

Kistik Ekinokokkozis Ön Tanılı Hastalarda Anti-*Echinococcus granulosus* Antikorlarının Araştırılması

Investigation of Anti-*Echinococcus granulosus* Antibodies in Patients with Suspected Cystic Echinococcosis

Ülfet Çetinkaya, Berna Hamamcı, Muhittin Kaya, Süheyla Gücüyetmez, Salih Kuk, Süleyman Yazar, İzzet Şahin

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

ÖZET

Amaç: Bir helminto-zoonoz olan kistik ekinokokkozis (KE), gelişmekte olan ülkelerde hem sağlığı tehdit eden hem de ekonomik kayıplara sebep olan önemli bir hastalıktır. Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'na Haziran 1999-Temmuz 2010 tarihleri arasında KE ön tanısı ile başvuran 701'i (%45.1) erkek, 855'i (%54.9) kadın olmak üzere toplam 1556 hastanın anti-*Echinococcus granulosus* antikorları değerlendirilmiştir.

Yöntemler: Hastaların 56'sında (%3.6) İndirekt Hemaglutinasyon (IHA), İndirekt Floresans Antikor Tekniği (IFAT) ve Western blot (WB); 378'inde (%24.3) IHA ve IFAT; 123'ünde (%7.9) IHA ve WB; 999'unda (%64.2) ise bu üç yöntemden herhangi biri kullanılmıştır.

Bulgular: Söz konusu üç yöntemden en az biri ile anti-*E. granulosus* antikorları saptanan 353 (%22.7) hasta pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç: Bazı hastaların bir testle pozitif diğer bir testle negatif bulunmasından dolayı KE'nin serolojik tanısında en az iki testin birlikte kullanılmasının daha güvenilir olacağı kanısına varılmıştır. (*Türkiye Parazitol Derg 2012; 36: 57-60*)

Anahtar Sözcükler: *Echinococcus granulosus*, IHA, IFAT, WB

Geliş Tarihi: 05.10.2010

Kabul Tarihi: 17.02.2012

ABSTRACT

Objective: Cystic echinococcosis (CE) is an important helmintho-zoonotic disease causing health-threatening and economic losses for developing countries. In this study, anti-*Echinococcus granulosus* antibodies were evaluated in 1556 CE suspected patients (701 males, 855 females) who applied to the serology laboratory of the Parasitology Department of Erciyes University between June 1999 and July 2010.

Methods: Fifty-six (3.6%) patients were evaluated with the three different methods of Indirect Hemagglutination Test (IHA), Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT) and Western blot (WB). 378 (24.3%) were tested with both IHA and IFAT, 123 (7.9%) with both IHA and WB, and 999 (64.2%) were evaluated with one of these three methods.

Results: In 353 (22.7%) patients, anti-*E. granulosus* antibodies detected by one of above three methods were considered as positive.

Conclusion: Since some patients were assessed either as negative or positive with one of above test, we believe that it should be safer to use at least two tests together for diagnosis of CE. (*Türkiye Parazitol Derg 2012; 36: 57-60*)

Key Words: *Echinococcus granulosus*, IHA, IFAT, WB

Received: 05.10.2010

Accepted: 17.02.2012

Bu çalışma 5. Ulusal Hidatidoloji Kongresi'nde (22-25 Eylül 2010, Antakya) sunulmuştur.

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Dr. Ülfet Çetinkaya, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye Tel: +90 533 421 33 93 E-posta: ucetinkaya@erciyes.edu.tr

doi:10.5152/tpd.2012.15

GİRİŞ

Echinococcus granulosus (*E. granulosus*)'un larva şeklinin insanlarda ve koyun, sığır gibi otçul hayvanların çeşitli organlarında yerleşmesiyle meydana gelen kistik ekinokokkozis (KE), hem hayvanlarda hem de insanlarda sağlığı tehdit eden ve önemli ekonomik kayıplara sebep olan bir hastalıktır (1-3). Erişkin paraziti bağırsaklarında barındıran karnivor konakların dışkılarıyla atılan *E. granulosus* yumurtaları insan ve doğal ara konak olan koyun, keçi, sığır gibi değişik türden hayvanlarda enfeksiyona sebep olmaktadır. Parazitin başta karaciğer olmak üzere; akciğer, böbrek, dalak, beyin, kemik, kalp gibi hemen her organa yerleştiği bilinmektedir (4).

