on Svalbard: introduction of an intermediate host has enabled the local life-cycle. *Parasitology*, 2001, 123: 547-552.
222. Janovsky M, Bacciarini L, Sager H, Gröne A, Gottstein B. *Echinococcus multilocularis* in a European beaver from Switzerland. *Journal of Wildlife Diseases*, 2002, 38: 618-620.
223. Burlet P, Deplazes P, Hegglin D. Age, season and spatio-temporal factors affecting the prevalence of *Echinococcus multilocularis* and *Taenia taeniaeformis* in *Arvicola terrestris*. *Parasites & Vectors*, 2011, 4: 1-9.

224. Beerli O, Guerra D, Baltrunaite L, Deplazes P, Hegglin D. *Microtus arvalis* and *Arvicola scherman*: key players in the *Echinococcus multilocularis* life cycle. *Frontiers in Veterinary Science*, 2017, 4: 216.
225. Meyer A, Olias P, Schüpbach G, Henzi M, Barnettler T, Hentrich B, Gottstein B, Frey CF. Combined cross-sectional and case-control study on *Echinococcus multilocularis* infection in pigs in Switzerland. *Veterinary Parasitology*, 2020, 277: 100031.
226. Boufana B, Stidworthy M, Bell S, Chantrey J, Masters N, Unwin S, Wood R, Lawrence R, Potter A, McGarry J. *Echinococcus* and *Taenia* spp. from captive mammals in the United Kingdom. *Veterinary Parasitology*, 2012, 190: 95-103.
227. Barlow A, Gottstein B, Müller N. *Echinococcus multilocularis* in an imported captive European beaver (*Castor fiber*) in Great Britain. *The Veterinary Record*, 2011, 169: 339.
228. Ćirović D, Pavlović I, Kulišić Z, Ivetić V, Penezić A, Ćosić N. *Echinococcus multilocularis* in the European beaver (*Castor fibre* L.) from Serbia: first report. *Veterinary Record Case Reports*, 2013, 1.
229. Mažeika V, Paulauskas A, Balčiauskas L. New data on the helminth fauna of rodents of Lithuania. *Acta Zoologica Lituanica*, 2003, 13: 41-47.
230. Karamon J, Sroka J, Cencek T. The first detection of *Echinococcus multilocularis* in slaughtered pigs in Poland. *Veterinary Parasitology*, 2012, 185: 327-329.
231. Studzińska MB, Demkowska-Kutrzepa M, Karamon J, Cencek T, Tomczuk K. *Echinococcus multilocularis*—first recorded case of Norway rat (*Rattus norvegicus*) in Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2019, 26: 674-676.
232. Houin R, Deniau M, Liance M, Puel F. *Arvicola terrestris* an intermediate host of *Echinococcus multilocularis* in France: epidemiological consequences. *International Journal for Parasitology*, 1982, 12: 593-600.

233. Bonnin J, Delattre P, Artois M, Pascal M, Aubert M, Petavy A. Contribution à la connaissance des hôtes intermédiaires d'*Echinococcus multilocularis* dans le nord-est de la France-Description des lésions trouvées chez 3 espèces de rongeurs naturellement infectés. *Annales de parasitologie humaine et comparée*, 1986, 61: 235-243.
234. Pétavy A-F, Tenora F, Deblock S. Co-occurrence of metacestodes of *Echinococcus multilocularis* and *Taenia taeniaeformis* (Cestoda) in *Arvicola terrestris* (Rodentia) in France. *Folia Parasitologica*, 2003, 50: 157-158.
235. Petavy A, Deblock S, Walbaum S. Life cycles of *Echinococcus multilocularis* in relation to human infection. *The Journal of Parasitology*, 1991: 133-137.
236. Barabási SS, Marosfői L, Barabási ZS, Cozma V. Natural alveolar echinococcosis with *Echinococcus multilocularis* in wild rodents. *Science Parasitology*, 2011, 12: e21.
237. BarabA S, Bokor E, Feke A, Nemes I, Murai A. Occurrence and epidemiology of *Echinococcus granulosus* and *E. multilocularis* in the Covasna County, East Carpathian Mountains, Romania. *Parasit Hung*, 1995: 43-56.
238. Usubalieva J, Minbaeva G, Ziadinov I, Deplazes P, Torgerson PR. Human alveolar echinococcosis in Kyrgyzstan. *Emerging Infectious Diseases*, 2013, 19: 1095.
239. Abdybekova A, Sultanov A, Karatayev B, Zhumabayeva A, Shapiyeva Z, Yeshmuratov T, Toksanbayev D, Shalkeev R, Torgerson PR. Epidemiology of echinococcosis in Kazakhstan: an update. *Journal of Helminthology*, 2015, 89: 647-650.
240. Raimkulov K, Kuttubaev O, Toigombaeva V. Epidemiological analysis of the distribution of cystic and alveolar echinococcosis in Osh Oblast in the Kyrgyz Republic, 2000-2013. *Journal of Helminthology*, 2015, 89: 651-654.

241. Bessonov A. *Echinococcus multilocularis* infection in Russia and neighbouring countries. *Helminthologia*, 1998, 35: 73-78.
242. Tsukada H, Li W, Duo H, Guo Z, Fu Y, Peng M, Shen X, Jing J, Yuan A, Ni M. A comparison of the diet and fine-scale distribution of sympatric Tibetan and red foxes in Qinghai, PR China. *Wildlife Biology*, 2014, 20: 356-361.
243. Vaniscotte A, Raoul F, Poulle M-L, Romig T, Dinkel A, Takahashi K, Guislain M-H, Moss J, Tiaoying L, Wang Q. Role of dog behaviour and environmental fecal contamination in transmission of *Echinococcus multilocularis* in Tibetan communities. *Parasitology*, 2011, 138: 1316-1329.
244. Ito A, Budke C. The present situation of echinococcoses in Mongolia. *Journal of Helminthology*, 2015, 89: 680-688.
245. Kim S-J, Kim J-H, Han S-Y, Kim Y-H, Cho J-H, Chai J-Y, Jeong J-S. Recurrent hepatic alveolar echinococcosis: Report of the first case in Korea with unproven infection route. *The Korean Journal of Parasitology*, 2011, 49: 413.
246. Zariffard M, Masoud J. Study of *Echinococcus granulosus* and *Echinococcus multilocularis* infections in Canidae in Ardabile province of Iran. 1998.
247. Al-Attar H, Al-Irhayim B, Al-Habbal M. Alveolar hydatid disease of the liver: first case report from man in Iraq. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 1983, 77: 595-597.
248. Kharchenko V, Korniyushin V, Varodi E, Malega O. Occurrence of *Echinococcus multilocularis* (Cestoda, Taenidae) in red foxes (*Vulpes vulpes*) from Western Ukraine. *Acta Parasitologica*, 2008, 53: 36-40.
249. Shaikenov BS. Distribution and ecology of *Echinococcus multilocularis* in Central Asia. *Parasitology International*, 2006, 55: 213-219.

250. Schantz P. Epidemiology and control of hydatid disease. *Echinococcus and hydatid disease*, 1995: 233-331.
251. Tranbenkova N. The ecology of *Echinococcus multilocularis* (Leuckart, 1863) and *E. granulosus* (Batsch, 1786) on the Kamchatka Peninsula. *Meditssinskaia Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni*, 1992: 45-47.
252. Mazur O, Fomina A. Composition and infection of intermediate and definitive hosts of *Echinococcus multilocularis* (Leuckart, 1858) in basin of lake Baikal (Buryatia). *Bull. East Sib. Sci. Centre So Ramn*, 2012, 5: 262-264.
253. Pomamarev N, Kostykov M. The Study of Helminths of Wild Foxes of the Altay District, vol. 1. *Bulletin of the Altay State Agrarian University*, 2012: 57-59.
254. Andreyanov O. Alveolar echinococcosis in fur animals from Ryazan district. *Russian Parasitol Journal*, 2011, 3: 7-11.
255. Andreyanov O. Examining *Echinococcus multilocularis* infection in some Midland Russia predatory animal species. *Russian Journal of Infection and Immunity*, 2020, 10: 193-196.
256. Shaikenov B, Torgerson P, Usenbayev A, Baitursynov K, Rysmukhambetova A, Abdybekova A, Karamendin K. The changing epidemiology of echinococcosis in Kazakhstan due to transformation of farming practices. *Acta Tropica*, 2003, 85: 287-293.
257. Štefanić S, Shaikenov BS, Deplazes P, Dinkel A, Torgerson PR, Mathis A. Polymerase chain reaction for detection of patent infections of *Echinococcus granulosus* ("sheep strain") in naturally infected dogs. *Parasitology Research*, 2004, 92: 347-351.
258. Torgerson PR, Rosenheim K, Tanner I, Ziadinov I, Grimm F, Brunner M, Shaiken S, Rysmukhambetova A, Deplazes P. Echinococcosis, toxocarosis and toxoplasmosis

- screening in a rural community in eastern Kazakhstan. *Tropical Medicine & International Health*, 2009, 14: 341-348.
259. Ziadinov I, Mathis A, Trachsel D, Rysmukhambetova A, Abdyjaparov T, Kuttubaev O, Deplazes P, Torgerson PR. Canine echinococcosis in Kyrgyzstan: using prevalence data adjusted for measurement error to develop transmission dynamics models. *International Journal for Parasitology*, 2008, 38: 1179-1190.
 260. Ziadinov I, Deplazes P, Mathis A, Mutunova B, Abdykerimov K, Nurgaziev R, Torgerson P. Frequency distribution of *Echinococcus multilocularis* and other helminths of foxes in Kyrgyzstan. *Veterinary Parasitology*, 2010, 171: 286-292.
 261. Van Kesteren F, Mastin A, Mytynova B, Ziadinov I, Boufana B, Torgerson PR, Rogan MT, Craig PS. Dog ownership, dog behaviour and transmission of *Echinococcus* spp. in the Alay Valley, southern Kyrgyzstan. *Parasitology*, 2013, 140: 1674-1684.
 262. Zoljargal P, Ganzorig S, Nonaka N, Oku Y, Kamiya M. A survey of canine echinococcosis in Gobi Altai Province of Mongolia by coproantigen detection. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 2001, 49: 125-129.
 263. Ito A, Chuluunbaatar G, Yanagida T, Davaasuren A, Sumiya B, Asakawa M, Ki T, Nakaya K, Davaajav A, Dorjsuren T. *Echinococcus* species from red foxes, corsac foxes, and wolves in Mongolia. *Parasitology*, 2013, 140: 1648-1654.
 264. Ito A, Romig T, Takahashi K. Perspective on control options for *Echinococcus multilocularis* with particular reference to Japan. *Parasitology*, 2003, 127: 159-172.
 265. Nonaka N, Kamiya M, Oku Y. Towards the control of *Echinococcus multilocularis* in the definitive host in Japan. *Parasitology International*, 2006, 55: 263-266.
 266. Nonaka N, Hirokawa H, Inoue T, Nakao R, Ganzorig S, Kobayashi F, Inagaki M, Egoshi K, Kamiya M, Oku Y. The first instance of a cat excreting *Echinococcus multilocularis* eggs in Japan. *Parasitology International*, 2008, 57: 519-520.

