

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarı'na Kistik Ekinokokkozis Şüphesiyle Başvuran Hastaların Değerlendirilmesi

Songül BAYRAM DELİBAŞ, Soykan ÖZKOÇ, Serap ŞAHİN, Ümit AKSOY, Çiler AKISÜ

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İnciraltı, İzmir

ÖZET: Kistik ekinokokkozis (KE), *Echinococcus granulosus*'un metasesstod formunun neden olduğu zoonotik bir enfeksiyondur. KE' de klinik özelliklere dayanarak tanı koymak zor olmakta; tanı, spesifik antikor yanıtının saptanmasını amaçlayan serolojik yöntemler ile bunları destekleyen görüntüleme yöntemlerine dayanmaktadır. Bu çalışmada, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarı'na Ocak 2003- Haziran 2004 tarihleri arasında KE şüphesiyle başvuran 465 hasta değerlendirildi. Hasta serum örneklerinde, in house enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) testi ve ticari indirekt hemagglütinasyon testi (İHA) ile spesifik anti-*E. granulosus* antikorları araştırıldı. Hastaların 79(%17)'unda ELISA ve 65(%14)'inde İHA testi ile değişik titrasyonlarda pozitiflik tespit edildi. Her iki testle de pozitif bulunan serum sayısı 56 (%12) idi. Serolojik testler öncesi farklı zamanlarda KE nedeniyle operasyon geçiren 80 hastanın 56' sının seropozitif, 24'ünün seronegatif olduğu görüldü. Bu çalışmada KE serolojik tanısında en az iki testin kullanılmasının yararlı olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar Sözcükler: Kistik ekinokokkozis, ELISA, İHA, tanı

Evaluation of Patients Presenting with a Suspicion of Cystic Echinococcosis to the Serology Laboratory of the Parasitology Department of Dokuz Eylül University Medical Faculty

SUMMARY: Cystic echinococcosis (CE) is a zoonosis, caused by the metacestode form of *Echinococcus granulosus*. The diagnosis of CE is difficult using the clinical features of the disease and it depends on the combination of serological methods aimed at determining the specific antibody response and on imaging techniques that support the serology. In this study, 465 patients who presented with a suspicion of CE to the serology laboratory of the Parasitology Department of Dokuz Eylül University between January 2003 and June 2004 were evaluated. The specific anti-*E. granulosus* antibodies in the serum samples of patients were examined by an in-house enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) test and a commercial indirect hemagglutination (IHA) test. Seventy eight (17%) of the patients were positive with ELISA and 65 (14%) of them were positive with IHA with varying titrations. Fifty six (12%) of the sera were positive with both methods. Fifty-six of the eighty patients who underwent CE surgery at different times before this study were found to be seropositive, while the remaining 24 were found to be seronegative. We concluded that it is very important to combine at least two methods in the serological diagnosis of CE.

Key Words: Cystic echinococcosis, diagnosis, ELISA, IHA

GİRİŞ

Echinococcus granulosus'un neden olduğu kistik ekinokokkozis (KE), özellikle hayvancılığın yaygın olduğu ülkelerde insidansı 1-150/100 000 arasında değişebilen, ülkemizde tahmin edilen cerrahi vaka oranı yıllık 0.87-6.6/100.000 olan bir paraziter zoonozdur

(5). Hastalık etkeni olan *E. granulosus*'un içi sıvı ile dolu kist şeklindeki larvaları ara konak olan sığır, koyun, keçi gibi evcil hayvanlarda ve insanda, başta karaciğer olmak üzere birçok organda yerleşebilmektedir. Hastalık sağlık ve ekonomik yönden büyük kayıplara yol açmaktadır (4).

Geliş tarihi/Submission date: 14 Aralık/14 December 2005
Düzeltilme tarihi/Revision date: 11 Mayıs/11 May 2006
Kabul tarihi/Accepted date: 25 Ağustos/25 August 2006
Yazışma /Corresponding Author: Songül Bayram Delibaş
Tel: (+90) (232) 412 45 43 Fax: (+90) (232) 259 05 41
E-mail: songul.bdelibas@deu.edu.tr

KE tanısında US, BT ve MR gibi görüntüleme yöntemleri yanında, serolojik testlere gereksinim duyulmaktadır. Serolojik tanıda kullanılan çoğu test, hasta serumunda spesifik anti-*E. granulosus* antikorları aranması temeline dayanmaktadır.

Serolojik tanıda, gerek uygulama kolaylığı ve maliyet düşüklüğü, gerekse yüksek duyarlılık ve özgünlüklerinden dolayı ELISA ve IHA teknikleri sık olarak tercih edilmektedir (2).