Hastalığın tanısında her ne kadar görüntüleme yöntemleri ön planda tutulsa da komplike vakaların ve operasyon sonrası nükslerin daha sağlıklı bir şekilde değerlendirilebilmesi için ön tanının serolojik tanı yöntemleriyle desteklenmesi gerekmektedir. Diğer taraftan, bazı kişilerde kistin büyüklüğüne, lokalizasyonuna, yapısına, canlılığına ve kişinin immün aktivitesine bağlı olarak antikor oluşmadığı, bu nedenle negatif serolojik test sonuçlarının KE tanısından uzaklaştırmaması gerektiği de bir gerçektir (4, 5).

Bu çalışmada, Haziran 1999-Temmuz 2010 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'na KE ön tanısı ile başvuran 1556 hastada elde edilen anti-*E. granulosus* antikorları değerlendirilmiştir.

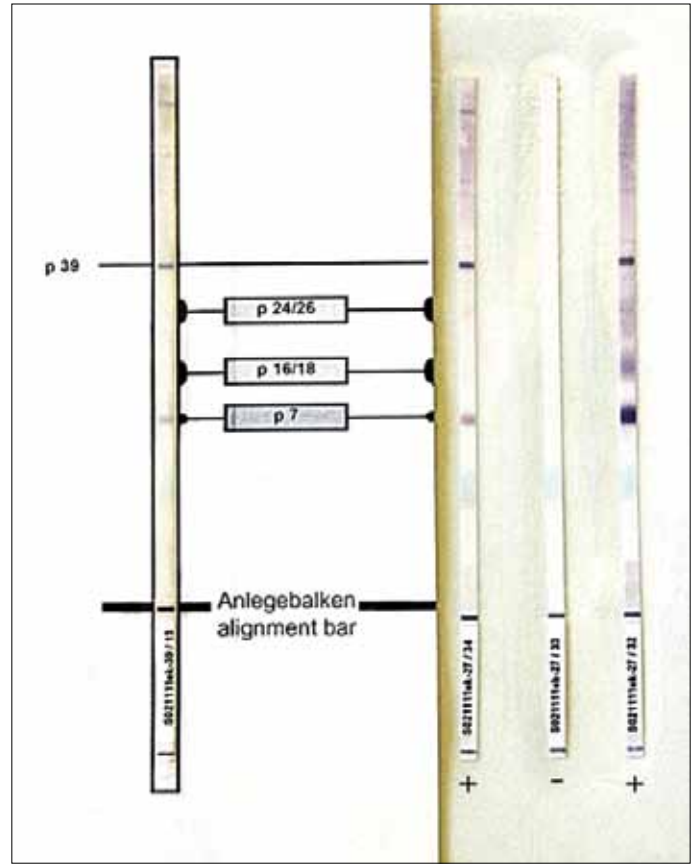
YÖNTEMLER

Çalışmamızda, farklı kliniklerden KE ön tanısı ile başvuran 1556 hastanın serum örneklerinde anti-*E. granulosus* antikorları araştırılmıştır. Hastaların 56'sında (%3.6) IHA, IFAT ve WB; 378'inde (%24.3) IHA ve IFAT; 123'ünde (%7.9) IHA ve WB; 999'unda (%64.2) ise bu üç yöntemden herhangi biri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan ticari kitler (IHA: Hydatidose, Fumouze Laboratoires, France; IFAT: Euroimmun GmbH, Germany; WB: Euroimmun GmbH, Germany) test prosedürlerine uygun olarak çalışılmıştır. IFAT ile çalışılan örnekler floresan mikroskopunda 450-490 nm dalga boylu filtrede x400 büyütmede değerlendirilmiş olup floresan verenler; IHA testi ile çalışılan örnekler makroskopik olarak değerlendirilmiş olup kenarları tırtıklı bir halka veya homojen bir şekilde bulanıklık verenler; WB ile çalışılan örneklerde ise p7 bandı (Şekil 1) oluşanlar pozitif olarak kabul edilmiştir.