267. Morishima Y, Tsukada H, Nonaka N, Oku Y, Kamiya M. Coproantigen survey for *Echinococcus multilocularis* prevalence of red foxes in Hokkaido, Japan. *Parasitology International*, 1999, 48: 121-134.
268. Yimam AE, Nonaka N, Oku Y, Kamiya M. Prevalence and intensity of *Echinococcus multilocularis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides albus*) in Otaru City, Hokkaido, Japan. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 2002, 49: 287-296.
269. Kamiya M. Effective countermeasures against alveolar echinococcosis in red fox population of Hokkaido, Japan. *Echinococcosis in central Asia: problems and solutions*, 2004.
270. Nonaka N, Sano T, Inoue T, Teresa Armua M, Fukui D, Katakura K, Oku Y. Multiplex PCR system for identifying the carnivore origins of faeces for an epidemiological study on *Echinococcus multilocularis* in Hokkaido, Japan. *Parasitology Research*, 2009, 106: 75-83.
271. Kamiya M, Lagapa JT, Gansorig S, Kobayashi F, Nonaka N, Oku Y. Echinococcosis risk among domestic definitive hosts, Japan. *Emerging Infectious Diseases*, 2007, 13: 346.
272. Yamamoto N, Morishima Y, Kon M, Yamaguchi M, Tanno S, Koyama M, Maeno N, Azuma H, Mizusawa H, Kimura H. The first reported case of a dog infected with *Echinococcus multilocularis* in Saitama prefecture, Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 2006, 59: 351.
273. Lagapa JTG, Oku Y, Kaneko M, Ganzorig S, Ono T, Nonaka N, Kobayashi F, Kamiya M. Monitoring of environmental contamination by *Echinococcus multilocularis* in an urban fringe forest park in Hokkaido, Japan. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 2009, 14: 299-303.

274. Morishima Y, Sugiyama H, Arakawa K, Kawanaka M. *Echinococcus multilocularis* in dogs, Japan. *Emerging Infectious Diseases*, 2006, 12: 1292.
275. Irie T, Mukai T, Yagi K. *Echinococcus multilocularis* surveillance using copro-DNA and egg examination of shelter dogs from an endemic area in Hokkaido, Japan. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 2018, 18: 390-392.
276. Irie T, Yamada K, Morishima Y, Yagi K. High probability of pet dogs encountering the sylvatic cycle of *Echinococcus multilocularis* in a rural area in Hokkaido, Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 2019: 19-0307.
277. Zhenghuan W, Xiaoming W, Xiaoqing L. Echinococcosis in China, a review of the epidemiology of *Echinococcus* spp. *Ecohealth*, 2008, 5: 115-126.
278. Tang C, Quian Y, Kang Y, Cui G, Lu H, Shu L, Wang Y, Tang L. Study on the ecological distribution of alveolar *Echinococcus* in Hulunbeier Pasture of Inner Mongolia, China. *Parasitology*, 2004, 128: 187-194.
279. Huang Y, Heath DD, Yang W, Qiu J-M, Chen X-W, Yang Y, Wang Q, Li T-Y, Xiao Y-F, Qiu D-C. Epidemiology and risk factor analysis for canine echinococcosis in a Tibetan pastoral area of Sichuan. *Zhongguo ji sheng chong xue yu ji sheng chong bing za zhi*= *Chinese Journal of Parasitology & Parasitic Diseases*, 2008, 26: 245-252.
280. Budke CM, Campos-Ponce M, Qian W, Torgerson PR. A canine purgation study and risk factor analysis for echinococcosis in a high endemic region of the Tibetan plateau. *Veterinary Parasitology*, 2005, 127: 43-49.
281. Zhang Y, Bart J-M, Giraudoux P, Craig P, Vuitton D, Wen H. Morphological and molecular characteristics of *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus granulosus* mixed infection in a dog from Xinjiang, China. *Veterinary Parasitology*, 2006, 139: 244-248.

282. Zhao Y, Tong S, Jing T, Chong S, Cai X, Jing Z, Han J. Investigation on echinococcosis in animals in Gannan Tibetan Autonomous Prefecture. *Zhongguo ji sheng chong xue yu ji sheng chong bing za zhi= Chinese Journal of Parasitology & Parasitic Diseases*, 2009, 27: 27-30.
283. Han X, Wang H, Cai H, Ma X, Liu Y, Wei B, Ito A, Craig P. Epidemiological survey on echinococcosis in Darlag County of Qinghai Province. *Zhongguo ji sheng chong xue yu ji sheng chong bing za zhi= Chinese Journal of Parasitology & Parasitic Diseases*, 2009, 27: 22-26.
284. Moss J, Chen X, Li T, Qiu J, Wang Q, Giraudoux P, Ito A, Torgerson P, Craig P. Reinfection studies of canine echinococcosis and role of dogs in transmission of *Echinococcus multilocularis* in Tibetan communities, Sichuan, China. *Parasitology*, 2013, 140: 1685-1692.
285. Liu C-N, Xu Y-Y, Cadavid-Restrepo AM, Lou Z-Z, Yan H-B, Li L, Fu B-Q, Gray DJ, Clements AA, Barnes TS. Estimating the prevalence of *Echinococcus* in domestic dogs in highly endemic for echinococcosis. *Infectious Diseases of Poverty*, 2018, 7: 1-9.
286. Hartnack S, Budke CM, Craig PS, Jiamin Q, Boufana B, Campos-Ponce M, Torgerson PR. Latent-class methods to evaluate diagnostics tests for *Echinococcus* infections in dogs. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2013, 7: e2068.
287. Ma J, Wang H, Lin G, Zhao F, Li C, Zhang T, Ma X, Zhang Y, Hou Z, Cai H. Surveillance of echinococcus isolates from Qinghai, China. *Veterinary Parasitology*, 2015, 207: 44-48.
288. Hao L, Yang A, Yuan D, Guo L, Hou W, Mo Q, Lu Z, Nie C. Detection of *Echinococcus multilocularis* in domestic dogs of Shiqu County in the summer herding. *Parasitology Research*, 2018, 117: 1965-1968.

289. Weng X, Mu Z, Wei X, Wang X, Zuo Q, Ma S, Ding Y, Wang X, Wu W, Craig PS. The effects of dog management on *Echinococcus* spp. prevalence in villages on the eastern Tibetan Plateau, China. *Parasites & Vectors*, 2020, 13: 1-12.
290. Craig PS, in China TEWG. Epidemiology of human alveolar echinococcosis in China. *Parasitology International*, 2006, 55: 221-225.
291. Cai H, Zhang J, Zhang X, Guan Y, Ma X, Cao J, Ma J, Liu N, Wu H, Liu Y. Prevalence of *Echinococcus* Species in Wild Foxes and Stray Dogs in Qinghai Province, China. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2022, 106: 718.
292. Khan A, Umhang G, Ullah Z, Boué F, Bastid V, Ullah I, Mahmood S, Afzal MS, Ahmed H. Investigation of *Echinococcus multilocularis* in foxes and dogs in Pakistan by detection of copro-DNA. *Parasitology Research*, 2021, 120: 731-737.
293. Mobedi I, Sadighian A. *Echinococcus multilocularis* Leuckart, 1863, in red foxes, *Vulpes vulpes* Linn., in Moghan, Azerbaijan Province, northwest of Iran. *Journal of Parasitology*, 1971, 57.
294. Mobedi I, Bray R, Arfaa F, Movafag K. A study on the cestodes of carnivores in the northwest of Iran. *Journal of Helminthology*, 1973, 47: 277-281.
295. Beiromvand M, Akhlaghi L, Fattahi Massom SH, Mobedi I, Meamar AR, Oormazdi H, Motevalian A, Razmjou E. Detection of *Echinococcus multilocularis* in carnivores in Razavi Khorasan province, Iran using mitochondrial DNA. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2011, 5: e1379.
296. Mobedi I, Zare-Bidaki M, Siavashi M, Naddaf S, Kia E, Mahmoudi M. Differential detection of *Echinococcus* spp. copro-DNA by nested-PCR in domestic and wild definitive hosts in Moghan Plain, Iran. *Iranian Journal of Parasitology*, 2013, 8: 107.

297. Rahimi M, Sarvi S, Daryani A, Sharif M, Ahmadpour E, Shokri A, Mizani A. Application of multiplex PCR for the simultaneous detection of spp. from domestic dogs in the north of Iran. *Helminthologia*, 2016, 53: 285-289.
298. Heidari Z, Sharbatkhori M, Mobedi I, Mirhendi SH, Nikmanesh B, Sharifdini M, Mohebbali M, Zarei Z, Arzamani K, Kia EB. *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus granulosus* in canines in North-Khorasan Province, northeastern Iran, identified using morphology and genetic characterization of mitochondrial DNA. *Parasites & Vectors*, 2019, 12: 1-13.
299. Beiromvand M, Rafiei A, Razmjou E, Maraghi S. Multiple zoonotic helminth infections in domestic dogs in a rural area of Khuzestan Province in Iran. *BMC Veterinary Research*, 2018, 14: 1-7.
300. Kairov I. *Echinococcus multilocularis* in Karakalpakistan. *Vest Karakal Filiala Akad Nauk Uzb SSR*, 1976, 4: 20-25.
301. Sadikov V. Distribution of the agents of echinococcosis and alveococcosis in dogs and foxes in Uzbekistan. *Helminths in Man, Animals and Plants and their Control KI Skryabin 85th Anniversary, Volume, 61-62*, 1963.
302. Makarikov AA, Dokuchaev NE. Tapeworms in Rodents from the Lower Anabar River Basin, with a Review of Species Diversity of Cestodes in Yakutia, Russia. *Acta Parasitologica*, 2021, 66: 1012-1020.
303. Kimura M, Toukairin A, Tatezaki H, Tanaka S, Harada K, Araiama J, Yamasaki H, Sugiyama H, Morishima Y, Kawanaka M. *Echinococcus multilocularis* detected in slaughtered pigs in Aomori, the northernmost prefecture of mainland Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 2010, 63: 80-81.

