

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Bülent Baysal

HİDATİDOZUN TANISINDA TİCARİ İFA VE İHA TESTLERİ İLE
LABORATUVARIMIZDA KENDİ HAZIRLADIĞIMIZ İNDİREKT FLÖRESAN
ANTİKOR TESTİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Arş. Gör. Dr. Elif Bilge Uysal

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Mahmut Baykan

KONYA

2008

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tarihçe.....	2
2.2. Sınıflandırma	3
2.3. Morfoloji.....	4
2.3.1. Erişkin form.....	4
2.3.2. Yumurta	5
2.3.3. Metacestod.....	5
2.3.4. <i>E. multilocularis</i> 'in metacestodu	7
2.4. Echinococcus'un Evrimi.....	10
2.4.1. <i>E.granulosus</i> 'un ara konaktaki evrimi	10
2.4.2. <i>E.granulosus</i> 'un son konaktaki evrimi	11
2.5. Epidemiyoloji	12
2.6. Patogeneze.....	13
2.7. Klinik.....	14
2.8. İmmünoloji	15
2.9. Kist Hidatikten Korunma.....	17
2.10. Kist Hidatikte Aşılama	17
2.11. Kist Hidatikte Tanı	18
2.11.1. Casoni Deri Testi	19
2.11.2. Kompleman Birleşmesi Testi (Weinberg).....	19
2.11.3. Lateks Aglütinasyon Testi	19
2.11.4. İndirekt Hemaglütinasyon Testi (IHAT)	19
2.11.5. İmmünflöresan Test (IFAT)	20
2.11.5.1. Direkt flöresan antikor tekniği.....	20
2.11.5.2.İndirekt flöresan antikor tekniği	21
2.11.6. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Testi	21
2.11.7. İmmüdifüzyon (ID) ve Immunelektroforez (IE) testleri.....	21
2.11.8. Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) yöntemi.....	22
2.11.9. Western Blot (İmmünoblottig) analizi.....	22

2.11.10. Moleküler yöntemler	22
2.12. Tedavi Takibinde Serolojik Testler	23
2.13. Kist Hidatiğin Tedavisi.....	23
2.13.1. Cerrahi tedavi	23
2.13.2. PAIR (Puncture-Aspiration-Injection-Re-Aspiration)	24
2.13.3. Medikal tedavi	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Serumların Toplanması.....	25
3.2. Laboratuvarda Kendi Hazırladığımız (in-house) IFAT Çalışması İçin Lamların Hazırlanması.....	25
3.3. Tampon Hazırlanması.....	26
3.4. Testin Uygulanması.....	26
3.5. İndirekt Hemaglutinasyon Testi	27
3.6. İndirekt Flöresan Testi.....	27
4. BULGULAR	29
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	34
6. ÖZET	41
7. SUMMARY	42
8. KAYNAKLAR.....	43
9. TEŞEKKÜR.....	48

1. GİRİŞ

Hayvancılığın yaygın olduğu bölgelerde daha çok olmak üzere tüm dünyada görülen, sıklıkla karaciğer ve akciğerde yerleşim gösteren önemli ölçüde sağlık sorununa ve ekonomik kayıplara neden olan *Echinococcus granulosus*, *E. multilocularis*, *E. vogeli*, *E. oligarthus*'un oluşturduğu hastalığa "hidatik kist hastalığı", "hidatidozis", "Ekinokokkozis" denir.

Kistik ekinokokkozis özellikle besi hayvancılığının yaygın olduğu ülkelerde, insidansı 1-150/100 000 arasında değişen bir hastalıktır. Dünyada gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere Arjantin, Yunanistan, Uruguay, Kıbrıs, Akdeniz ülkeleri ve Orta Doğu Ülkelerinde sıklıkla görülmektedir. Ülkemizde ise her yıl yaklaşık 2000 yeni hasta görülmektedir.

Latin Amerika ve Avrupa'da operasyon gerektiren insan vakaları yılda 100 000'de 10'u geçmektedir. Bazı ülkelerde ise hayvanların %60-70'i infektidir.

Echinococcus granulosus'un son konağı köpek, kurt, tilki gibi etçil hayvanlardır. Koyun, sığır ve insanlar ise parazitin yaşam döngüsünde arakonakçılardır. Esas konakçının dışkılarıyla saçılan yumurtalar ile kontamine olmuş gıdalarla arakonakçıya bulaşır. Ara konakçıdaki hidatik kistli organların kesin konakçılar tarafından yenilmesi sonucu skoleksler bu etçil hayvanların barsağında erişkin forma dönerek yaşam döngüsünü tamamlar.

Olguların büyük kısmında fizik muayene tanıya yardımcı olmaz. %40-60 oranında hastalar asemptomatiktir. Ekinokokkozis tanısı radyolojik görüntüleme yöntemleri olan ultrasonografi (USG), bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans (MR) ile konulmasına rağmen diğer kistik yapılarla ayırıcı tanısının yapılabilmesi hem semptomatik hem de asemptomatik kist taşıyıcılarının tanınabilmesi için serolojik testler büyük önem taşımaktadır. Hidatik kistte kullanılan serolojik testler indirekt flöresan antikor testi (IFAT), indirekt hemagglütinasyon testi (IHAT), enzyme linked immunosorbant assay (ELISA), western blot (WB), sodyum dodesil sülfat jel elektroforezi (SDS-PAGE) gibi testlerdir. Çalışmamızın amacı bu serolojik testlerden biri olan IFAT'ı laboratuvarımızda geliştirmek (in-house IFAT) ve ticari olarak alınmış IFA ve IHA testleri ile çalışıp sonuçları karşılaştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Hidatik kist hastalığı eski dönemlerden beri bilinen bir paraziter hastalıktır. Hipokrat (M.Ö.460-347) sığır ve domuzlarda hidatik kistin varlığını bildirmiş ve insan karaciğerinde saptadığı hidatik kisti “su kesesi” (Jecur aqua repletum) olarak tanımlamıştır(1). İbn-i Sina (979-1037) Kanun adlı eserinin beşinci makalesinde hidatik kistten “müstedire” olarak söz etmiştir (2).

1694’de Hartmann (1648-1707) tarafından ilk kez köpekte parazitin erişkin şeklinin görüldüğü kabul edilmektedir. 1760’da Palas (1741-1811), ekinokok kesesinin parazit özelliğini bildirmiş ve 1766 yılında da insan ve hayvanlarda saptanan hidatik kistlerin arasındaki yapısal benzerlik üzerinde durmuştur (1). Goeze 1782’de hidatik kistteki skoleksleri ve bunların çengellerini tanımlamıştır (3). 1786’da Batsch, köpeğin ince barsağında parazit olan “ ufak şerit” türü ile evcil otçul hayvanların ve insanların değişik organlarında oluşan hidatik keselerin aynı parazit türünün ayrı birer gelişim evresi olduğunu bildirmiş ve *Hidatigena granulosa* olarak adlandırmıştır. 1790’da Gmelin bu adı *Taenia granulosa* olarak değiştirmiştir (1). 1801’de Rudolphi, köpeklerin ince barsaklarında parazitlenen küçük şeritin larva evresi olan hidatik kiste *Echinococcus* adını vermiştir (1,3).

Siebold, 1853’de şeritin yumurtalarındaki altı çengelli embriyonu gördüğünü bildirmiştir. Koyun ve sığır karaciğerinden aldığı kistleri köpek ve tilkiye yedirmiş ve ilk kez deneysel olarak parazitin erişkin biçimlerini elde etmiş ve onlara *Taenia echinococcus* adını vermiştir (1).

1863 yılında Naunyn Almanya’da, K.H. Krabe İzlanda’da, K.M.Diesing Güney Amerika’da, 1885’de A.P.W.Thomas Avustralya’da insan kist hidatiklerinden aldıkları protoskoleksleri köpeklere yedirerek bunların ince barsaklarında erişkin ekinokokların geliştiğini gösterdiler. Böylece bu parazitin şerit ve kese şekillerinin bir türün iki ayrı gelişim evresine ait şekiller olduğu saptanmış oldu (4).

1901’de Felix Deve, çeperi yırtılan hidatik kistten çıkan protoskolekslerin dokulara yerleşmesiyle sekonder kistlerin oluştuğunu deneysel olarak göstermiştir. 1906’da Guedini,

1908’de Apphatie ve Lorentz hidatidozun serolojik yöntemle tanısı üzerine ilk araştırmaları yapmışlardır (1,3).

1962’de J.D.Smyth erişkin şeklin skoleksinden yapı ve büyüklükçe farklı olan hidatik kistteki skolekslere "protoskoleks" adını vermiştir (1,3)

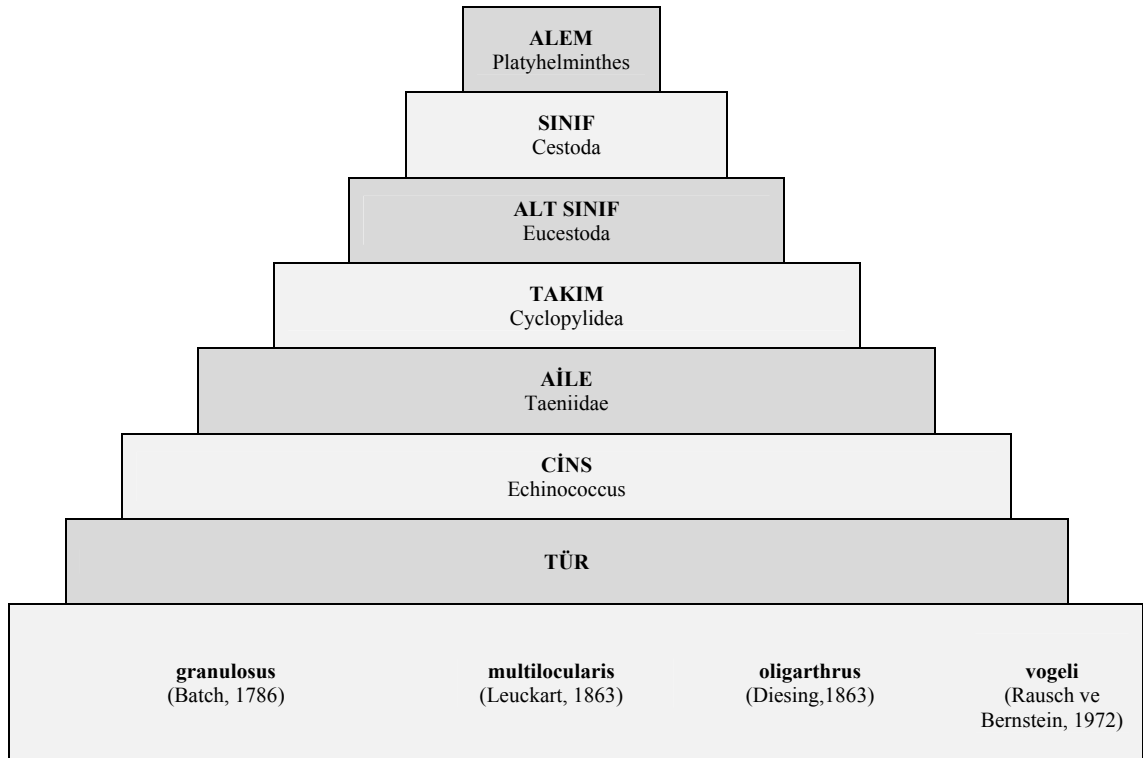
Tilkilerde *E.multilocularis*’in bulunduğunu Ahmet Merdivenci ilk kez 1963’de bildirmiştir (1).

2.2. Sınıflandırma

Echinococcus içinde toplam 16 tür ve 13 alt tür bulunduğu ileri sürülmesine rağmen bunların ayrı birer tür ve alt tür oldukları biyolojik olarak doğrulanamamıştır. Bugün taksonomik olarak doğrulanan dört Echinococcus türü mevcuttur. Bunlar *E.granulosus*, *E.multilocularis*, *E. oligarthus* ve *E. vogeli*’dir (5).

Aşağıda verilen sınıflandırma bugün dünyada en çok kabul edilendir (tablo-1).

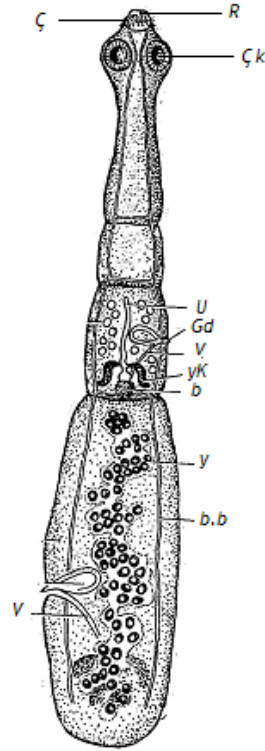
Tablo-1:Echinococcus cinsinin sınıflaması (6)



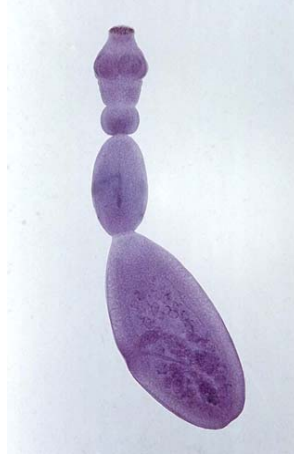
2.3. Morfoloji

2.3.1. Erişkin form

E.granulosus boyu 2-6 mm uzunluğunda olup, eni 0,6 mm'dir. Vücudu; çengelleri bulunan bir skoleks, boyun ve 3-4 halkadan oluşmuştur (7). Skolekslerinde 4 çekmen ve rostellumları üzerinde sayıları ve uzunlukları türlere göre değişen biri büyük diğeri küçük iki sıra çengel yer almaktadır. Gövdedeki halkaların (proglottid) sayısı 2-6 arasında değişir (5). Gövdedeki son halka parazitin boyunun yarısından fazladır. Yumurtlama deliği atrofiye olduğu için son segment 200-800 adet yumurtayı bulunduran bir uterus torbası halindedir (8).



Şekil-1: *Echinococcus granulosus*. R; Rostellum. Ç;Çengel. Çk; Çekmen.u; uterus. Gd; genital delik. v;vagina. yk;yumurtalık.b;boşltma kanalı.y;yumurta.bb;boşaltım borusu (7)



Resim-1:Erişkin *Echinococcus granulosus* (9).

2.3.2. Yumurta

Ekinokok yumurtaları yuvarlak veya ovaldır. Taenia yumurtalarına benzedikleri için ışık mikroskobunda birbirinden kesin olarak ayırt edilemezler (10). Yuvarlak ovalimsi olan Ekinokok yumurtaları kapaksız ve 22-36x25-50µm çapında olup tam gelişmiş altı çengelli bir embriyo (onkosfer) taşımaktadır. Onkosferi çevreleyen çok sayıdaki zardan biri olan embriyofor embriyoyu dış koşullardan koruyan en önemli tabakadır ve yumurtaya ışınsal bir görünüm vermektedir. Embriyofor keratin benzeri bir proteinden oluşmuş olup geçirgen değildir (8,10). Yumurta suda 1 hafta, buzda 4 ay, gölge yerlerde 3 hafta canlı kalabilir. Kuruma ve ısınmakla ölebilirler fakat kimyasal maddelere dirençlidir. Ekinokok yumurtalarını %1,11 benamidine hydrochloride 36°C’de 2 saatte, %5-10 gluteraldehid de oda sıcaklığında 1 saatte öldürür (7).