İstatistiksel değerlendirmeler için SPSS for Windows V.15.0 paket programı kullanılarak Ki-kare testi yapılmış, $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmada; Haziran 1999-Temmuz 2010 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı laboratuvarına KE şüphesi ile farklı kliniklerden gönderilen 701'i (%45.1) erkek, 855'i (%54.9) kadın toplam 1556 hasta serumunda anti-*E. granulosus* IgG antikorları araştırılmıştır. Serumların 353'ünde (%22.7) söz konusu üç yöntemden en az biri ile anti-*E. granulosus* antikorları tespit edilmiş ve pozitif olarak değerlendirilmiştir. Hastaların yıllara göre seropozitiflik değerleri Tablo 1'de sunulmuştur.



Şekil 1. Western blot ile alınan sonuçlar

Tablo 1. Yıllara göre *E. granulosus* seropozitifliği

Yıllar	Pozitif		Negatif	
	n	%	n	%
1999* (n=67)	21	31.3	46	68.7
2000 (n=100)	30	30	70	70
2001 (n=89)	33	37.1	56	62.9
2002 (n=109)	13	11.9	96	88.1
2003 (n=114)	34	29.8	80	70.2
2004 (n=134)	33	24.6	101	75.4
2005 (n=115)	27	23.5	88	76.5
2006 (n=136)	38	27.9	98	72.1
2007 (n=164)	36	22	128	78
2008 (n=228)	36	15.8	192	84.2
2009 (n=188)	37	19.7	151	80.3
2010** (n=112)	15	13.4	97	86.6
Toplam (n=1556)	353	22.7	1203	77.3

*1999 yılının son altı ayı, **2010 yılının ilk altı ayı

Anti-*E. granulosus* antikorları saptanmış olan hastaların %38.5'ini erkeklerin, %61.5'ini ise kadınların oluşturduğu saptanmıştır (Tablo 2). Yapılan istatistiksel analizde; antikor pozitifliği açısından kadın ve erkekler arasındaki farkın anlamlı olduğu belirlenmiştir (χ^2 : 7.851, $p=0.003$).

Tablo 2. Cinsiyete göre *E. granulosus* seropozitifliği

Cinsiyet	Pozitif		Negatif	
	n	%	n	%
Erkek (n=701)	136	38.5	565	47
Kadın (n=855)	217	61.5	638	53
Toplam (n=1556)	353	22.7	1203	77.3

Üç yöntemle değerlendirilen 56 hastanın 36'sı (%64.3) her üç yöntemle negatif, 11'i (%19.6) pozitif, 2'si (%3.6) IHA ile negatifken diğer iki yöntemle pozitif, 7'si (%12.5) ise sadece WB ile pozitif bulunmuştur (Tablo 3).

Sadece IHA ve IFAT ile çalışılan 378 hastanın 325'i (%86) her iki yöntemle negatif, 47'si (%12.4) pozitif, 4'ü (%1.1) IHA ile pozitifken IFAT ile negatif, 2'si (%0.5) ise IFAT ile pozitifken IHA ile negatif bulunmuştur (Tablo 4).

Sadece IHA ve WB ile çalışılan 123 hastanın 87'si (%70.7) her iki yöntemle negatif, 30'u (%24.4) pozitif, 6'sı (%4.9) ise WB ile pozitifken IHA ile negatif bulunmuştur. Western blot yöntemi ile negatif bulunan hastaların tamamı IHA ile de negatif bulunmuştur (Tablo 5).

Üç yöntemden sadece herhangi biri ile çalışılan 999 hastanın ise 244'ü (%24.4) pozitif bulunmuştur.

