

Kistik Ekinokokkozis Tanısında Hızlı Tanı Testinin Uygulanabilirliğinin Araştırılması

Investigation of the Applicability of a Rapid Diagnosis Test in the Diagnosis of Cystic *Echinococcosis*

Sema Ertuğ¹ , Serçin Özlem Çalışkan² , Erdoğan Malatyalı¹ , Hatice Ertabaklar¹ 

¹Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

²Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

Cite this article as: Ertuğ S, Çalışkan SÖ, Malatyalı E, Ertabaklar H. Investigation of the Applicability of a Rapid Diagnosis Test in the Diagnosis of Cystic *Echinococcosis*. *Türkiye Parazitol Derg*; 42: DOI: 10.5152/tpd.2018.5516.

ÖZ

Amaç: *Echinococcus granulosus* (*E. granulosus*), insanlarda ve çiftlik hayvanlarında görülen kistik ekinokokkozis (KE)'in etkeni olan yaygın bir zoonotik sestodtur. Parazit enfekte köpek dışkıyla atılan yumurtaların, insanlar tarafından alınması sonucu hastalığa neden olmaktadır. Larva şekli ise insan, koyun, sığır gibi memelilerde çeşitli organ ve dokulara yerleşerek yavaş yavaş büyüyen kistler oluşmasına neden olmaktadır. Bu çalışmanın amacı KE tanısında kullanılan yöntemlerden ELISA ile ticari bir hızlı tanı testinin karşılaştırılması ve tanısal değerinin belirlenmesidir.

Yöntemler: Cerrahi ve/veya patolojik olarak KE tanısı almış ELISA ile seropozitifliği saptanan 50 ve kontrol grubu olarak seronegatif 50 olgu serumu çalışmaya dahil edilmiştir. Serum örnekleri Adnan Menderes Üniversitesi, Uygulama Araştırma Hastanesi Parazitoloji Laboratuvar'ında oluşturulan koleksiyondan basit rastgele örnekleme yöntemiyle seçilmiştir. Bu koleksiyon 2010-2014 yılları arasında KE şüphesiyle polikliniklerinden laboratuvara gönderilen kan örneklerinin serumlarından oluşturulmuş ve ELISA ile antikor titreleri belirlenen bu serumlar -20°C'de saklanmıştır. Ayrıca parazite özgü antikorun varlığı, ticari olarak temin edilen immunokromatografik (VIRapid® HYDATIDOSIS) yöntem ile belirlenmiştir.

Bulgular: Serolojik olarak pozitif çıkan örnekler uygulanan immunokromatografik teste göre 50 olgu örneğinden 48'i (%96) pozitif, 2'si (%4) negatif olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubundaki örneklerinin tümünde antikor yanıtı saptanamamıştır.

Sonuç: Hızlı tanı testi KE tanısında pratik, kolay uygulanabilir bir yöntem olarak değerlendirilmiş olup, rutin tanıda ve araştırmalarda tarama testi olarak da kullanılabilirliği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kistik ekinokokkozis, immunokromatografik yöntem, tanı

Geliş Tarihi: 14.09.2017

Kabul Tarihi: 18.12.2017

Çevrimiçi Yayın Tarihi: 08.03.2017

ABSTRACT

Objective: *Echinococcus granulosus*, the etiological agent of cystic echinococcosis (CE) in humans and livestock, is a widely distributed zoonotic pathogen tapeworm. The infection is transmitted to humans by the ingestion of *E. granulosus* eggs released in the feces of definitive hosts such as dogs. The larval stage of the parasite develops a slowly enlarging cyst in the visceral organs, particularly in the liver and/or lung. The aim of the present study was to evaluate the diagnostic value of an immunochromatographic test (ICT) for CE.

Methods: A total of 50 sera from surgically and/or pathologically confirmed patients with CE were included in the study as the study group; the control group comprised patients who tested negative for enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Sera were selected from the collection at Adnan Menderes University, Faculty of Medicine, Parasitology Laboratory, by simple random sampling. The collection included sera obtained between 2010 and 2014; antibody titers of each serum sample were determined using in-house ELISA, before storage at -20°C. The presence of *E. granulosus* antibody in the sera was determined using a commercially available ICT (VIRAPID® HYDATIDOSIS) kit method.

Results: In the study group (*E. granulosus*-confirmed cases), two (4%) of the 50 sera were negative and 48 (96%) were positive with ICT. In the control group (ELISA-negative), all were negative with ICT.

