

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Kistik Ekinokokkozis Ön Tanılı Hastalarda Anti-*Echinococcus granulosus* Antikor Prevalansının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi

Retrospective Determination of the Prevalence of Anti-Echinococcus granulosus Antibodies in Cystic Echinococcosis Pre-diagnosed Patients at Erciyes University Faculty of Medicine

✉ Merve Yürük, ✉ Ozan Yaman, ✉ Eda Sivcan, ✉ Emrah Erdoğan

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

Cite this article as: Yürük M, Yaman O, Sivcan E, Erdoğan E. Retrospective Determination of the Prevalence Of Anti-*Echinococcus granulosus* Antibodies in Cystic Echinococcosis Pre-diagnosed Patients at Erciyes University Faculty of Medicine. Türkiye Parazitoloj Derg 2022;46(2):133-9.

ÖZ

Amaç: Kistik ekinokokkozis (KE), helmint hastalıkları içinde yıllardır bilinen, insan ve hayvan sağlığının yanı sıra sebep olduğu ekonomik kayıplar nedeniyle dünyanın birçok bölgesinde ve ülkemizde halk sağlığı problemi olarak önemini koruyan paraziter bir hastalıktır. Bu çalışmada Ocak 2013-Aralık 2018 tarihleri arasında parazitoloji laboratuvarına tetkik için başvuran ve ön tanısı KE olan hastaların anti-*E. granulosus*-IgG antikorlarının dağılımının retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: İndirekt hemaglutinasyon (IHA), indirekt floresan antikor testi (IFAT) ve Western blot (WB) yöntemlerinde ticari kit önerisine göre test prosedürü hasta numunelerinden elde edilen serumlar kullanılarak uygulanmıştır. Ayrıca, polimeraz zincir reaksiyon (PZR)/QPZR testleri yapılması istenilen kist aspirasyon mayii, beyin omurilik sıvısı ve kan hasta materyalleri incelenmiştir.

Bulgular: Serum örnekleri IHA, IFAT ve WB yöntemlerinin en az biri veya bu yöntemlerin kombinasyonları ile test edilerek, toplam 2283 olgudan 443 olgunun *E. granulosus* seropozitif olduğu belirlenmiştir. Dört yüz kırk üç pozitif hastanın 369'unun (%62,03) kadın ve 330'unun (%37,97) erkek hastalardan oluştuğu tespit edilmiştir. Bu hastalardan, IFAT ve/veya IHA testi negatif olan 87 hastanın WB yöntemi ile test sonucunun pozitif olduğu tespit edilmiştir. WB testi negatif olan 13 hastanın IFAT veya IHA test sonuçları ise pozitif olarak tespit edilmiştir. Her iki testin pozitif fakat WB test sonucunun ise negatif olduğu 4 hasta saptanmıştır. Ayrıca, PCR/QPCR testleri yapılan toplam 72 hastanın da 36'sinin pozitif olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: Altı yıllık bir retrospektif tarama sonucunda olguların %22'sinin pozitif tespit edilerek KE yaygınlığının yüksek olduğu ve KE tanısında tek bir testin kullanımının yetersiz kalabileceği, bu nedenle test kombinasyonlarının doğru taniya ulaşmada duyarlılığı ve güvenilirliği artıracığı kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kistik ekinokokkozis, IHA, IFAT, WB, PCR, QPCR

ABSTRACT

Objective: Cystic echinococcosis (CE) is a parasitic disease that has been known for years in helminth diseases and it is important as human and animal health problem in many parts of the world and in our country due to economic losses. In this study, it was aimed to retrospectively evaluate the distribution of anti-*E. granulosus*-IgG antibodies in patients with pre-diagnosis of CE that referred to parasitology laboratory between January 2013-December 2018.

Methods: Commercial kit was used for indirect hemagglutination (IHA), indirect fluorescent antibody test (IFAT) and Western blot (WB) methods using sera from patient samples was applied according to the kit proposal. In addition, patient materials for CAM, CSF and blood for which polymerase chain reaction (PCR)/QPCR tests were requested were examined.

Results: Sera of the patients who were tested with at least one of the IHA, IFAT and WB methods or a combination of these methods, and 443 cases out of 2.283 cases were found to be *E. granulosus* seropositive. It was determined that 369 (62.03%) of 443 positive patients were female and 330 (37.97%) were male patients. Among these patients, 87 patients whose IFAT and/or IHA tests were negative were found to have positive results with the WB method. IFAT or IHA test results of 13 patients with negative



Geliş Tarihi/Received: 20.08.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 17.02.2022

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Merve Yürük, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye
Tel/Phone: +90 555 517 99 55 E-Posta/E-mail: merveyuruk@erciyes.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0003-3295-5322

WB tests were found to be positive. Four patients were identified with both tests positive but WB test results negative. In addition, 36 of 72 patients who underwent PCR/QPCR tests were found to be positive.

Conclusion: As a result of a six-year retrospective screening, 22% of the cases were found to be positive, and it was concluded that the prevalence of CE is high and the use of a single test may be insufficient in the diagnosis of CE, therefore, test combinations will increase the sensitivity and reliability in reaching the correct diagnosis.