TARTIŞMA

Kistik ekinokokkozis, günümüzde ciddi eradikasyon programlarının olmaması, başıboş köpek popülasyonunun fazlalığı, kasaplık hayvan kesimlerinin tamamıyla kontrol altına alınamamış olması, halkın hastalık konusunda yeterince bilinçlendirilememiş olması ve sayılabilecek daha birçok faktörlere bağlı olarak devam etmektedir (6).

Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda serolojik verilere göre KE olasılığı; İzmir'de %3.45 (1), Afyon'da %14.6 (7), Manisa'da %0.4 (8), Ankara'da %54.1 (9) olarak bildirilmiştir. Yazar ve arkadaşlarının (10) ülke genelinde yapmış oldukları retrospektif bir çalışmada KE oranları; Marmara Bölgesi'nde %13.13, Ege Bölgesi'nde %16.94, Akdeniz Bölgesi'nde %16.09, İç Anadolu Bölgesi'nde %38.57, Karadeniz Bölgesi'nde %5.70, Doğu Anadolu Bölgesi'nde %6.80, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde ise %2.75 olarak bildirilmiştir.

Şehrimizde yapılan diğer çalışmalara bakıldığında; Yazar (6), 1994-1998 yıllarını kapsayan ve hastane kayıtlarını inceleyerek yapmış olduğu bir çalışmada; beş yıllık periyotta Kayseri'deki hastanelerden toplam 349 KE olgusunun saptandığını, ayrıca olgu sayısının nüfusa oranının 1/14.364 ($\approx 7/100.000$) olduğunu bildirmiştir. Yazar'ın (11) 1999-2004 yıllarını kapsayan ve yine hastane kayıtlarını inceleyerek yapmış olduğu diğer bir çalışmada ise toplam 699 KE olgusunun saptandığı, olgu sayısının nüfusa oranının 1/9.098 ($\approx 11/100.000$) olduğu bildirilmiştir. Yazar ve ark. (12) Kayseri'de 2242 kişi üzerinde yapmış oldukları seroepidemiolojik bir çalışmada ise; ELISA ve IFAT ile %2.72, Western blot yöntemiyle %0.94 seropozitiflik saptanmıştır. Çalışmamızda, 1556 hastanın 353'ünde (%22.7) anti-*E. granulosus* antikorları saptanmıştır. Türkiye'de yapılan birçok çalışmada kadınlarda hastalığın daha fazla görüldüğü bildirilmiştir (11, 13-16). Bizim olgularımız-

Tablo 3. Her üç yöntemle değerlendirilen hastalarda *E. granulosus* seropozitifliği

IHA	IFAT	WB		Toplam
		Pozitif	Negatif	
Pozitif	Pozitif	11 (%55)	0 (%0)	11
	Negatif	0 (%0)	0 (%0)	0
Negatif	Pozitif	2 (%10)	0 (%0)	2
	Negatif	7 (%35)	36 (%100)	43
Toplam		20	36	56

Tablo 4. Sadece IHA ve IFAT ile değerlendirilen hastalarda *E. granulosus* seropozitifliği

IHA	IFAT		Toplam
	Pozitif	Negatif	
Pozitif	47 (%95.9)	4 (%10.3)	51
Negatif	2 (%4.1)	325 (%98.8)	327
Toplam	49	329	378

Tablo 5. Sadece IHA ve WB ile değerlendirilen hastalarda *E. granulosus* seropozitifliği

IHA	WB		Toplam
	Pozitif	Negatif	
Pozitif	30 (%83.3)	0 (%0)	30
Negatif	6 (%16.7)	87 (%100)	93
Toplam	36	87	123

da da benzer şekilde kadınlardaki oran yüksek bulunmuştur (%61.5).