304. Munehiro O, Osamu F, Jiro A, Tsutomu K, Yuzaburo O, Masao K. Natural *Echinococcus multilocularis* infection in a Norway rat, *Rattus norvegicus*, in southern Hokkaido, Japan. *International Journal for Parasitology*, 1992, 22: 681-684.
305. Ohbayashi M. Host animals of *Echinococcus multilocularis* in Hokkaido. *Alveolar echinococcosis: Strategy for eradication of alveolar echinococcosis of the liver*, 1996.
306. Fukumoto S-i, Yamada S, Fushikida M, Toyada S, Nishikawa T, Higuchi H, Ueno H, Ueda H, Sugiyama H, Morishima Y. Natural larval *Echinococcus multilocularis* infection in a Norway rat, *Rattus norvegicus*, captured indoors in Hokkaido, Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 2017, 79: 1857-1860.
307. Iwaki T, Hatakeyama S, Nonaka N, Miyaji S. Survey on Larval *Echinococcus multilocularis* and Other Hepatic Helminths in Rodents and Insectivores in Hokkaido, Japan. *Jpn. J. Parasitol*, 1993, 42: 502-506.
308. Wu C, Zhang W, Ran B, Fan H, Wang H, Guo B, Zhou C, Shao Y, Zhang W, Giraudoux P. Genetic variation of mitochondrial genes among *Echinococcus multilocularis* isolates collected in western China. *Parasites & Vectors*, 2017, 10: 1-7.
309. Wang X, Liu J, Zuo Q, Mu Z, Weng X, Sun X, Wang J, Boufana B, Craig PS, Giraudoux P. *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus shiquicus* in a small mammal community on the eastern Tibetan Plateau: host species composition, molecular prevalence, and epidemiological implications. *Parasites & Vectors*, 2018, 11: 1-12.
310. Li J, Li L, Fan Y, Fu B, Zhu X, Yan H, Jia W. Genetic diversity in *Echinococcus multilocularis* from the plateau vole and plateau pika in Jiuzhi County, Qinghai Province, China. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2632.
311. Guo B, Zhang Z, Guo Y, Guo G, Wang H, Ma J, Chen R, Zheng X, Bao J, He L. High endemicity of alveolar echinococcosis in Yili Prefecture, Xinjiang Autonomous

- Region, the People's Republic of China: Infection status in different ethnic communities and in small mammals. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2021, 15: e0008891.
312. Shaikenov B, Torgerson P. Distribution of *Echinococcus multilocularis*. *Cestode Zoonoses: Echinococcosis and Cysticercosis: An Emergent and Global Problem*, 2002, 341: 299.
 313. Abdyjaparov T. Alveolar echinococcosis in rodents of mountains pastures of Kyrgyzstan. *Echinococcosis in central Asia: problems and solutions*, 2004.
 314. Beiromvand M, Akhlaghi L, Fattahi Massom SH, Meamar AR, Darvish J, Razmjou E. Molecular identification of *Echinococcus multilocularis* infection in small mammals from Northeast, Iran. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2013, 7: e2313.
 315. Liccioli S, Duignan PJ, Lejeune M, Deunk J, Majid S, Massolo A. A new intermediate host for *Echinococcus multilocularis*: the southern red-backed vole (*Myodes gapperi*) in urban landscape in Calgary, Canada. *Parasitology International*, 2013, 62: 355-357.
 316. Liccioli S, Catalano S, Kutz SJ, Lejeune M, Verocai G, Duignan PJ, Fuentealba C, Hart M, Ruckstuhl KE, Massolo A. Gastrointestinal parasites of coyotes (*Canis latrans*) in the metropolitan area of Calgary, Alberta, Canada. *Canadian Journal of Zoology*, 2012, 90: 1023-1030.
 317. Jenkins EJ, Peregrine AS, Hill JE, Somers C, Gesy K, Barnes B, Gottstein B, Polley L. Detection of European strain of *Echinococcus multilocularis* in North America. *Emerging Infectious Diseases*, 2012, 18: 1010.
 318. Gesy K, Hill J, Schwantje H, Liccioli S, Jenkins E. Establishment of a European-type strain of *Echinococcus multilocularis* in Canadian wildlife. *Parasitology*, 2013, 140: 1133-1137.

319. Storandt ST, Kazacos KR. *Echinococcus multilocularis* identified in Indiana, Ohio, and east-central Illinois. *The Journal of Parasitology*, 1993: 301-305.
320. Skelding A, Brooks A, Stalker M, Mercer N, de Villa E, Gottstein B, Peregrine AS. Hepatic alveolar hydatid disease (*Echinococcus multilocularis*) in a boxer dog from southern Ontario. *The Canadian Veterinary Journal*, 2014, 55: 551.
321. Melotti JR, Muzzall PM, O'Brien DJ, Cooley TM, Tsao JI. Low prevalence of *Echinococcus multilocularis* in Michigan, USA: a survey of coyotes (*Canis latrans*), red foxes (*Vulpes vulpes*), and gray foxes (*Urocyon cinereoargenteus*), 2009-2012. *Comparative Parasitology*, 2015, 82: 285-290.
322. Gesy KM, Schurer JM, Massolo A, Liccioli S, Elkin BT, Alisauskas R, Jenkins EJ. Unexpected diversity of the cestode *Echinococcus multilocularis* in wildlife in Canada. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 2014, 3: 81-87.
323. Schurer JM, Gesy KM, Elkin BT, Jenkins EJ. *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus canadensis* in wolves from western Canada. *Parasitology*, 2014, 141: 159-163.
324. Schurer JM, Pawlik M, Huber A, Elkin B, Cluff HD, Pongracz JD, Gesy K, Wagner B, Dixon B, Merks H. Intestinal parasites of gray wolves (*Canis lupus*) in northern and western Canada. *Canadian Journal of Zoology*, 2016, 94: 643-650.
325. Rausch R. Life cycle patterns and geographic distribution of *Echinococcus* species. *Echinococcus and Hydatid Disease*, 1995.
326. Holt DW, Hanns C, O'Hara T, Burek K, Frantz R. New distribution records of *Echinococcus multilocularis* in the brown lemming from Barrow, Alaska, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, 2005, 41: 257-259.

327. Jenkins EJ, Castrodale LJ, de Rosemond SJ, Dixon BR, Elmore SA, Gesy KM, Hoberg EP, Polley L, Schurer JM, Simard M. Tradition and transition: parasitic zoonoses of people and animals in Alaska, northern Canada, and Greenland. *Advances in Parasitology*, 2013, 82: 33-204.
328. Leiby PD, Carney WP, Woods CE. Studies on sylvatic echinococcosis. III. Host occurrence and geographic distribution of *Echinococcus multilocularis* in the north central United States. *The Journal of Parasitology*, 1970: 1141-1150.
329. Kritsky DC, Leiby PD. Studies on sylvatic echinococcosis. V. Factors influencing prevalence of *Echinococcus multilocularis* Leuckart 1863, in red foxes from North Dakota, 1965-1972. *The Journal of Parasitology*, 1978: 625-634.
330. Kamler JF, Ballard WB. A review of native and nonnative red foxes in North America. *Wildlife Society Bulletin*, 2002: 370-379.
331. Hildreth M, Sriram S, Gottstein B, Wilson M, Schantz P. Failure to identify alveolar echinococcosis in trappers from South Dakota in spite of high prevalence of *Echinococcus multilocularis* in wild canids. *Journal of Parasitology*, 2000, 86: 75-77.
332. Storandt ST, Kazacos KR. *Echinococcus multilocularis* identified in Michigan with additional records from Ohio. *Journal of Parasitology*, 2012, 98: 891-893.
333. Rausch RL, Fay F, Williamson FS. The ecology of *Echinococcus multilocularis* (Cestoda: Taenidae) on St. Lawrence Island, Alaska.-II.-Helminth populations in the definitive host. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 1990, 65: 131-140.
334. Kirk CM. *Sentinels of Arctic ecosystem health: polar bear and arctic fox*. Bask1. University of Alaska Fairbanks, 2010.
335. Wobeser G. The occurrence of *Echinococcus multilocularis* (Leukart, 1863) in cats near Saskatoon, Saskatchewan. *The Canadian Veterinary Journal*, 1971, 12: 65.

336. Catalano S, Lejeune M, Liccioli S, Verocai GG, Gesy KM, Jenkins EJ, Kutz SJ, Fuentealba C, Duignan PJ, Massolo A. *Echinococcus multilocularis* in urban coyotes, Alberta, Canada. *Emerging Infectious Diseases*, 2012, 18: 1625.
337. Liccioli S, Kutz SJ, Ruckstuhl KE, Massolo A. Spatial heterogeneity and temporal variations in *Echinococcus multilocularis* infections in wild hosts in a North American urban setting. *International Journal for Parasitology*, 2014, 44: 457-465.
338. Santa MA, Pastran SA, Klein C, Duignan P, Ruckstuhl K, Romig T, Massolo A. Detecting co-infections of *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus canadensis* in coyotes and red foxes in Alberta, Canada using real-time PCR. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 2018, 7: 111-115.
339. Kotwa JD, Isaksson M, Jardine CM, Campbell GD, Berke O, Pearl DL, Mercer NJ, Osterman-Lind E, Peregrine AS. *Echinococcus multilocularis* infection, southern Ontario, Canada. *Emerging Infectious Diseases*, 2019, 25: 265.
340. Luong L, Chambers J, Moizis A, Stock T, Clair CS. Helminth parasites and zoonotic risk associated with urban coyotes (*Canis latrans*) in Alberta, Canada. *Journal of Helminthology*, 2020, 94.
341. Tse C, Bullard J, Rusk R, Douma D, Plourde P. *Echinococcus* tapeworm in coyotes and domestic dogs in Winnipeg. 2019.
342. Steckler DK. *Echinococcus multilocularis* infection is more prevalent in young coyotes (*Canis latrans*) with varied effects of diet. 2021.
343. Porter E, Seguin MA, Estrada M, Szlosek D, Massolo A, Visscher DR. Assessing the potential for infections of *Echinococcus multilocularis* in dogs in a hotspot of human alveolar echinococcosis infections in North America. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 2022, 29: 100704.

