

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**KİSTİK EKİNOKOKKOZİSLİ HASTALARIN
TANI VE TAKİBİNİN
ELISA VE WESTERN BLOT YÖNTEMLERİYLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Elif GÜNEYSU

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Dinçer AYZAZ

İkinci Danışmanı : Prof. Dr. Nazmiye ALTINTAŞ

Biyoloji Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 401.04.00

Sunuş Tarihi : 26.08.2013

Bornova-İZMİR

2013

Elif GÜNEYSU tarafından Yüksek lisans tezi olarak sunulan ‘Kistik Ekinokokkozisli Hastaların Tanı ve Takibini Elisa Ve Western Blot Yöntemleriyle Değerlendirilmesi’ başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 26.08.2013 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri üyeleri

İmza

Jüri başkanı	:Prof. Dr. Dinçer AYAZ
Raportör üye	:Prof. Dr. Hüseyin ARIKAN
Üye	:Doç. Dr. Ayşegül ÜNVER

ÖZET**KİSTİK EKİNOKOKKOZİSLİ HASTALARIN TANI VE
TAKİBİNİN
ELISA VE WESTERN BLOT YÖNTEMLERİYLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

GÜNEYSU, Elif

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Dinçer AYZ

İkinci Danışmanı: Prof. Dr. Nazmiye ALTINTAŞ

Ağustos 2013, 99 sayfa

Kistik ekinokokkozisin tanısı radyolojik tanı yöntemleri ile konulmaya çalışılmasına rağmen kistin tümör, apse, basit kist gibi diğer yer kaplayan olgularla ayırıcı tanısının yapılabilmesi ve operasyon sonrası nükslerin daha sağlıklı bir şekilde değerlendirilebilmesi için ön tanının serolojik tanı yöntemleriyle desteklenmesi gerekmektedir.

Çalışmamızın amacı; ameliyat öncesi, ameliyat sonrası, PAIR öncesi ve sonrasını kapsayan dönemde farklı iki antijen (kist sıvısı ve protoskoleks eriyik antijeni) kullanarak hastaların tanı ve takibinde IgG, IgG4 ve IgE spesifik antikorlarının ELISA ve Western Blot (WB) yöntemleri ile araştırılmasıdır. Böylece KE'li hastaların tanı ve takibinde heriki testin ve spesifik antikorların yeri değerlendirilmiştir.

Çalışmaya 2009-2013 yılları arasında kist hidatik olduğu cerrahi operasyon ya da PAIR işlemi ile saptanan 12'si (%54.5) kadın, 10'u (%45.4) erkek 22 hasta dahil edilmiştir.

Cerrahi operasyon geçirmiş (11 hasta) ya da PAIR işlemi yapılmış (11 hasta) 22 hastadan operasyon öncesi, operasyondan sonraki birkaç gün içerisinde, 6 ay ve 4 hastadan 12 ay sonra, PAIR hastalarından ise PAIR işlemi yapıldığı gün, 6 ay sonrası, ikişer hastadan ise 12 ay ve 18 ay sonrası kan örnekleri alınmıştır. Toplam 62 serum örneğine, kist sıvısı ve protoskoleks eriyik antijeni kullanılarak ELISA-IgG, ELISA-IgG4 ve ELISA-IgE ile WB yöntemleri uygulanmıştır.

ELISA-IgG ile 22 hastanın 18'i pozitif (1/160 ile 1/10.000) 4'ü negatif bulunmuştur. Negatif çıkan hastaların ikisi Ce1 (aktif), ikisi Ce4 (inaktif) tiptedir.

ELISA-IgE kist sıvısı antijeni ile hastaların 9'unda, protoskoleks antijeni ile hastaların 8'inde pozitif bulunmuştur.

ELISA-IgG4 5 hastada (2'si cerrahi, 3'ü PAIR) pozitif bulunmuştur.

IgG-WB ile *Echinococcus*'a özgü 6-8 kDa, 16-18 kDa, 24-26 kDa luk bantlarla 38 kDa ve 203 kDa bantlar da elde edilmiştir. Toplam 62 stripten yalnızca 3'ünde *E. granulosus*'a özgü 7-8 kDa ağırlığındaki proteinin varlığı görülmemiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz 203 kDa luk proteinin hastalığın tanı ve takibinde önemli olabileceğini düşünmekteyiz. Ancak bunun için daha uzun süreli takip ve çalışma yapılması gerekmektedir.

Sonuç olarak; herhangi bir nüks olayını engellemek ve erken tanı koymak için takiplerin uzun yıllar sürmesi, hastanın klinik bulguları ile birlikte radyolojik ve sensitivitesi, spesifisitesi yüksek birden fazla (ELISA ve WB) serolojik yöntem kullanılarak spesifik IgG ve IgG4 antikörlerinin değerlendirilmesi yararlı olacaktır.