2.3.3. Metacestod

Ekinokokların larval formları olan metacestodları türlere göre farklılık göstermektedir (10). *E.granulosus*’un metacestodu içi sıvı dolu küre biçiminde ve unilokilerdir. Diğer ekinokok türleri içinde en basit yapıya sahip olanıdır. Kist içte bir germinal tabaka, onun dışında bir laminar tabaka, bunun da dışında konağa ait fibröz adventisiyal tabakadan oluşur (7).

Germinal tabaka; Yapısal olarak erişkin parazitin tegümenti ile aynı özellikleri gösterir. Perinükleer tabakadaki farklılaşmamış hücreler proliferasyon olarak kist içine doğru

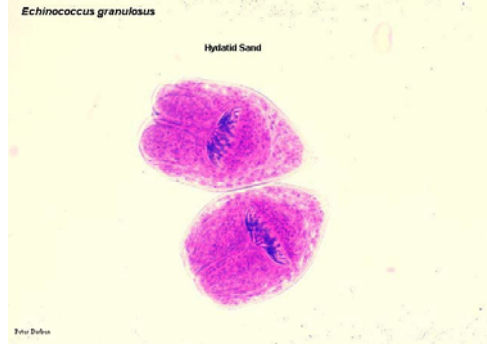
uzayan kapsülleri oluşturur. Bu kapsüller zamanla büyüyerek ortalarında bir boşluk gelişir ve bir sapla kiste bağlı olarak büyürler. Bu boşluğun içinde de yeniden kapsüller oluşur ve sayısız protoskoleks gelişir (7,10).

Laminar tabaka; Tüm ekinokok türlerinde bulunan laminar tabakanın PAS boyası ile pozitif boyanması tanıda önemlidir. Laminar tabaka kistin etrafını sıkıca sararak bir iç basınç oluşmasına da yardımcı olur. Ayrıca immünolojik bir engel oluşturarak kisti konağın immünolojik reaksiyonlarından korur (10).

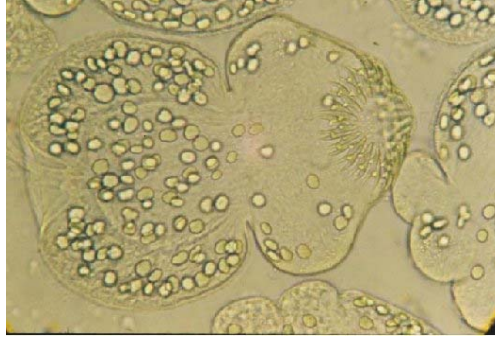
Adventisial tabaka (Konağın fibröz kapsülü); *E.granulosus*'un gelişmiş canlı kistlerini sarar (8). Beyaz renktedir, bazı kistlerde 1 mm kalınlığına kadar varabilir, yaprakçıklar halinde ve yapısı karışık mukopolisakkaritten yapılmıştır. Bu örtü koruyucudur, fakat besinlerin geçmesini, artıkların dışarı atılmasını önlemez (7).

Protoskoleksler; Çimlenme kapsüllerinin içinden genellikle 10-30 kadar skoleks doğar. Erişkin şekillerin skolekslerinden ayırmak için bunlara protoskoleks denir (7). Çimlenme kapsüllerinin çatlaması ile protoskoleksler kist sıvısı içinde serbest kalır (8). Bunlar 0,12-0,16µm eninde 0,14-0,2µm boyunda yapılardır. Tam gelişmiş protoskoleksler, invagine rostellum üzerinde çengellerin oluşumuyla karakterizedir. Kist içinde protoskolekslerin çekmen, rostellum, ve çengellerin bulunduğu ön kısım, invagine olup uygun ortamda evaginasyona kadar dış etkilerden korunmaktadır (10). Protoskoleksin rostellumda 32- 40 tane ve herbiri 24-29µm boyunda çengeller ve 4 vantuz bulunur. Genellikle bu kısım kendi içinde kılıflanmış olduğundan çengeller protoskolekslerin ortasında görülür (7).

Bir kist içinde 2 milyondan fazla protoskoleks bulunabilir. Kist içinden alınan hidatik kist sıvısı kendi haline bırakılırsa içindeki serbest protoskoleksler dibe çöker. Buna hidatik kum denir. İçinde protoskoleks taşıyan kistlere fertil kist, hiç protoskoleks bulunmayanlara steril kist denir (7,10).



Resim-2: İnvagine protoskoleksler (11)



Resim-3: Evagine protoskoleks (12)

Yavru keseler; Bunlar kütikülle örtülü keselerdir ve ana kesenin yapısındadırlar. İç ve dış olarak ikiye ayrılırlar.

İç yavru keseler; Bunlar çimlenme kapsüllerinden yahut protoskolekslerden veya kütikülün tabakaları arasında kalmış olan çimlenme zarı adacıklarından gelişirler. Ana kesenin içinde bulunur ve insanların eski kistlerinde sık olarak rastlanır (7).

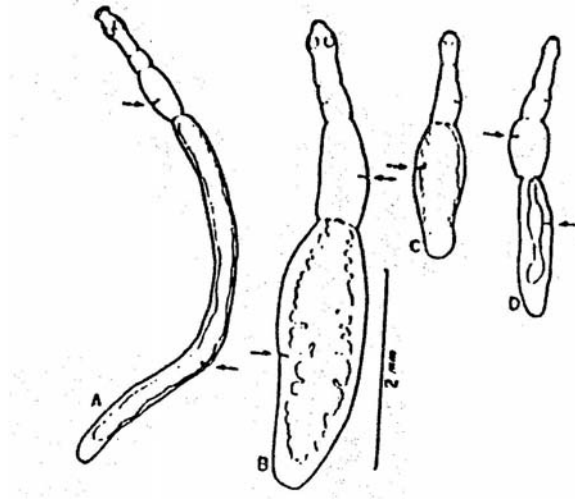
Dış yavru keseler; Kütikül tabakaları arasındaki çimlenme zarı adacıklarından doğarak yavaş yavaş büyür, kistin dış çeperine ulaşır hatta dışarı çıkar. Dış yavru keseler insanda nadir, hayvanlarda sık görünürler. İnsanda karın boşluğunun sekonder kistlerinde ve kemik kistlerinde görülebilir (7).

Hidatik sıvı; Renksizdir, kaya suyu gibi saydamdır. pH sı 7,2-7,4' dür. Yoğunluğu 1007-1015' dir. Hidatik sıvı sterilidir, ısıyla pıhtılaşmaz. Antijenik özelliği vardır (7).

2.3.4. *E. multilocularis*'in metacestodu

E.granulosus'dan oldukça farklıdır. Multiveziküler ve infiltratif bir yapıdadır. Sayısız küçük veziküllerden ve yoğun bağ dokusundan oluşur. Etrafını sınırlayan bir adventisyal

tabakası yoktur. Büyüme germinal tabakanın farklılaşmamış hücrelerinden hem içe hem dışa doğru gelişir. Germinal tabakadaki hücre filamanları ağı infiltrasyondan sorumludur. İnfiltratif büyümeyi sağlayan germinal tabaka hücreleri zamanla ince uzun kistik yapılara dönüşür. Kistten kopan bazı germinal hücreler kan veya lenf yoluyla taşınarak diğer bazı organlarda metastatik *E.multilocularis* kistleri oluşturabilirler (5).



Şekil-2:Ekinokok türleri erişkinlerinin karşılaştırmalı morfolojileri (5)

A;*Echinococcus vogeli*

C;*Echinococcus oligarthus*

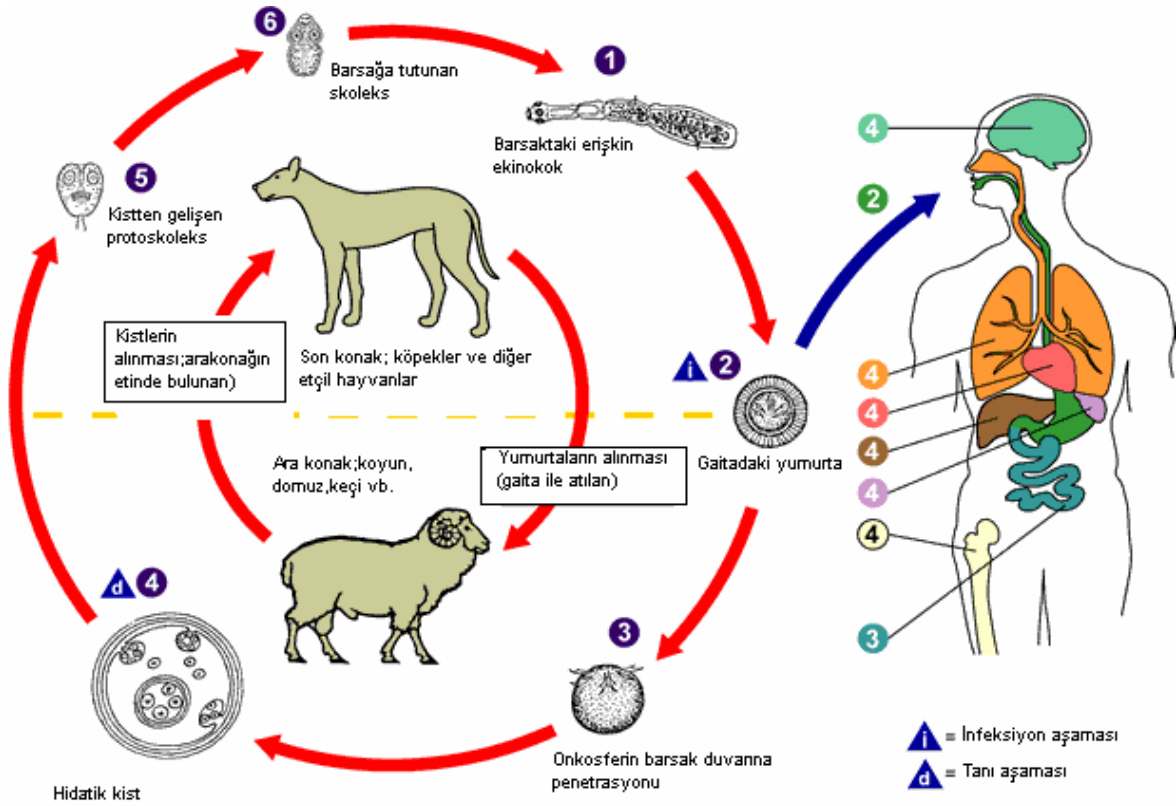
B;*Echinococcus granulosus*

D;*Echinococcus multilocularis*

Tablo-2: Ekinokok türlerinin erişkinlerinin morfolojik özellikleri (5)

TÜR ADI	<i>E.granulosus</i>	<i>E.vogeli</i>	<i>E.multilocularis</i>	<i>E.oligarthrus</i>
Strobila uzunluğu	2-7	3.9-5.6	1.2-3.7	1.9-2.9
Çengellerin uzunluğu Büyük çengeller Küçük çengeller	31-49(37-42) 22-39(29-34)	49-57(53) 30-47(43)	28-34(31) 23-31(27)	43-60(52) 28-45(49)
Halka Sayısı (Ortalama Sayı)	4-6(3)	?(3)	2-6(4-5)	?(3)
Testis Sayısı (Ortalama Sayı)	25-80(32-68)	50-67(56)	16-35(18-26)	15-44(29)
Testislerin Dağılımı Genital Porun Önünde-Arkasında	Önde-Arkada eşit	Çoğunluk önde	Çoğunluk arkada	Çoğunluk arkada
Halkanın ortasına göre Genital Porun yeri	Yakın-arka	arka	ön	ön
Olgun Halkanın yeri	Sondan bir önceki	Sondan bir önceki	Sondan iki önceki	Sondan iki önceki
Uterusun şekli	Yan Dallanmalar	Uzun tübüler	Kese şeklinde	Kese şeklinde
Strobila'nın ön kısmının ön gebe halkaya oranı	1:0,86-1,3	1:1,9-3,0	1:0,31-0,8	1:0,96-1,1

2.4. Echinococcus'un Evrimi



Şekil-3: *E. granulosus* 'un yaşam döngüsü (13)

E. granulosus'un son konağı köpek, tilki, kurt gibi et yiyen hayvanlar, ara konağı ise sığır başta olmak üzere koyun, keçi, domuz, deve, nadiren yabanıl otçullar ve insandır (7).

2.4.1. *E. granulosus*'un ara konaktaki evrimi

Parazitin erişkin şekli son konakçının incebarsağının ilk kısımlarında yaşar. Son konakçı oldukça sağlıklı görünür, fakat her dışkılama ile parazitin yumurtalarından milyonlarcasını etrafa saçar. En sık bulaşma yolu infeksiyonlu köpekle temasıdır. Eller köpeğin tüylerine değerek kirlenir; ayrıca köpeğin burnuna dokunarak da yumurtaları almak mümkündür. Dışkı ile dışarı atılan infektif yumurtalar kuşlar, artropodlar, solucanlar, sümüklüler, hayvanların ayakları, arazi eğimi, rüzgar ve yağmurla yayılırlar. Bu yumurtalar her iklim şartlarında aylarca yaşamlarını sürdürürler. Arakonaklar dış ortama yayılan bu yumurtaları çiğ tüketilen veya iyi yıkanmamış meyve ve sebzeler ayrıca

kontamine içme suları ile alırlar (7,14,15). Alınan yumurta mide ve ince barsaklardaki enzimlerin etkisi ile açılarak embriyon serbest hale geçer. Safra, incebarsak duvarına tutunan onkosferin etkinlik kazanmasına yardım eder. Daha sonra çengellerin hareketi ile penetrasyon olur. Bir venül veya lenf yoluna giriş sonrasında onkosferler karaciğere pasif olarak taşınır. Bir kısmı burada kalırken diğerleri de akciğerlere burada da tutunamayanlar diğer organlara giderler (5). Onkosfer son yerine ulaştığında metacestod evresine geçer. Olgunlaşma süresi değişkendir. 1.ayın sonunda parazit 1/2mm, 2.ayda 1mm, 3.ayda 1,5-2mm, 5.ayda 5mm olur. Bu sırada vezikülde protoskoleksler gelişmiştir. Metacestod büyümeye devam ederek bir insan kafası büyüklüğüne erişebilir (5,7).

2.4.2. *E.granulosus*'un son konaktaki evrimi

Hidatik kistli olan karaciğerin imha edilmemesi ve atılması ile de protoskoleksler son konak tarafından alınır. Ağız yolu ile kistli organı alan kesin konaklar, çiğneme sırasında kisti parçalarlar. Kist içindeki protoskoleksler açığa çıkarlar ve midedeki pepsinin etkisi ile kapsül ve diğer kistik dokuların sindirilmesi ile protoskoleksler ankiste olur. Ağız yolu ile alınmadan önce protoskoleksin apikal bölgesi (çekmenler, rostellum ve çengeller) mukopolisakkarit kaplı bir tabaka içine invagine durumdadır. Böylece protoskoleks evagine oluncaya dek her türlü dış koşuldan korunmuş olur. Protoskoleksler çevredeki koşullara çok duyarlıdır. Isı ve ozmotik basınçtaki değişiklikler evaginasyona neden olmaktadır. Protoskoleksler 10-20 °C' de birkaç günde evagine olurken, 10°C' nin altında evagine olmazlar. Evaginasyondan sonra protoskoleksler çok aktiftir ve enerji rezervi olarak kullandıkları glikojenden zengindir. Gelişmekte olan genç parazitler çekmenleriyle dokulara tutunurlar. Tutunamayanlar barsaklardan atılırlar. Parazit olgun hale geçtiğinde ise ince barsağın belli bir bölgesine yerleşme eğilimi gösterir. *E.granulosus* ince barsağın ¼ ön kısmına yerleşirken, *E. multilocularis* 1/4 arka kısmına yerleşir. Erişkin parazitin gelişmesi germinal ve somatik değişimi içerir ve şu şekilde ilerler; Proglottitlerin oluşması, olgunlaşması, büyüme ve segmentasyon. Erişkin ekinokok hermafrodittir ve kendi kendini dölleme yeteneğine sahiptir (5,7,15). Son konakta erişkin hale geçen parazitin dışkılama ve yumurtalarını atması ile döngü tamamlanmış olur.