Bu çalışmada Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarı'na KE şüphesiyle çeşitli kliniklerden gönderilen hastalara ait serum örnekleri, ELISA ve IHA yöntemleri ile değerlendirilerek spesifik antikor düzeyleri araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Serum örnekleri: Çalışmamızda, Ocak 2003 - Haziran 2004 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarı'na farklı kliniklerden KE şüphesiyle gönderilen 465 hastaya ait serum örnekleri incelendi. Çalışmaya alınan hastalarla ilgili kişisel bilgiler ve radyoloji bulguları, birebir hasta görüşmeleri ve hastane arşiv dosyalarından elde edildi.

Serolojik testler: Tüm serum örneklerinde spesifik anti-*E.granulosus* antikor düzeyleri, in-house IgG-ELISA ve IHA yöntemleri ile değerlendirildi. In-house IgG-ELISA yönteminde antijen olarak koyun fertil kist sıvıları kullanıldı. Bu test, kaynak literatür doğrultusunda çalışıldı(1). Kısaca kist sıvısı, PBS içinde 10 µg/ml olacak şekilde sulandırılarak düz tabanlı ELISA plağı (Greiner®) çukurlarına dağıtılarak bir gece +4°C'de bekletildi. Tüm serumların PBS ile 1/80' den başlayan seri dilüsyonları hazırlandı ve antijen kaplı plağın her çukuruna 100'er µl aktararak 37 °C' de 1 saat inkübe edildi. PBS-Tween 20 ile 4 kez yıkama yapıldı. PBS ile 1/10000 oranında sulandırılan konjuge (alkalen phosphatase ile işaretli goat anti-human IgG konjuge), plak çukurlarına 100 µl olacak şekilde aktarıldı ve plaklar tekrar 37 °C' de 1 saat inkübe edildi. Yıkama sonunda, hazırlanan substrat (10 cc DEAB + 0.01 gr PNPP) solüsyonundan her çukura 100µl konuldu ve oluşan renk değişikliği, ELISA okuma cihazıyla 405 nm'de okutuldu. Negatif kontrollerin OD ortalamasının, blank çukurların OD ortalamasından çıkarılması ile elde edilen değer üç katı üzeri pozitif, iki katı altı negatif, 2-3 katı arası ise ara pozitif olarak kabul edildi.

IHA yöntemi ise ticari kit (Hydatidose, Fumouze Laboratoires, France) test prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Serum sulandırılmaları U tabanlı mikropklarda yapıldı. Antijenli eritrosit süspansiyonu eklenmiş serum dilüsyonlarında, 2 saatlik inkübasyon sonrası düğme iliği şeklinde çökelti varsa sonuç negatif, kenarı tırtıklı düzensiz bir çökelti veya çökelti olmaması pozitif olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Toplam 465 hastadan alınan serum örneğinin 296 (%63,7)'sı kadın, 169 (%36,3)'u erkek hastaya aitti. Hastalar 2-92 yaşlarında idi (yaş ortalaması 47.6). Hastaların yaş dağılımına bakıldığında 37 (%8)'sinin 0-20 yaş, 109 (%24)'ünün 20-40 yaş, 214 (%46)'ünün 40-60 yaş ve 105 (%22)'inin 60 yaş üzeri

grupta olduğu tespit edildi. Ayrıca, 53 hastanın tedavi takibi amacıyla birden fazla kez başvuruda bulunduğu görüldü.

Parazitoloji Anabilim Dalı seroloji laboratuvarına KE ön tanısı ile başvuran hastalar, Genel Cerrahi (%30), Gastroenteroloji (%23), Dermatoloji (%21), Göğüs Hastalıkları(%15) ve diğer (%11) Anabilim/Bilim Dallarından gelen hastalardan oluşmaktaydı.

Çalışma kapsamına alınan 465 serum örneğinden, ELISA ile 79 (%17)'unda, IHA ile 66 (%14)'sında ve hem ELISA, hem de IHA testi ile 56 (%12)'sında değişik titrasyonlarda olmak üzere spesifik antikor varlığı saptandı. Her iki test ile spesifik antikor saptanamayan 376 hastanın 24 (% 6)' ünün değişik zamanlarda KE operasyonu geçirdiği tespit edildi (Tablo 1).

Tablo 1. Hastaların ELISA ve IHA sonuçları

		IHA		Toplam
		Pozitif	Negatif	
ELISA	Pozitif	56 (%12,0)	23 (%4,9)	79 (%16,9)
	Negatif	10 (%2,)	376 (%80,8)*	386 (%83,0)
Toplam		66 (%14,1)	399 (%85,8)	465

* Hastaların 24'ü KE operasyonu geçirmiş

Radyolojik inceleme sonucuna ulaşılan 114 hastanın, 89 (%78)'unda tek organ, 25 (%22)'inde birden çok organ tutulumunun olduğu ve kistlerin en çok karaciğerde lokalize olduğu saptandı.