Keywords: Cystic echinococcosis, IHA, IFAT, WB, PCR, QPCR

GİRİŞ

İnsanlarda, *Echinococcus* cinsine ait sestodların larval evresi ile enfeksiyonu sonucunda kistik ekinokokkozis (KE) görülmektedir (1). Bu cins içinde *Echinococcus granulosus* (*E. granulosus*) en yaygın türü temsil eder ve ağırlıklı olarak etkilenen bölgeler arasında Akdeniz Bölgesi, Doğu Avrupa, Güney Amerika'nın bazı kısımları, Afrika'nın bazı kısımları, Orta Asya ve Batı Çin bulunmaktadır. Parazit dünya çapında ciddi halk sağlığı sorunlarına, ekonomik kayıplara ve hayatı tehdit eden hastalıklara neden olur (2,3). Bir halk sağlığı sorunu olarak KE kontrolü ve insan olgularının azaltılması veya ortadan kaldırılması için verilen mücadele 1960'lardan günümüze kadar devam etmektedir (4).

Hastalık gelişimi konak türüne ve konağa bağlı immünolojik faktörler gibi diğer bazı faktörlere bağlıdır (2,5). Cins genelinde metasesodlar, ince bir hücre tabakası (germinal tabaka) ile sınırlandırılır ve laminar tabaka olarak bilinen asellüler bir yapı tarafından dışa doğru korunur. *Echinococcus* cinsinin ayırt edici özelliği olan laminar tabaka, şüphesiz bu parazitlerin immünokompetan memelilerin iç organlarında yıllar boyunca yaşama kabiliyetinin önemli bir bileşenidir (6). Laminar tabaka, parazit tarafından sentezlenen ve karbonhidrat açısından zengin bir yapıdır ve *E. granulosus* metasesodlarında konak tarafından türetilmiş kalınlık bakımından çok daha belirgin adventisyal bir tabaka ile çevrelenmiştir (2,5). Bu süreç genellikle "ilerleyen tümör benzeri büyüme" olarak adlandırılır. Çoğu durumda merkezi olarak yerleşmiş nekrotik dokudan oluşan büyük ve heterojen bir parazitik kütle ve aktif olarak çoğalan periferik alanların oluşumuna yol açar (2). Bu nedenle KE kronik, subaküt veya akut bir seyir gösterebilir ve erken tanının konmadığı olgularda oluşabilecek doku harabiyeti ve komplikasyonlar sonucunda fatal olabilir. KE olgularının büyük bir kısmının asemptomatik olması, klinik belirtilerin karakteristik olmaması ve kistin gelişiminin çok yavaş olması nedeniyle gerçek yaygınlık bilinmemektedir. Enzim bağlı immüno-sorbent deneyi (ELISA), indirekt floresan antikor testi (IFAT), indirekt hemaglutinasyon testi (IHA), Western blot (WB) gibi serolojik ve DNA tabanlı moleküler yöntemler invaziv olmayan görüntüleme teknikleri ile birleştirildiğinde, tanı ve tedavide olduğu kadar kontrol programları sırasında da izleme ve gözetim için tercih edilen yaklaşım olmuştur (4). Bu yöntemlerin, hastaların daha yakından izlenerek aşılarda dahil olmak üzere uygun immünoterapötik araçların geliştirilmesini; parazit yaygınlığının değerlendirilmesini; anti-parazit tedavilerinin ayarlanmasını ve optimize edilmesini sağlayacağı bildirilmektedir (2).

Yapılan bu çalışmada Ocak 2013-Aralık 2018 tarihleri arasında parazitoloji laboratuvarına tetkik için başvuran ve ön tanısı KE olan hastaların anti-*E. granulosus*-IgG antikorlarının dağılımı ve moleküler test verileri retrospektif olarak değerlendirilmiştir.

YÖNTEMLER

Çalışmada, KE şüphesiyle tıbbi parazitoloji laboratuvarlarına 2013-2018 tarihleri arasında gönderilmiş ve serolojik ve/veya moleküler testler uygulanmış olan 2,283 hastaya ait kan, 45 hastaya ait kist aspirasyon mayii (KAM) örnekleri retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Retrospektif incelemeye başlamadan önce klinik araştırmalar etik kurulundan izni alınmıştır.