Anahtar kelimeler: *Echinococcus granulosus*, ELISA, WB, IgG, IgG4, IgE

ABSTRACT

EVALUATION OF CYSTIC ECHINOCOCCOSIS PATIENTS' DIAGNOSIS AND FOLLOW UP WITH ELISA AND WESTERN BLOT ASSAYS

GÜNEYSU, Elif

MSc in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Dinçer AYZAZ

Co-Supervisor: Prof. Dr. Nazmiye ALTINTAŞ

August 2013, 99 pages

Although trying to diagnose of Cystic Echinococcosis with the radiological diagnosis methods, it is necessary to support of pre-diagnosis with serologic diagnosis methods for making its distinctive diagnosis with the other existing cases like tumor, abscess, and simple cyst and for evaluating of the after operation recurrences more healthy way.

Aim of our study; to research of IgG, IgG4, and IgE specific antibodies with ELISA and Western Blot (WB) methods for diagnose and follow up of the patients by using two different antigens (cysts fluid and protoskolex crude antigen) at the period which covers before operation, after operation, before, and after PAIR. Thus, place of both tests and specific antibodies at diagnose and follow up of CE patients has been evaluated.

22 patients whose 12 of them (54.5%) and 10 (45.4%) have been determined as cyst hydatid with surgery or PAIR operation has been included into the study between 2009-2013.

Blood samples have been taken from 22 patients who passed surgery (11 patients) or PAIR operation has applied (11 patients) before the operation, a few days and 6 months after the operation, 12 months after the operation from 4 patients. Blood samples have been taken from the patients who passed PAIR operation at the day of PAIR operation, after 6 months, after 12 and 18 months after the operation from 2 patients. ELISA-IgG, ELISA-IgG4, ELISA-IgE and

WB methods have been applied to totally 62 serum samples by using cystic fluid and protoskolex crude antigen.

18 of the 22 patients (1/160 and 1/10.000) have been found positive and 4 of them has been found negative with ELISA-IgG. Two of the negative patients are Ce1 (active) and other 2 are Ce4 (inactive) types.

Nine of the patients have been found positive with ELISA-IgE cystic fluid antigen and 8 of the patients have been found positive with protoskolex crude antigen.

ELISA-IgG4 has been found positive at 5 patients (2 of them are surgery and 3 of them are PAIR).

6-8 kDa, 16-18 kDa, 24-26 kDa bands and 38 kDa, 203 kDa bands specific to *Echinococcus* have been obtained with IgG-WB. Presence of protein which is specific to *E. granulosus* and with 7-8 kDa weight has been noticed only 3 of the totally 62 stripes. We think that protein with 203 kDa which we obtained at our study might be important for diagnose and follow up of the illness. However it is necessary to make a follow and study for longer period for this.

In conclusion; it might be useful to evaluate of specific IgG and IgG4 antibodies by using of more than one serological method with high specificity, radiological and sensitivity with the clinical findings of the patient, to continue of follow up activities over many years to prevent any recurrence case and to diagnose early.

Keywords: *Echinococcus granulosus*, ELISA, WB, IgG, IgG4, IgE

TEŞEKKÜR

Çalışmada emeği geçen sayın hocalarım Prof. Dr. Nazmiye Altıntaş'a ve Prof. Dr. Dinçer Ayaz'a sonsuz teŖekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca emeği geçen Ege Üniversitesi Tıp Fakóltesi Genel Cerrahi Anabilimdalı'ndan sayın Doç. Dr. Murat Sözbilen ve ekibine, Radyoloji Anabilim Dalı Girişimsel Radyoloji'den sayın Prof. Dr. İsmail Oran ve ekibine, laboratuvar çalışmalarımda yardımcı olan tüm arkadaşlarıma sonsuz teŖekkür ederim.

Eğitim ve öğrenim hayatım boyunca bana maddi manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme sonsuz teŖekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 Tarihçe	2
2.2 Taksonomi ve Türler	3
2.3 <i>E.granulosus</i> 'un Suşları.....	5
3. <i>ECHINOCOCCUS GRANULOSUS</i> İLE İLGİLİ BİLGİLER	8
3.1 Morfoloji.....	8
3.2 Evrim	15
3.3 Bulaşım Yolları	22
3.4 Epidemiyoloji.....	23

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.4.1 Dünyadaki epidemiyolojisi	24
3.4.2 Türkiyedeki epidemiyolojisi	25
4. KİSTİK EKİNOKOKKOZİS KLİNİĞİ	28
4.1. Belirtileri	28
4.2 Tanı	31
4.3 KE İmmunolojisi	43
4.4 Tedavi	45
4.5 Kontrol ve Korunma	46
5. MATERYAL- METHOD	49
5.1 Materyal	49
5.2 Method	51
6. BULGULAR	57
7. TARTIŞMA	71
8. SONUÇ	76
KAYNAKLAR DİZİNİ	77
ÖZGEÇMİŞ	84