Conclusion: The rapid diagnostic test has been evaluated as a practical, easy-to-use method for detecting CE, and it can be used as a screening test in routine diagnosis and research.

Keywords: Cystic echinococcosis, immunochromatographic test, diagnosis

Received: 14.09.2017

Accepted: 18.12.2017

Available Online Date: 08.03.2017

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Sema Ertuğ E.posta: semaertug@hotmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2018.5516

©Telif hakkı 2018 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.turkiyeparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2018 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.turkiyeparazitolog.org

GİRİŞ

Kistik ekinokokkozis (KE), son konağı köpek olan *E. granulosus* yumurtalarının insanlar ve sığır, koyun gibi otçullar tarafından ağız veya solunum yoluyla alınmasıyla ortaya çıkmaktadır. Parazitin larval formu iç organlarda yerleşmekte ve kist gelişimi uzun yıllar sürebilmektedir. KE'de karaciğer tutulumu en sık olmakla birlikte akciğer, böbrek, dalak, beyin vb. organlarda kistler oluşabilmektedir. Hastalığın kliniği kistin lokalizasyonu ve büyüklüğüne bağlı olup genelde asemptomatik seyirlidir (1). KE ülkemizde insan ve hayvan sağlığını tehdit eden en önemli paraziter hastalıklardan biridir ve ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (2).

Kistik ekinokokkozis olgularında belirgin bir klinik tablonun olmaması hastalığın tanısında sorunlara yol açabilmektedir. Bu sorunlar da hastalığın tanısında serolojik testleri ön plana çıkarmaktadır. Hastalığın tanısı temel olarak görüntüleme yöntemleri ile konulmakta ve serolojik testler tanının doğrulanmasına yardımcı olmaktadır. Serolojik yöntemlerin, görüntüleme yöntemlerine alternatif olarak değil birlikte kullanılmasının daha doğru olduğu bildirilmektedir (1). Serolojik testler yalnızca olguların saptanmasında değil; hastalığın toplumdaki yaygınlığının belirlenmesinde, asemptomatik kişilerin tespitinde, kontrol programlarının sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılmaktadır.

Kistik ekinokokkozis'in serolojik tanısında sıklıkla IHA, ELISA, lakteks aglütinasyon, indirekt hemaglütinasyon, indirekt floresan antikor testi ve WB gibi yöntemler kullanılmaktadır (3).

Kistik ekinokokkozis tanısına yönelik üretilen piyasada birçok immünokromotografik hızlı tanı testleri de bulunmakta olup bu testlerin kullanımı giderek yaygınlaşmaya başlamıştır. Bu çalışmanın amacı KE tanısında kullanılan yöntemlerden ELISA ile ticari bir hızlı tanı testinin karşılaştırılması ve tanılabilirliğinin belirlenmesidir.

YÖNTEMLER

Örneklerin Toplanması ve Grupların Oluşturulması

Serum örnekleri Adnan Menderes Üniversitesi, Uygulama Araştırma Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarı'nda oluşturulan koleksiyondan basit rastgele örnekleme yöntemiyle seçilmiştir. Bu koleksiyon 2010-2014 yılları arasında KE şüphesiyle polikliniklerden laboratuvara gönderilen kan örneklerinden serumları ayrılarak oluşturulmuştur. Antikor titreleri ELISA ile belirlenen serumlar -20°C'de sak-

lanmıştır. Çalışmada hiperlipemik, hemoliz olmuş veya kontamine serum örnekleri kullanılmamıştır. Gruplar cerrahi ve/veya patolojik olarak KE tanısı almış, rutin olarak laboratuvarımızda kullanılan ELISA (4) testi ile seropozitif 50 ve aynı test ile seronegatif olarak belirlenmiş 50 serum örneğinden oluşturulmuştur.

Hızlı Tanı Testi (HTT)

Çalışılacak serumlar oda sıcaklığına getirildikten sonra hızlı tanı testi üretici firmanın önerileri doğrultusunda VIRAPID®HYDATIDOSİS (Viracell S.L, Granada, İspanya) kiti ile çalışılmıştır. Test prosedürüne göre sonuçlar yoğunluk değeri <0,5'in altında olanlar negatif, yoğunluk değeri ≥0,5 olanlar pozitif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif örnekler ise kendi aralarında yoğunluk değerlerine göre 0,5, 1, 2 ve 3 olarak değerlendirilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Analiz sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde sadece duyarlılık ve seçicilik hesaplanarak, yüzde veriler kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya yaşları 21 ile 68 (ort. 43,8±11,6) arasında değişen 35'i kadın, 65'i erkek olan toplam 100 adet serum örneği dahil edilmiştir.