Karaman ve ark. (16) Kars'ta yaptıkları bir çalışmada hasta örneklerini manuel olarak hazırladıkları IHA ve ticari IFA testi kullanarak değerlendirmişler ve her iki yöntemle %34.6 seropozitiflik belirlediklerini bildirmişlerdir. Delibaş ve ark. (17) İzmir'de yaptıkları bir çalışmada inceledikleri 465 hastanın %17'sini ELISA ile %14'ünü ise IHA ile pozitif bulduklarını, her iki test ile hastaların sadece %12'sini pozitif bulduklarını bildirmişlerdir. Sarı ve ark. (18) ELISA, IFAT ve IHA yönteminin duyarlılık ve özgüllüklerini araştırdıkları bir çalışmada KE'li 40 olgunun 35'inde (%87.5) ELISA, 33'ünde (%82.5) IFAT ve 36'sında (%90) IHA yöntemi ile metasetoda özgü antikor cevap saptadıklarını ve ELISA yönteminin duyarlılığının %87.5, özgüllüğü %100, IHA yönteminin duyarlılığının %90, özgüllüğünün %97.5 ve IFAT yönteminin duyarlılığının %82.5, özgüllüğünün ise %100 olarak belirlediklerini bildirmişlerdir. Ayrıca kontrol grubu olarak çalışma kapsamına aldıkları taenisli bir (%2.5) olgunun IHA yöntemi ile 1/160 serum sulandırımında çapraz reaksiyon verdiğini tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da IHA ve IFAT sonuçları arasında azda olsa uyumsuzluklar bulunmaktadır. Buna ek olarak IHA yöntemi veya IFAT ile negatif olarak belirlediğimiz halde WB ile pozitif olarak değerlendirdiğimiz 15 (%4.24) vaka da mevcuttur. Hastane kayıtlarına dayalı çalışmalar ile seroepidemiolojik çalışmalar arasında öteden beri farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılık; parazitlerle karşılaşan, dolayısıyla seropozitif olan bazı kişilerde kliniğin gelişmeme-

si ya da kistin hastada şikâyet oluşturacak büyüklüğe ulaşmaması gibi durumlarla izah edilse de, bu durumdan serolojik testlerde karşılaşılan başka parazitlerle olan çapraz reaksiyonların ve kullanılan testlerin sensitivite ve spesifite farklılıklarının da sorumlu olabileceği düşünülebilir. Çalışmada farklı kliniklerden gönderilen hastalar serolojik olarak değerlendirilmiş olup hastaların takipleri ilgili anabilim dalları tarafından yapıldığından söz konusu bilgilere ulaşılammıştır ki, bu da çalışmanın bir kısıtlılığı olarak belirlenmiştir.

Kistik ekinokokkozisin serolojik tanısında bilinen bütün yöntemler kullanılabilir (19). Serolojik tanıda kullanılan testlerin duyarlılık ve özgüllüğünün kullanılan antijenin özelliklerine, antijenin elde edildiği konağa, hastanın antikor yanıtına, seçilen yöntemle göre değiştiği bildirilmiştir (20). KE tanısında IHA yönteminin, kolay uygulanabilmesi, kısa süre içinde sonuç vermesi ve pahalı laboratuvar gereçleri gerektirmemesi nedenleri ile sıklıkla kullanıldığı bilinmektedir. Özellikle karaciğer yerleşimli KE olgularının tanısında kullanılan IFAT'ın duyarlılığının yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca testin kolay uygulanır olması ve kısa sürede sonuç vermesinden dolayı tercih edilebileceği ifade edilmiştir (19).

SONUÇ

KE'nin serolojik tanısında tek bir testin kullanımı bazen yetersiz kalabilmektedir. Bu nedenle en az iki testin birlikte kullanılmasının daha güvenilir olacağı, ayrıca uygulanması nispeten zor olan WB yönteminin IFAT ve IHA yöntemleri ile kombinasyonunun duyarlılığı çok daha arttıracak kanısına varılmıştır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