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. <i>Echinococcus</i> türlerinin karşılaştırmalı morfolojik özellikleri	4
3.1. <i>Echinococcus</i> genel görünüm	9
3.2. <i>Echinococcus granulosus</i> yumurtası	10
3.3. <i>Echinococcus</i> çimlenme kapsülü.....	13
3.4. <i>E.granulosus</i> 'un kesin konak(köpek)teki gelişim evreleri	18
6.1. Olguların yaşadıkları illere göre dağılımı	58
6.2. Olguların mesleklere göre dağılımı.....	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. <i>E.granulosus</i> 'un suşları ve özellikleri	6
2.2. <i>Echinococcus</i> türlerinin karşılaştırmalı özellikleri.....	7
6.1.Olguların yaş gruplarına göre cinsiyet dağılımı.....	57
6.2. Olguların hastalık süresince meydana gelen yakınmaları	59
6.3. Olguların köpek besleme öyküsü	59
6.4. Olguların hayvancılık yapma öyküsü.....	59
6.5. Olguların kesim yapma ve kisti tanıma öyküsü	60
6.6. Olguların ilaç kullanım durumları.....	60
6.7. Olguların kist lokalizasyonları	60
6.8. Olguların kist tipleri lokalizasyonları.....	61
6.9. Kist sıvısı ve Protoskoleks antijeni kullanılarak saptanan IgG-ELISA sonuçları.....	64
6.10. Kist sıvısı ve Protoskoleks antijeni kullanılarak saptanan IgE-ELISA sonuçları.....	65
6.11. Kist sıvısı ve Protoskoleks antijeni kullanılarak saptanan IgG4-ELISA sonuçları.....	66

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
6.12. Hastalarda IgG-WB ile elde edilen bantlar	70

KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltma</u>	<u>Açıklama</u>
APS:	Amonyum persülfat
BSA:	Bovine Serum Albumine
BT:	Bilgisayarlı Tomografi
CB:	Kazein Buffer
KE :	Kistik Ekinokokkozis
DSÖ:	Dünya Sağlık örgütü
ELISA:	Eynzyme Linked Immunosorbent Assay
FAO:	Food and Agriculture Organisation
ID:	Immundefuzyon
IE:	Immunelektroforez
IFAT:	İndirekt Floresan Antikor Testi
IHA:	İndirekt Hemaglutinasyon
KIBAS:	Kafa içi basıncı artışı
LAT:	Lateks Aglutinasyon Testi
MR:	Magnetik Rezonans
US:	Ultrasonografi
PAIR:	Puncture, Aspiration, Injection, Reaspiration
PBS:	Fosfat Buffer Saline
SDS-PAGE:	Sodyum Dodesil Sülfat- Poliakrilamid Jel Elektroforezi
TBS:	Tris Buffer Saline
WB:	Western Blot
WHO:	World Health Organisatio

1. GİRİŞ

Dünyada ve ülkemizde özellikle hayvancılığın yaygın olduğu bölgelerde sık görülen Kistik Ekinokokkozis (KE) insanlar için sağlık ve ekonomik sorunlar oluşturmaktadır. 1861 yılından beri bilinen en eski ve önemli paraziter hastalıklardan biridir.

Önemli bir halk sağlığı sorunu olan KE ile ilgili veriler genellikle hastane kayıtlarına dayanmakta olup, toplumsal tarama şeklindeki araştırmalar neredeyse yok denilecek kadar azdır. Bu da kistlerin spesifik bir belirti vermeden yıllarca büyüebilmesinden kaynaklanmaktadır.

Hastalığın asemptomatik seyretmesi, erken tanı olasılığını düşürmekte dolayısıyla kistin tanınması herhangi bir rutin kontrol esnasında ya da başka bir hastalığın tedavisi sırasında yapılabilmektedir.

Hastalığı tanı yöntemlerinden başlıcaları; serolojik yöntemler, moleküler yöntemler ve radyolojik görüntüleme yöntemleridir. Moleküler yöntemler maliyetin yüksek olması ve uygulama alanlarının kısıtlı olması sebebiyle pek tercih edilmemektedir. Radyolojik görüntüleme yöntemleri daha sık kullanılmaktadır, ancak oluşmuş kistlerin basit kist, tümör gibi oluşumlardan ayırt edilmesi zor olduğundan serolojik yöntemlerle desteklenmektedir. Serolojik yöntemlerin temeli; hastaların kan serumu içinde bulunan, parazite karşı ortaya çıkmış immunoglobulinleri belirlemektir. *Echinococcus* türlerinin varlığından dolayı ortaya çıkan antikorların, diğer bir etkenin oluşturduğu antikorlardan ayrılmasına spesifite (özgüllük), bu antikorların belirlenebilme kapasitesine ise sensitivite (duyarlılık) denilmektedir. Sensitivite ve spesifite değerleri, kullanılan antijenlere, kistin canlı olup olmamasına, lokalizasyonuna ve türün suşuna bağlı olarak değişmektedir. Bu yöntemlerde kistin lokalizasyonu ya da büyüklüğü belirlenemediğinden serolojik ve görüntüleme yöntemlerinin beraber kullanımı tercih edilmektedir.