Serolojik Testler

Hasta örnekleriyle IFAT (Euroimmun GmbH, Lübeck, Germany), IHA (Hydatidose, Fumozelaboratories, Signes, France) ve WB (Euroimmun GmbH, Lübeck, Germany) testleri çalışılmıştır. IHA, IFAT ve WB yöntemleri için ticari kit kullanılmış ve kit prosedürü uygulanarak hasta örneklerinden elde edilen serumlar test edilmiştir. Hastalardan alınan kan örnekleri, 1,500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumlar elde edilmiştir. Anti-*E. granulosus*-IgG IHA yöntemi için U tabanlı mikropklalarda serum sulandırılmaları yapılarak, sensitize edilmiş koyun eritrositleri damlatılmıştır. 1/320 titre ve üzerindeki titreler için örneklerin pozitiflikleri değerlendirilmiştir. Anti-*E. granulosus*-IgM IFAT için serum örnekleri, tween-20 ilaveli fosfat tamponu (PBS-T) çözeltisinde vorteksleme ile 1/16 oranında seyreltilmiş ve daha sonra ticari kit prosedürüne göre 3,500×g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst kısımdan 30 µL alınarak, antijen kaplı slaytlara eklenmiş ve 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Beş dakika inkübasyondan sonra preparatlar PBS-T solüsyonu ile yıkanmış ve 25 µL konjuge, antijen-antikorla kaplı alanlara eklenmiştir. Karanlıkta oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiş ve yıkama işlemi tekrar edilmiştir. Preparatlar 480 nm dalga boyundaki floresan mikroskopu ile incelenmiştir. Anti-*E. granulosus*-IgG WB testinde yıkama kuvvetine her hasta için bir strip konularak 2 mL yıkama solüsyonuyla 15 dakika boyunca ön yıkama yapılmıştır. 1/50 oranında sulandırılmış serumlar striplerin üzerine ön yıkama sonrasında eklenerek 30 dakika çalkalayıcıda inkübe edilmiştir. Serumlar toplandıktan sonra 3 kez 5'er dakika arayla yıkama yapılmıştır. 1/10 oranında sulandırılmış konjuge ile 30 dakika muamele edilmiş ve tekrar yıkama yapılarak striplere tetramethylbenzidine substrat eklenmiştir. On beş dakika sonra substrat uzaklaştırılarak bant profilleri izlenmiştir.

Mikroskobik İnceleme ve Moleküler Testler

Moleküler testler olan polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve QPZR testleri uygulanmak üzere KAM, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve kan örnekleri incelenmiştir. BOS ve KAM materyali 3,000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. DNA izolasyonu yapılmadan önce tüpün dip kısmındaki sıvıdan direkt bakı için bir kısmı alınarak çengel ve protosokoleks varlığı bakımından mikroskobik olarak incelenmiştir. Santrifüj sonrası örnekten 200 µL alınarak ticari kit (Qiagen, Hilden, Germany) prosedürüne göre DNA izolasyonu yapılmıştır. 10 µL (2x) SYBR Green master miks (Roche, Indianapolis, USA), F (5'-CCTGAGAAACGGCTACCACT-3') ve R (5'-TGCTGGGAGTGGGTAATTTG-3') primerlerden 1'er µL

(10 pmol), 5 µL DNA (15ng), 3 µL dH₂O kullanılarak karışım hazırlanmış belirlenen sıcaklık döngüleri ile reaksiyon QPZR (Roche Light Cycler 480II, Mannheim, Germany) cihazında gerçekleştirilmiştir. Örnekler aynı zamanda standart PZR ile incelenmiş, PZR reaksiyonu COX-1 gen spesifik COX-1(S)-F (5'-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3') ve COX-1(S)-R (5'-TAAAGAAAGAC ATAATGAAAATG-3') primerleriyle PZR (Sensoquest, Göttingen, Germany) cihazında inkübe edilmiştir. PZR ürünleri %1,5'lik agaroz jele yüklenerek elektroforez edilmiş ve ardından bant profilleri görüntülenmek üzere ultraviyole altında incelenmiştir.

İstatistiksel Analiz

Veri analizi, IBM Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versiyon 23 yazılımı ile yapılmıştır. İHA, İFAT, WB ve PZR yöntemleri ile tanımlayıcı özellikler sıklık ve yüzdelere kullanılarak verilmiştir.

BULGULAR

Ocak 2013-Aralık 2018 tarihleri arasında müracaat eden toplam 2283 olgudan 443'ünün (%19,36) *E. granulosus* seropozitif olduğu tespit edilmiştir. Yıllar içindeki dağılımlar incelendiğinde kadın ve erkek hastalarda en düşük oranın 2013 yılında görüldüğü ve bu oranların her yıl giderek arttığı dolayısıyla 2018 yılı içinde müracaat eden hasta sayısı ve pozitiflik oranlarının hem erkek

hem de kadın hastalarda diğer yıllara göre artış gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 1). Pearson ki-kare testi ile yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre, tüm olgular arasında yıllara göre pozitif olgular karşılaştırıldığında, anlamlı yıl-x pozitif etkileşimi bulunmuştur (p<0,001).

Cinsiyete ve yıllara göre toplam 443 pozitif hasta sayısı üzerinden seropozitiflik oranları değerlendirildiğinde 6 yıllık süre içinde pozitif hastaların %62'sinin kadın ve %38'inin erkek hastalardan oluştuğu tespit edilmiştir ve istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, cinsiyet-x pozitif etkileşimi bulunmuştur (p<0,001). Ayrıca 2018 yılında kadın ve erkekler arasında *E. granulosus* seropozitifliği bakımından anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur (p<0,001). Ayrıca Pearson ki-kare testi ile yapılan analiz sonuçlarına göre, yıllara göre kadın-erkek arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı (p>0,05). Hastalar yaş aralıklarına ve yıllara göre de ayrılarak incelenmiştir. Buna göre; yaş ortalamasının 42 olduğu erkek ve kadın hastalarda en fazla pozitif olgunun 15-65 yaş arasında olduğu görülmüştür (Tablo 2).