344. Rausch RL, Richards SH. Observations on parasite–host relationships of *Echinococcus multilocularis* Leuckart, 1863, in North Dakota. *Canadian Journal of Zoology*, 1971, 49: 1317-1330.
345. Chalmers GA, Barrett MW. *Echinococcus multilocularis* Leuckart, 1863 in rodents in southern Alberta. *Canadian Journal of Zoology*, 1974, 52: 1091-1091.
346. Holmes JC, Mahrt JL, Samuel WM. The occurrence of *Echinococcus multilocularis* Leuckart, 1863 in Alberta. *Canadian Journal of Zoology*, 1971, 49: 575-576.
347. Craig P, Giraudoux P, Shi D, Bartholomot B, Barnish G, Delattre P, Quere J, Harraga S, Bao G, Wang Y. An epidemiological and ecological study of human alveolar echinococcosis transmission in south Gansu, China. *Acta tropica*, 2000, 77: 167-177.
348. McManus DP, Li Z, Yang S, Gray DJ, Yang YR. Case studies emphasising the difficulties in the diagnosis and management of alveolar echinococcosis in rural China. *Parasites & Vectors*, 2011, 4: 1-4.
349. Otero-Abad B, Torgerson PR. A systematic review of the epidemiology of echinococcosis in domestic and wild animals. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2013, 7: e2249.
350. Geramizadeh B, Nikeghbalian S, Malekhosseini SA. Alveolar echinococcosis of the liver: report of three cases from different geographic areas of Iran. *Hepatitis Monthly*, 2012, 12.
351. Uysal V, Paksoy N. *Echinococcosis multilocularis* in Turkey. *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1986, 89: 249-255.
352. Uzunlar A, Yilmaz F, Bitiren M. *Echinococcosis multilocularis* in south-eastern Anatolia, Turkey. *East African Medical Journal*, 2003, 80: 395-397.

353. Mimioglu M, Güralp N, Tolgay N, Sayin F. Ankara civarında tilkilerde (*Vulpes vulpes*) bulduğumuz helmintler. *Veteriner Fakültesi Dergisi. Ankara University*, 1965, 12: 164-190.
354. Gicik Y, Kara M, Sari B, Kilic K, Arslan M. Intestinal parasites of red foxes (*Vulpes vulpes*) and their zoonotic importance for humans in Kars province. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2009, 15: 135-140.
355. Merdivenci A. Türkiyede tilki (*Vulpes vulpes*) lerde ilk helmintolojik araştırma ve ilk *Echinococcus multilocularis* (Leuckart, 1864) Vogel, 1955 olayı. *Türk Veteriner Hekimleri Dernegi Dergisi*, 1963, 33.
356. Gürler AT, Gori F, Bölükbas CS, Umur Ş, Açıcı M, Deplazes P. Investigation of *Echinococcus multilocularis* in environmental definitive host feces in the Asian and the European parts of Turkey. *Frontiers in Veterinary Science*, 2018, 5: 48.
357. Kesik HK, Kilinc SG, Celik F, Simsek S, Ahmed H. A case-study of the molecular diagnosis of *Echinococcus multilocularis* in wild boar with comments on its public health significance in Turkey. *The Journal of Parasitology*, 2020, 106: 730-734.
358. Kato N, Nonaka N, Oku Y, Kamiya M. Modified cellular immune responses in dogs infected with *Echinococcus multilocularis*. *Parasitology Research*, 2005, 95: 339-345.
359. Lightowers M. Vaccination against animal parasites. *Veterinary parasitology*, 1994, 54: 177-204.
360. Veterinary immunology: an introduction, Baskı, 2004.
361. Eckert J, Thompson RC, Mehlhorn H. Proliferation and metastases formation of larval *Echinococcus multilocularis*. I. Animal model, macroscopical and histological findings. *Z Parasitenkd*, 1983, 69: 737-748.

362. Gottstein B, Deplazes P, Aubert M. *Echinococcus multilocularis*: immunological study on the "Em2-positive" laminated layer during in vitro and in vivo post-oncospherical and larval development. *Parasitology Research*, 1992, 78: 291-297.
363. Rogan MT, Bodell AJ, Craig PS. Post-encystment/established immunity in cystic echinococcosis: is it really that simple? *Parasite Immunology*, 2015, 37: 1-9.
364. Gottstein B, Soboslay P, Ortona E, Wang J, Siracusano A, Vuitton D. Immunology of Alveolar and Cystic Echinococcosis (AE and CE). *Advanced in Parasitology*, 2017, 96: 1-54.
365. Armua-Fernandez MT, Joekel D, Schweiger A, Eichenberger RM, Matsumoto J, Deplazes P. Successful intestinal *Echinococcus multilocularis* oncosphere invasion and subsequent hepatic metacestode establishment in resistant RccHanTM:WIST rats after pharmacological immunosuppression. *Parasitology*, 2016, 143: 1252-1260.
366. Nakao R, Kameda Y, Kouguchi H, Matsumoto J, Dang Z, Simon AY, Torigoe D, Sasaki N, Oku Y, Sugimoto C, Agui T, Yagi K. Identification of genetic loci affecting the establishment and development of *Echinococcus multilocularis* larvae in mice. *International Journal for Parasitology*, 2011, 41: 1121-1128.
367. Emery I, Leclerc C, Sengphommachanh K, Vuitton DA, Liance M. In vivo treatment with recombinant IL-12 protects C57BL/6J mice against secondary alveolar echinococcosis. *Parasite Immunology*, 1998, 20: 81-91.
368. Vuitton DA, Gottstein B. *Echinococcus multilocularis* and its intermediate host: a model of parasite-host interplay. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010, 2010: 923193.
369. Gottstein B. Molecular and immunological diagnosis of echinococcosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 1992, 5: 248-261.

370. Vuitton DA, Zhang SL, Yang Y, Godot V, Beurton I, Manton G, Bresson-Hadni S. Survival strategy of *Echinococcus multilocularis* in the human host. *Parasitology International*, 2006, 55 Suppl: 51-55.
371. Mejeri N, Gottstein B. *Echinococcus multilocularis* metacestode metabolites contain a cysteine protease that digests eotaxin, a CC pro-inflammatory chemokine. *Parasitology Research*, 2009, 105: 1253-1260.
372. Knapp J, Bart JM, Glowatzki ML, Ito A, Gerard S, Maillard S, Piarroux R, Gottstein B. Assessment of use of microsatellite polymorphism analysis for improving spatial distribution tracking of *Echinococcus multilocularis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2007, 45: 2943-2950.
373. Knapp J, Bart JM, Giraudoux P, Glowatzki ML, Breyer I, Raoul F, Deplazes P, Duscher G, Martinek K, Dubinsky P, Guislain MH, Cliquet F, Romig T, Malczewski A, Gottstein B, Piarroux R. Genetic diversity of the cestode *Echinococcus multilocularis* in red foxes at a continental scale in Europe. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 2009, 3: e452.
374. Craig P. *Echinococcus multilocularis*. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 2003, 16: 437-444.
375. Gottstein B. An immunoassay for the detection of circulating antigens in human echinococcosis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1984, 33: 1185-1191.
376. Vogel M, Gottstein B, Müller N, Seebeck T. Production of a recombinant antigen of *Echinococcus multilocularis* with high immunodiagnostic sensitivity and specificity. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 1988, 31: 117-125.
377. Gottstein B, Hemphill A. Immunopathology of echinococcosis. *Chemical Immunology*, 1997, 66: 177-208.

378. Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature*, 1996, 383: 787-793.
379. Zhang W, McManus DP. Recent advances in the immunology and diagnosis of echinococcosis. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2006, 47: 24-41.
380. Deplazes P, Gottstein B. A monoclonal antibody against *Echinococcus multilocularis* Em2 antigen. *Parasitology*, 1991, 103 Pt 1: 41-49.
381. Gottstein B, Wunderlin E, Tanner I. *Echinococcus multilocularis*: parasite-specific humoral and cellular immune response subsets in mouse strains susceptible (AKR, C57B1/6J) or 'resistant' (C57B1/10) to secondary alveolar echinococcosis. *Clinical Experimental Immunology*, 1994, 96: 245-252.
382. Ammann RW, Stumpe KD, Grimm F, Deplazes P, Huber S, Bertogg K, Fischer DR, Müllhaupt B. Outcome after Discontinuing Long-Term Benzimidazole Treatment in 11 Patients with Non-resectable Alveolar Echinococcosis with Negative FDG-PET/CT and Anti-EmII/3-10 Serology. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 2015, 9: e0003964.
383. Mejri N, Müller J, Gottstein B. Intraperitoneal murine *Echinococcus multilocularis* infection induces differentiation of TGF- β -expressing DCs that remain immature. *Parasite Immunology*, 2011, 33: 471-482.
384. Graichen DA, Gottstein B, Matsumoto J, Müller N, Zanotto PM, Ayala FJ, Haag KL. Expression and diversity of *Echinococcus multilocularis* AgB genes in secondarily infected mice: evaluating the influence of T-cell immune selection on antigenic variation. *Gene*, 2007, 392: 98-105.
385. Ma X, Wang L, Zhao H, Pang N, Zhang F, Jiang T, Liu X, Mamuti W, Wen H, Ding J. Th17 cells are associated with the Th1/Th2-cell balance during