2.5. Epidemiyoloji

Hidatidoz insana son konağın, dışkısı ile etrafa saçtığı embriyonlu yumurtalarla bulaşır. Yumurtalar kuruluğa ve yüksek ısıya duyarlı, kimyasal dezenfektanlara ve soğuğa karşı dirençlidir. Suda bir hafta, oda sıcaklığında bir yıl kadar canlılığını koruduğundan pişirilmeden yenen sebzeler, meyveler ve diğer besinlerle ayrıca içme suları ile bulaş olabilmektedir. Yumurtaların teneffüs edilmesi ile akciğer hidatidozu meydana gelebilmektedir. Ayrıca plasenta yolu ile de bulaş olabilmektedir. Nadir bir bulaş şekli de köpek ısırığı olan yerde hidatik kistin gelişmesidir (7).

Hastalık 20-40 yaşlarında daha sık olmak üzere her yaş ve cinste görülebilmektedir. Etken genellikle çocukluk çağında alınır. Sosyo-ekonomik durumu bozuk, sağlık standartları düşük toplumlarda hastalığın görülme oranı daha yüksektir. Hidatidoz avcılar, çiftçiler, çobanlar, köpek sahibi olanlar, mezbaha çalışanları ile veteriner hekimlerinde daha sık görülmektedir (7).

Kist hidatik ülkemizde endemik olan bir zoonozdur. Kişilerin istedikleri zaman istedikleri yerde kesim yapabilmeleri, mezbaha sayısının az ve yetersiz olması, çok sayıda sahipsiz köpek olması, bazı yerlerde temizlik için ayrılan suyun yeterli olmaması, bilgisiz koyun ve sığır yetiştirilmesi, kistli organların köpeklere yem olarak verilmesi, köpeklerin sağlık ve hastalık durumlarına ilgisiz kalınması hastalıkta endemisite nedenleridir (7,16).

Ülkemizde kist hidatiğin endemik olduğu bölgeler Güneydoğu Anadolu, İç Anadolu ve özellikle Doğu Anadolu'dur (17). Ayrıca *E.granulosus* ile oluşan unilokiller kist hidatik hastalığı alveolar kist hidatiğe göre ülkemizde daha sık görülmektedir (18).

Merdivenci ve Aydınlioğlu ülkemizdeki kist hidatik görülme oranının 100.000 de 0.87-6.6 gibi değişen değerlerde olduğunu saptamışlardır (19). Dünya Sağlık Örgütü 1990-1992 yıllarında Türkiye'de uniloküler kistik ekinokokkozis olgularının %0.38-1.02 oranında bulunduğunu bildirmiştir (20).

Diğer ülkeler arasında hidatidozun prevalansı Tunus'ta %0.4-3.6, Kenya'da %5.6, Çin'de %0.3-2.9, Uruguay'da %5.6, Arjantin'de %8.6 olmak üzere, hidatik kist diğer Akdeniz ülkeleri (İspanya, Yunanistan, Yugoslavya, Suriye, Lübnan, İsrail, Mısır) ile Yeni Zelanda, Avustralya ve Rusya gibi hayvancılıkla uğraşan ülkelerde yaygın olarak görülmektedir. *E.multilocularis* ile olan infeksiyonlara Alaska, Kanada, Sibirya'da daha sık rastlanırken, *E.vogeli* ile oluşan polikistik hidatik hastalığı Panama, Ekvador,

Kolombiya ve Venezuela’da rastlanmaktadır. *E.olgarthrus* ile oluşan ilk enfeksiyon Venezuela’da bildirilmiştir (21,22,23,24).

2.6. Patogenez

E.granulosus’un embriyonlu yumurtaları oral olarak alındığında duodenum’un ısısının uygunluğu, ph’nın alkali olması ve pankreatik sıvıların etkisi ile parçalanırlar. Serbest kalan onkosferler intestinal mukozayı geçerler, mezenterik dolaşıma katılıp portal ven yoluyla karaciğere giderler. Karaciğerin küçük sinüzoidleri veya kapillerinde tutunurlar. Onkosfer karaciğerde tutunamazsa suprahapatik venler ve vena cava inferior yoluyla kalbe doğru karaciğer dolaşımını geçerler pulmoner arter yoluyla pulmoner dolaşıma katılırlar. Akciğerlerde embriyonlar pulmoner kapillerde tutunurlar veya kalp yolundan sistemik arteriyal dolaşıma katılarak diğer organlara katılabilirler (25). Akciğerin infekte olmasının diğer bir yolu da periduedonal ve perigastrik lenfatik kanalların torakomediastinal lenfatiklerle ve torasik ductus ile bağlantılı olmasıdır. Bu da karaciğer kisti olmadan akciğer kisti olmasını açıklar (26).

Kistlerin başlıca yerleşme yeri karaciğer olup, akciğerler, abdominal kavite, kas, subkütan dokular, böbrek, dalak ve kemiklerde de sıklıkla tutulum gösterirler. Kistlerin daha az gözleendiği yerler ise plevra, kalp, beyin, medulla spinalis, orbita ve göz, tükürük bezleri, tiroid, pankreas ve diğer bölgelerdir (25).

Hidatik kist et tüketiminin fazla olduğu ülkelerde %70 karaciğerde, %20 akciğerde ve %10 diğer organlarda yerleştiği halde, bitki ağırlıklı beslenen toplumlarda %55 karaciğerde, %35 akciğerde ve %10 diğer organlara yerleşir (8).

Parazitin ilk tutunduğu yerde inflamatuvar cevap (mononükleler hücre infiltrasyonu, eozinofilik infiltrasyon) kısa sürede olur (7,23). Bazen de parazit parçalanabilir ve fagosite olabilir (25). Embriyonun etrafında endotel hücresi, eozinofil ve dev hücreleri içeren fibröz doku meydana gelir. *E.granulosus* genellikle etrafı düzgün, yuvarlak, tek kiste neden olurken, *E.multilocularis* ve *E.vogeli* multipl ve düzensiz infiltrasyon gösteren kistler oluştururlar (23). Embriyon yılda 1cm kadar büyüyerek 5-10 yıl içinde 10 cm büyüklüğüne ulaşabilir. Büyüyen kist çevre dokulara bası yaparak atrofiye neden olabilir (25). Basınç altındaki kan damarları ve safra yolları sıkışır. Kan ve safra akışı mekanik olarak engellenir. Safra akışının durması üzerine reaktif hepatit ve sekonder enfeksiyon, kolanjit

oluşabilir ve bazı olgularda siroza kadar varan ağır patolojik durumlar meydana gelebilir (23,25).

Onkosferin yerleşmesi ile oluşan kistler insanda genellikle bir tanedir ve primer kist olarak adlandırılır. Primer kistin kendiliğinden veya bir operasyon sırasında yırtılması, hidatik sıvı içinde olan protoskolekslerin çevre dokulara yayılması ile sekonder kistler gelişir (7,23,25).

2.7. Klinik

Etkenin vücuda girmesinden sonra uzun yıllar klinik bulgu görülmeyebilir. *E.granulosus* ve *E.multilocularis* etkiledikleri bölgelere ve oluşturdukları basıya bağlı olarak klinik bulgu verirler (göz ve beyin tutulumunda kısa sürede bulgu ortaya çıkabilirken, akciğer ve karaciğer tutulumunda uzun süre sonra klinik bulgular görülür). Prodromal belirtiler yoktur, bazen birden fazla bölgede klinik belirti ve bulgular ortaya çıkabilir (23).

Karaciğer Kist Hidatiği; Gelişmesi birkaç yıldan 20-30 yıla kadar uzanmaktadır. Safra kanalları çevresinde yerleşip, safra kanallarında fissürasyon yapan tipe "Biliyer tip" adı verilir. Karaciğer kist hidatiklerinin %90'nı bu tiptir. Parankimde karaciğer dokusunun derinliklerinde yerleşen tipe de "Tümöral tip" denir (27). Karaciğer sağ lobunun sol lobundan daha büyük ve portal kan dolaşımının sağ lobda daha fazla olması nedeni ile kist hidatik %80-85 oranında sağ lobda yerleşir (23).

Kistler karaciğer içinde parankimde iken laminar membran parçalanabilir. Bu açılma bir dış travma ile olabilir. Bunun sonucunda antijenik sıvı absorbe olur ve IgE yükselmesi ile karakterize akut anaflaktik reaksiyon gelişebilir. Bu olay genellikle çok şiddetli olmayıp hastalar birkaç saat süren ürtiker ve kaşıntıdan şikayet ederler. Serbest kalan skoleksler yeni hidatik kistlerin oluşmasını sağlar. Böylece multiveziküler kistler oluşur. Ayrıca parçalanmış laminar membranın küçük parçaları safra yollarına düşerek tıkanma sarılığına neden olurlar (15).

Kistler bazen asemptomatik olabilir. Böyle bir durumda da enfekte olmaları muhtemeldir. Normal parçalanmamış laminar membran güçlü bir antibakteriyel bariyerdir. Laminer membranın parçalanması kistin içine serumun sızması bakterilerin kolonize olması için iyi bir ortam oluşturur. Klinik bulgular piyojenik karaciğer apsesi kliniği ile

benzerdir. Kistin infekte olma oranı %11-27 arasında değişmekte olup en sık etken enterik bakteriler ve *E.coli*'dir (22,23,27).

Karaciğer kubbesinde yerleşim gösteren kist hidatiklerde diyafragma ya yakınlığı sebebi ile intratorasik komplikasyonlar gelişebilir. Kist plevral boşluğa açılabilir. Ampiyem sıklıkla gelişir (22,23,27).



Resim-4: Karaciğer Kist hidatiği (28)

Akciğer Kist Hidatiği; Etken *Echinococcus multilocularis*'dir. Akciğerde genellikle tek kist bulunur. Akciğer hidatik kisti olan olguların %10-60'ında karaciğerde de hidatik kist bulunur. Yavaş bir şekilde büyürler ve çoğunlukla asemptomatiklerdir (29).

Ayrıca hidatik kist dalağa, böbreğe, beyine ve diğer organlara da yerleşebilir. Bu durumda o organlara ait klinik bulgular ortaya çıkar (30).

2.8. İmmünoloji

İnsanda hidatik kist enfeksiyonuna olan hassasiyeti belirleyen faktörlerin başında diğer pek çok enfeksiyonda olduğu gibi konağın yaşı, cinsiyeti, fizyolojik durumu gelmektedir. Bununla birlikte hidatik kiste karşı sıvısal ve hücrel immün yanıt verilebilmekle beraber parazitin immünolojik kontrolünde esas rolü T lenfositler oynamaktadır (31). Ayrıca parazit, konakçıda Poliklonal B hücre aktivasyonuna yol açarak değişik sınıflarda (IgG, IgM, IgE, IgA) antikorların oluşumuna yol açmaktadır. Bu antikor yanıtlarından IgG yanıtı, IgM ve IgA yanıtına göre daha sık görülmektedir. Akciğer kist hidatikli hastalarda cerrahi rezeksiyon sonrası anti-ekinokok IgM düzeyleri 4-6 ay içinde, karaciğer kist hidatiklilerde ise 12 ay içinde normale dönerken IgG düzeyleri serumda daha uzun süre yüksek kalmaktadır. *E.granulosus* antijenlerine karşı verilen IgG

antikor yanıtı özellikle IgG1, IgG4'ü ilgilendirmektedir. IgG1 ve IgE paraziter immün yanıtta önemli rol oynayan antikorlardır (20).

Hidatik kiste verilen antikor yanıtı olgudan olguya değişiklik gösterebilmektedir. Bazı olgularda antikorlar immüno kompleks oluşturup dokuda çökerek amiloidozis, membranöz nefropati gibi hastalıklara yol açabilirken bazı araştırmacılar %10 olgunun seronegatif olduğunu ifade etmektedir (20). Ekinokok antijenlerine verilen immün yanıt, ekinokok suşunun tipine, konakçıya ve kistin lokalizasyonuna göre değişiklik göstermektedir. Karaciğer ve periton kist hidatiği genellikle akciğer, beyin ve göz infeksiyonlarına göre daha kuvvetli bir antikor yanıtı oluşturur (32).

İnsan ve koyun kistlerinde sığır ve domuz kistlerine oranla, karaciğer kistlerinde de akciğer kistlerine oranla daha fazla antijen olduğu gözlemlenmiştir. İmmünize tavşan serumunda *E.granulosus* için 23 ve *E.multilocularis* için 27 farklı antijenik komponent olduğu gösterilmiştir (32). Bunlardan termolabil lipoprotein antijen 5 ve termostabil lipoprotein antijen B olmak üzere 2 major lipoproteindir (33).

Antijen 5 (arc5) ısıya dayanıklı bir lipoproteindir ve 57 kDa ile 67 kDa ağırlığındaki 2 adet komponentten oluşur. *E.granulosus* infeksiyonunun tespiti için tam bir spesifite gösterir (34). Çimlenme zarında, protoskolekslerin parankiminde ve boşaltım sistemlerinde bulunur. Antijen 5 her olguda bulunmayabilir. Ayrıca *T.solium*, *E.multilocularis*, *E.vogeli* gibi diğer bazı sestod infeksiyonlarında da bu antijenle çapraz reaktif antikorlar görülebildiği rapor edilmiştir (35).

Diğer bir antijen olan Antijen B 100°C'de 15dk. ısıtılmaya dayanıklı bir lipoproteindir. Dış kütikülde, çimlenme kapsülünde, protoskolekslerin dış örtüsünde bulunmaktadır (7,36). Antijen B oldukça immünojendir. Moleküler kitlesi 120 kDa'dur ve 8 kDa'luk subünitlerden oluşan polimerlerden yapılıdır (34). Hem antijen 5 hem de antijen B germinal membran ve protoskoleksin parankiminde vardır (37). Aslında germinal membran ve protoskoleksin tegümenti de benzer bir ultrastrüktürel yapıya ve embriyolojik orjine sahiptir (38). Diğer bir antijen de P1 antijendir. Hem kist sıvısında hem de kanserli hastaların serumunda bulunabilen bir antijendir. Hodgkin hastalığı, lenfoma, lösemi, multiple myelom, akciğer kanseri ve hepatoselüler karsinom yanlış pozitifliğin bildirildiği kanser tipleridir. Bununla beraber tüberküloz, siroz ve kollajen doku hastalıkları seyrinde de yanlış pozitiflik görülebilmektedir (32).

2.9. Kist Hidatikten Korunma

Kist hidatikle savař ve korunma yöntemleri şöyledir;

- İnsan ve evcil hayvanlarla sürekli ilişkisi bulunan köpekler en önemli infeksiyon kaynağı olduğundan hastalıkla mücadelede her şeyden önce köpekler göz önünde tutulmalıdır (39). Bu amaçla köpeklere antiparaziter ilaçlarla tedavi yapılmalıdır (Arecoline hydrobromide, praziquantel, niclosamide, bunamidine hydrochloride) (14). Tedaviyi takip eden 3-5 gün boyunca dışkı toplanarak derince toprağa gömülmelidir (14).