2013-2018 yıllarında müracaat eden hastaların serumları İHA, İFAT ve WB yöntemlerinin en az biri veya bu yöntemlerin kombinasyonları ile test edilerek 443 olgunun pozitifliği belirlenmiştir. Bu hastalardan, İFAT ve/veya İHA testi negatif olan 87 hastanın WB yöntemi ile test sonucunun pozitif olduğu tespit edilmiştir. WB testi negatif olan 13 hastanın İFAT veya İHA test sonuçları ise pozitif olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, her iki testin pozitif fakat WB test sonucunun ise negatif olduğu 4 hasta saptanmıştır (Tablo 3).

Serolojik incelemeler yapılması için parazitoloji laboratuvarına farklı kliniklerden gönderilen örnek sayıları tespit edilmiştir (Tablo 4). Bu serolojik testlere ilaveten 2015 yılından itibaren *E. granulosus* spesifik primerler ile BOS, kan ve KAM örneklerine, moleküler yöntemler olan PZR ve QPZR testleri doktor istemine bağlı olarak karşılaştırmalı uygulanmıştır.

Dolayısıyla, 2015-2018 yılları arasındaki veriler toplanmıştır. PZR ve QPZR testleriyle bu süreler içinde müracaat eden toplam 72 hastanın 36'sının pozitif olduğu tespit edilmiştir. Yıllara göre incelendiğinde, 2015 yılında *E. granulosus* bakımından PZR ve QPZR testleri ile incelenen 7 hastadan 6'sı pozitif bulmuş ve 1 hastanın WB testi negatif olmasına rağmen PZR ve QPZR testlerinin pozitif olduğu görülmüştür. 2016 yılında ise PZR'si ve QPZR'si yapılan 3 olgunun 2'sinde PZR, WB ve İHA testleri negatiftir. On dört yaş altı diğer olgunun ise KAM materyalinden yapılan direkt bakı sonucu negatif iken PZR ve QPZR sonuçları

Tablo 1. Cinsiyete ve yıllara göre *E. granulosus* seropozitifliği

Yıllar	Cinsiyet					
	Kadın			Erkek		
	n	%*	%**	n	%*	%**
2013	25	1,09	5,6	15	0,65	3,39
2014	42	1,84	9,5	19	0,83	4,29
2015	30	1,31	6,78	18	0,78	4,07
2016	27	1,18	6,0	22	0,96	4,97
2017	59	2,58	13,34	35	1,53	7,91
2018	92	4,03	20,81	59	2,58	13,34
Toplam	275	12,03	62,03	168	7,35	37,97

*İki bin iki yüz seksen üç olgunun tamamına göre yüzdelik oranlar, **Dört yüz kırk üç pozitif hasta sayısına göre yüzdelik oranlar

Tablo 2. Yaş gruplarında toplam kadın ve erkek pozitif hasta sayısına göre *E. granulosus* seropozitifliği

Yıllar	Cinsiyet											
	Kadın						Erkek					
	0-14		15-65		≥65		0-14		15-65		≥65	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
2013	1	0,22	18	4,06	6	1,35	2	0,45	10	2,25	3	0,67
2014	0	0	31	6,99	11	2,48	0	0	16	3,61	3	0,67
2015	3	0,67	23	5,19	4	0,90	1	0,22	12	2,70	5	1,12
2016	3	0,67	21	4,74	3	0,67	1	0,22	12	2,70	9	2,03
2017	1	0,22	47	10,60	11	2,48	2	0,45	24	5,41	9	2,03
2018	2	0,45	71	16,02	19	4,28	4	0,90	46	10,38	9	2,03
Toplam	10	2,25	211	47,62	53	11,96	10	2,25	120	27,08	38	8,57
Genel toplam	275, %62						168, %38					

Tablo 3. IHA, IFAT ve WB ile değerlendirilen hastaların *E. granulosus* seropozitifliği

		-	IHA (+), IFAT (+)	IHA (-), IFAT (+)	IHA (+), IFAT (-)	IHA (-), IFAT (-)	IHA (+)	IHA (-)
			n	n	n	n	n	n
2013	-	-	30	3	-	-	-	-
	WB (+)	-	6	-	-	1	-	-
	WB (-)	-	-	-	-	-	-	-
2014	-	-	22	18	2	-	-	-
	WB (+)	2	4	1	-	3	-	-
	WB (-)	-	2	7	-	-	-	-
2015	-	-	17	8	-	-	-	-
	WB (+)	2	14	3	-	2	-	-
	WB (-)	-	2	-	-	-	-	-
2016	-	-	2	-	2	-	9	-
	WB (+)	1	2	-	-	-	19	12
	WB (-)	-	-	-	-	-	2	-
2017	-	-	-	-	-	-	6	-
	WB (+)	5	-	-	-	2	50	27
	WB (-)	-	-	-	-	-	4	-
2018	-	-	-	-	-	-	19	-
	WB (+)	5	-	-	-	-	82	42
	WB (-)	-	-	-	-	-	3	-