ELISA yöntemi ile pozitif çıkan örnekler uygulanan hızlı tanı testi sonucuna göre 50 olgu örneğinden 48'i (%96) pozitif, 2'si (%4) negatif olarak tespit edilmiştir (Resim 1). Seropozitif olgulara ait ELISA titre değerlerinin HTT ile saptanan yoğunluk değerleri ile karşılaştırılması Tablo 1'de ayrıntılı olarak verilmiştir. Buna göre KE tanısı almış fakat HTT ile negatif olarak tespit edilen iki serum örneğinin ELISA titresinin 1/80 olduğu belirlenmiştir. Tablo 1'de ELISA ile antikor titreleri yüksek dilüsyonlarda saptanan serumlarda HTT ile



Resim 1. Bazı örneklere ait hızlı test bulguları. 4. ve 8. örnekler negatif diğer örnekler pozitifdir

Tablo 1. Seropozitif 50 olgumuza ait serumların ELISA titreleri ve HTT ile saptanan yoğunluk değerleri

HTT ile saptanan yoğunluk değerleri	ELISA titreleri							
	1/80 Pozitif	1/160 Pozitif	1/320 Pozitif	1/640 Pozitif	1/1250 Pozitif	1/2500 Pozitif	1/5000 Pozitif	Toplam
0.5	3	5	1	1	1	1		12
1	2		1	5			1	9
2		2	4	3	3	2	3	17
3					3	3	4	10
Negatif	2							2
Toplam	7	7	6	9	7	6	8	50

HTT: hızlı tanı testi

belirlenen yoğunluk değerlerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. ELISA ile negatif çıkan örnekler uygulanan hızlı tanı testi sonuçları tüm örneklerde negatif olarak belirlenmiştir. Hızlı tanı testi için duyarlılık ve seçicilik sırasıyla %96 ve %100 bulunmuştur.

TARTIŞMA

Kistik ekinokokkozisin tanısında kullanılan serolojik testler radyolojik tanıyı doğrulamada, cerrahi veya farmakolojik tedavi sonrası hastaların takibinde kullanılmaktadır (5, 6).

ELISA yönteminin kolay uygulama, yüksek duyarlılık, kullanılan reaktiflerin uzun süre saklanabilmesi, çok sayıda örneğin kısa sürede çalışabilmesi, sonuçların spektrofotometrede objektif olarak değerlendirilebilmesi ve saklanabilmesi gibi birçok avantajları olduğu bilinmektedir (7). Daha önceki çalışmalarımızda laboratuvarımızda kullanılan ELISA testinin duyarlılığının %87,5, özgüllüğünün ise %100 olduğu belirlenmiş olup (4), bu nedenlerden dolayı ELISA yöntemi rutin olarak laboratuvarımızda tanı amaçlı kullanılmaktadır.

IgG ELISA son derece özgün bir test olmasına karşın duyarlılığı konusunda %72-76 gibi düşük oranlarda sonuçlar alındığı ifade edilmiştir (8, 9). Bazı araştırmacılar ise testin duyarlılığını %94-100 olarak bildirmişlerdir (10, 11). Ülkemizde yapılan iki çalışmada IgG-ELISA'nın özgüllüğü sırasıyla %86 ve %88 olarak belirtilmiştir (12, 13).

Serolojik tanıda kullanılan testlerin duyarlılık ve özgüllüğü yöntem, antijenin özelliklerine, antijen kaynağına ve olguların immun yanıtına göre değişmektedir (14). Saflaştırılmış ekinokok antijenlerinin kullanıldığı ELISA'nın duyarlılığı %73 iken işlenmemiş kist hidatik sıvısı kullanıldığında bu oranın %45'e düştüğü bildirilmiştir (15).