- Altıntaş N, Yazar S, Yolasiğmaz A, Akisü Ç, Şakru N, Karacasu F, et al. A serum epidemiological study of cystic echinococcosis in İzmir and its surrounding area. *Turkey Helminthologia* 1999; 36: 19-23.
- Özbelgin A, Kilimcioğlu AA. Kistik Echinococcosis. Özcel MA, Özbel Y, Ak M, editors. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. İzmir: Meta basims;2007.p. 541-66.
- Yazar S, Altıntaş N. Serodiagnosis of cystic echinococcosis in Turkey. *Helminthologia* 2003; 40: 9-13.
- Yazar S. Cystic Echinococcosis (CE)'in tanısında SDS-PAGE ve Western Blot yönteminin diğer serolojik tanı yöntemleri ile karşılaştırılması (Doktora tezi). İzmir: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı. 1998.
- Delibaş SB, Ozkoç S, Sahin S, Aksoy U, Akisü C. Evaluation of patients presenting with a suspicion of cystic echinococcosis to the serology laboratory of the Parasitology Department of Dokuz Eylül University Medical Faculty. *Türkiye Parazit Derg* 2006; 30: 279-81.
- Yazar S. Kayseri'de Kistik Ekinokokkozis. *Türkiye Parazit Derg* 2002; 26: 180-2.
- Çetinkaya Z, Çiftçi IH, Demirel R, Altındiş M, Ayaz E. A sero-epidemiologic study on cystic echinococcosis in Midwestern region of Turkey. *Saudi Med J* 2005; 26: 350-1.
- Kilimcioğlu AA, Ozkol M, Bayindir P, Girginkardeşler N, Ostan I, Ok UZ. The value of ultrasonography alone in screening surveys of cystic echinococcosis in children in Turkey. *Parasitol Int* 2006; 55: 273-5. [CrossRef]
- Eşgin M, Aktaş M, Coşkun Ş. The investigation of antibody presence in the sera of patients with a suspicion of cystic echinococcosis by using indirect hemagglutination test (IHA). *Türkiye Parazit Derg* 2007; 31: 283-7.
- Yazar S, Taylan Özkan A, Hökelek M, Polat E, Yılmaz H, Özbilge H, et al. Cystic echinococcosis in Turkey from 2001-2005. *Türkiye Parazit Derg* 2008; 32: 208-20.
- Yazar S. Cystic echinococcosis in Kayseri during the last six years. *Türkiye Parazit Derg* 2005; 29: 241-3.
- Yazar S, Yaman O, Çetinkaya F, Şahin İ. Cystic echinococcosis in Central Anatolia, Turkey. *Saudi Med J* 2006; 27: 205-9.
- Canda MŞ. Ekinokokkozis: 47 olgunun sunumu ve Türkiye'nin Ekinokokkozis sorunu. *Türkiye Parazit Derg* 1995; 19: 64-82.
- Gündoğdu C, Arslan R, Arslan MÖ, Gıcık Y. Evaluation of cystic and alveolar echinococcosis cases in people in Erzurum and surrounding cities. *Türkiye Parazit Derg* 2005; 29: 163-6.
- Hakverdi S, Sayar H, Yaldiz M, Erdoğan S, Akansu B, Canda MS. Unusual localization of echinococcosis in Cukurova (134 cases). *Türkiye Parazit Derg* 2009; 33: 77-81.
- Karaman Ü, Miman Ö, Kara M, Gıcık Y, Aycan MÖ, Atambay M. Hydatid cyst prevalence in the region of Kars. *Türkiye Parazit Derg* 2005; 29: 238-40.
- Delibaş SB, Ozkoç S, Sahin S, Aksoy U, Akisü C. Evaluation of patients presenting with a suspicion of cystic echinococcosis to the serology laboratory of the Parasitology Department of Dokuz Eylül University Medical Faculty. *Türkiye Parazit Derg* 2006; 30: 279-81.
- Sari C, Ertuğ S, Karadam SY, Özgün H, Karaoğlu AO, Ertaçlar H. The comparative evaluation of Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Indirect Hemagglutination Test (IHA) and Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT) in the diagnosis of cystic echinococcosis. *Türkiye Parazit Derg* 2009; 33: 73-6.
- Biava MF, Dao A, Fortier B. Laboratory diagnosis of cystic hydatid disease. *World J Surg* 2001; 25: 10-4. [CrossRef]
- Gottstein B. Molecular and immunological diagnosis of echinococcosis. *Clin Microbiol Rev* 1992; 7: 248-61.