IFAT: İndirekt floresan antikor testi, IHA: İndirekt hemaglutinasyon testi, WB: Western blot

pozitif olarak tespit edilmiştir. 2017 yılında 17 hastanın PZR ve QPZR testleri yapılmıştır. Bu hastalardan 7'si pozitif olarak tespit edilmiş ve 5 hastanın KAM materyalinin mikroskopik incelemelerinin negatif ve 2 hastanın daha önce yapılan serolojik testlerinin pozitif sonuç verdiği gözlemlenmiştir. 2018 yılında direkt bakıları negatif olan ve PZR, QPZR testleri yapılan 45 hastanın 22'sine sadece moleküler testler ve 23'üne hem moleküler testler hem de serolojik testler olan WB ve IHA testlerinden biri yapılmıştır. Kırk beş hastanın 22'si PZR, QPZR testleri pozitif olup, bu hastalardan aynı anda 10'unun seroloji testleri yapılırken 12 hastanın seroloji testleri doktor istemine bağlı olarak yapılmamıştır. PZR, QPZR pozitif olan bu hastaların 6'sının seroloji testlerinin pozitif, 4'ünün seroloji testlerinin negatif olduğu tespit edilmiştir. Kırk beş hastadan moleküler test sonuçları negatif olan 23 hastanın 6'sının WB testi pozitif, 7'sinin WB testi negatif tespit edilmiş ve 10'unun

ise seroloji testleri doktor istemine bağlı olarak yapılmamıştır (Tablo 5) (Şekil 1, 2).

TARTIŞMA

KE hastalığı, dünya çapında ekonomik ve medikal etkisi olan bir zoonozdur. Tıbben önemli KE tanısı, çeşitli organları enfekte olan hastanın anamnezine, klinik semptomlara, görüntüleme teknikleri ile belirlenen morfolojik değişikliklere ve serolojik olarak doğrulanmasına dayanmaktadır. Serolojik tanı sadece erken dönemde enfeksiyonun tespitinde değil, ayrıca opere edilen ve ilaç tedavisi alan hastaların uzun dönemli takibinde de önemlidir. KE'ye karşı oluşan antikor yanıtının derecesi; kistin konumu ve kalsifikasyon derecesi ile ilişkilidir. Genellikle

Tablo 4. Seroloji laboratuvarına en çok örnek gönderen klinikler ve hasta sayıları

Bölüm adı	Toplam hasta sayısı	Pozitif hasta sayısı
Genel cerrahi polikliniği	727	215
Gastroenteroloji polikliniği	533	64
Göğüs hastalıkları polikliniği	412	37
Enfeksiyon hastalıkları polikliniği	96	19
Üroloji polikliniği	93	13
Pediyatri gastroenteroloji polikliniği	70	12
Diğer poliklinikler	352	83
Toplam	2,283	441

Tablo 5. PZR ile değerlendirilen örneklerin seropozitiflikleri

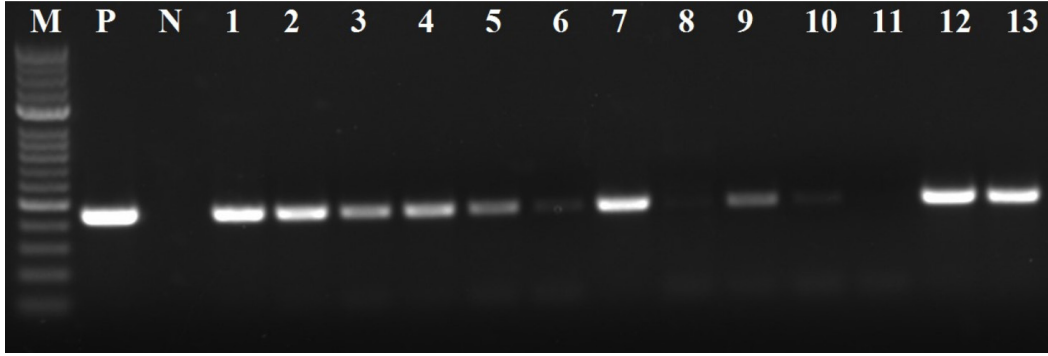
Yıllar	Direkt bakı	Moleküler testler	Serolojik testler (anti- <i>E. granulosus</i> IgM)		
		PZR/QPZR	WB	IHA	
2015	P	0	6	-	-
	N	7	1	1	-
2016	P	0	1	0	0
	N	3	2	2	2
2017	P	0	7	1	2
	N	17	10	5	8
2018	P	0	22	12	-
	N	45	23	11	2

P: Pozitif, N: Negatif, PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu, IHA: İndirekt hemaglutinasyon testi, WB: Western blot

karaciğer kistleri, akciğer kistlerine göre daha yüksek bir antikor yanıtı üretmektedir. Tıbbi görüntüleme teknikleri ile serolojik testler, kistin doğası hakkında ve cerrahi müdahale konusuna ilgili yararlı ve tamamlayıcı bilgiler vermektedir (7). Parazit antijenlerinin kan grubu antijenleri ile benzerliği yalancı pozitifliğe yol açabilmekte ve kanda serbest halde bulunan az miktardaki parazit antijenleri ise yalancı negatifliğe neden olabilmektedir. Dolayısıyla, kandaki antikor titresinin sınırda veya negatif görüldüğü hastalarda spesifik antijenlerin tayininde test kombinasyonları ile enfeksiyonun gösterilmesi önemlidir (8).