- Köpeklere peryodik olarak profilaktik ilaçlar verilmelidir (40).

- Köpeklerin bu parazitten korunması için kistli organların köpeklere kesinlikle verilmemesi sağlanmalıdır.

- Mezbahalarda kesim sonunda arta kalan kist hidatikli organların tamamen imha edilmesi ile başta köpekler olmak üzere son konakçıların infeksiyonu önlenmiş olacak ve parazitin gelişme halkalarından en önemlisi kırılmış olacaktır.

- Soğuk saklama ve imha etme üniteleri olmayan küçük mezbahalarda ise atıklar uygun şekilde uzaklaştırılmalıdır (41).

- İnsanların istedikleri zaman istedikleri yerde kesim yapmaları önlenmelidir.

- Sahipsiz, başıboş köpeklere karşı mutlaka önlemler alınmalıdır.

- İnfekte köpek dışkısı ile bulaşabilecek sebze ve meyveler yenilmeden önce bol suyla yıkanmalıdır.

- Tüm parazitozlarda olduğu gibi hidatidoza karşı halk bilinçlendirilmelidir (39).

2.10. Kist Hidatikte Aşılama

Hidatidoziste evcil hayvanlara yönelik aşı çalışmaları mevcuttur. Ancak buradaki en önemli problem spesifik antijen elde edilmesidir. Onkosferlerden elde edilen antijenlerin kullanımıyla yüksek oranda koruyuculuk elde edildiği, kist sıvısı veya protoskolekslerden elde edilen antijenlerle yapılan aşılamalarda ise daha az başarı elde edildiği bildirilmiştir. Bununla birlikte rekombinant DNA metotları kullanılarak da yeni aşılar geliştirilmiştir. Bunlardan EG95 aşısı koyunlarda %95'den fazla koruma sağlamıştır.

Aşı iki aşılama ile en az bir yıl koruma sağlar.

Bağıışıklık aşılanmış annelerden yavrulara geçer.

Aşı, yeni infeksiyonlara karşı koruma sağlarken aşı uygulanmadan önce oluşmuş infeksiyonlara koruma sağlamaz.

Aşı bir ay ara ile iki kez uygulanır (42).

2.11. Kist Hidatikte Tanı

Kist hidatik'te klinik tablo çok farklı olabildiği gibi her yaşta ve her organda görülebilmektedir. Klinik şüphe bir kistin varlığını onaylamak için invaziv olmayan görüntüleme tekniklerinin ve bunların sonucunu desteklemek amacı ile de serolojik tekniklerin kullanımını gerektirmektedir. Kist hidatiğin ayırıcı tanısında kullanılan görüntüleme yöntemleri şunlardır:

Ultrasonografi (USG); Günümüzde ekinokokkozun ilk kuşkusu genellikle bir USG ile konulur. Ancak USG ile saptanan lezyonun ekinokok olma olasılığı çok düşüktür.

Bilgisayarlı Tomografi (BT); Herhangi bir organı izleyebilme olanağı sunması, daha küçük kistleri saptayabilmesi, boyutlarını ölçmesi, kisti kesin lokalize edebilmesi ve parazitik kist oluşumlarını parazitik olmayanlardan daha kolay ayırtedebilmesi nedeni ile USG'ye üstündür. Ancak maliyetinin yüksek olması bazı endemik ülkelerde kullanımını kısıtlamaktadır.

Manyetik Rezonans (MR); Operasyon sonrası rezidüel lezyonların, rekürrenslerin ve ekstrahepatik infeksiyonların değerlendirilmesinde kullanılır. Ancak; BT gibi yüksek maliyetli olması kullanımını kısıtlamaktadır.

X-ray; Özellikle akciğer lezyonlarını belirlemede diğer yöntemlere üstünlüğü vardır(43).

Kist hidatik tanısı; günümüzde radyolojik tanı yöntemleri ile konulmasına karşın kistin; tümör, apse, basit kist gibi diğer yer kaplayan lezyonlarla ayırıcı tanısının yapılabilmesi ve operasyon sonrası nükslerin daha sağlıklı bir şekilde değerlendirilebilmesi için ön tanının serolojik yöntemlerle desteklenmesi gerekir. Hidatidozun tanısında kullanılan başlıca serolojik yöntemler şunlardır (43).

2.11.1. Casoni Deri Testi

İlk kez 1912 yılında Casoni tarafından kullanılan Casoni cilt testinde insan ve hayvan kaynaklı steril kist sıvısı verilmektedir. Test olguların %56-65'inde pozitif çıkmaktadır. Bununla beraber %30-40'a varan yalancı pozitifliklerle karşılaşmaktadır. Ayrıca kistin lokalizasyonuna göre testin duyarlılığı değişmektedir. Örneğin periton hidatidozunda duyarlı olmadığı ifade edilmektedir (21,43,44).

2.11.2. Kompleman Birleşmesi Testi (Weinberg)

İlk kez 1906 yılında Ghedini tarafından kullanılan bu test bağışık serumdaki antikorların komplemanla karşılaşınca spesifik antijenlerle bağlanması esasına dayanmaktadır. Weinberg testi tüm kist hidatik olgularının %62'sinde, akciğer kist hidatiklerinin %32-38'inde pozitif çıkmaktadır. Yapılan çalışmalarda %23 yalancı pozitiflik saptanmıştır. Günümüzde daha duyarlı testlerin geliştirilmesi ile Weinberg testi hemen hemen terk edilmiştir (21,43,44,45)

2.11.3. Lateks Aglütinasyon Testi

1960 yılında ilk kez kullanılan bu testte ekinokok antijeni ile kaplanmış lateks partikülleri kullanılmaktadır. Kist hidatikli hastanın serumunda bulunan antikorla, antijen kaplı lateks partikülleri 10 dk'da aglütinasyon vermektedir. Test daha çok pratikliği nedeni ile seroepidemiolojik çalışmalar için kullanılmaktadır (43,44).

2.11.4. İndirekt Hemaglütinasyon Testi (IHAT)

Testte tannik asitle duyarlılaştırılmış eritrositlerin yüzey gerilimlerinin değişmesi sonucu antijen tutma özelliğinden yararlanılmaktadır. Antijenle kaplanmış ve tannik asitle duyarlılaştırılmış eritrositler, kist hidatikli hasta serumu ile karşılaşınca aglütinasyon vermektedir. İlk kez 1957 yılında Garabedian ve arkadaşları tarafından Kist hidatik tanısında kullanıldığı söylenmesine rağmen, Unat (43) 8-12 Eylül 1997 yılında Ankara'da düzenlenmiş olan 10.Ulusal Parazitoloji Kongresi'nde yapmış olduğu konuşmasında IHAT'ın ilk kez kendileri tarafından 1956 yılında kist hidatik tanısında kullanıldığını belgeleriyle birlikte açıklamış, ancak bu çalışmanın yurt dışında yayınlanmamış olması nedeni ile Garabedian ve arkadaşları tarafından ilk kez kullanıldığının bilindiği

söylenmiştir. Unat (43) ayrıca bu çalışmasını 29 Kasım 1956 tarihinde Türk Mikrobiyoloji Toplantısında bildiri olarak sunduğunu bildirmiştir.

IHA ile kist hidatik tanısında çeşitli çalışmalarda %52-93 arasında değişen oranlarda olumlu sonuçlar alınmıştır. Testteki yalancı pozitiflikler kullanılan antijenin cinsine, hazırlanış şekline, veya taeniosis, fascioliosis, schistosomiasis, cysticercosis, karaciğer sirozu, malignensi gibi hastalıklara sahip olan kişilerin düşük serum sulandırımalarında adı geçen hastalık antijenleri ile Echinococcosis'e karşı oluşan serum antikorları arasındaki çapraz reaksiyona bağlanmıştır (43,44).

2.11.5. İmmünlöresan Test (IFAT)

Kist hidatik tanısında IFAT ilk kez 1964 yılında Azevedo ve Rombert tarafından kullanılmıştır. Antijen olarak IFA testinde skoleks veya çimlenme zarından elde edilen bütün skoleks antijeni, skoleks kesit antijeni ve çimlenme zarı kesit antijeni kullanılmış ve kesit antijenlerinin kullanıldığı IFA testinde daha iyi sonuçlar alındığı bildirilmiştir. İmmünlöresan testi fluoresceine isocyanate, fluoresceine isothiocyanate, Rodamin B200 gibi flöresan verici maddelerle işaretlenmiş antikorun antijenle oluşturduğu serolojik reaksiyona dayanan bir tanı yöntemidir. İşaretlenmiş antikorlar spesifik antijenlerle bağlanınca flöresan mikroskop altında görülebilir hale gelmektedir. En sık kullanılan immünlöresan yöntemleri direkt ve indirekt immünlöresan tekniğidir (21,43,44,46,47).

2.11.5.1. Direkt flöresan antikor tekniği

Antijen antikor reaksiyonunun meydana gelip gelmediği antijene karşı oluşmuş özel işaretli antikorlardan yararlanılarak görülür hale getirilmesi ile anlaşılmaktadır. Şüpheli antijenler lamalar üzerine yayılarak fikse edilmekte ve üstlerine özel işaretli antikorlar konarak şüpheli antijenlerin işaretli özel antikorların oluşmasına neden olmuş antijenler olup olmadığı araştırılmaktadır. Bu metotta bütün özel antikorların işaretli olması gerektiğinden kullanım alanı oldukça sınırlı ve indirekt immünlöresans tekniğine göre daha az duyarlı olduğu bildirilmektedir.

2.11.5.2.İndirekt flöresan antikor tekniği

Değişik sulandırılmaları yapılmış şüpheli serumların daha önceden lamalar üzerine fikse edilmiş parazitlerin kendisinin veya kesitlerinin üzerine konup, inkübasyon ve yıkama işleminden sonra antijen antikor reaksiyonunun meydana gelip gelmediğinin ve test edilen serumlar içinde antijene karşı oluşmuş antikorlarının bulunup bulunmadığının fluoresceine isocyanate ile işaretli spesifik anti antikorlar (antiglobulin) yardımıyla gösterilmesine dayanmaktadır. Spesifik antikorlar flöresan veren bir madde yardımıyla görünür hale gelmektedir.

Sonuçlar flöresan mikroskopunda değerlendirilir ve pozitif preparatlarda sarı-yeşil flöresan görülür (21,43,44,46,47).

2.11.6. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Testi

Bu test ilk kez 1971 yılında Engvall ve Perlmann tarafından geliştirilmiştir. Farag ve arkadaşları 1975'de ham ve saflaştırılmış antijenler ile ELISA yöntemini insan kist hidatiğinin tanısında kullanmışlar ve saflaştırılmış antijenle daha iyi sonuç aldıklarını, antijen olarak ham kist kullanıldığında çapraz reaksiyon görüldüğü halde saflaştırılmış antijenle görülmediğini vurgulamışlardır.

Test prensibi; polistren plaklara emdirilmiş antijen molekülleri ve anti-immünglobulin eklenmiş renksiz enzimin bulunduğu ortama hasta serumu koyulur. Kist hidatiğe karşı IgG, IgM, IgA, IgE antikorları geliştiği için, bu antikora karşı oluşmuş antiimmünglobulinler ELISA testinde kullanılabilir. Serumda antikor varsa, antijen-antikor-antiimmünglobulin kompleksi oluşur ve enzim kromojen madde bağlı substrat ile birleşir. Test spektrofotometre ile değerlendirildiğinde absorbans ölçümleri kriter alınır ve belli bir eşik değerin üstü pozitif olarak kabul edilir. ELISA sonucu çıplak gözle değerlendirilir. Oluşan renk optik dansite değerleri ile irdelenir (32,43,44,48).

2.11.7. İmmüdiffüzyon (ID) ve İmmüelektroforez (IE) testleri

Bu testler antijen ve antikor moleküllerinin jel içinde optimal konsantrasyonda yayılırken karşılaştıkları bölgede presipitasyon oluşturarak çizgi şeklinde görünür hale gelmesi esasına dayanmaktadır. Jel içinde değişik moleküler ağırlıktaki serum

antikorlarının yayılma hızı farklı olabileceği gibi, antijen molekülleri de farklı yoğunluklarda değişik yayılma hızına sahip olacaklarından; bu yöntemlerde antijen ve antikorun çalışabildikleri uygun yoğunlukta sulandırma oranını bulabilmek için seri halinde titrasyon çalışmalarının yapılması gerekmektedir (43,44,49,47).

2.11.8. Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) yöntemi

Protein karışımlarının Polyacrylamide jel içinde analizine dayanan bu yöntem oldukça hızlı ve mikrogramla ifade edilebilecek hassasiyete sahip olduğu gibi boyama ve otoradyografi ile jeldeki proteinlerin teşhisinde son derece hassas bir yöntemdir. En önemli özelliklerinden biri de çok sayıda komponent içeren proteinlerin kompleks karışımlarının ayrılmasını sağlamasıdır (43,44,50).

2.11.9. Western Blot (İmmünoblotting) analizi

Ayrıştırılan proteinlerin jellerden membranlara transfer yöntemlerinin geliştirilmesi, proteinlerin elektroforetik analizi için yeni bir devir açılmasına neden olmuştur. Bu fikir DNA fragmentlerini analiz için bir yöntem geliştiren Ed Southern tarafından ortaya atılmıştır. İmmünoblotting ya da Western blotting adı verilen bu immünokimyasal yöntemler bir membran üzerine sabitleştirilmiş proteinleri tanımlamada kullanılmaktadır. Bu transfer yöntemi "blotting" diye adlandırılır. Çünkü elektroforez ile jel içinde ayrıştırılan proteinlerin transfer edildikleri nitroselülöz membran üzerindeki bant örnekleri, orijinal jel üzerindeki örneklerin kopyasıdır. Proteinlerin membranlara transferi de "Western blotting", DNA izolasyonu için kullanılan yöntem "Southern blotting", RNA izolasyonu için kullanılan yöntem ise "Northern blotting" olarak isimlendirilmiştir (43,44).

2.11.10. Moleküler yöntemler

Echinococcus cinsine bağlı türlerin tiplendirilmesinde kullanılan moleküler tekniklerde hedef direkt olarak parazitin DNA'sı olduğu için bu yöntemlerin tiplendirme gücü yüksektir. *Echinococcus*'un tanısında çeşitli moleküler teknikler kullanılmaktadır. Bunlardan birkaçı şöyledir.

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu- Restriction Fragment Length Polymorphism (PZR-RFLP)

DNA Baz Dizi Analizi (51).

2.12. Tedavi Takibinde Serolojik Testler

Kistin cerrahi prosedür ile çıkarılması hidatik kist antijenlerinin dökülmesine ve dolayısı ile immün yanıtın uyarılmasına neden olmaktadır. Bu nedenle seropozitif olgularda nüks olmaksızın cerrahiden sonraki 3 aylık dönemde antikor seviyeleri yükselmeye devam etmektedir. Ancak postoperatif 6.aydan sonra antikor titreleri yükselmeye devam ediyorsa o zaman relaps düşünülmelidir. Kür elde edilen olgularda anti-ekinokok IgG antikorları kistin çıkarılmasını takiben birinci yılın sonunda azalmaya başlasa da pozitiflik 6 yıl sürebilmektedir. Cerrahi işlem sonrası antikor titrelerindeki düşme akciğer kist hidatiğinde karaciğer kist hidatiğinden daha hızlı ve belirgin olmaktadır. Operasyon sonrası antijen düzeyleri 7 günden sonra hızla azalmakta ve birinci aydan sonra kaybolmakta, kemoterapiden ise 6 ay sonra serumda ekinokok antijeni kalmamaktadır (44).