KE tanısına yönelik hızlı tanı testi ticari olarak üretilen "Dipstick dye immunoassay (Schleicher & Schuell, Dassell, Almanya)", "*Echinococcus granulosus* IgG (Vircell Microbiologists, Granada, İspanya)", "Human Echinococcosis Rapid test kit (Unibiotech, Hubei, China)" bulunmaktadır. Sbihi ve ark. (16) geliştirdikleri HTT'nin duyarlılığını %87 ve özgüllüğünü %85,71 olarak bildirmiş ve ELISA'ya alternatif olabileceğini öne sürmüştür. Yine bu çalışmada HTT'lerin avantajı olarak fazladan ekipmana gerek olmaması ve hızlı sonuç vermesi gösterilmiştir. Tamer ve ark. (17) Human Echinococcosis Rapid test kiti ile yaptıkları çalışmada testin duyarlılığının %96,8, özgüllüğünün %87,5 olarak saptandığı bildirilmiştir. Olut ve ark. (18) yeni bir hızlı tanı testi olan "hydatid antigen dot immunobinding assay (HA-DIA; Echinostrip, Lofarma Laboratories, Milan, İtalya)" ile IHA yöntemini karşılaştırmış ve hızlı tanı testinin daha avantajlı olduğunu bildirmişlerdir. Tamarozzi ve ark. (19) 2016 yılında yaptıkları üç farklı hızlı tanı testi karşılaştırdıkları bir çalışmada VIRAPID®HYDATIDOSIS (Vircell S.L, Granada, Spain) testinin en iyi tanı doğruluğu gösterdiğini bildirmişlerdir. Yılmaz ve ark. (20) VIRAPID®HYDATIDOSIS (Vircell S.L, Granada, İspanya) kiti ile yaptıkları bir çalışmada duyarlılığı %86,2, özgüllüğü %96,7 olarak saptandığı, bu sonuçların ELISA yöntemiyle uyumlu olduğunu bildirmişlerdir (20). Bizim çalışmamızda ise hem ELISA sonuçları hem de cerrahi ve patolojik olarak kanıtlanmış sonuçlar temel alındığında hızlı tanı testi için duyarlılık ve seçicilik sırasıyla %96 ve %100 bulunmuş ve bu sonuçların ELISA sonuçları ile uyumlu olduğu görülmüştür.

SONUÇ

Çalışmamızda ELISA titrelerinin yükselme nedeni olan antikor yanıtının fazla olduğu olgularda HTT ile bantların daha koyu boyandığı gözlenmiştir. ELISA testi ile pozitiflik için en düşük değer olan 1/80 titresinde saptanan iki olgunun HTT testi ile negatif bulunmasının düşük antikor yanıtından kaynaklandığı düşünülmüştür. Endemik kırsal alanlarda laboratuvar ekipmanlarının bulunmaması nedeniyle geleneksel seroloji yöntemlerinin kullanılmaması durumlarında hızlı tanı testlerinin tanı koymada yararlı olabileceği düşünülmüştür.

Hızlı tanı testi KE tanısında pratik, kolay uygulanabilir bir yöntem olarak değerlendirilmiş olup, rutin tanı ve araştırmalarda tarama testi olarak da kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.

Etik Komite Onayı: Yazarlar çalışmanın World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects", (amended in October 2013) prensiplerine uygun olarak yapıldığını beyan etmişlerdir.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - S.E.; Tasarım - H.E., S.E.; Denetleme - S.E.; Kaynaklar - S.E., H.E.; Malzemeler - S.E., E.M.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - S.Ö.Ç., E.M.; Analiz ve/veya Yorum - S.E., S.Ö.Ç., E.M., H.E.; Literatür Taraması - S.Ö.Ç., E.M.; Yazıyı Yazan - S.E., H.E., S.Ö.Ç., E.M.; Eleştirel İnceleme - S.E., H.E.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (TFP-14004).

Ethics Committee Approval: Authors declared that the research was conducted according to the principles of the World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects", (amended in October 2013).

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - S.E.; Design - S.E., H.E.; Supervision - S.E.; Funding - S.E., H.E.; Materials - S.E., E.M.; Data Collection and/or Processing - S.Ö.Ç., E.M.; Analysis and/or Interpretation - S.E., S.Ö.Ç., E.M., H.E.; Literature Review - S.Ö.Ç., E.M.; Writing - S.E., H.E., S.Ö.Ç., E.M.; Critical Review - S.E., H.E.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Financial Disclosure: This study was supported by Adnan Menderes University Scientific Research Council (TFP-14004).