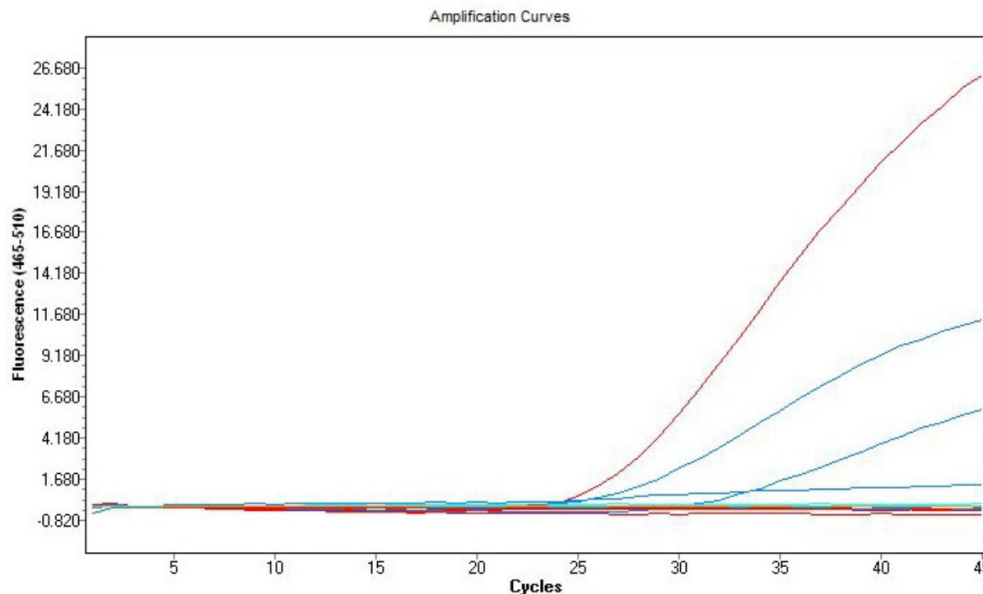
Echinococcus türlerinden dünyada en yaygını ve KE etkeni olan *E. granulosus*'a Grönland ve İzlanda dışında dünyanın hemen her bölgesinde rastlanmaktadır. KE Türkiye'de yaygın olarak görülmektedir (9). Aydın ilinde yapılan bir çalışmada, 2005-2017 yılları arasında incelenen 3,446 serum örneğinin 1,104'ü pozitif olarak ELISA yöntemiyle saptanmıştır. %58'i kadın, %42'si erkek olan olguların %81,8'inde karaciğer kistleri ve %6,1'inde akciğer kistlerinin olduğu tespit edilmiştir (10). ELISA ve immünografi yöntemleri ile KE şüpheli 120 hastanın

serumlarında antikor varlığının karşılaştırmalı araştırıldığı bir başka çalışmada 32 (%26,6) olgunun her iki yöntemden biriyle pozitif olduğu tespit edilmiştir (11). İki bin altı yüz kırk iki hastaya ait kan örneklerinin ELISA yöntemiyle KE bakımından değerlendirildiği başka bir çalışmada, 801 olgu (%30,3) seropozitif bulunmuştur. Erkeklerin %31,9'u kadınların %29'u pozitifdir. Pozitif saptanan hastalar patolojik olarak teyit edilmiştir (12). Kayseri'de 1999 ve 2004 yılları arasındaki hastane kayıtlarına göre KE'nin değerlendirildiği bir çalışmada, 330'u (%42,2) erkek ve 369'u (%52,8) kadın olmak üzere 699 olgu pozitif olarak saptanmıştır (13). Bu çalışmada ise mevcut çalışmalarla paralel olarak IHA, IFAT ve WB test sonuçlarına göre, müracaat eden 2,283 olgu arasında kadın olguların (274, %12,03) seropozitifliğinin erkek olgulardan (168, %37,95) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. 2006-2016 yılları arasında yapılan retrospektif bir çalışmada 50 çocuk hastanın KE tanısıyla takibi yapılmış ve bu çocuk hastalardan 33'ünün erkek olduğu görülmüştür. Hastaların 35'i kentsel, 15'i kırsalda yaşamaktadır. Bu hastaların arasında çoğunluğu akciğer tutulumu olmak üzere karaciğer ve diğer organ tutulumlarının olduğu da tespit edilen



Şekil 1. Echinococcus granulosus PZR jel görüntüsü; P: pozitif kontrol; N: Negatif kontrol; M: 100 bp DNA ladder, 1-13: Hastalara ait PZR ürünleri