- Echinococcus multilocularis* infection. *Molecular Medicine Reports*, 2014, 10: 236-240.
386. Wang H, Zhang F, Ma X, Ma H, Zhu Y, Liu X, Zhu M, Wen H, Ding J. Prokaryotic expression and identification of B- and T-cell combined epitopes of Em95 antigen of *Echinococcus multilocularis*. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2014, 7: 5117-5122.
387. Wang J, Lin R, Zhang W, Li L, Gottstein B, Blagosklonov O, Lü G, Zhang C, Lu X, Vuitton DA, Wen H. Transcriptional profiles of cytokine/chemokine factors of immune cell-homing to the parasitic lesions: a comprehensive one-year course study in the liver of *E. multilocularis*-infected mice. *PLoS One*, 2014, 9: e91638.
388. Schmid M, Samonigg H, Stoger H, Auer H, Sternthal MH, Wilders-Truschnig M, Reisinger EC. Use of Interferon γ and Mebendazole to Stop the Progression of Alveolar Hydatid Disease: Case Report. *Clinical Infectious Diseases*, 1995, 20: 1543-1546.
389. Hübner MP, Manfras BJ, Margos MC, Eiffler D, Hoffmann WH, Schulz-Key H, Kern P, Soboslay PT. *Echinococcus multilocularis* metacestodes modulate cellular cytokine and chemokine release by peripheral blood mononuclear cells in alveolar echinococcosis patients. *Clinical and Experimental Immunology*, 2006, 145: 243-251.
390. Sturm D, Menzel J, Gottstein B, Kern P. Interleukin-5 is the predominant cytokine produced by peripheral blood mononuclear cells in alveolar echinococcosis. *Infection and Immunity*, 1995, 63: 1688-1697.
391. Godot V, Harraga S, Deschaseaux M, Bresson-Hadni S, Gottstein B, Emilie D, Vuitton DA. Increased basal production of interleukin-10 by peripheral blood mononuclear cells in human alveolar echinococcosis. *European Cytokine Network*, 1997, 8: 401-408.

392. Dreweck CM, Soboslay PT, Schulz-Key H, Gottstein B, Kern P. Cytokine and chemokine secretion by human peripheral blood cells in response to viable *Echinococcus multilocularis* metacestode vesicles. *Parasite Immunology*, 1999, 21: 433-438.
393. Harraga S, Godot V, Bresson-Hadni S, Manton G, Vuitton DA. Profile of cytokine production within the periparasitic granuloma in human alveolar echinococcosis. *Acta Tropica*, 2003, 85: 231-236.
394. Beschin A, De Baetselier P, Van Ginderachter JA. Contribution of myeloid cell subsets to liver fibrosis in parasite infection. *Journal of Pathology*, 2013, 229: 186-197.
395. Vuitton DA. The ambiguous role of immunity in echinococcosis: protection of the host or of the parasite? *Acta Tropica*, 2003, 85: 119-132.
396. Thompson RC, Jenkins DJ. *Echinococcus* as a model system: biology and epidemiology. *International Journal for Parasitology*, 2014, 44: 865-877.
397. Thompson RC, Dunsmore JD, Hayton AR. *Echinococcus granulosus*: secretory activity of the rostellum of the adult cestode in situ in the dog. *Experimental Parasitology*, 1979, 48: 144-163.
398. Deplazes P, Thompson RC, Constantine CC, Penhale WJ. Primary infection of dogs with *Echinococcus granulosus*: systemic and local (Peyer's patches) immune responses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 1994, 40: 171-184.
399. Gasser RB, Jenkins DJ, Paolillo E, Parada L, Cabrera P, Craig PS. Serum antibodies in canine echinococcosis. *International Journal for Parasitology*, 1993, 23: 579-586.
400. Freeman RS. Ontogeny of cestodes and its bearing on their phylogeny and systematics. *Advanced in Parasitology*, 1973, 11: 481-557.
401. Rybicka K. Embryogenesis in cestodes. *Adv Parasitol*, 1966, 4: 107-186.

402. Heath DD. The migration of oncospheres of *Taenia pisiformis*, *T. serialis* and *Echinococcus granulosus* within the intermediate host. *International Journal for Parasitology*, 1971, 1: 145-152.
403. Woolsey ID, Miller AL. *Echinococcus granulosus sensu lato* and *Echinococcus multilocularis*: A review. *Research in Veterinary Science*, 2021, 135: 517-522.
404. Guerret S, Vuitton DA, Liance M, Pater C, Carbillet JP. *Echinococcus multilocularis*: relationship between susceptibility/resistance and liver fibrogenesis in experimental mice. *Parasitology Research*, 1998, 84: 657-667.
405. Vuitton DA, Guerret-Stocker S, Carbillet JP, Manton G, Miguet JP, Grimaud JA. Collagen immunotyping of the hepatic fibrosis in human alveolar echinococcosis. *Z Parasitenkd*, 1986, 72: 97-104.
406. Yang X, Qiu Y, Wang W, Feng X, Shen S, Li B, Wen T, Yang J, Xu M, Chen Z. Risk factors and a simple model for predicting bile leakage after radical hepatectomy in patients with hepatic alveolar echinococcosis. *Medicine*, 2017, 96.
407. Tomczuk K, Hirzmann J, Köhler K, Szczepaniak K, Studzinska M, Demkowska-Kutrzepa M, Roczeń-Karczmarz M, Bauer C. *Echinococcus multilocularis* infection in horses in Poland. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 2020, 22: 100486.
408. Deplazes P, Grimm F, Sydler T, Tanner I, Kapel CM. Experimental alveolar echinococcosis in pigs, lesion development and serological follow up. *Veterinary Parasitology*, 2005, 130: 213-222.
409. Haller M, Deplazes P, Guscetti F, Sardinas JC, Reichler I, Eckert J. Surgical and chemotherapeutic treatment of alveolar echinococcosis in a dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 1998, 34: 309-314.

410. Corsini M, Geissbühler U, Howard J, Gottstein B, Spreng D, Frey CF. Clinical presentation, diagnosis, therapy and outcome of alveolar echinococcosis in dogs. *Veterinary Record*, 2015, 177: 569.
411. Zajac A, Fairman D, McGee E, Wells B, Peregrine A, Jenkins E, LeRoith T, St John B. Alveolar echinococcosis in a dog in the eastern United States. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2020, 32: 742-746.
412. Goldsmith DA, Oetelaar GS, Chalhoub S, Klein C, Bramer SA, Locke EP, Massolo A. Pathology in Practice. *J Am Vet Med Assoc*, 2018, 253: 563-565.
413. Scharf G, Deplazes P, Kaser-Hotz B, Borer L, Hasler A, Haller M, Flückiger M. Radiographic, ultrasonographic, and computed tomographic appearance of alveolar echinococcosis in dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 2004, 45: 411-418.
414. Frey CF, Marreros N, Renneker S, Schmidt L, Sager H, Hentrich B, Milesi S, Gottstein B. Dogs as victims of their own worms: Serodiagnosis of canine alveolar echinococcosis. *Parasite and Vectors*, 2017, 10: 422.
415. Antolová D, Víchová B, Jarošová J, Gál V, Bajuzík B. Alveolar echinococcosis in a dog; analysis of clinical and histological findings and molecular identification of *Echinococcus multilocularis*. *Acta Parasitologica*, 2018, 63: 486-494.
416. Losson BJ, Coignoul F. Larval *Echinococcus multilocularis* infection in a dog. *Veterinary Record*, 1997, 141: 49-50.
417. Geisel O, Barutzki D, Minkus G, Hermanns W, Löscher T. Hunde als Fennenträger (Intermediärwirt) von *Echinococcus multilocularis*. *Kleintierpraxis*, 1990, 35: 275-280.
418. Peregrine AS, Jenkins EJ, Barnes B, Johnson S, Polley L, Barker IK, De Wolf B, Gottstein B. Alveolar hydatid disease (*Echinococcus multilocularis*) in the liver of a

- Canadian dog in British Columbia, a newly endemic region. *Canadian Veterinary Journal*, 2012, 53: 870-874.
419. Geigy CA, Kühn K, Rütten M, Howard J, Grimm F, Rohrer Bley C. Unusual presentation of alveolar echinococcosis as prostatic and paraprostatic cysts in a dog. *BMC Veterinary Research*, 2013, 9: 159.
420. Rehmann P, Gröne A, Gottstein B, Völlm J, Sager H, Janovsky M, Bacciarini LN. Detection of *Echinococcus multilocularis* infection in a colony of cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) using serology and ultrasonography. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2005, 17: 183-186.
421. Bacciarini L, Gottstein B, Pagan O, Rehmann P, Gröne A. Hepatic alveolar echinococcosis in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Veterinary Pathology*, 2004, 41: 229-234.
422. Bacciarini L, Gröne A, Gottstein B, Wenker C. Rapid development of hepatic alveolar echinococcosis in a cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *The Veterinary Record*, 2005, 156: 90.
423. Kondo H, Wada Y, Bando G, Kosuge M, Yagi K, Oku Y. Alveolar hydatidosis in a gorilla and a ring-tailed lemur in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 1996, 58: 447-449.
424. Rehmann P, Gröne A, Lawrenz A, Pagan O, Gottstein B, Bacciarini L. *Echinococcus multilocularis* in two lowland gorillas (*Gorilla g. gorilla*). *Journal of Comparative Pathology*, 2003, 129: 85-88.
425. Yamano K, Kanetoshi A, Goto A, Kishimoto M, Kobayashi N, Fujimoto S, Yamada K. Japanese monkey (*Macaca fuscata*) with alveolar echinococcosis after treatment with albendazole for 10 years: serodiagnosis and determination of albendazole metabolites. *Parasitology Research*, 2009, 106: 69-74.