Kullanılan serolojik testlerden ELISA (Enzyme Linked İmmunasorbent Assay) ve WB (Western Blot- İmmunoblotting) sensitivite ve spesifite değerleri en yüksek testler olup çalışmamızda KE'li hastaların tanı ve takibinde farklı iki antijen (kist sıvısı ve protoskoleks eriyik antijeni) kullanılarak, spesifik IgG, IgG4 ve IgE antikorları araştırılarak bu testlerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Echinococcus granulosus'un larva evresi olan Hidatik kist çok eski zamanlardan beri bilinmektedir. Hippocrates (MÖ 460-347) sığır ve domuzda Kistik Ekinokokkozis (KE)'in varlığını bildirip insan karaciğerinde saptadığı KE'i su kesesi, su dolu kese anlamındaki "Jecur aqua repletum" ile tanımlamıştır. Aristoteles (MÖ 384-322), KE'nin karaciğer ve akciğerde yıkım yaptığını dikkat çekmiştir. Galenos (131-201), sığırların karaciğerinde çok kez gördüğü "hidatik kese" lerini insanda da gördüğünü bildirmiştir (Merdivenci, 1982; Yazar, 1998).

İ.Ö 16.yüzyıldaki eski Mısır hekimliğinde bilgi içeren Ebers Papirusu'nda "intestinal taeniosis" den bahsedilmektedir. Yine İsa'dan önceki yıllarda kesimi yapılan hayvanların iç organlarında içi sıvı dolu keseler görülmüştür (Altıntaş, 2004)

Anadolu'da ise Hippocrate, Arataeus ve Galen hayvan ve insanlarda su dolu keselerin varlığını keşfetmiş fakat bunların ne olduğu uzun süre anlaşılamadığından tümör veya dokunun kiste dönüşümü olarak yorumlanmıştır (Altıntaş, 2004; Özdemir, 2005).

İlk kez 1684'de Francesco Redi, 1685'de PJ Hartmann, 1691'de Tyson tarafından KE'in zoonotik olduğu ortaya atılmıştır. Erişkin *Echinococcus* ise dünyada ilk defa 1694'de Hartmann tarafından köpeklerin bağırsağında gösterilmiştir. 1760'da Pallas (1741-1811) ekinokok kesesinin parazit özelliğini bildirip, seröz keselerle ekinokok keselerinde oluşan yavru keseleri tanımlamış ve 1766 yılında da insan ve hayvanlarda görülen hidatik kistlerdeki yapısal benzerlik üzerinde durulmuştur. Goeze 1780'de hidatik kistte *Echinococcus*'un skolekslerinin varlığını saptamış ve bunlarla *Coenurus* skolekslerinin ayrımını yapmış, 1782'de ise skoleksleri ve çengellerini inceleyerek bunlar hakkında ayrıntılı bilgi vermiştir. 1786'da Batsch, köpek bağırsağında yaşayan küçük şerit türü ile evcil hayvanların ve insanın değişik organlarında meydana gelen hidatik keselerin aynı parazite ait farklı gelişim evresi olduklarını ilk kez ortaya koyup oluşan keseye *Hydatigena granulosa* adını vermiştir (Merdivenci, 1982; Yazar, 1998).

Cinsin özellikleri ise ilk defa 1801 yılında İsveçli C.A. Rudolphi tarafından tarif edilmiştir ve 1810 yılında ise türü *Echinococcus hominis*, *Echinococcus veterinorium* ve *Echinococcus simiae* olmak üzere üçe ayırmıştır (Altıntaş, 2004).

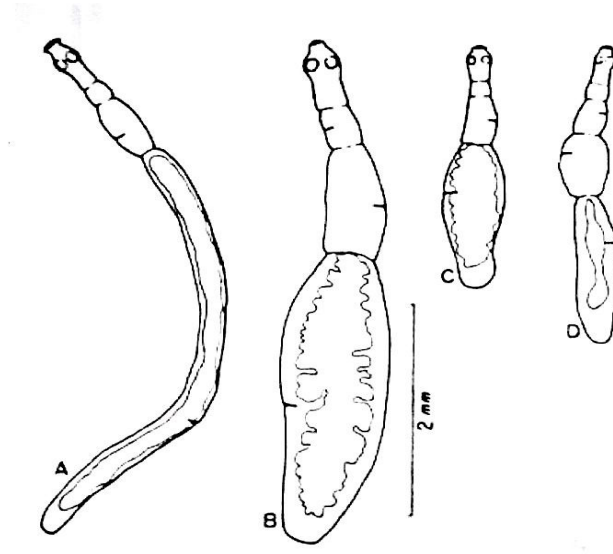
1853'te Siebold, ekinokokun köpektaki şerit şekli ile evcil kasaplık hayvanlardaki kese şekli arasındaki biyolojik ilişkiyi deneysel olarak göstermiştir. Ayrıca parazitin 6 çengelli embriyosunu göstererek parazitin aydınlatılmasına ilişkin ilk ciddi adımı atmıştır (Merdivenci, 1982; Yazar, 1998).