2.13. Kist Hidatiğin Tedavisi

İnsanda kist hidatiğin tedavisinin tek altın kuralı yoktur, her olgu bazı temel prensiplere ve klinisyenin kişisel deneyimlerine göre bireysel olarak tedavi edilmelidir. Bazı hidatik kist olgularında tedaviye ihtiyaç yoktur, sadece periyodik kontrol gerekir. Bunlar kalsifiye lezyonlar, küçük, inaktif, karaciğerde derinde yer alan olgulardır. Bununla birlikte ekinokokkozisin temel tedavisi cerrahidir.

2.13.1. Cerrahi tedavi

Cerrahi tedavinin prensipleri parazitin inaktive edilmesi, germinatif membranın ortadan kaldırılması ve geride kalan kavitenin obliterasyonudur. Cerrahi tedavi ne kadar radikal olursa intraoperatif risk okadar yüksek fakat geç komplikasyonlar daha azdır ve bunun tersine yaklaşım ne kadar konservatif ise ameliyatın riski o kadar düşük fakat geç komplikasyonlar daha yüksektir (15,21).

Protoskolisidlerin seçimi

Protoskolisid kullanımında güvenilirliğin gerekliliği esasen birleşik kistlerde bazı protoskolisidlerin sklerozan kolanjite neden olduğunun gözlemlenmesinden sonra ortaya çıkmıştır. Günümüzde %70-95 etanol, hidrojen peroksit, %0,5 cetrimid, hipertonic salin solüsyonu kullanılmaktadır. Yayınlanan son literatürlerde propolis (52) ve sarımsak özütünün de (53) protoskolisidal olarak etkin olduğu bulunmuştur.

Concomitant ilaç tedavisi

Çeşitli çalışmalarda mebendazol ile albendazol ile kemoterapinin sekonder ekinokokkosis riskini azalttığını göstermiştir. İlaça operasyondan en az 4 gün önceden başlamak ve albendazol için 1 ay, mebendazol için 3 ay devam etmek gerekmektedir (15,21,69).

2.13.2. PAIR (Puncture-Aspiration-Injection-Re-aspiration)

Özellikle inoperabl kistler ve yüksek hayati risk taşıyan kistlerde, görüntüleme tekniklerinin tanınması hidatik kist tedavisinde önemli bir alternatifi oluşturmaktadır. Kist sıvısı, görüntüleme tekniği eşliğinde aspire edilmekte ve protoskolisidal ajan kullanılmaktadır (15,21,69).

2.13.3. Medikal tedavi

Major bir ameliyatın tolere edilemeyeceği durumlarda tedavi medikal olmalıdır.

Günümüzde kist hidatik tedavisinde rutin olarak iki benzimidazol türevi olan mebendazol ve albendazol kullanılır. Mebendazol dozu günlük 50mg/kg/gün olarak en az 3 ay kullanılmalıdır. Albendazolün barsak absorpsiyonu ve doku dağılımı daha iyidir ve kist sıvısında yüksek konsantrasyona ulaşabilir ve 10-15 mg/kg/gün 2 eşit doz halinde verilmelidir. Her iki ilaçta %10-20 hastada karaciğer enzimlerinde yükselme ile tedavi kesildiğinde reversibl olan kemik iliği supresyonuna bağlı pansitopeni, agranülositoz yapar. Bu yüzden iki haftada bir sonra da aylık kan takipleri yapılmalıdır (15,21,69).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Serumların Toplanması

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Servisi'nde ve Konya Numune Hastanesi Genel Cerrahi Servisi'nde operasyonla karaciğer kist hidatiği olduğu saptanmış hastaların kanları operasyondan sonraki 1 hafta içinde alındı. Kanlar 4000 devirde 10 dk. santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı (Çalışma için, Etik Kurulu'nun 23 Temmuz 2007 tarih ve 2007/160 sayılı kararı ile etik kurul izni alınmıştır).

3.2. Laboratuvarımızda Hazırladığımız (in-house) IFAT Çalışması İçin Lamların Hazırlanması

Et entegre tesislerinde kesilen ve karaciğerinde kist hidatik olduğu saptanan koyunların karaciğerleri bekletilmeden laboratuvara getirildi. Kist içindeki sıvı enjektörle tamamen aspire edildi. Bistüri ile kist kesildi. İçinden germinal membran bir penset yardımı ile alındı ve serum fizyolojik bulunan steril petri kutusuna konuldu. Germinal membran üzerinde protoskoleks kalmayıncaya kadar birkaç kez serum fizyolojik ile yıkandı.

Germinal membran dokusu, mikrotom ile kesit alınmasından önce uygulanan formalinle tespit işlemi sırasında antijenik yapısı etkilendiği için mikrotom yerine frozen cihazı tercih edildi. Frozen cihazı ile germinal membrandan 8µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler alınırken germinal membran dağıldığı için, pipet ve parafin kağıda sararak kesme denendi. Ancak bu şekilde de doku kesiti alınamadığından, mümkün olduğunca germinal membrandan dikkatli bir şekilde 8µm kalınlığında kesitler alındı. 24 saat eter alkol karışımında bekletilmiş lamlara, her bir lamda ikişer kesit olacak şekilde yapıştırıldı. Aseton bulunan küvette 10 dk. tutularak lamlar tespit edildi. Kesitlerin etrafı suda çıkmayan camyazar ile çizildi ve numaralandırıldı. Lamlar kullanılıncaya kadar +4°C'de saklandı.

3.3. Tampon Hazırlanması

PBS (Phosphate Buffer Salin)

pH:7.4

NaCl 8.50 gr.

NaH₂PO₄ 2H₂O 0.22 gr.

KH₂PO₄ 1.20 gr.

Distile su 1000 ml.

3.4. Testin Uygulanması

Her hasta için 1/8, 1/16, 1/32 ve 1/64 olmak üzere 4 dilüsyon hazırlandı . İlk tüpe 350µL PBS, 50µL hasta serumu konuldu. Diğer 3 tüpe de 100µL PBS eklendi. İlk tüpe hasta serumu konulduktan sonra 100µL alınarak 2.tüpe konuldu. 2.tüpten 100 µL alınarak 3.tüpe, 3.tüpten 100 µL alınarak 4. tüpe, 4.tüpten 100 µL alınarak atıldı. Böylece tüplerde sırasıyla 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 dilüsyonları elde edildi. +4°C'den alınıp oda ısısına getirilen lamlara her kesit için 25µL olacak şekilde tüplerdeki dilüe hasta serumlarından konuldu. 37°C'lik etüvde 30 dk. bekletildi. Çıkarılan lamalar önce PBS ile yıkandı, sonra PBS konulan şalede 5 dk. bekletildi. Yıkama işlemi testin sonuna kadar bu şekilde yapıldığında flüoresan mikroskobunda parlamalar görüldü. Bu nedenle birkaç denemeden sonra en iyi yıkama işleminin PBS ile lamı yıkadıktan sonra, her şalede 4 lam olacak şekilde yerleştirilerek şalelerin shaker'da 5 dk. çalkalanması ve bu yıkama işleminin üç kere tekrarlanması olduğu bulundu. Konjugatın hazırlanması sırasında da çeşitli denemelerden sonra en iyi görüntünün PBS ile 1/100 oranında dilüe edilen fluorescein-işaretli IgG globulin (Biomerieux) ile olduğu görüldü. Bu şekilde dilüe edilen fluorescein- işaretli IgG globulin (Biomerieux)'den 25µL her bir kesite konularak 37°C'lik etüvde 30 dk. bekletildi. Çıkarılan lamalar önce PBS ile yıkandı sonra şalelere yerleştirilerek shakerde 5er dk.'dan 3 kez daha aynı şekilde yıkandı. Kapatma solüsyonu gliserin damlatılıp lamalar 24x60mm'lik lamellerle kapatıldı.

Lamlar flöresan mikroskobunda (Euroimmun EUROStar-1, Almanya) x40 büyütmede 460-490 nm dalga boyunda iki farklı kişi tarafından değerlendirildi.

Bakıda 1/32 dilüsyonda parlak yeşil flöresan veren örnekler pozitif olarak değerlendirildi. 1/8, 1/16, 1/32 dilüsyonda flöresan vermeyen örnekler ile borderline örnekler negatif olarak değerlendirildi

3.5. İndirekt Hemaglütinasyon Testi

Çalışmamızda ticari Echinococcosis IHA kiti (Fumouze Diagnostics, Fransa) kullanıldı.

Pozitif, negatif kontroller ile hasta serumları için birer tüp, suppora yerleştirildi. Hazır olarak elimizde bulunan PBS (Phosphate Buffer Salin)'den 1950µL ve hasta serumundan 50µL tüplere konuldu. 96 tane kuyucuğu bulunan U tipi plate'in de tüm kuyucuklarına 50µL PBS eklendi. İlk 8 kuyucuğu pozitif kontrol için, ikinci 8 kuyucuğu negatif kontrol için ayrıldı. İlk kuyucuğa tüplerden alınan 50µL dilüe edilmiş hasta serumu konuldu. Burada pipetlendi. 1. kuyucuktan alınan 50µL örnek 2. kuyucuğa, buradan alınan 50µL örnek 3. kuyucuğa eklendi. Bu şekilde 6. kuyucuğa kadar her seferinde pipetlenerek alınan örnek 6. kuyucuktan sonra atıldı. Tüpten tekrar 50µL alınarak 7. kuyucuğa aktarıldı, pipetlendi ve 50µL örnek çekilerek atıldı. 8. kuyucuğa dilüe hasta serumundan konulmadı, sadece PBS konuldu. Testin 1,2,3,4,5,6 ve 8. kuyucuklarına kitin içinde hazır olarak bulunan sensitif serumdan 17µL, 7. kuyucuğa non-sensitif serumdan 17µL eklendi. Karanlık ortamda, oda ısısında 2 saat inkübe edilen plate'deki reaksiyon bu sürenin sonunda okundu. Kuyucuklarda nokta şeklinde görülen reaksiyon negatif, kuyucuğun zemininde yaygın şekilde görülen aglütinasyon pozitif olarak değerlendirildi.

3.6. İndirekt Flöresan Testi

Ticari Echinococcosis IFA kiti (Euroimmün, Almanya) kullanıldı.

Supporlara her hasta için bir tüp yerleştirildi. Hazırlanan PBS'den 990µL, hasta serumundan 10µL bu tüplere konuldu. Shaker'de suppodaki tüpler çalkalanarak PBS ile hasta serumlarının karışması sağlandı. Köpüklere yerleştirilen titerplane'lerin birinci ve ikinci kuyucuklarına pozitif ve negatif kontrollerden 25µL, diğer kuyucuklarına ise her hasta için hazırlanan tüplerden 25µL alınarak konuldu. Protoskoleks tespit edilmiş 10 kuyucuğu bulunan lamalar titerplane'e yerleştirildi. 30 dk. oda ısısında bekletilen titerplane'deki lamalar önce PBS ile yıkandı sonra PBS bulunan şalede 5 dk. bekletildi.

Lamlar şaleden alınarak ters tarafları silindi. Kuru titerplane'ler alınarak her bir kuyucuğuna 20µL fluorescein- işaretli anti-human globulin koyuldu. Lamlar uygun şekilde titerplane'lere kapatıldı. Karanlık bir ortamda oda ısısında 30 dk. bekletildi. PBS ile lamlar önce yıkandı, sonra PBS bulunan şalede 5 dk bekletildi. Ters tarafları silinen lamların kuyucuklarına gliserol damlatıldı. Üzerlerine lamel kapatıldı. Flöresan mikroskopunda (Euroimmun EUROStar-1, Almanya) x40 büyütmede 460-490 nm dalga boyunda iki farklı kişi tarafından değerlendirildi. Bakıda parlak yeşil flöresan veren örnekler pozitif, hiç flöresan vermeyen örnekler negatif olarak değerlendirildi.

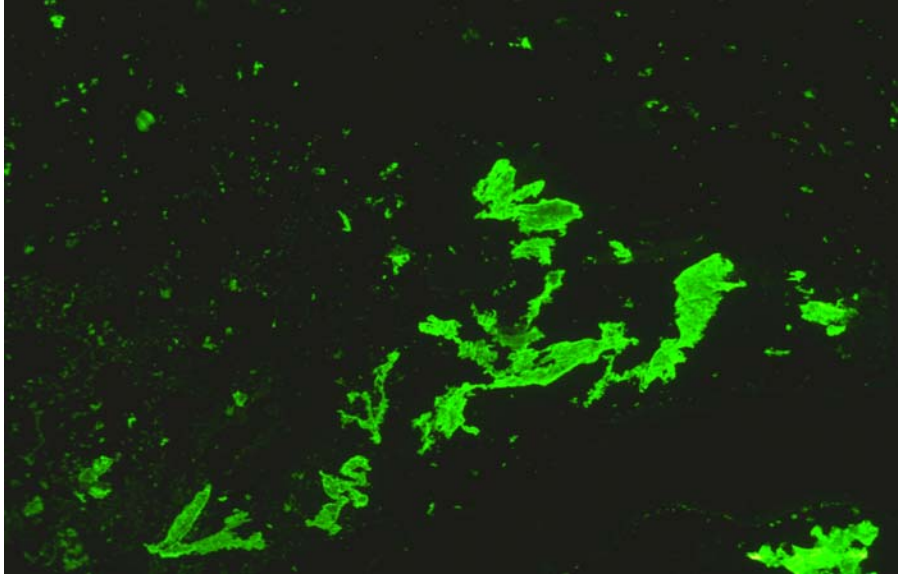
4. BULGULAR

Konya Numune Hastanesi Genel Cerrahi Servisi'nde ve Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Servisi'nde operasyonla karaciğer kist hidatiği olduğu kanıtlanmış 100 hastanın serum örneği ve sağlıklı kan donörlerinden 30 serum örneği alınarak ticari IHAT, IFAT ve in-house IFAT ile çalışıldı.

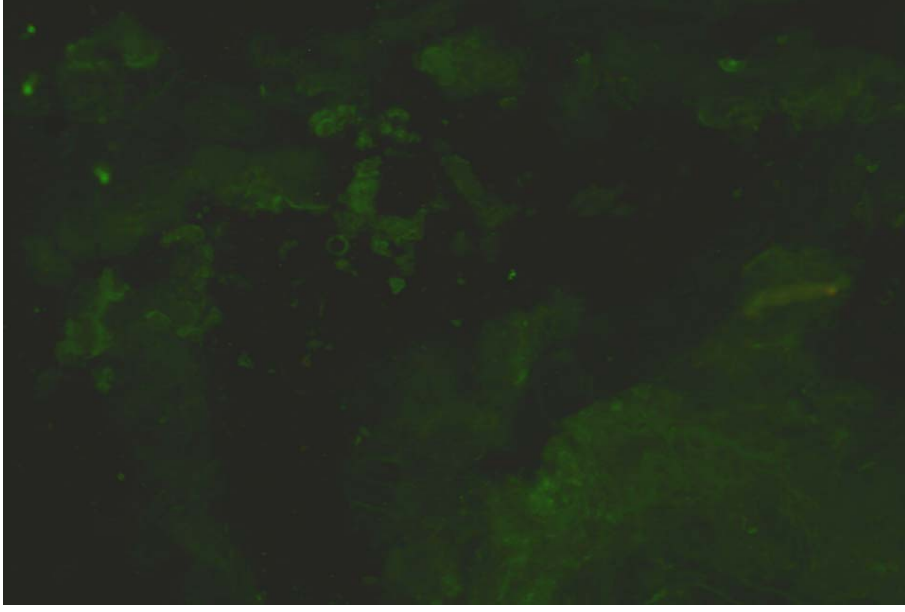
Çalışma grubundaki hastaların yaşları 15 ile 77 arasında olup ortalama yaş 42,0 idi. Bu hastaların 65'i kadın, 35'i erkekti. Kontrol grubundaki hastaların yaşları ise 17 ile 77 arasında olup ortalama yaşları 40,0 idi.