426. Christiansen EF, Himsworth CG, Hill JE, Haulena M. Infection of a Goeldi's monkey (*Callimico goeldii*) with a European strain of *Echinococcus multilocularis* in a Canadian Institution. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 2015, 46: 378-381.
427. Tappe D, Brehm K, Frosch M, Blankenburg A, Schrod A, Kaup F-J, Mätz-Rensing K. *Echinococcus multilocularis* infection of several Old World monkey species in a breeding enclosure. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2007, 77: 504-506.
428. Brunet J, Regnard P, Pesson B, Abou-Bacar A, Sabou M, Pfaff AW, Candolfi E. Description of vertebral and liver alveolar echinococcosis cases in Cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *BMC Veterinary Research*, 2015, 11: 198.
429. Eckert J, Deplazes P, Craig P, Gemmell M, Gottstein B, Heath D, Jenkins D, Kamiya M, Lightowlers M. Echinococcosis in animals: clinical aspects, diagnosis and treatment. *WHO/OIE Manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern*, 2001: 72-99.
430. Pawlowski Z, Eckert S, Vuitton D, Ammann R, Kern P, Craig P, Dar F, De Rosa F, Filice C, Gottstein B. von Sinner W, Wen H. 2001. Echinococcosis in humans: clinical aspects, diagnosis and treatment. 20-66.
431. McManus DP, Gray DJ, Zhang W, Yang Y. Diagnosis, treatment, and management of echinococcosis. *Bmj Journals*, 2012, 344: e3866.
432. Conraths FJ, Deplazes P. *Echinococcus multilocularis*: epidemiology, surveillance and state-of-the-art diagnostics from a veterinary public health perspective. *Veterinary Parasitology*, 2015, 213: 149-161.
433. Tryjanowski P, Sparks TH, Kamieniarz R, Panek M. The relationship between hunting methods and sex, age and body weight in a non-trophy animal, the red fox. *Wildlife Research*, 2009, 36: 106-109.

434. Hegglin D, Bontadina F, Deplazes P. Human-wildlife interactions and zoonotic transmission of *Echinococcus multilocularis*. *Trends in Parasitology*, 2015, 31: 167-173.
435. Craig P, Mastin A, van Kesteren F, Boufana B. *Echinococcus granulosus*: epidemiology and state-of-the-art of diagnostics in animals. *Veterinary Parasitology*, 2015, 213: 132-148.
436. Allan JC, Craig PS. Coproantigens in taeniasis and echinococcosis. *Parasitology International*, 2006, 55: 75-80.
437. Huang Y, Yi D, Liu L, Huang L, Yu W, Wang Q, Li Y, Han X, Qiu D, Wang H. *Echinococcus* infections in Chinese dogs: a comparison of coproantigen kits. *Journal of Helminthology*, 2014, 88: 189-195.
438. Dinkel A, Kern S, Brinker A, Oehme R, Vaniscotte A, Giraudoux P, Mackenstedt U, Romig T. A real-time multiplex-nested PCR system for coprological diagnosis of *Echinococcus multilocularis* and host species. *Parasitology Research*, 2011, 109: 493-498.
439. Boufana B, Umhang G, Qiu J, Chen X, Lahmar S, Boué F, Jenkins D, Craig P. Development of three PCR assays for the differentiation between *Echinococcus shiquicus*, *E. granulosus* (G1 genotype), and *E. multilocularis* DNA in the co-endemic region of Qinghai-Tibet plateau, China. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2013, 88: 795.
440. Wahlström H, Comin A, Isaksson M, Deplazes P. Detection of *Echinococcus multilocularis* by MC-PCR: evaluation of diagnostic sensitivity and specificity without gold standard. *Infection Ecology & Epidemiology*, 2016, 6: 30173.
441. Afonso E, Knapp J, Tête N, Umhang G, Rieffel D, van Kesteren F, Ziadinov I, Craig PS, Torgerson PR, Giraudoux P. *Echinococcus multilocularis* in Kyrgyzstan:

- similarity in the Asian EmsB genotypic profiles from village populations of Eastern mole voles (*Ellobius tancrei*) and dogs in the Alay valley. *Journal of Helminthology*, 2015, 89: 664-670.
442. Eckert J. Predictive values and quality control of techniques for the diagnosis of *Echinococcus multilocularis* in definitive hosts. *Acta Tropica*, 2003, 85: 157-163.
 443. Deplazes P, Eckert J. Diagnosis of the *Echinococcus multilocularis* infection in final hosts. *Applied Parasitology*, 1996, 37: 245-252.
 444. Dinkel A, von Nickisch-Rosenegk M, Bilger B, Merli M, Lucius R, Romig T. Detection of *Echinococcus multilocularis* in the definitive host: coprodiagnosis by PCR as an alternative to necropsy. *Journal of Clinical Microbiology*, 1998, 36: 1871-1876.
 445. Tackmann K, Mattis R, Conraths F. Detection of *Echinococcus multilocularis* in foxes: evaluation of a protocol of the intestinal scraping technique. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 2006, 53: 395-398.
 446. Duscher G, Prosl H, Joachim A. Scraping or shaking-a comparison of methods for the quantitative determination of *Echinococcus multilocularis* in fox intestines. *Parasitology Research*, 2005, 95: 40-42.
 447. Knapp J, Millon L, Mouzon L, Umhang G, Raoul F, Ali ZS, Combes B, Comte S, Gbaguidi-Haore H, Grenouillet F. Real time PCR to detect the environmental faecal contamination by *Echinococcus multilocularis* from red fox stools. *Veterinary Parasitology*, 2014, 201: 40-47.
 448. Deplazes P, Mathis A. Methods for direct diagnosis of *Echinococcus multilocularis* in definitive hosts. *Arch Int Hidatid*, 1999, 33: 6-10.
 449. Carmena D, Benito A, Eraso E. The immunodiagnosis of *Echinococcus multilocularis* infection. *Clinical Microbiology and Infection*, 2007, 13: 460-475.

450. Al-Sabi MNS, Kapel CMO, Deplazes P, Mathis A. Comparative copro-diagnosis of *Echinococcus multilocularis* in experimentally infected foxes. *Parasitology Research*, 2007, 101: 731-736.
451. Craig P, Rogan M, Campos-Ponce M. Echinococcosis: disease, detection and transmission. *Parasitology*, 2003, 127: 5-20.
452. Skrzypek K, Karamon J, Samorek-Pieróg M, Dąbrowska J, Kochanowski M, Sroka J, Bilska-Zajac E, Cencek T. Comparison of two DNA extraction methods and two PCRs for detection of *Echinococcus multilocularis* in the stool samples of naturally infected red foxes. *Animals*, 2020, 10: 2381.
453. Mathis A, Deplazes P, Eckert J. An improved test system for PCR-based specific detection of *Echinococcus multilocularis* eggs. *Journal of Helminthology*, 1996, 70: 219-222.
454. Klein C, Liccioli S, Massolo A. Egg intensity and freeze-thawing of fecal samples affect sensitivity of *Echinococcus multilocularis* detection by PCR. *Parasitology Research*, 2014, 113: 3867-3873.
455. Øines Ø, Isaksson M, Hagström Å, Tavornpanich S, Davidson RK. Laboratory assessment of sensitive molecular tools for detection of low levels of *Echinococcus multilocularis*-eggs in fox (*Vulpes vulpes*) faeces. *Parasites & Vectors*, 2014, 7: 1-12.
456. Maksimov P, Isaksson M, Schares G, Romig T, Conraths F. Validation of PCR-based protocols for the detection of *Echinococcus multilocularis* DNA in the final host using the Intestinal Scraping Technique as a reference. *Food and Waterborne Parasitology*, 2019, 15: e00044.
457. Giraudoux P, Raoul F, Pleydell D, Li T, Han X, Qiu J, Xie Y, Wang H, Ito A, Craig PS. Drivers of *Echinococcus multilocularis* transmission in China: small mammal diversity, landscape or climate? *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2013, 7: e2045.

458. Presnell JK, Schreibman MP, Humason GL. *Humason's animal tissue techniques*. Baskı. Johns Hopkins University Press, 1997.
459. Siles-Lucas M, Casulli A, Conraths F, Müller N. Laboratory diagnosis of *Echinococcus* spp. in human patients and infected animals. *Advances in Parasitology*, 2017, 96: 159-257.
460. Siles-Lucas M, Gottstein B. Molecular tools for the diagnosis of cystic and alveolar echinococcosis. *Tropical Medicine & International Health*, 2001, 6: 463-475.
461. Kern P, Kratzer W, Reuter S. Alveoläre Echinokokkose: Diagnostik. *DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 2000, 125: 59-62.
462. Eckert J. Clinical diagnosis and treatment of echinococcosis in human. *Echinococcus and Hydatid Disease*, 1995.
463. Bartholomot G, Vuitton DA, Harraga S, Giraudoux P, Barnish G, Wang YH, MacPherson CN, Craig PS. Combined ultrasound and serologic screening for hepatic alveolar echinococcosis in central China. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2002, 66: 23-29.
464. Kern P, Da Silva AM, Akhan O, Müllhaupt B, Vizcaychipi K, Budke C, Vuitton D. The echinococcoses: diagnosis, clinical management and burden of disease. *Advances in Parasitology*, 2017, 96: 259-369.
465. Bhutani N, Kajal P. Hepatic echinococcosis: a review. *Annals of Medicine and Surgery*, 2018, 36: 99-105.
466. Jenkins DJ, Romig T. Efficacy of DroncitR Spot-on (praziquantel) 4% w/v against immature and mature *Echinococcus multilocularis* in cats. *International Journal for Parasitology*, 2000, 30: 959-962.

467. Stettler M, Fink R, Walker M, Gottstein B, Geary TG, Rossignol JF, Hemphill A. In vitro parasitocidal effect of nitazoxanide against *Echinococcus multilocularis* metacestodes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2003, 47: 467-474.
468. Schantz PM. [A guide to the use of arecoline hydrobromide for the diagnosis of *echinococcus granulosus* infection in the dog (author's transl)]. *Boletin Chileno de Parasitologia*, 1973, 28: 81-90.
469. Lopera L, Moro PL, Chavez A, Montes G, Gonzales A, Gilman RH. Field evaluation of a coproantigen enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of canine echinococcosis in a rural Andean village in Peru. *Veterinary Parasitology*, 2003, 117: 37-42.
470. Comte S, Raton V, Raoul F, Hegglin D, Giraudoux P, Deplazes P, Favier S, Gottschek D, Umhang G, Boué F. Fox baiting against *Echinococcus multilocularis*: contrasted achievements among two medium size cities. *Preventive Veterinary Medicine*, 2013, 111: 147-155.
471. König A, Romig T, Holzhofer E. Effective long-term control of *Echinococcus multilocularis* in a mixed rural-urban area in southern Germany. *PLoS One*, 2019, 14: e0214993.
472. Romig T, Kratzer W, Kimmig P, Frosch M, Gaus W, Flegel WA, Gottstein B, Lucius R, Beckh K, Kern P. An epidemiologic survey of human alveolar echinococcosis in southwestern Germany. Römerstein Study Group. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1999, 61: 566-573.
473. Eckert J, Conraths F, Tackmann K. Echinococcosis: an emerging or re-emerging zoonosis? *International Journal for Parasitology*, 2000, 30: 1283-1294.