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu



Şekil 2. QPZR ile pozitif saptanan hastaların amplifikasyon eğrileri; P: pozitif kontrol, N: Negatif kontrol, HÖ: Hasta örneği

bulgular arasındadır (14). Çalışmamızda, 0-14 yaş aralıklarında toplam 20 çocuk hasta olduğu bunların eşit sayıda kız ve erkek hasta oldukları belirlenmiştir. Ayrıca, göğüs cerrahisinden müracaat eden 412 hastanın serolojik yöntemlerle incelenmesi sonucunda 37'sinin akciğer KE'si bakımından pozitif olduğu tespit edilmiştir. Çorum'da KE ön tanısı ile başvuran hastaların radyolojik, biyokimyasal ve serolojik olarak değerlendirildiği bir çalışmada, seropozitif olduğu tespit edilen hastaların dışında 3 hastanın radyolojik verileri ile incelenerek pozitif olduğu tespit edilmiştir. Hastaların çoğunluğunun genel cerrahi kliniklerinden başvurduğu, sonra bunu enfeksiyon hastalıkları ve gastroenteroloji polikliniklerinin takip ettiği tespit edilmiştir (15). Bu çalışmada ise hastaların çoğunluğu genel cerrahi polikliniği başta olmak üzere sırasıyla gastroenteroloji, göğüs hastalıkları, enfeksiyon hastalıkları, üroloji, pediatri gastroenteroloji ve diğer polikliniklerden müracaat ettikleri gözlemlenmiştir. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvarı'nın yaptığı bir çalışmada, 2,921 hastaya ait serumlar ELISA, IHA ve WB testleri ile incelenmiştir. Örneklerden 439'u en az bir yöntemle pozitif bulunmuştur. On bir bin yüz yetmiş yedi erkeğin 153'ü (%13), 1,744 kadının 286'sı (%16,4) pozitifdir. ELISA ve IHA sonuçları arasında %91,4; WB ile diğer testler arasında %89,7 oranında uyum olduğu tespit edilmiştir. Pozitifliklerin WB yöntemi ile doğrulanmasının daha doğru sonuçların elde edilmesinde yardımcı olacağı savunulmuştur (16). Yukarıda bahsedilen farklı yörelerde ve laboratuvarlarda yürütülen bu çalışmaların sonuçlarına göre, Türkiye'de önemli bir sağlık sorunu olan kist hidatid tanısında hassasiyeti yüksek, güvenilir yöntemlerin önemi artmaktadır. Bu çalışmada, IHA, IFAT ve WB testleri ile incelenen olguların altı yıl boyunca tutulan kayıtları retrospektif olarak taranmıştır. Altı yıllık süre içinde incelenen olgulara bakıldığında 87 hastanın IHA ve/veya IFAT yöntemleri ile negatif olmalarına rağmen WB yöntemi ile pozitif olduğu saptanmıştır. Buna ilaveten, IHA veya IFAT yöntemlerinden biri ile pozitif olarak tespit edilmiş 13 hasta ise WB testi bakımından negatiftir. Bu durum, kullanılacak diğer serolojik yöntemlerin sonucuna bakılmaksızın WB testinin çalışılması gerektiğini ve WB testinin diğer serolojik testlere nispeten daha duyarlı olmasına rağmen karşılaştırmalı sonuçların daha güvenilir olduğunu göstermektedir. Ayrıca, seroloji testlerinde kullanılması uygun olmayan BOS, KAM gibi materyaller ile yapılacak direkt bakı yöntemlerinin de yetersiz kalması, araştırmacıyı daha güvenilir olan moleküler testlere yönlendirmektedir. Bu gibi durumlarda moleküler test sonuçları, aynı hastaların serumlarıyla yapılan serolojik testlerle birlikte değerlendirildiğinde PZR ve QPZR sonuçlarının daha duyarlı olduğu gözlemlenmiştir. Moleküler testler ile karşılaştırıldığında ise seroloji tabanlı test sonuçları yanıltıcı olabilmektedir. Hastalığın tanısında moleküler yöntemler uygulanarak hem cerrahi müdahale gerektiren riskli durumlarda hem de opere edilen hastaların takibindeki şüpheli durumlarda uygun tedavi protokolleri veya girişimsel yaklaşımlar belirlenebilecektir.

SONUÇ

Bu çalışma, altı yıllık bir retrospektif tarama sonucunda olguların %22'sinin pozitif tespit edilerek yöremizde KE yaygınlığının yüksek olduğunu göstermektedir ve hasta sırası nedeniyle uzun süreli beklemlere neden olan radyolojik yöntemlere kıyasla daha pratik olan ve kısa sürede sonuç veren serolojik veya moleküler

testlerin kullanımını önermektedir. Ayrıca, KE tanısında tek bir serolojik testin kullanımının yetersiz kalabileceği, moleküler testler olan PZR ve QPZR testler ile bu sonuçların desteklenebileceği, bu nedenle test kombinasyonlarının doğru tanıya ulaşmada duyarlılığı ve güvenilirliği artıracak kanaatine varılmıştır.