Echinococcus granulosus tür adı, Batsch'ın (1786) koyunlarda hidatik kist tanımlamalarından çıkmışsa da *E. granulosus*'un klasik tanımı Vogel (1957) tarafından Almanya'da yapılmıştır. Ancak Alman domuz/köpek orijinli erişkinlere dayanan bu tanımın *E. granulosus*'u temsil etmesi düşünülemez. Çünkü Vogel'in materyalinin morfolojik özellikleri, Avrupa'da ortaya çıkan, genetik ve fenotipik olarak farklı bir taksonomide olan domuz suşunun erişkinine aittir. Sonuç olarak, *E. granulosus*'un alt türleri için Williams ve Sweatman (1963) tarafından yapılan Yeni Zelanda koyun/köpek orijininin materyaline dayanan tanımlama en uygun olanıdır. Bu türün içindeki varyantlar, açık bir şekilde koyun (G1), Tazmanya koyunu (G2) ve manda suşlarını (G3) içermektedir. Bunların üçü de, geniş coğrafik dağılımlara sahiptir, ara konak özelliği göstermezler ve simpatrik bir şekilde ortaya çıkarlar. Bu yüzden, ayrı alt türler olarak tanımlanamazlar ve eldeki deliller bunların ayrı tür tanımlaması düşüncesini doğrulamamaktadır (Özcel, 2009).

Bu yüzden moleküler çalışmalar, taksonomi, *Echinococcus* filojeni ve moleküler epidemiyolojisi üzerinde muazzam bir gelişmeye neden olmuştur. *Echinococcus* türlerinin moleküler tanımlamasını ve önceki çalışmaların sonuçlarını olduğu kadar farklı konak topluluklarında sürdürülmesiyle ilgili birçok sorunun da cevaplanmasını büyük ölçüde desteklemektedir (Özcel, 2009).

2.2. Taksonomi ve Türler

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda *Echinococcus* cinsi içinde toplam 16 tür ve 13 alt tür bulunduğu ileri sürülmesine rağmen, bunların ayrı birer tür ve alt tür oldukları biyolojik olarak doğrulanmamış olup, çoğunun geçersiz ve birbirinin sinonimi olduğu bildirilmektedir (Altıntaş, 2004; Thompson, 1995).



Şekil 2.1. *Echinococcus* türlerinin karşılaştırmalı morfolojik özellikleri (Eckert ve ark., 1984)

A. *Echinococcus vogeli*

B. *Echinococcus granulosus*

C. *Echinococcus oligarthrus*

D. *Echinococcus multilocularis*

Echinococcus cinsinin taksonomik olarak doğrulanmış 4 türü bulunmaktadır: *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis*, *Echinococcus vogeli* ve *Echinococcus oligarthrus*. Bu türlerin sistematikteki yeri aşağıdaki gibidir:

Alem: Animalia

Şube: Platyhelminthes

Grup: Invertebrata

Sınıf: Cestoda

Altsınıf: Eucestoda

Takım: Cyclophyllidea (Taenioidea)

Aile: Taeniidae (Ludwig, 1886)

Cins: *Echinococcus* (Rudolphi, 1801)

Tür: 1. *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786)

2. *Echinococcus multilocularis* (Leuckart, 1863)

3. *Echinococcus oligarthrus* (Diesing, 1863)

4. *Echinococcus vogeli* (Rausch ve Bernstein, 1972)

(Göçmen, 2000; Altıntaş, 2004)

Beşinci tür olarak ileri sürülen *E. cruzi*'nin *E. oligarthrus* ile aynı olduğu gösterilmiştir (Altıntaş, 2004; Yazar, 1998). *Echinococcus* türlerinin karşılaştırmalı özellikleri Tablo2.2. de görülmektedir.

2.3. Suşlar

Suşlar; bir veya daha fazla sayıda özelliği bakımından birbirinden ayırt edilebilen tür toplulukları, morfolojik ve biyolojik özellik olarak farklılık gösteren lokal popülasyonlar veya farklı konak türleri ile sınırlı intraspesifik çeşitlilikler olarak tanımlanmıştır. Ancak *Echinococcus* türleri için en ideal suş tanımı, aynı türün diğer gruplarından gen frekansları yönünden ve hastalığın epidemiyoloji ve kontrolünde potansiyel öneme sahip bir veya daha fazla karakter yönünden istatistiksel olarak farklılık gösteren çeşitlilikler şeklinde yapılabilir. Gen frekanslarındaki farklılıklar nedeniyle suşlar arasında sınırlı da olsa bir gen akışı bulunduğu dair deliller mevcuttur. Bu sınırlı gen akışı, suşların ayırımında pratik öneme sahip olan karakterlerdeki farklılıkların genetik temellerinin anlaşılmasında bir gösterge olarak kullanılabilir. Bu tanıma göre bir suş, bir veya daha fazla popülasyon ihtiva edebilir. Örneğin; *E.granulosus*'un evcil koyun suşu (G1) dünyanın farklı bölgelerindeki koyun popülasyonlarını enfekte edebilir. Fakat popülasyonlar arasındaki gen değişimi sınırlıdır ve bunlar gen frekansları bakımından farklılık gösterebilirler, ancak bu popülasyonlar önemli karakterler bakımından farklılık gösterene kadar suş olarak adlandırılmazlar. Benzer şekilde bazı alt türlerin suş olarak ifade edilebileceğini ileri süren görüşler olmasına rağmen tersini savunan görüşler de vardır. Burada önemli olan enfeksiyonun epidemiyoloji ve kontrolünde potansiyel öneme sahip bir veya daha fazla karakter yönünden farklılığın bulunup bulunmamasıdır. Konak spesifitesi suşları tanımlamak için zorunlu değildir. Örneğin; Avustralya ana karasında *E.granulosus*'un evcil koyun suşu birçok ara konağı enfekte edebilirken ana karada ve Tazmanya'da bulunan farklı suşlar da aynı konağı kullanabilmektedir