474. Eckert J. Prospects for treatment of the metacestode stage of *Echinococcus*. *The biology of Echinococcus and hydatid disease*. George Allen & Unwin, London, United Kingdom, 1986: 250-284.
475. Wang Q, Qiu J, Schantz P, He J, Ito A, Liu F. Investigation of risk factors for development of human hydatidosis among households raising livestock in Tibetan areas of western Sichuan province. *Zhongguo ji sheng chong xue yu ji sheng chong bing za zhi*= *Chinese Journal of Parasitology & Parasitic Diseases*, 2001, 19: 93-96.
476. Kern P, Ammon A, Kron M, Sinn G, Sander S, Petersen LR, Gaus W, Kern P. Risk factors for alveolar echinococcosis in humans. *Emerging Infectious Diseases*, 2004, 10: 2088.
477. Schweiger A, Ammann RW, Candinas D, Clavien P-A, Eckert J, Gottstein B, Halkic N, Muellhaupt B, Prinz BM, Reichen J. Human alveolar echinococcosis after fox population increase, Switzerland. *Emerging Infectious Diseases*, 2007, 13: 878.
478. Newsome TM, Crowther MS, Dickman CR. Rapid recolonisation by the European red fox: how effective are uncoordinated and isolated control programs? *European Journal of Wildlife Research*, 2014, 60: 749-757.
479. Colman NJ, Gordon CE, Crowther MS, Letnic M. Lethal control of an apex predator has unintended cascading effects on forest mammal assemblages. *Proceedings of the royal society B: biological sciences*, 2014, 281: 20133094.
480. Ritchie EG, Johnson CN. Predator interactions, mesopredator release and biodiversity conservation. *Ecology Letters*, 2009, 12: 982-998.
481. Deplazes P, van Knapen F, Schweiger A, Overgaaup PA. Role of pet dogs and cats in the transmission of helminthic zoonoses in Europe, with a focus on echinococcosis and toxocarosis. *Veterinary Parasitology*, 2011, 182: 41-53.

482. Torgerson P, Heath D. Transmission dynamics and control options for *Echinococcus granulosus*. *Parasitology*, 2003, 127: 143-158.
483. Olson P, Zarowiecki M, Kiss F, Brehm K. Cestode genomics—progress and prospects for advancing basic and applied aspects of flatworm biology. *Parasite Immunology*, 2012, 34: 130-150.
484. Siles-Lucas M, Merli M, Mackenstedt U, Gottstein B. The *Echinococcus multilocularis* 14-3-3 protein protects mice against primary but not secondary alveolar echinococcosis. *Vaccine*, 2003, 21: 431-439.
485. Dang Z, Watanabe J, Kajino K, Oku Y, Matsumoto J, Yagi K, Kouguchi H, Sugimoto C. Molecular cloning and characterization of a T24-like protein in *Echinococcus multilocularis*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 2009, 168: 117-119.
486. Kouguchi H, Matsumoto J, Katoh Y, Oku Y, Suzuki T, Yagi K. The vaccination potential of EMY162 antigen against *Echinococcus multilocularis* infection. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2007, 363: 915-920.
487. Li R, Yang Q, Guo L, Feng L, Wang W, Liu K, Tang F, Ge R-l. Immunological features and efficacy of the recombinant subunit vaccine LTB-EMY162 against *Echinococcus multilocularis* metacestode. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102: 2143-2154.
488. Hillenbrand A, Gruener B, Kratzer W, Kern P, Graeter T, Barth TF, Buttenschoen K, Henne-Bruns D. Impact of safe distance on long-term outcome after surgical therapy of alveolar echinococcosis. *World Journal of Surgery*, 2017, 41: 1012-1018.
489. Hillenbrand A, Beck A, Kratzer W, Graeter T, Barth TF, Schmidberger J, Möller P, Henne-Bruns D, Gruener B. Impact of affected lymph nodes on long-term outcome after surgical therapy of alveolar echinococcosis. *Langenbeck's Archives of Surgery*, 2018, 403: 655-662.

490. He Y-B, Bai L, Aji T, Jiang Y, Zhao J-M, Zhang J-H, Shao Y-M, Liu W-Y, Wen H. Application of 3D reconstruction for surgical treatment of hepatic alveolar echinococcosis. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 2015, 21: 10200.
491. Grüner B, Kern P, Mayer B, Gräter T, Hillenbrand A, Barth TE, Mucche R, Henne-Bruns D, Kratzer W, Kern P. Comprehensive diagnosis and treatment of alveolar echinococcosis: A single-center, long-term observational study of 312 patients in Germany. *GMS Infectious Diseases*, 2017, 5.
492. Lundström-Stadelmann B, Rufener R, Hemphill A. Drug repurposing applied: activity of the anti-malarial mefloquine against *Echinococcus multilocularis*. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 2020, 13: 121-129.
493. Çelik Ma, Kopar İ, Bayram H. Doğu Anadolu Bölgesi'nin Mevsimlik Kuraklık Analizi. *Atatürk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 2018, 22: 1741-1761.
494. Başüyük A. Doğu Anadolu Bölgesinde Nüfusun Cinsiyet Ve Yaş Yapısı. *Doğu Coğrafya Dergisi*, 2005, 10: 67-94.
495. World Health Organization. Meeting of the WHO Informal Working Group on Echinococcosis (WHO-IWGE): WHO Headquarters, Geneva, Switzerland, 15-16 December 2016, Baskı, 2017.
496. Riley SP, Sauvajot RM, Fuller TK, York EC, Kamradt DA, Bromley C, Wayne RK. Effects of urbanization and habitat fragmentation on bobcats and coyotes in southern California. *Conservation Biology*, 2003, 17: 566-576.
497. Bonnington C, Gaston KJ, Evans KL. Squirrels in suburbia: influence of urbanisation on the occurrence and distribution of a common exotic mammal. *Urban Ecosystems*, 2014, 17: 533-546.

498. Villaseñor NR, Driscoll DA, Escobar MA, Gibbons P, Lindenmayer DB. Urbanization impacts on mammals across urban-forest edges and a predictive model of edge effects. *PLoS One*, 2014, 9: e97036.
499. Wang Q, Francis R, Christine B, Philip SC, Xiao Y-f, Dominique AV, Maiza C-P, Qiu D-C, David P, Patrick G. Grass height and transmission ecology of *Echinococcus multilocularis* in Tibetan communities, China. *Chinese Medical Journal*, 2010, 123: 61-67.
500. Torgerson PR, Robertson LJ, Enemark HL, Foehr J, van der Giessen JW, Kapel CM, Klun I, Trevisan C. Source attribution of human echinococcosis: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2020, 14: e0008382.
501. Organization WH. *Multicriteria-based ranking for risk management of food-borne parasites: report of a Joint FAO*. Baskı. FAO, World Health Organization, 2014.
502. Altintas N. Parasitic zoonotic diseases in Turkey. *Veterinaria Italiana*, 2008, 44: 633-646.
503. Toews E, Musiani M, Checkley S, Visscher D, Massolo A. A global assessment of *Echinococcus multilocularis* infections in domestic dogs: proposing a framework to overcome past methodological heterogeneity. *International Journal for Parasitology*, 2021, 51: 379-392.
504. Gazete R. Hayvanları Koruma Kanunu. 2004.
505. Torgerson PR, Deplazes P. Echinococcosis: diagnosis and diagnostic interpretation in population studies. *Trends in Parasitology*, 2009, 25: 164-170.
506. Maksimov P, Schares G, Press S, Fröhlich A, Basso W, Herzig M, Conraths FJ. Comparison of different commercial DNA extraction kits and PCR protocols for the detection of *Echinococcus multilocularis* eggs in faecal samples from foxes. *Veterinary Parasitology*, 2017, 237: 83-93.

507. Opel KL, Chung D, McCord BR. A study of PCR inhibition mechanisms using real time PCR. *Journal of Forensic Sciences*, 2010, 55: 25-33.
508. Davidson RK, Øines Ø, Madslien K, Mathis A. *Echinococcus multilocularis*-adaptation of a worm egg isolation procedure coupled with a multiplex PCR assay to carry out large-scale screening of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Norway. *Parasitology Research*, 2009, 104: 509-514.
509. Gehrt SD. *Urban carnivores*. Baskı. Johns Hopkins university press, 2010.
510. Raoul F, Hegglin D, Giraudoux P. Trophic ecology, behaviour and host population dynamics in *Echinococcus multilocularis* transmission. *Veterinary Parasitology*, 2015, 213: 162-171.
511. Conraths FJ, Probst C, Possenti A, Boufana B, Saulle R, La Torre G, Busani L, Casulli A. Potential risk factors associated with human alveolar echinococcosis: Systematic review and meta-analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2017, 11: e0005801.
512. Liccioli S, Giraudoux P, Deplazes P, Massolo A. Wilderness in the ‘city’ revisited: different urbes shape transmission of *Echinococcus multilocularis* by altering predator and prey communities. *Trends in Parasitology*, 2015, 31: 297-305.
513. Torgerson P, Craig P. Risk assessment of importation of dogs infected with *Echinococcus multilocularis* into the UK. *Veterinary Record*, 2009, 165: 366-368.
514. Christiansen FO, Bakken M, Braastad BO. Behavioural differences between three breed groups of hunting dogs confronted with domestic sheep. *Applied Animal Behaviour Science*, 2001, 72: 115-129.
515. Deplazes P, Dinkel A, Mathis A. Molecular tools for studies on the transmission biology of *Echinococcus multilocularis*. *Parasitology*, 2003, 127: S53-S61.
516. Wright I. Tapeworms of UK cats and dogs: an update. *The Veterinary Nurse*, 2013, 4: 550-555.