*Etik

Etik Kurul Onayı: Retrospektif incelemeye başlamadan önce klinik araştırmalar etik kurulundan izni alınmıştır.

Hasta Onayı: Çalışmada, KE şüphesiyle tıbbi parazitoloji laboratuvarlarına 2013-2018 tarihleri arasında gönderilmiş ve serolojik ve/veya moleküler testler uygulanmış olan 2,283 hastaya ait kan, 45 hastaya ait kist aspirasyon mayii (KAM) örnekleri retrospektif olarak değerlendirmiştir.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu ve editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

Yazarlık Katkısı

Konsept: M.Y., O.Y., E.S., E.E., Dizayn: M.Y., Veri Toplama veya İşleme: M.Y., E.E., Analiz veya Yorumlama: M.Y., Literatür Arama: M.Y., Eleştirel İnceleme: M.Y., O.Y., E.E., E.S., Yazan: M.Y.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Boubaker G, Gottstein B, Hemphill A, Babba H, Spiliotis M. *Echinococcus* p29 antigen: molecular characterization and implication on post-surgery follow-up of ce patients infected with different species of the *Echinococcus granulosus* complex. PLoS One 2014; 9: e98357.
2. Gottstein B, Wang J, Blagosklonov O, Grenouillet F, Millon L, Vuitton DA, et al. *Echinococcus* metacestode: in search of viability markers. Parasite 2014; 21: 63.
3. Düzü O, Yıldırım A, Sarıözkan S, İnci A. Kayseri yöresinde üç farklı mezbahada kesilen koyun ve sığırlarda kistik *Echinococcus*'in ekonomik önemi. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2010; 7: 7-11.
4. Craig P, Mastin A, van Kesteren F, Boufana B. *Echinococcus granulosus*: Epidemiology and state-of-the-art ofdiagnostics in animals. Vet Parasitol 2015; 213: 132-48.
5. Díaz A. Immunology of cystic echinococcosis (hydatid disease). Br Med Bull 2017; 124: 121-33.
6. Díaz A, Fernández C, Pittini A, Seoane PI, Allen JE, Casaravilla C. The laminated layer: Recent advances and insights into *Echinococcus* biology and evolution. Exp Parasitol 2015; 158: 23-30.
7. Reiterová K, Auer H, Altintas N, Yolasigmaz A. Evaluation of purified antigen fraction in the immunodiagnosis of cystic echinococcosis. Parasitol Res 2014; 113: 2861-7.
8. Eşgin M, Aktaş M, Coşkun Ş. İndirekt Hemagglütinasyon Testi (IHA) Yöntemi ile Kistik Ekinokokoz Şüpheli Hastaların Serumlarında Antikor Varlığının Araştırılması. Türkiye Parazitoloj Derg 2007; 31: 283-7.
9. Yazar S, Taylan Özkan A, Hökelek M, Polat E, Yılmaz H, Özbilge H, et al. Türkiye'de 2001-2005 Yılları Arasında Kistik Ekinokokkozis. Türkiye Parazitoloj Derg 2008; 32: 208-20.
10. Ertabaklar H, Yıldız İ, Malatyalı E, Tileklioğlu E, Çalışkan SÖ, Ertuğ S. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarı'na 2005-2017 Yılları Arasında Kistik Ekinokokkozis Şüphesiyle Başvuran Olguların Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. Türkiye Parazitoloj Derg 2019; 43: 118-22.
11. Yılmaz A, Karamiş M, Akkaş Ö, Uslu H. Kist Hidatik Şüpheli Hastaların Tanısında ELISA ve İmmunokromatografik Yöntemin Karşılaştırılması. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Dergisi 2016; 3: 13-6.

12. Taş Cengiz Z, Yılmaz H, Beyhan YE, Kotan MC, Cobanoğlu U, Ekici A, et al. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına 2005-2013 Yılları Arasında Gönderilen Kan Örneklerinde Kistik Ekinokokkozis Seropozitifliği: Retrospektif Değerlendirme. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2015; 39: 209-11.
13. Yazar S. Kayseri'de Kistik Ekinokokkozisin Son Altı Yılda Durumu. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2005; 29: 241-3.
14. Şişmanlar Eyüboğlu T, Ramazlı Gürsoy T, Tana Aslan A, Pekcan S, Budakoğlu İ. Ten-year follow-up of children with hydatid cysts. Turk Pediatry 2019; 54: 173-8.
15. Güreşer AS, Özcan O, Özünel L, Boyacıoğlu Zİ, Özkan AT. Çorum'da Kistik Ekinokokkozis Ön Tanısı ile Başvuran Hastaların Radyolojik, Biyokimyasal ve Serolojik Analizlerinin Değerlendirilmesi*. Mikrobiyoloji Bul 2015; 49: 231-9.
16. Beyhan YE, Babür C, Mungan M, Özkan AT. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvarı'na 2009-2013 Yılları Arasında Başvuran Kistik Ekinokokkozis Şüpheli Hastaların Değerlendirilmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2015; 39: 17-21.