Serum örnekleri IHAT, IFAT ve in-house IFAT çalışıldı.

Elde edilen in-house IFAT pozitif ve negatif görüntüleri resim-5 ve resim-6'da görülmektedir.



Resim-5: In-house IFAT ile *E. granulosus* pozitif görünümü (Çalışmamızdan)

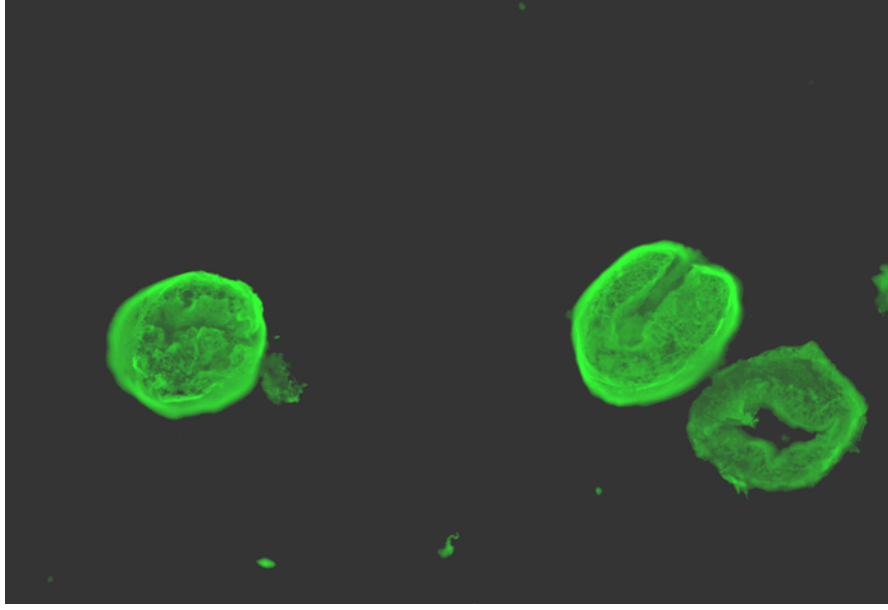


Resim-6: In-house IFAT ile *E. granulosus* negatif görünümü (Çalışmamızdan)

Pozitif ve negatif kontrol serumları ile 10 hastanın IHA testi sonucu resim-7’de görülmektedir.



Resim-7: *E. granulosus* IHA testi (Çalışmamızdan)



Resim-8: Ticari IFA Testi ile *E. granulosus* 'un pozitif görünümü (Çalışmamızdan)

İn-house IFAT ile elde edilen pozitif ve negatif hasta sayıları Tablo-3'de görülmektedir. Bu sonuçlara göre çalışılan 100 hastanın 66'sında IHAT değişik titrelerde pozitif iken 34'ü negatifti. IFAT'ta 86 hasta 1 pozitiflikten 4 pozitifliğe kadar çeşitli derecelerde pozitifken 20 hasta negatif ya da borderline idi. İn-house IFAT ile çalışılan 80 hasta 1/32 ya da 1/32 ve 1/64'de pozitif çıktığı halde, 20 hasta 1/8, 1/16, 1/32 dilüsyonlarda negatif ya da borderline idi.

Tablo-3: Operasyonla Kist hidatik olduğu doğrulanan hastaların serumlarında çalışılan İHA, IFA ve in-house IFA testlerindeki pozitif ve negatif hasta sayıları

	IHAT	IFAT	İn-house IFAT
Pozitif Hasta	66	86	80
Negatif Hasta	34	14	20
Toplam	100	100	100

Tablo-4: Sağlıklı kan donörlerinden alınan 30 serum örneği ile çalışılan IHA, IFA ve in-house IFA testlerindeki pozitif ve negatif hasta sayıları

	IHAT	IFAT	İn-house IFAT
Pozitif Hasta	0	0	0
Negatif Hasta	30	30	30
Toplam	30	30	30

Çalışmada elde edilen sonuçlarla spesifite, sensitivite, pozitif prediktif değer (PPD), negatif prediktif değerleri (NPD) aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır.

$$\text{Spesifite} = \frac{\text{GN}}{\text{GN} + \text{YP}} \times 100$$

$$\text{Sensitivite} = \frac{\text{GP}}{\text{GP} + \text{YN}} \times 100$$

$$\text{PPD} = \frac{\text{GP}}{\text{GP} + \text{YP}} \times 100$$

$$\text{NPD} = \frac{\text{GN}}{\text{GN} + \text{YN}} \times 100$$

GP; Gerçek pozitif

YP;Yalancı pozitif

GN; Gerçek negatif

YN;Yalancı negatif

Tablo-5: Çalışılan hastalarımızın spesifite, sensitivite, PPD, NPD oranları

	İn-house IFAT	IFAT	IHAT
Spesifite	100	100	100
Sensitivite	80	86	66
PPD	100	100	100
NPD	50	65,2	46,8

IHAT, IFAT ve in-house IFAT'daki pozitif sonuçların yapılan χ^2 istatistik analizinde $\chi^2 = 10.765$, serbestlik derecesi=2, tablo $\chi^2 = 5.991$ 'dir. Bulunan χ^2 değeri tablo χ^2 değerinden büyük olduğu için IHAT, IFAT, in-house IFAT arasındaki fark istatistik olarak anlamlıdır. Bu fark χ^2 tablosunda IHAT'ın satırındaki χ^2 değerinin en yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. IHAT hariç tutularak IFAT ve in-house IFAT arasındaki farkın χ^2 testi ile anlamlı olup olmadığı hesaplandığında $\chi^2 = 0.884$, serbestlik derecesi=1, tablo $\chi^2 = 3.841$ 'dir. IFAT ve in-house IFAT için yapılan χ^2 testinde bulunan χ^2 değeri, tablo χ^2 değerinden küçük olduğu için IFAT ve in-house IFAT arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Kistik ekinokokkozis, erişkini köpek ve kurt başta olmak üzere değişik karnivorların ince barsağında yerleşen *Echinococcus granulosus*'un larval (metasestod) formunun neden olduğu, hem hayvanlarda hem insanlarda sağlığı tehdit eden, dünyada ve Türkiye'de önemli ekonomik kayıplara neden olan bir zoonozdur (45,19,54). Ülkemizde zoo-coğrafi yapının farklılık göstermesi, iklim koşulları, toplumun sosyoekonomik düzeyi, halkın eğitim eksikliği gibi nedenlerle kistik ekinokokkozis geniş bir yayılım göstermektedir (54). Ülkemizde özellikle Doğu Anadolu Bölgesi'nde (Erzurum, Kars, Ağrı), Marmara, Trakya, İçbatı Anadolu'da yaygın olarak görülmektedir (55). Alkan ve ark. (56) yaptıkları çalışma ile kırsal alanda kist hidatik prevalansını serolojik olarak 100.000'de 585 olarak bulmuşlardır. Ülkemizde tahmin edilen cerrahi vaka oranı yıllık 0.87-6.6/100.000'dir (57). Hidatik kist ön tanılı olarak hastaneye başvuranlar arasında yapılan çalışmalarda Daldal ve ark. (54) %40, Karaman ve ark. (58) %7.8, Aldemir ve ark. (59) %0.28, Akisü ve ark. (57) %73.7, Polat ve ark. (60) %4.85 pozitiflik bulmuşlardır.

Hidatik kist her toplumda ve her yaşta, genellikle oyun çocukluğu veya ilkokul çağında alınmaktadır. Yapılan değişik çalışmalarda kist hidatiğin görüldüğü yaş grupları farklılık göstermektedir. Eşgin ve ark. (61) çalışmalarındaki hastaların en fazla %39 ile 31-40 yaşları arasında olduğunu, Karaman ve ark. (62) %33.3 ile 20-39 yaşları, Sarı ve ark. (63) ise en çok hastanın %77.5 ile 21-50 yaşları, Kabukçuoğlu ve ark. (64) %39.42 ile 20-39, İnceboz ve ark. (65) %54.9 ile 20-39, Delibaş ve ark. (57) %46 ile 40-60 yaşları arasında olduğunu çalışmalarında göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda ise kist hidatiğin en sık görüldüğü yaş grubu %45 ile 40-59 arasındır.

Ekinokokun kadın ve erkekler arasında görülme oranının eşit olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte hidatik kistli hastaların değişik ülkelerde kadın ve erkekte değişik oranlarda bulunması, kişilerin içinde yaşadıkları çevre ile olan ilişkilerine ve köpeklerle olan yakın temaslarına göre değişebilmektedir (66). Yapılan bir çalışmada kist hidatik pozitif hastaların %74.2'si kadın, %25.8'i erkek (62), başka bir çalışmada hastaların %63'ü kadın, %37'sinin erkek (57), Eşgin ve ark. (61)'nin çalışmalarındaki kist hidatikli hastaların %81.44'ü kadın, Kabukçuoğlu ve ark. (64)'nin yaptıkları çalışmada %62.5 kadın, %37.5 erkek, Manisa'da yapılan bir çalışmada opere olmuş kist hidatikli hastaların %77'si kadın, %23'ü erkek (65), Sarı ve ark. (63) tarafından çalışmalarındaki hastaların %60'ının kadın,

%40'nın erkek olduğu rapor edilmiştir. Şaşmaz ve ark. (67) ise yaptıkları çalışmadaki seropozitif olguların cinsiyete ve yaş gruplarına göre anlamlı bir farklılığın olmadığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da hastalarımızın %65'ini kadınlar, %35'ini erkekler oluşturmaktadır. Karaman ve ark. (62) ise kadınlarda daha fazla görülmesinin sebebini özellikle bölgelerindeki kadınların köpeklerin bakımını ve temizliğini üstlenmelerinin yanı sıra yemek ve temizlik işleri ile ilgili olmalarını göstermektedir. Köpekle yakın temasta bulunmak hidatik kiste yakalanma olasılığını artıran bir faktör olarak görülmektedir. Doğal olarak köpeğin bulunduğu çevrede yaşamanın bu hastalık bakımından da riski büyük olmaktadır (20,69).

Tablo-6 : Çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda kist hidatiğin en sık görüldüğü yaş grupları ve kadın-erkek oranları

Araştırmacılar (Kaynak no)	Kist Hidatiğin en sık görüldüğü yaş aralığı (Yüzde)	Kadın oranı	Erkek oranı
Karaman (62)	20-39 (%33.3)	%74.2	%25.8
Sarı (63)	21-50 (%77.5)	%60	%40
Delibaş (57)	40-60 (%46)	%63	%37
Kabukçuoğlu (64)	20-39 (%39.42)	%62.5	%37.5
İnceboz (65)	20-39 (%54.9)	%77	%23
Eşgin (61)	31-40 (%45)	%81.44	%18.56
Bu çalışma	40-59 (%39)	%65	%35

Kistik ekinokokkoziste tanı, radyolojik tanı yöntemleri ile konulmaya çalışılmasına rağmen kistin tümör, apse, basit kist gibi diğer yer kaplayan lezyonlarla ayırıcı tanısının yapılabilmesi ve operasyon sonrası nükslerin daha sağlıklı bir şekilde değerlendirilebilmesi için radyolojik tanının serolojik tanı yöntemleri ile desteklenmesi gerekmektedir. Serolojik tanının diğer önemli bir yönü de asemptomatik kist taşıyıcılarının belirlenmesinde ön tarama testi olmasıdır. Bu araştırmalar ile tespit edilecek kişiler ileri tetkikler için

hastanelere sevk edilebilir ve gerekli tedaviyi görebilirler (56). Ancak serolojik yöntemlerin yorumlanmasında yalancı pozitiflik ve çapraz reaksiyonlar da göz önünde bulundurulmalıdır (68).

Uyulması gereken kuralların başında; uygulanan yöntemler için en uygun antijenin seçimi ve antijen hazırlanması gelmektedir. 1963-1964 yıllarında ilk kez Azevedo ve Rombert tarafından IFA'nın kullanılmaya başlanmasından beri ekinokokun kist sıvısı, protoskoleksi, germinal membranı antijen olarak değişik serolojik testler için kullanılmıştır (4). Örneğin kist sıvısı ELISA ve IHA testleri için kullanılırken, protoskoleksi ve germinal membranı da IFA testi için kullanılmış, hala da kullanılmaya devam etmektedir. IFA testinde protoskoleksten antijen hazırlama şekli, hazırlanması en kolay, testlerdeki spesifite ve sensitivitesi yüksek olduğu için en yaygın antijen hazırlama şeklidir. Bununla birlikte çeşitli çalışmalarla kist sıvısı, protoskoleks, germinal membranın antijenik yapısı araştırılarak birbirleri ile kıyaslanmıştır. Şaşmaz ve ark. (38) protoskoleks, kist sıvısı ve germinal membranı kullanarak bunlara ilişkin 8, 20, 45, 57, 68 kD antijenik profilleri SDS-PAGE ve western blot ile ortaya çıkarmışlar ve bu antijenik determinantların, operasyonla hidatik kist olduğu kesinleşmiş hastaların serumlarındaki antikorlarla presipite olduğunu görmüşlerdir. Yine başka bir çalışmada bu 3 antijenik yapıya karşı gelişen immünolojik yanıt araştırılmış ve en iyi yanıtın kist sıvısı ile geliştiği, daha az olarak da germinal membran ve protoskoleks ile olduğu görülmüştür (70).

İmmünflöresan için araştırmacılar tarafından çeşitli şekillerde antijenler hazırlanmıştır; protoskoleksin direkt lamlara yapıştırılması ile bütün protoskoleks antijeni (4,71,72,73), protoskolekslerden frozen cihazıyla kesit alınması ile protoskoleks kesit antijeni (71,74,75), germinal membrandan frozen kesiti alınması ile germinal membran kesit antijeni (71), parafine gömülmüş protoskolekslerden kesit alma (76), erişkin *Echinococcus granulosus*'un direkt flöresan boyanması (77), protoskolekslerin tüp içinde flöresan boyanarak sonra lamlara pipetlenmesi (78) yöntemleri kullanılmıştır.

Şener ve ark. (71) ekinokokkusun çeşitli antijenlerinin diğer barsak parazitleri ile çapraz reaksiyonunu araştırdıkları çalışmalarında protoskoleks kesit antijeni, bütün protoskoleks antijeni ve germinal membran kesit antijenini kullanmışlardır. Germinal membran kesit antijeni ile yaptıkları çalışmada spesifite %100, sensitivite %100, bütün protoskoleks antijeninde spesifite %80, sensitivite %95, kesit protoskoleks antijeninde ise spesifite %97, sensitivite %100 olarak bulmuşlardır. Yani bütün protoskoleks antijeni ve

kesit protoskoleks antijeninde barsak parazitliği ile yalancı pozitifliğe rastladıkları halde germinal membran ile barsak parazitlerinin neden olduğu yalancı pozitifliğe rastlamamışlardır. Bizim çalışmamızda; daha önce yapılan yayınlarda protoskoleks ile aynı antijenik yapıya sahip olduğunun görülmesi ve barsak parazitliği ile çapraz reaksiyonun diğerk antijen hazırlama yöntemlerine göre daha az olması nedeni ile germinal membrandan antijen hazırlandı.