517. Topluoğlu S. Türkiye'de Kistik Ekinokokkoz Mevcut Durum Raporu. *Türk Hijyen ve Deneyisel Biyoloji Dergisi*, 77: 1-52.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Muzaffer AKYÜZ
Doğum tarihi:	13 Ocak 1993
Doğum Yeri:	Aziziye/Erzurum
Medeni Hali:	Bekâr
Uyruğu:	T.C.
Adres:	Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı
Tel:	0531 515 20 28
Faks:	-
E-mail:	muzaffer.akyuz@atauni.edu.tr
Eğitim	
Lise:	Mehmet Akif Ersoy Anadolu Lisesi
Lisans:	Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Yüksek lisans:	-
Doktora:	Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	78,75 (YÖKDİL)
Almanca:	-
Rusça:	-
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Türkiye Parazitoloji Derneği	
İlgi Alanları ve Hobiler	
Yakın tarih Doğa sporları, Motor sporları	

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹

Öğrencinin Adı ve Soyadı	Muzaffer AKYÜZ
Öğrencinin Numarası	16025802001
Ana Bilim Dalı	Veterinerlik Parazitolojisi
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Doktora

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	%8	% 15
II. Genel Bilgiler	%3	% 35
III. Materyal ve Metod	%12	% 35
IV. Bulgular	%6	% 15
V. Tartışma	%1	% 20

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Muzaffer AKYÜZ	Prof. Dr. Hamza AVCIOĞLU
24.11.2022	24.11.2022
İmza:	İmza:

¹ Bu form bilgisayar ortamında doldurulmalı, çıktısı imzalanıp Tez Savunması Jüri Öneri Formu'yla birlikte Ana Bilim Dalı Başkanlığı aracılığıyla ÜBYS üzerinden Enstitüye iletilmelidir.

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
VETERİNER FAKÜLTESİ
Birim Etik Kurul Kararı



Karar Sayısı: 2019 / 009	Karar Tarihi: 12 / 06 / 2019
Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Hamza AVCIOĞLU tarafından sunulan (Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde Alveolar Echinococcosis' in Yaygınlığında Köpeklerin Rolü) adlı başvuru formu birim etik kurulumuz tarafından değerlendirilmiştir. Sunulan çalışmanın, Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi ilkesine UYGUN olduğuna karar verilmiştir	
Prof. Dr. Hamza AVCIOĞLU	Başkan
Prof.Dr.Mustafa ATASEVER	Üye İzinski
Prof.Dr.Yavuz Selim SAĞLAM	Üye
Prof.Dr.Bülent POLAT	Üye
Prof.Dr.İbrahim BALKAYA	Üye

EK-4. KURUM İZİNLERİ



T.C.
ARDAHAN BELEDİYE BAŞKANLIĞI
Veteriner İşleri Müdürlüğü

Sayı : 29902351-602.03.01-E.2643
Konu : Çalışma İzni.

15/05/2019

ÜNİVERSİTELER
(Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü)

İlgi : 03.05.2019 tarihli ve 139700 sayılı yazı.

Kuzey Anadolu Bölgesinde Köpeklerde Alveolar Echinococcosisin Yaygınlığının Rolü adlı projenizde Ardaahan Belediyesi Sokak Hayvanları barınağında araştırma yapmanızda sakınca yoktur.

Bilgilerinize arz ederim.

(e-İmzalıdır)
Özgül ÖZDEMİR
Belediye Başkan Yardımcısı

*Bu belge elektronik imzalıdır. İmzalı suretinin aslını görmek için
<https://uygulama.belediye.gov.tr/GeneleAcikSayfalar/Evrak/EvrakDogrulama/EvrakDogrulama.aspx> adresine
girerek [X8p-F/Vm2U-yhQT8;7-9Le13D-TLunNEN] kodunu yazınız.

Kapıarcıpaşa Mah. İsmet Çad. No 27
Telefon No: (478)211 30 52 Faks No: (478)211 45 24
e-Posta: bilgilerimiz@ardahan.bel.tr İnternet Adresi: <https://www.ardahan.bel.tr>

Bilgi için: Özcan ÇENAR
VETERİNER İŞLERİ MÜDÜRÜ
Telefon No:



T.C.
KARS BELEDİYE BAŞKANLIĞI
Veteriner İşleri Müdürlüğü

Sayı : 32321911-140.01.05-6453
Konu : Çalışma İzni

13/05/2019

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ

İlgi : 03.05.2019 tarihli ve 9716 sayılı yazı.

Atatürk Üniversitesi Veteriner İşleri Fakültesi Öğretim üyesi Prof. Dr. Hamza AVCIOĞLU'nun yürütücülüğünü yapacağı "Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde Alveolar Echinococcosisin Yaygınlığında Köpeklerin Rolü" isimli proje çalışmasında kullanılmak üzere Hayvan barınağımızda bulunan köpeklerden dışkı örneği alınmasına izin verilmiştir. Sizin belirleyeceğiniz gün ve tarih bildiriminizden sonra köpeklerden dışkı örneği alabilirsiniz.

Bilgilerinize arz ederim.


Hidar KURUBAŞ
Veteriner İşleri Müdürü V.



T.C.
BAYBURT BELEDİYESİ
Veteriner İşleri Müdürlüğü

Sayı : 21738201.605.03/046 - 396
Konu : Çalışma İzni

27/05/2019

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Veteriner Fakültesi Dekanlığı

İlgi : 03/05/2019 tarih ve 36643897-000-E.1900139703 sayılı yazınız.

İlgi tarih ve sayılı yazınızda; Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Hamza AVCIOĞLU' nun yürütücülüğünü yapacağı " *Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde Alveolar Echinococcus yaygınlığında Köpeklerin Rolü*" isimli proje çalışmasında kullanılmak üzere Hayvan barınağında bulunan köpeklerden dışkı örneği alınmasına ihtiyaç duyulduğunu ve bunun için izin verilmesini sormaktasınız.

Bahsi geçen çalışmada kullanılmak üzere barınakta bulunan köpeklerden dışkı örneklerinin alınmasının kurumumuz açısından bir sakıncası yoktur. Yapılacak çalışmalarda iş yoğunluğu nedeniyle herhangi bir olumsuzluk olmaması için, planladığınız tarihin bir gün önceden telefon yoluyla tarafımıza bildirilmesi kaydıyla gerekli çalışmayı izni verilmiştir.

Gereğini rica ederim.

Abdulhamit KARAOĞLU
Bayburt Belediye Başkan V.



T.C.
ERZURUM BÜYÜKŞEHİR BELEDİYE BAŞKANLIĞI
Çevre Koruma ve Kontrol Dairesi Başkanlığı

Sayı : 13444467-155.99-E.12225
Konu : ÇALIŞMA İZNİ

14/05/2019

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ VETERİNER FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

İlgi : 03.05.2019 tarihli ve 1900139693 sayılı yazınız

İlgi yazınız doğrultusunda talebiniz değerlendirilerek gerekli görüşmeler yapılmış, bakım evimizde bulunan kedi ve köpeklerden numune (dışkı) örneği almanızda her hangi bir sakınca görülmemiştir.

Gereğini bilgilerinize rica ederim.

(e-İmzalıdır)
Amir BADUR
Başkan a.
Daire Başkanı

Bu evrakın 5070 sayılı kanun kapsamında
e-imza ile imzalandığı tasdik olunur.

İmza: Amir BADUR

...05.12.19...

*Bu belge elektronik imzalıdır. İmzalı suretinin aslını görmek için
<https://uygulama.belediye.gov.tr/GeneleAcikSayfalar/Evrak/EvrakDogrulama/EvrakDogrulama.aspx> adresine
girerek (MdcHcV-bUSqJJ-UoLLFO-Q1eVvb-14+P0+rd) kodunu yazınız.

Merkezi Yönetim Caddesi 25100 / Büyükşehir Bld. Bşk. Erzurum
Telefon No: (442)344 10 00 Faks No: (442)333 02 20
e-Posta: gb@erzurum.bel.tr İnternet Adresi: <http://www.erzurum.bel.tr>

Bilgi için: Verde Hazal GÖVERÇİN
GENEL YÖNETİM İŞÇİSİ
Telefon No:



T.C.
ERZİNCAN BELEDİYE BAŞKANLIĞI
Veteriner İşleri Müdürlüğü

Sayı : 72825167-311.99/084-776
Konu : Bilgi Hk.

15 /05/2019

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Veteriner Fakültesi Dekanlığı

İlgi : 03/05/2019 Tarih ve 36643897-000-E.1900139709 sayı numaralı yazınız.

İlgili sayınızda bahsedilen, Müdürlüğümüze ait Geçici Hayvan Bakımevi için bahse konu "köpeklerin Rolü" isimli proje çalışması için izin talebiniz, Müdürlüğümüz tarafından uygun görüldüğü hususunu;

Bilgilerinize arz ederim.


Erol ŞAHİN
Veteriner İşleri Müdürü

Adres : Çarşıyan Yolu Üzeri /Merkez/Erzincan
Tel : 0446 225 18 55

Ayrıntılı Bilgi İçin :
Mustafa CALISKAN



T.C.
IĞDIR BELEDİYESİ
Veterinerlik Hizmetleri Müdürlüğü

Sayı: M.76.0.IĞD.0.23.00/
Konu: Çalışma İzni

5164

13.05.2019

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
(Veteriner Fakültesi Dekanlığına)

İlgi: 03.05.2019 tarih ve 36643897-000-E.1900139713 Sayılı yazınız.

İlgi sayılı yazınıza esas olmak üzere Iğdır Belediyesi Veterinerlik İşleri Müdürlüğüne bağlı Hayvan Barınağı bulunmamaktadır. Müdürlüğümüze bağlı geçici Hayvan Tedavi Merkezi mevcuttur. İstenildiği takdirde tarafınızdan bakım evindeki köpeklerin dışkısından herhangi bir numune alınmasında sakınca yoktur.

Gereğini Bilgilerinize rica ederim.


Adem YAŞA

Belediye Başkan Yardımcısı

Ayrıntılı Bilgi İçin: A.ÇÖLLÜ V.H.Md.