KAYNAKLAR

- Özbilgin A, Kilimcioğlu AA. Kistik Echinococcosis. Özcel MA, editörler, Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. Turkey: Türk Parazitoloji Derneği Yayınları 2007.p.541-65.
- Altıntaş N. Past to present: *Echinococcosis* in Turkey. Acta Trop 2003; 85: 105-12. [CrossRef]
- Kilimcioğlu AA, İnceboz T. *Echinococcosis*. Korkmaz M, Ok ÜZ, editörler. Parazitolojide Laboratuvar. Turkey: Türk Parazitoloji Derneği Yayınları; 2011.p.293-306.
- Sarı C, Ertuğ S, Karadam SY, Özgün H, Karaoğlu AO, Ertabaklar H. Kistik ekinokokkozis tanısında ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHA) ve İndirekt Floresan Antikor Testi (IFAT)'nin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi. Türkiye Parazitolojik Derg 2009; 33: 73-6.

5. McManus DP, Zhang W, Li J, Bartley PB. *Echinococcosis*. Lancet 2003; 362: 1295-304. [CrossRef]
6. Yıldız B, Şen S, Şahbudak Bal Z, Dirim Erdoğan D, Korkmaz M, et al. Epidemiological, Laboratory and Clinical Features of Childhood Hydatid Disease. J Pediatr Inf 2013; 7: 53-6. [CrossRef]
7. Ak M. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Özcel MA, Altıntaş N, editors. Parazit Hastalıklarında Tanı. Turkey: Türk Parazitoloji Derneği Yayınları 1997.p.241-59.
8. Ortona E, Rigano R, Margutti P, Notargiacomo S, Ioppolo S, Vaccari S, et al. Native and recombinant antigens in the immunodiagnosis of human cystic echinococcosis. Parasite Immunol 2000; 22: 553-9. [CrossRef]
9. Aslan M, Polat E, Aygün G, Sağlam MG, Kocazeybek B, Altaş K. Kistik ekinokokkozis şüpheli serum örneklerinde IHA, ELISA IgG ve kendi hazırladığımız ELISA IgG test sonuçlarının karşılaştırılması. Türkiye Parazitol Derg 2003; 27: 122-4.
10. Wattal C, Malla N, Khan IA, Agarwal SC. Comparative evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of pulmonary echinococcosis. J Clin Microbiol 1986; 24: 41-6.
11. Force L, Torres JM, Carrillo A, Busca J. Evaluation of eight serological tests in the diagnosis of human *echinococcosis* and follow-up. Clin Infect Dis 1992; 15: 473-80. [CrossRef]
12. Yalçınöz MC, Tarlan Ş, Güder M. Akciğer hidatik kist hastalığında serolojik yöntemlerin tanı değerleri ve karşılaştırılmaları. Heybeliada Tıp Bülteni 1996; 2: 21-4.
13. Baran R, Baysal M, Kır A. Akciğerin hidatik kist hastalığında spesifik IgG-ELISA yönteminin tanısai değeri. Solunum Hastalıkları 1994; 5: 197-202.
14. Gottstein B. Molecular and immunological diagnosis of echinococcosis. Clin Microbiol Rev 1992; 5: 248-61. [CrossRef]
15. Iacona A, Pini C, Vicari G. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the serodiagnosis of hydatid disease. Am J Trop Med Hyg 1980; 29: 95-102. [CrossRef]
16. Sbihi Y, Gil JR, Alvarez PA, Orduña A, Rodríguez-Torres A, Osuna A. Development of a dipstick dye immunoassay for diagnosing hydatidosis. J Clin Lab Anal 2003; 17: 219-22. [CrossRef]
17. Tamer GS, D Dündar, H Uzuner, C Baydemir. Evaluation of immunochromatographic test for the detection of antibodies against *Echinococcosis granulosa*. Med Sci Monit 2015; 21: 1219-22. [CrossRef]
18. Olut AI, Ergüven S, Emri S, Ozunlu H, Akay H. Diagnostic value of a dot immunobinding assay for human pulmonary hydatidosis. Korean J Parasitol 2005; 43: 15-8. [CrossRef]
19. Tamarozzi F, Covini I, Mariconti M, Narra R, Tinelli C, Silvestri AD, et al. Comparison of the Diagnostic Accuracy of Three Rapid Tests for the Serodiagnosis of Hepatic Cystic *Echinococcosis* in Humans. Plos Negl Trop Dis 2016; 12: e0004444 . [CrossRef]
20. Yılmaz A, Karameşe M, Akkaş Ö, Uslu H. Kistik Hidatik şüpheli hastaların Tanısında ELISA ve İmmunokromotografik Yöntemin Karşılaştırılması. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Dergisi 2016; 3: 13-6.