Çalışma öncesi değişik zamanlarda KE operasyonu geçirerek kesin KE tanısı alan 80 hastanın 50 (%63)'sinin kadın, 30 (%37)'unun erkek olduğu tespit edildi. Bu olgulardan 56'sının seropozitif, 24'ünün seronegatif olduğu bulundu. Kesin KE olgularının yaş ve tutulan organlara göre dağılımı Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. KE tanısı kesinleşen hastaların organ ve yaş dağılımı

Yaş	Organ tutulumu				Toplam
	KC	AC	KC&AC	Böbrek	
0-20	2 (%2,5)	1 (%1,2)	2 (%2,5)	-	5 (%6,2)
20-40	16 (%20,0)	4 (%5,0)	5 (%6,2)	1 (%1,2)	26 (%32,5)
40-60	23 (%28,7)	4 (%5,0)	4 (%5,0)	1 (%1,2)	32 (%40,0)
>60 yaş	15 (%18,7)	-	2 (%2,5)	-	17 (%21,2)
Toplam	56 (%70,0)	9 (%11,2)	13 (%16,2)	2 (%2,5)	80

KC: karaciğer, AC: akciğer

TARTIŞMA

KE, uzun yıllar asemptomatik seyredilebilen paraziter bir hastalıktır. Özellikle hayvancılığın yaygın olduğu ülkelerde insidansı yüksek olarak bulunmuştur. Ülkemizde Altıntaş ve ark, (3) sero-epidemiolojik KE araştırmalarında prevalansı 291/ 100 000 olarak saptamışlardır. Klinik bulgular diğer sistem patolojileriyle karışabilmektedir. Hastalığın erken dönemde tanısının konulması, cerrahi ve kemoterapi etkinliğini arttırması bakımından büyük önem taşımaktadır. Serolojik yöntemler, hastalığın erken tanısında ve tedavi sonrası takibinde önemli yer tutmaktadır.

Ülkemizde KE tanısına yönelik birçok çalışma bulunmaktadır (3, 8). Türkiye genelinde yapılan çalışmalarda hastalığın kadınlarda daha fazla görüldüğü tespit edilmiştir. Ertabaklar ve ark (8) KE olgularını değerlendirdikleri çalışmalarında; hastaların %58,2’sinin kadın, %41,8’inin erkek olduğunu; Malatya bölgesinde yapılan bir çalışmada; Tevfik ve ark (11) hastalığa kadınlarda %57,75, erkeklerde %42,25 oranında rastladıklarını bildirmişlerdir. Canda (6) da araştırmasında benzer şekilde olguların %60’nın kadın, %40’nın erkek olduğunu saptamıştır. Bu çalışmamızda, laboratuvarımıza KE şüphesiyle başvuran hastaların %64’ünün kadın, %36’sının ise erkek olduğunu ve KE nedeniyle operasyon geçirmiş hastalarda da cinsiyet dağılımının benzer olduğunu saptadık. Buna göre, elde ettiğimiz sonuçların diğer çalışmalarla uyumlu olduğu görülmektedir.

Ülkemizde KE ile ilgili yapılan çalışmalarda hastalığın her yaşta insanda görülebildiği, bununla birlikte özellikle çocukluk yaşlarında alınan enfeksiyon etkeninin 20-50 yaşları arasında klinik tablo oluşturduğu bildirilmiştir (8, 9). Araştırmamızda laboratuvara başvuran hastaların yaşlarının 2 ile 92 arasında değiştiğini, kesin KE tanısı alan hastaların % 72’sinin ise 20-60 yaş grubunda olduğunu saptadık. Bu sonuçlar, hastalığın zaman içinde oldukça yavaş ortaya çıktığını desteklemektedir.

KE’de organ lokalizasyonunun en sık karaciğer (%50-54), ikinci sıklıkta akciğer (%35-40) olduğu ve diğer organlarda yerleşimin daha az sıklıkla (%11) görüldüğü bilinmektedir (10). Ertabaklar ve ark (8), araştırmalarında KE olgularının %66,4’ünde kistin karaciğerde, %21,66’sında akciğerde ve %0,83’ünde dalakta yerleşim gösterdiğini tespit etmişlerdir. Ertuğ ve ark (9), Aydın ve çevresinde yaptıkları çalışmalarında karaciğer lokalizasyonunun %89,3 ile birinci sırada, akciğer lokalizasyonunun ise %7.1 ile ikinci sırada yer aldığını bildirmişlerdir. Bu çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda da, KE ön tanısıyla operasyon geçiren olgular arasında en sık tutulan organlar sırasıyla karaciğer (%70) ve akciğer (%11) olarak gözlemlenmiştir.