Laboratuvarda hidatik kistin çeşitli antijenik yapıları ile hazırlanan IFA testlerinde değişik sonuçlar elde edilmiştir. Doğanay ve ark. (74) operasyon ile hidatik kist olduğu kesin hasta serumlarında protoskoleks kesit antijeni ile çalıştıklarında spesifite %80, sensitivite %70 olarak bulmuşlar, aynı antijeni koyun serumlarında kullandıklarında spesifite ve sensitivitenin %90 olduğunu görmüşlerdir. Yılmaz ve ark. (4) ise operasyonla hidatidoz teşhisi konan hastalarda bütün protoskoleks antijeni ile %83.3, Şaşmaz ve ark. (73) kist hidatik şüpheli 70 hastanın serumunu bütün protoskoleks antijeni ile çalıştıklarında 32 hastada (%90.6) pozitiflik bulmuşlardır. Parafine gömülmüş protoskolekslerin antijen olarak kullanıldığı bir çalışmada da sensitivite %83.3 olarak bulunurken %2.2 çapraz reaksiyon olduğu görülmüştür (76). Şenlik (72) 300 koyun üzerinde protoskoleks kullanarak hazırladığı IFAT çalışmasında spesifiteyi %92.57, sensitiviteyi %78,95 bulmuştur. Gore ve ark. (79) IFA testi için hem skoleksleri hem hidatik sıvıyı kullanmışlar ve sonuçta skoleksler ile %82, hidatik sıvı ile % 87 pozitiflik elde etmişlerdir. Florez (80) 1978 yılında yaptığı immünfleürosan çalışmasında sensitivite oranını %96 olarak rapor etmiştir.

Kist hidatik olduğu kanıtlanmış bir hasta grubunda yapılan çalışmada ticari olarak sağlanmış IFAT'ın sensitivitesi %82.5, spesifitesi %100 olarak rapor edilmiştir (63). Yine operasyonla kist hidatik olduğu doğrulanmış hastalarda ticari IFAT ile yapılan bir çalışma da %97.1 sero-pozitiflik saptanmıştır (68). Bizim çalışmamızda da operasyonla kist hidatik olduğu kanıtlanmış hastaların serumları hazır IFAT ile çalışıldığında spesifite %100, sensitivite %86 olarak bulunmuştur.

Hidatik kistli hastaların serumları IHA testi ile çalışıldığında farklı sonuçlar elde edilmiştir. Barsak parazitliği olan hastalarda IHA testinin yapıldığı bir çalışmada; fascioliosisli hastaların %2.86'sında, taeniosisli hastaların %5.71'inde, kist hidatikli hastaların %97.7'sinde kist hidatik IHAT pozitif olarak bulunmuştur (68).

Tablo-7: Çeşitli çalışmalarda in-house olarak hazırlanan IFA Testlerindeki spesifite, sensitivite ve pozitiflik oranları

Araştırmacılar (Kaynak no.)	Sensitivite	Spesifite	Pozitiflik
Florez (80)	%96		
Guisantes (76)	%83.3		
Gore (79)	%82-87		
Şaşmaz (73)			%90.6
Yılmaz (4)			%83.3
Doğanay (74)	%70	%80	
Şenlik (72)	%78,95	%92.57	
Bu Çalışma	%80	%100	%80

Benzer bir çalışmada da *Taenia saginata*, *Hymenolepis nana* ve *Ascaris lumbricoides* ile IHA testinin çapraz reaksiyonu araştırılmış ve *T.saginata* ile enfekte hastaların % 35'inde, *H.nana* ile enfekte hastaların %66'sında, *A.lumbricoides* ile enfekte hastaların %25'inde çapraz reaksiyon saptanmıştır (54). Sarı ve ark. (63) kist hidatik olduğu kanıtlanmış hastalarda sensitivitesini %90, spesifitesini %97.5, Koç ve ark. (66) kesin kist hidatikli hastalarda IHAT'nin sensitivitesini %90.5, spesifitesini %90, Saygı ve ark. (81) IHA testinin spesifitesini %92, sensitivitesini %94 olarak bulmuşlar, ayrıca hepatitli, taeniasisli, hymenolepiasisli hasta serumları ile çapraz reaksiyon saptamamışlardır. Şenlik (72) koyun serumlarını kullandığı çalışmasında IHAT'nin spesifitesini %77.03, sensitivitesini %78.28 olarak rapor etmiştir. Casoni testi ile IHA testinin beraber yapıldığı bir çalışmada IHA ve Casoni testlerinin spesifiteleri %47, IHA testinin sensitivitesi %81.8, Casoni testinin sensitivitesi % 63.8 (83) iken kesin kist hidatiği olan hastalarda yapılan bir çalışmada da IHA testinin sensitivitesi %81.2, spesifitesi %100 olarak bulunmuştur (84). Aslan ve ark. (85) kistik ekinokokkozis olduğu şüpheli serum örneklerinde IHAT'ın sensitivitesini %65, spesifitesini %100, Yılmaz ve ark. (4) ise operasyonla hidatidoz

olduğu kanıtlanmış hasta serumlarında IHA testi ile %80.9 pozitiflik bulmuşlardır. Pelaez Hernandez ve ark.(82) hidatik kist olduğu doğrulanmış 50 hastanın serumlarında RAST (Radio-Allergo-Sorbent Assay), Bazofil degranülasyon, IHA, Lateks Aglütinasyon testlerini çalıştıklarında IHAT'nin sensitivitesini %82 olarak rapor etmişlerdir. Ticari IHA testi ile in-house IHA testinin karşılaştırıldığı bir çalışmada ticari IHA testi ile %75, in-house IHA testi ile %83.3 seropozitiflik saptanmıştır (86). Baldelli ve ark. (87) kist hidatik olan 46 hastayı preoperatif ve postoperatif olarak IgE ELISA, İmmünoelektroforez ve IHA testleri ile değerlendirdiği çalışmasında IHA testinin sensitivitesini %79 olarak bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise operasyonla kist hidatik olduğu kanıtlanmış hastalarda IHA testinin spesifitesi %100, sensitivitesi %66 olarak bulundu. Spesifite sonucu diğer yapılmış çalışmalarla benzer olsa da sensitivite sonucu düşüktür. Bu farklılık çalışılan IHA kitinin farklılığından, kistin yerleşim yerinden, niteliğinden, sayısından kaynaklanabilir.

Tablo-8: Çeşitli çalışmalarda yapılan IHA testinin spesifite, sensitivite ve pozitiflik oranları

Araştırmacılar (Kaynak no)	Spesifite	Sensitivite	Pozitiflik
Sarı (63)	%97.5	%90	
Koç (66)	%90	%90.5	
Saygı (81)	%92	%94	
Ray (83)	%47	%81.8	
Aksoy (84)	%81.2	%100	
Aslan (85)	%100	%65	
Yazar (68)			%97.7
Yılmaz (4)			%80.9
Baldelli (87)		%79	
Peláez (82)		%82	
Şenlik (72)	%77.03	%78.28	
Bu çalışma	%100	%66	%66

Sonuç olarak; Testlerin bir hasta başına bir dilüsyon için maliyeti, ticari IHA testinin 3,3 YTL., ticari IFA testinin 3,3 YTL., in-house IFA testinin ise 0,35 YTL 'dir. 1/80 'den 1/2560'a kadar 6 dilüsyon yapıldığında bir hasta başına maliyeti ise IHA testinde 20 YTL., ticari IFA testinde 20 YTL., in-house IFA testinde ise 2.1 YTL'dir. IHA testinin barsak parazitleri ile çapraz reaksiyon verebilmesi ve ticari kitlerinin pahalı olması, ticari IFA kitlerinin protoskoleksten hazırlanması bu nedenle çapraz reaksiyon oluşturabilmesi ve yine pahalı olması, in-house IFAT'ın ise germinal membrandan hazırlandığı için çapraz reaksiyon riskinin diğer testlere göre az olması, hazırlanmasının kolay ve maliyetinin diğer testlere göre 10 kat daha az olması nedeni ile in-house IFA Testi rutin laboratuvar uygulamalarında kullanmak için diğer testlere göre daha avantajlıdır. Bununla birlikte serolojik testlerin sensitivitelerinin %100 olmaması nedeni ile hidatik kist tanısında eğer yapılabilirse başka bir serolojik test ile beraber kullanılması tanının kesin olması için daha doğru olacaktır.

6. ÖZET

Amaç: Operasyonla karaciğer kist hidatiği olduğu kesinleşmiş hastalardan alınan serumları laboratuvarında kendi hazırladığımız IFA testi ve ticari olarak alınmış IFA, IHA kitleri ile çalışarak sonuçlarını karşılaştırmak.

Gereç ve Yöntem: Et entegre tesislerinde kesilip karaciğerinde kist hidatik saptanan koyun karaciğerlerinde bulunan kistlerin germinal membranları ayrıldı. Frozen cihazında 8µm kalınlığında kesitler alındı ve lamlara tespit edildi. Lamlar indirekt Flöresan Antikor Tekniği ile Fluorescein-işaretle IgG globulin (Biomerieux) kullanılarak boyandı. 460-490 nm dalga boyunda flöresan mikroskopunda (Euroimmun EUROStar-1, Almanya) değerlendirildi. Ticari IFA (Euroimmun, Almanya) ve IHA (Fumouze Diagnostics, Fransa) kitleri de prosedürüne uygun olarak çalışıldı.

Bulgular: Çalışılan serumların %66'sı IHAT ile, %86'sı ticari IFAT, %80'ni in-house IFAT ile pozitif bulundu.

Sonuç: Buna göre IHAT'nin spesifitesi %66, sensitivitesi %100, IFAT'ın spesifitesi %86, sensitivitesi %100, in-house IFAT'ın spesifitesi %80, sensitivitesi %100 olarak bulundu. Sonuçlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, ticari IFAT ve in-house IFAT sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

7. SUMMARY

Objective: To compare the results of the sera provided from the patients certainly diagnosed with liver cyst hydatid disease via surgery by investigating through IFA test which we prepared in the our lab, and commercial IFA and IHA kits.

Materials and Methods: Germinal membranes of the cyst in sheep livers diagnosed with liver cyst hydatid and slaughtered in slaughterhouses were separated. The samples were cut off in size of 8 μm in a freezing device and fixed onto the slides. The slides were dyed with indirect Fluorescent Antibody Technique using Fluorescent-labelled IgG globulin (Biomerieux, France). The results were assessed under a fluorescent microscope (Euroimmun EUROstar-1, Germany) in the wavelength of 460-490 nm. Commercial IFA (Euroimmune, Germany) and IHA (Fumouze Diagnostics, France) tests were also studied according to the procedure.

Results: Within all of the sera studied, 66% were found to be positive with IHAT, 86% with commercial IFAT and 80% with in-house IFAT.

Conclusion: In the light of our results, the specificity and sensitivity rates of IHAT were found as 66% and 100%, respectively. The same rates for IFAT were determined as 86% and 100%, respectively. For in-house IFAT, the specificity and sensitivity rates were found to be 80% and 100%, respectively. The difference between the results were found to be statistically significant, whereas the difference between the results of commercial IFAT and in-house IFAT were statistically found to be insignificant.

8. KAYNAKLAR

1. Merdivenci A, Aydınlioğlu K. Hidatidoz (Hidatik kist Hastalığı). İÜ Cerrahpaşa Tıp Fak Yayınları No:97. İstanbul, 1982
2. Kuru C. Kist Hidatiğin Tanısında İnditekt Hemaglutinasyon Yönteminin Değeri (Uzmanlık Tezi). Konya: S.Ü. Tıp Fakültesi, 1998
3. Tınar R. Echinococcosisin Tarihçesi. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Echinococcosis. Hidatidoloji Derneği Yayın No:1. İzmir;2004:1-7.
4. Yılmaz E, Gün H, Kocabeyoğlu Ö, Güngör S, Baydar İ, Güney Ç. Kistik Hidatidoz Tanısında İmmüno Floresan Yöntemin Değeri. Türk Hij Der Biyol Derg 1988;45(2):161-162
5. Üner A. Ekinokok'ların Sistematiği ve Biyolojisi. İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik. 7.Ulusal Parazitoloji Kongresi Özel Yayını. E.Ü. Ofset basımevi. İzmir 1991;13-28
6. Şener S. Cystic Echinococcosis'in (CE) İndirekt Floresan Antikor Testi ile Tanısında Kullanılan Antijenlerin Tanı Değerlerinin Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Kayseri: Erciyes Üniv. Tıp Fak. 2003
7. Unat'ın Tıp Parazitolojisi. Unat EK, Yücel A, Altaş K, Samastı M. Cerrahpaşa Tıp Fak. Yayınları:15.İstanbul.5.Baskı 1995:440-453
8. Altıntaş K. Tıbbi Parazitoloji. Nobel Tıp Kitabevleri 2002;250-256
9. www.todosobrehidatidosis.blogspot.com/2007_11_01 (Son erişim tarihi 06.05.2008)
10. Şenlik B, Diker Aİ. Echinococların Taksonomisi ve Morfolojisi. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Echinococcosis.Hidatidoloji Derneği Yayın no:1.İzmir;2004:13-30
11. www.home.austarnet.com.au/wormman/wltape.htm (Son erişim tarihi 06.05.2008)
12. www.cdfound.to.it/html/echi1.htm (Son erişim tarihi 06.05.2008)
13. www.stanford.edu/.../Echinococcus/lifecycle2.htm (Son erişim tarihi 02.05.2008)
14. Akyol VÇ. Hidatidoz ve Halk Sağlığı Yönünden Önemi. J Fac Vet Med 2001;20:137-142
15. Milicevic M, Saidi F, Sayek İ. Karaciğer Kist Hidatiği. Sayek İ. Temel Cerrahi. Güneş Kitabevi 2004;1317-1318
16. Çivi S, Güler S. Kist Hidatik Nedeniyle Opere Edilen Olgularda Mali Kayıplar.T Parazitol Derg 1995;19(2):230-236
17. Karaman Ü, Miman Ö, Kara M, Gıcık Y, Aycan MA, Atambay M. Kars Bölgesinde Hidatik Kist Prevalansı. T Parazitol Derg 2005;29(4):238-240
18. Kilimcioğlu A, Ok ÜZ. İnsanda Echinococcus Türlerinin Epidemiyolojileri, Coğrafi Yaygınlık ve Türkiye'deki Durum. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Echinococcosis. Hidatidoloji Derneği Yayın no:1.İzmir;2004:129-140
19. Yazar S. Kayseri'de Kistik Ekinokokkozisin Son Altı Yıldaki Durumu. T Parazitol Derg 2005;29(4):241-243
20. Sahip N, Uysal H, Öztoprak A, Ögüt T, Şengür G, Öner YA. 1993-2000 yılları Arasında İstanbul Tıp Fakültesinde İncelenen Kist Hidatik Ön Tanılı Olguların Serolojik Sonuçları. T Parazitol Derg 2001;25(3):236-238
21. Filipou D, Tselepis D, Filippou G, Papadopoulos V. Advances in Liver Echinococcosis:Diagnosis and Treatment. Clinical Gastroenterology and Hepatology 2007;5:152-153