Yapılan çalışmalarda değişik bölgelerde farklı ara konaklardan orjin alan *Echinococcus* türlerinin popülasyonlarında morfolojik, biyolojik, fizyolojik ve biyokimyasal yönden bazı farklılıkların bulunduğu saptanmış, bunların belirli ara konaklara bağlı farklı *Echinococcus* suşları olabileceği belirtilmiştir. Nitekim *E.granulosus*'un genetik farklılıklara sahip değişik suşlarının bulunduğu, buna

karşın *E.multilocularis*'teki farklılıkların daha sınırlı olduğu, *E.vogeli* ve *E. oligarthrus*'ta ise bugüne kadar böyle bir varyasyona rastlanmadığı kaydedilmiştir. Son yıllarda yapılan moleküler çalışmalar *Echinococcus* cinsinin farklı özelliklere sahip 10 adet suşunun olduğunu göstermektedir. Bu suşların epidemiyolojisi tablo 1'de gösterilmiştir (Altıntaş, 2009).

SUŞ	SON KONAK	ARA KONAK	İNSANLARA KARŞI	COĞRAFİ DAĞILIMI
Koyun (G1)	Köpek, tilki, dingo, çakal, sırtlan	Koyun, keçi, sığır, deve, domuz, makropod	Enfektif	Kuzey, Orta ve Güney Amerika, Avrupa, Afrika, Asya, Avustralya
Tazmania koyun (G2)	Köpek, tilki	Koyun, sığır (?)	Enfektif	Tazmania, Arjantin, Romanya, Hindistan
Manda (G3)	Köpek, tilki (?)	Manda, sığır (?)	Enfektif	Asya, Avrupa
At (G4)	Köpek	At ve diğer tek tırnaklılar	Düşük veya değil	Avrupa, Ortadoğu, Güney Afrika, Yeni Zelanda, Amerika, Avrupa
Sığır (G5)	Köpek	Sığır	Enfektif	Orta Avrupa, Rusya, Güney Afrika, Hindistan, Sri Lanka
Deve (G6)	Köpek	Deve, koyun	Enfektif	Ortadoğu, Afrika, Arjantin, Çin
Domuz (G7)	Köpek	Domuz	Enfektif	Avrupa, Rusya, Orta Amerika
Geyik (G8)	Kurt, köpek	Geyikler	Enfektif	Kuzey Amerika, Avrasya
İnsan (G9)	(?)	İnsan	Enfektif	Polonya
Fenokandian geyik suşu (G10)	Kanideler	Geyikler	Asemptomatik	Finlandiya
Arslan	Arslan	Manda, yaban domuzları, yaban öküzü, antilop, zebra,	(?)	Afrika
Tavşan	Gri tilki	Yabani tavşanlar	(?)	Güney Amerika

Tablo 2.1 . *E. granulosus*'un suşları ve özellikler

Morfolojik özellikler	<i>E.granulosus</i> (Batsch, 1786)	<i>E.multilocularis</i> (Leuckart, 1863)	<i>E.vogeli</i> (Raush ve Bernstein, 1972)	<i>E.oligarthus</i> (Diesing, 1863)
Strobila uzunluğu (mm)	2-7(nadiren11)	1.2-4.5	3.9-5.5	2.2-2.9
Scolex çapı (mm)	0.26-0.36	0.24-0.29	-	-
Çekmenlerin çapı (mm)	0.10-0.13	0.105-0.125	-	-
Çengel sayısı	30-60	14-34	28-36	26-40
Büyük çengellerin uzunluğu (µm)- (ortalama)	25-49 – (32-42)	24.9-34 – (31)	49-57 – (53)	43-60 – (52)
Küçük çengellerin uzunluğu (µm)- (ortalama)	17-31 – (22.6-27.8)	20.4-31 – (27)	30-47 – (42.6)	28-45 – (39)
Halka sayısı (ortalama)	2-7 (3)	2-6 (5)	3	3
Olgun halkanın yeri	Sondan bir önceki	Sondan iki önceki	Sondan bir önceki	Sondan iki önceki
Gebe halkanın boyu (mm)	1.02-3.2	0.44-1.11	2.94-4.2	-
Strobilanın ön kısmının gebe halkaya oranı	1:0.86-1.30	1:0.31-0.80	1:1.90-3	1:0.96-1.10
Testis sayısı- (ortalama)	25-80 – (32-68)	16-35 – (18-26)	50-67 – (56)	15-46 – (29)
Testislerin dağılımı (genital deliğin önünde/arkasında)	Önde- arkada eşit veya çoğunluk arkada	Çoğunluk arkada	Çoğunluk arkada	Çoğunluk arkada
Genital porun yeri	Olgun halkada	Ortaya yakın (genellikle arkada)	Halkanın ön yarısında	Halkanın arka yarısında
	Gebe halkada	Halkanın arka yarısında	Halkanın ön yarısında	Halkanın arka yarısında
				Aşağı- yukarı ortada
Uterusun şekli	Yan dallanmalar yapar	Kese şeklinde	Uzun, tübüler ve kese gibi	Kese şeklinde
Ovaryum şekli	At nalı ya da böbrek şeklinde	Üzüm salkımı şeklinde	At nalı şeklinde	-