Çok kompleks bir antijenik yapıya sahip olan *E. granulosus*’a karşı oluşan antikor yanıtını %100 saptayan testler bulunmamaktadır, bu nedenle farklı hasta gruplarında seronegativitenin %3-40 arasında değiştiği bildirilmiştir (7). Ayrıca, operasyon

sonrası tam iyileşme gösteren KE hastalarının antikor düzeylerinin azaldığı bilinmektedir (12). Araştırmamızda, KE tanısı kesinleşmiş hastaların operasyon sonrası farklı zamanlarda alınan serumlarına uyguladığımız serolojik testlerle, 24’ünde ELISA ve IHA sonuçlarının negatif olduğu gözlemlendi. Bu sonuç KE hastalarının antikor düzeylerinin operasyon sonrasında zaman içinde düştüğünü göstermektedir. Tanıda bilinen bütün serolojik yöntemlerden yararlanılabilmekle birlikte, değişik tekniklerden alınan sonuçların her zaman birbiriyle ve hasta kliniği ile uyumlu olmadığı görülmektedir. Sonuç olarak KE’nin serolojik tanısında duyarlılığı yüksek en az iki testin uygulanmasının önemli olduğu ve test sonuçları arasında uyumsuzluğun olduğu durumlarda bunlara ek olarak daha ileri tetkiklerin yapılmasına ihtiyaç olduğu kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Ak M, 1997. Enzym Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Özcel MA Altıntaş N. eds. Parazit Hastalıklarında Tanı. İzmir. Türkiye Parazitoloji Derneği. Yayın No: 15, s. 241-259.
2. Altıntaş N, Yazar S, 1999. Cystic Echinococcosis’te tanı. *Türkiye Parazitol Derg*, 23 (2): 160-168.
3. Altıntaş N, Yazar S, Yolasiğmaz A, Akisü C, Şakru N, Karacasu F, Güzelant A, 1999. A sero-epidemiological study of cystic echinococcosis in İzmir and its surrounding area, Turkey. *Helmintologia*, 36 (1) : 19-23.
4. Altıntaş N, 2000. Türkiye’de Kist Hidatik ve Önemi. II. Ulusal Tropikal Hastalıklar Kongresi. 25-29 Eylül, Şanlıurfa-Türkiye.
5. Altıntaş N, 2003. Past to present: echinococcosis in Turkey. *Acta Tropica* 85: 105-112.
6. Canda MŞ, 1995. Ekinokokkozis: 47 olgunun sunumu ve Türkiye’nin Ekinokokkozis sorunu. *Türkiye Parazitol Derg*, 19: 64-82.
7. Craig PS, Nelson GS, 1984. The detection of circulating antigen in human hydatid disease. *Ann Trop Med Parasitol*, 78(3):219-27.
8. Ertabaklar H, Pektaş B, Turgay N, Yolasiğmaz A, Dayangaç M, Özdamar A, Karaca İ, Olgaç G, Dağcı H, Göksel T, Menteş A, Çoker A, Altıntaş N, 2003. İzmir ve çevresindeki Hastanelerde Ocak 1997- Mayıs 2001 Arasında Saptanan Kistik Ekinokokkozis Olguları. *Türkiye Parazitol Derg*, 27 (2): 125-128.
9. Ertuğ S, Sarı C, Gürel M, Boylu Ş, Çanakalelioğlu L, Şahin B, 2002. Aydın ve çevresinde 1996-2000 yılları arasında cerrahi olarak saptanan kist hidatik olguları. *T Parazitol Derg*, 26 (3): 254-256.
10. Merdivenci A, Aydınlioğlu K, 1982. Hidatidoz (Hidatik Kist Hastalığı). İst Üniv Cerr Tıp Fak Yayın No 97.
11. Tevfik M, Aldemir OS, Karadaş K, Çelik T, Daldal N, 2000. Malatya bölgesinde üniloküler kistik ekinokokkozis. *Türkiye Parazitol Derg*, 24 (1): 33-36.
12. Zarzosa MP, Orduna Domingo A, Gutierrez P, Alonso P, Cuervo M, Prado A, Bratos MA, Garcia-Yuste M, Ramos G, Rodriguez Torres A, 1999. Evaluation of six serological tests in diagnosis and postoperative control of pulmonary hydatid disease patients. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 35:255-262.