22. King CH. Cestodes (Tapeworms). Mandell G, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases 1989;2544-2552
23. Dökmetaş İ. Hidatik Kist Hastalığı. Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji. Nobel Kitabevi. 2002;815-816
24. Shambesh MA, Craig PS, Macpherson CNL, Rogan MT, Gusbi AM, Eghtuash EF. An Extensive Ultrasound and Serologic Study to Investigate the Prevalance of Human Cystic Echinococcosis in Northern Libya. Am J Trop Med Hyg 1999; 60(3):462-468
25. Daldal N, Özemir N. Kist Hidatik'in Patogenezi. İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik (Echinococcosis). T Parazitol Dern Yayını. E.Ü.Basımevi, İzmir 1991;10:65-76
26. Sırmalı M. Akciğer Kist Hidatikleri ve Cerrahi Tedavisi. Tıp Araştırmaları Dergisi 2005;3(3):46-49
27. Kuman A. Kist Hidatik'in Kliniği. İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik (Echinococcosis). T Parazitol Dern Yayını. E.Ü.Basımevi, İzmir.1991;77-83
28. http://static.flickr.com/24/66191377_cc76d5b660_o.jpg (Son erişim tarihi 04.05.2008)
29. Ece T. Hidatik Kist. Akciğer Hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevi.2002;273-275
30. Yazar S. Kayseri'de Kistik Ekinokokkozis. T Parazitol Derg 2002;26(2):180-182
31. Turgay N, Üstün Ş. Echinococcosisde Immun Cevap. Altıntaş N, Tınar R, Çoker. A. Echinococcosis. Hidatidoloji Derneği Yayın no:1.İzmir;2004;107-113
32. Gönüllü U, Gönüllü T, Akkurt İ. Ekinokok Antijenleri.Akciğer Arşivi 2004;5:162-164
33. Saygı G. Temel Tıbbi Parazitoloji. Esnaf Ofset Matbaacılık. Sivas 1998;158-163
34. Zhang W, Li J, McManus DP. Concepts in Immunology and Diagnosis of Hydatid Disease. Clinical Microbiology Reviews,2003;18-36
35. Köksal F, Serin MS, Kekeç Y, Sadr YE. İnsan ve Hayvan Kökenli Kist Hidatik Sıvılarının SDS-PAGE Metoduyla Analizi ve Westernblot Metodunun Klinik Önemi. T Parazitol Derg 1995;19(2):221-229
36. Madison SE, Slemenda SB, Schantz PM, Fried JA, Wilson M, Tsang VCW. A Spesifik Diagnostic Antigen of Echinococcus granulosus with an Apparent Molecular Weight of 8 KDA. Am J Trop Med Hyg 1989;40(4):377-383
37. Sanchez F, March F, Mercader M, Coll P, Munoz C, Pratz G. Immunochemical Localization of major hydatid fluid antigens in protoscoleces and cysts of Echinococcus granulosus from human origin. Parasite Immunology 1991;13,583-592
38. Şaşmaz E, Hashempoor, Bahar İ H, Yuluğ N. Comparative Antigenic Analysis in Echinococcus Granulosus. T Parazitol Derg 1995;83-87
39. Budak S. Kist Hidatik'te Korunma. İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik (Echinococcosis). T Parazitol.Dern Yayını. E.Ü.Basımevi, İzmir.1991;125-128
40. Hoeprich PD, Jordan CM. Infectious Diseases. Fourth Edition.1989;835-836
41. Çivi S, Güler S, Kesci S. Konya Et Balık Kurumu ve Konet Tesisleri Kayıtlarına Göre Kist Hidatik Nedeni ile Oluşan Ekonomik Kayıplar.T Parazitol Derg 1995;19(2):237-242
42. Şenlik B. Hydatidozis ve Sistiserkozis'te Aşılama. Acta Parasitologica Turcica 2001;25(3):296-300
43. Altıntaş N, Yazar S. Cystic Echinococcosis (CE)'de Tanı. T Parazitol Derg 1999;23(2)160-168
44. Gönüllü U, Gönüllü T, Akkurt İ. Kist Hidatik Tanısında Serolojik Testlerin Değeri. Akciğer Arşivi 2004;5:158-161

45. Kuman HA. Kompleman Fiksasyon Reaksiyonu. Özcel MA, Altıntaş N. Parazit Hastalıklarında Tanı. T Parazitol Dern Yayını 1997;15(7):183-192
46. Özcel MA, Üner A, Ertuğ S. İmmunfluoresans Yöntemi. Özcel MA, Altıntaş N. Parazit Hastalıklarında Tanı. T Parazitol Dern Yayını 1997;15(7):215-239
47. Biava MF, Dao A, Fortier B. Laboratory Diagnosis of Cystic Hydatid Disease. World J Surg 2001;25:10-14
48. Ak M. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Parazit Hastalıklarında Tanı. T Parazitol Dern Yayını 1997;15(7):241-257
49. Altıntaş N, Korkmaz M. İmmünoelektroforez ve immünoelektroforez. Özcel MA, Altıntaş N. Parazit Hastalıklarında Tanı. T Parazitol. Dern Yayını 1997;15(7):261-288
50. Altıntaş N, Yolaşmaz A. Proteinlerin Analizi ve SDS-PAGE. Özcel MA, Altıntaş N. Parazit Hastalıklarında Tanı. T Parazitol Dern Yayını 1997;15(7):321-341
51. Ütük AE, Şimşek S, Köroğlu E. Echinococcus Cinsinin Moleküler Genetik Karakterizasyonu. T Parazitol Derg 2005;29(3):171-176
52. Kısmet K, Kılıçoğlu B, Kuru Ö, Tanyüksel M, Oruç MT, Akkuş MA. Propolis: Potent Bir Skolizidal Ajan. Ulusal Cerrahi Kongresi. Antalya. 2006
53. Özçelik S, Sümer Z, Değerli S, Ozan F, Sökmen A. Sarımsak (Allium Sativum) Özütü Skolizidal Ajan Olarak Kullanılabilir mi. T Parazitol Derg 2007; 31(4): 318-321
54. Daldal N, Aycan ÖM, Atambay M, Karaman Ü. Helminth Saptanan Hastalarda İndirekt Hemagglütinasyon Tekniği ile Kistik Ekinokokkozis Seropozitifliğinin Araştırılması. İnönü Üniv. Tıp Fak. Derg. 2004;11(3):151-154
55. Canda MŞ, Canda T. Ekinokokkozis: 47 Olgunun Sunumu ve Türkiye'nin Ekinokokkozis Sorunu. T Parazitol Derg 1995;19(1):64-66
56. Alkan MZ. Kistik Hidatikte Seroepidemiolojik Araştırmalar. T Parazitol Derg 1994; 18(3): 302-307
57. Delibaş SB, Özkoç S, Şahin S, Aksoy Ü, Akisü Ç. Evaluation of Patients Presenting with a Suspicion of Cystic Echinococcosis to the Laboratory of the Parasitology Department of Dokuz Eylül University Medical Faculty. T Parazitol Derg 2006; 30 (4): 279-281
58. Karaman Ü, Aycan MÖ, Atambay M, Miman Ö, Daldal N. Malatya Temizlik İşçilerinde Antiekinokok Antikorlarının Araştırılması. T Parazitol Derg 2005;29(4):244-246
59. Aldemir OS, Baykan M, Gökçen A. Konya Numune Hastanesinde 1986-1998 Yılları Arasındaki Kistik Hidatik Olgularının Retrospektif Değerlendirilmesi. T Parazitol Derg 2000;24(1):73-75
60. Polat E, Aslan M, Aygün G, İsenkul R, Sağlam GM ve ark. Çiğcilik Yapan İnsanlarda Kistik Ekinokokkozis IgG Antikorlarının Yaygınlığının ELISA ile Araştırılması. T Parazitol Derg 2003;27(1):21-23
61. Eşgin M, Aktaş M, Coşkun Ş. İndirekt Hemagglütinasyon Testi (IHA) Yöntemi ile Kistik Ekinokokkozis Şüpheli Hastaların Serumlarında Antikor Varlığının Araştırılması. T Parazitol Derg 2007;31(4):283-287
62. Karaman Ü., Daldal N, Atambay M, Aycan MÖ. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 1999-2002 Tarihleri Arasında İncelenen Hidatik Kistik Ön Tanılı Olguların Serolojik Sonuçları. İnönü Üniv. Tıp Fak. Derg 2002;9(4):233-235
63. Sarı C, Ertuğ S, Ertabaklar H. Kistik Ekinokokkozis'in Serolojik Tanısında ELISA, IHA, IFAT ve Western Blot Yöntemlerinin Karşılaştırılması Olarak Değerlendirilmesi. 13. Ulusal Parazitoloji Kongresi 2003 Konya

64. Kabukcuoğlu S, Tel N, Tünerir B, Işıksay S, Erişgen Ç. 208 Kist Hidatik Vakasında Retrospektif Bir Çalışma. T Parazit Derg 1996;20(1):51-55
65. İnceboz T, Üner A. Manisa Devlet Hastanesinde Saptanan Uniloküler Kistik Ekinokokkozis Olguları. T Parazit Derg 2000;24(1):29-32
66. Koç NA, Kılıç H, Sözüer E, Taheri DJ. Kist Hidatik Tanılı Olgularda İndirekt Hemagglütinasyon Yönteminin Önemi ve Seropozitiflik Oranı. T Parazit Derg 1996;20(1):57-60
67. Şaşmaz E, Sayan M, Doğan Y, Bahar İ E, Yuluğ N. Kist Hidatik Şüpheli Hastalarda Anti-Echinococcus Granulosus Antikorlarının Araştırılması. T Parazit Derg 1995;19(4):483-486
68. Yazar S, Altıntaş N. Cystic Echinococcosis (CE)'in Serolojik Tanısında Karşılaşılan Çapraz Reaksiyonların Araştırılması. T Parazit Derg 1999;23(2):129-132
69. Yazar S, Altıntaş N. İnsanda Cystic Echinococcus Tedavisi. T Parazit Derg 1999;23(3):255-261
70. Şaşmaz E, Doğan Y, Sayan M, Bahar İH, Yuluğ N. Isolation and Functional Characterization of Murine T cell Lines Specific For Echinococcus Granulosus. T Parazit Derg 1995;215-220
71. Şener S, Yazar S, Şahin İ. Cystic Echinococcosis'in (CE) İndirekt Floresan Antikor Testi (IFAT) ile Tanısında Kullanılan Antijenlerin Tanı Değerinin Araştırılması. Erciyes Üniv. Sağlık Bilimleri Derg. 2004;13(1):1-6
72. Şenlik B. Koyunlarda Hidatidoz'un Teşhisinde İndirekt Floresan Antikor (IFA) ve İndirekt Hemagglütinasyon (IHA) Testlerinin Kullanımı. T Parazit Derg 2000;24(4):408-413
73. Şaşmaz E, Sayan M, Doğan Y, Bahar İH, Yuluğ N. Kist Hidatik Şüpheli Hastalarda Anti-Echinococcus granulosus Antikorlarının Araştırılması. T Parazit Derg 1995;19(4):483-486
74. Doğanay A. İnsan ve Koyunlarda Hidatidozun İndirekt Floresan Antikor Tekniği ile Teşhisi. Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu Müdürlüğü. 2001.
75. Lomheh F. Immunofluorescence in the Serodiagnosis of Human Hydatidosis. Acta Med Iran. 1977;20(1-2):27-35
76. Guisantes JA, Vicente F. Paraffin Embedded "Echinococcus granulosus" Protoscoleces as Suitable Antigen in the Indirect Immunofluorescence test for Human Hydatid Disease. Boll Ist Sieroter Milan 1983;31;62(1):85-90.
77. Singh BP, Dhar DN. İndirekt Floresant Antibody Test for the Detection of Antibodies to Echinococcus granulosus in Experimentally Infected Pups. Veterinary Parasitology 1988;28:185-190
78. Beggs WA, Fischman A. A Preserved Antigen for the Hydatid Florescent-Antibody and Other Utilizing Scolices. Bulletin Of The World Health Organization 1970;42(2):331-332
79. Gore RW, Sadun EH, Hoff R. Echinococcus granulosus and Echinococcus multilocularis Soluble Antigen Florescent Antibody Test. Experimental Parasitology 1970;28:272-279
80. Flórez G, Sanchez C, Albala F. Immunological Diagnosis of Echinococcosis. Childs Brain 1978;4(4):189-94
81. Saygı G, Özçelik S. Kist Hidatik Tanısında İndirekt Hemagglütinasyon Deneyinin Duyarlılığı ve Özgüllüğü. T Parazit Derg 1990; 14 (1): 21-26
82. Peláez HA, Sastre SA, Morales C, Martínez PML, Basomba RA. A Comparative Study of the RAST, İndirekt Hemagglutination, Basophil Degranulation and Latex Tests in the Diagnosis of Human Hydatid Disease 1988;16(2):109-12.
83. Ray R, De PK, Karak K. Combined Role of Casoni Test and İndirekt Hemagglutination Test in the Diagnosis of Hydatid Disease. Indian J of Med Microbiol 2002;20(2):79-82

84. Aksoy Ü, İnci A. Kistik Ekinokokkozisin Serolojik Tanısında in-house Enzim İmmün Yöntemi ve İndirek Hemaglutinasyon Yönteminin Kullanılması. Mikrobiyol Bült 2004;38:245-251
85. Aslan M, Polat E, Aygün G, Sağlam GM, Kocazeybek B, Altaş K. Kistik Ekinokokkozis Şüpheli Serum Örneklerinde IHA, ELISA IgG ve Kendi Hazırladığımız ELISA IgG Test Sonuçlarının Karşılaştırılması. T Parazitol Derg 2003;27(2):122-124
86. Dayangaç N, Demirci M, Korkmaz M. Kist Hidatid Tanısında Kullanılan Ev Yapımı ve Ticari İndirekt Hemaglutinasyon Testinin Karşılaştırılması.13. Ulusal Parazitoloji Kongresi 2003, Konya
87. Baldelli F, Papili R, Francisci D, Tassi C, Stagni G, Pauluzzi S. Post Operative Surveillance of Human Hydatidosis Evaluation of Immunodiagnostic Tests. Pathology 1992;24:75-79

9.TEŞEKKÜR

Eğitimim boyunca benden yardımlarını esirgemeyen ve çalışmalarımda destek olan tez hocam Sayın Prof. Dr. Mahmut Baykan'a, asistanlık süresince bilgi ve deneyimlerini bizimle paylaşarak katkı sağlayan anabilim dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Bülent Baysal'a, bilgileriyle bana yön veren hocalarımız Sayın Prof. Dr. İnci Tuncer'e, Sayın Prof. Dr. Duygu Fındık'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Mehmet Özdemir ve Uzm.Dr. Uğur Arslan'a, S.Ü. Veterinerlik Fakültesi öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Ferda Sevinç'e, yanlarında Nükleer Tıp rotasyonu yaptığım hocalarım Doç. Dr. Oktay Sarı ve Yrd. Doç. Dr. Güngör Taştekin'e, beraber çalıştığımız asistan arkadaşlarıma, tüm mikrobiyoloji teknisyen ve personeline, hayatım boyunca hep yanımda olan anneme ve babama, bana her zaman destek olan sevgili eşime ve kızlarıma teşekkür ederim.