Tablo 2.2. *Echinococcus* türlerinin karşılaştırmalı özellikler

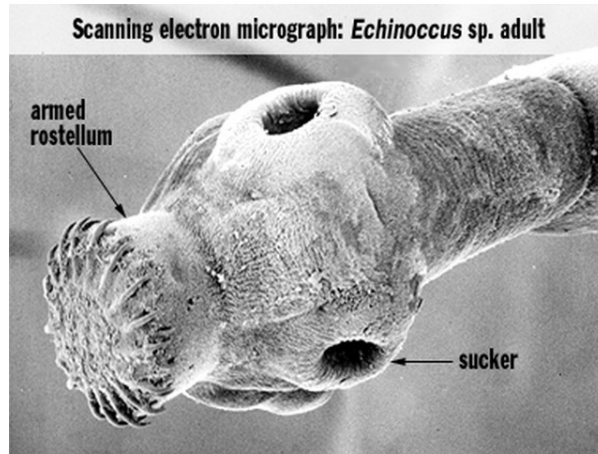
3. *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS* İLE İLGİLİ BİLGİLER

3.1. Morfoloji

Echinococcus cinslerinin erişkin formlarının morfolojisi birbirlerinden farklı özelliklere sahiptir ve tür ayrımı bu özelliklere göre yapılmaktadır. *Echinococcus*'ların tüm metabolik alışverişleri sinsisyal dış tabaka aracılığı ile olmaktadır ve bağırsakları bulunmaz (Altıntaş, 2004). Bu tür ara konağına yumurta ile son konağına ise kist şekli ile bulaşması açısından önemlidir (Göçmen, 2000).

Echinococcus granulosus

Erişkinleri genellikle 2-7 mm. olup nadiren 11mm olurlar. Skoleks çapı 0.26-0.36 mm çapındadır. Rostellumda iki sıra halinde dizilmiş 34-38 adet çengel bulunmaktadır. Ön sıradaki büyük çengellerin uzunluğu 25-49 μm ., arka sıradaki küçük çengellerin uzunluğu 17-31 μm 'dir (Resim 3.1.). Skolekste çapları 0.10-0.13 mm arasında değişen 4 adet çekmen bulunmaktadır. Parazitin boyun bölgesi çok kısa olup gövde (strobila) genellikle 3 halkadan oluşmakla birlikte halka sayısı 2-7 arasında değişmektedir. Son halka gebe, ondan bir önceki halka ise olgun halkadır (Altıntaş, 2004).

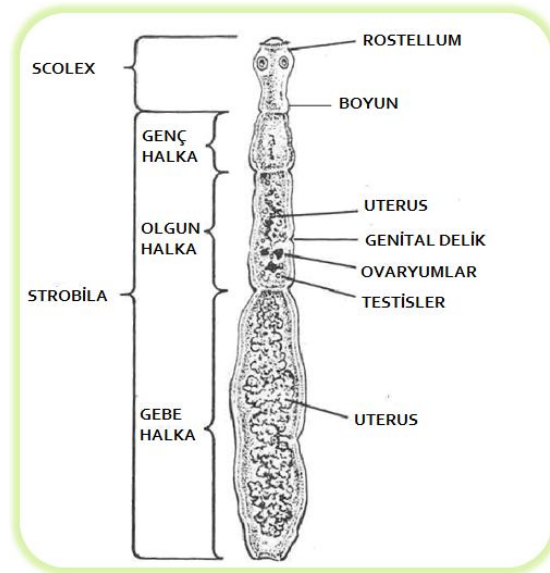


Resim 3.1. *Echinococcus* cinsinin skoleks yapısı (<http://entropyholds.pl>)

Olgun halkanın boyu eninin 2 katı olup genital organları gelişmiş durumdadır. Dişi dölerme organları halkanın arka üçte birinde bulunmaktadır.

Böbrek şeklindeki ovaryum ise halkanın ortasında yer almakta, ovaryumun arkasında vitellus kesesi bulunmaktadır. Sayıları 25-80 arasında değişen testisler genital deliğin ön ve arka kısmında bulunmaktadır. Genital delik tek taraflı olup halkanın ortasına yakın ya da arka yarısında dışarı açılmaktadır (Altıntaş, 2004).

Gebe halka olarak adlandırılan son halka 1.02-3.2 mm olup parazitin toplam uzunluğunun yarısı kadar veya daha büyüktür. Uterus halkanın içinde boylu boyunca uzanmakta ve yanlara değişik sayıda, kısa, geniş, kör dallar vermektedir. Uterusun içinde yaklaşık 200-800 kadar yumurta bulunmaktadır (Altıntaş, 2004) (Şekil 3.1.).



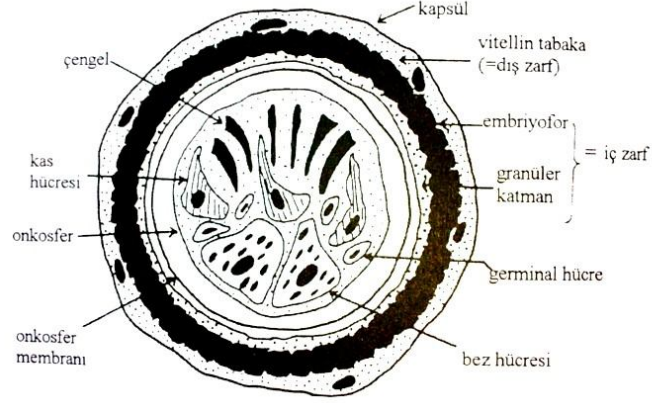
Şekil 3.1. *Echinococcus* genel görünüm
(/www.phsource.us/PH/PARA/Chapter_8.htm'den değiştirilerek)

Yumurta

Echinococ yumurtaları karnivorlarda bulunan diğer *Taenia* yumurtalarına benzemekte olup ışık mikroskobunda birbirlerinden kesin olarak ayrılamazlar.

Ancak Smyth (1994)'in bildirdiğine göre; Craig ve ark.nın geliştirdikleri anti-onkosferal monoklonal antikolar ile *Echinococcus* yumurtaları spesifik olarak tanımlanabilmektedir. Yuvarlak ovalimsi şekilde olan *Echinococ* yumurtaları kapaksız ve 22-36 x 25-50 µm çapında olup tam gelişmiş altı çengelli bir embriyo (onkosfer) taşımaktadır (Şekil 3.2.). Son dönemdeki çalışmalarda *E.granulosus* onkosferlerinde 3 çeşit salgı hücresinin varlığı tespit edilmiş ve bu

hücrelerin başta bağırsak cidarının delinmesi olmak üzere, onkosferal gelişim sırasında mikrovillilerin oluşumuyla ilgili fonksiyon gösterdikleri düşünülmektedir (Altıntaş, 2004).



Şekil 3.2. *Echinococcus granulosus* yumurtası

Yumurtaların kapsülü çok ince olup gebe halka dışıyla dışarı atılırken uterus içinde parçalanmakta bu nedenle dışkıda bulunan yumurtalarda genellikle kapsül görülmemektedir (Altıntaş, 2004). Onkosferi çevreleyen çok sayıdaki zardan biri olan embriyofor oldukça kalın olup, yumurtaya ışınal çizgili bir görünüm vermektedir. Kabuk olarak da adlandırılan embriyofor keratin benzeri bir proteinden oluşan, geçirgen olmayan ve embriyoyu dış koşullardan koruyan en önemli tabakadır (Altıntaş, 2004; Altıntaş, 2009) (Resim 3.2.).



Resim 3.2. *Echinococcus* yumurtası (Altıntaş, 2004)

Yumurta kesin konaktan dışarı atıldığında içinde embriyon (onkosfer) gelişmiştir. Dış ortama oldukça dayanıklıdır, 2°C’de 1,5-2 yıl canlı kalabilir. Güneş ışınlarına hassastır ve hızla kuruyarak, derin sularda ise havasız kalarak kısa süre içinde canlılığını kaybeder (Ertabaklar, 2001).

Suda %1.11 bezamidine hydrochloride’in 36°C’de 2 saatte, %5-10 glutaraldehid’in ise oda sıcaklığında bir saatte yumurtaları öldürdüğü bildirilmiştir (Yazar, 1998).

Larver Form (Metasestod) ve Kistlerin Genel Yapısı

Ara konaklarda *E.granulosus* metasestodlarının yaptığı hastalığa kistik ekinokokkozis, *E.multilocularis* metacestodunun yaptığı hastalığa alveolar ekinokokkozis, *E.oligarthrus* ve *E. vogeli* metacestodlarının yaptığı hastalığa ise polikistik ekinokokkozis adı verilmektedir. *Echinococ* türleri içinde en basit yapıya sahip larva tipine hidatik kist denilmektedir (Altıntaş, 2004).

Hidatik kist ya da kist hidatik denilen *E.granulosus* kistleri makroskobik olarak genelde uniloküler yapıdadır. Seyrek olarak multikistik (multiveziküler) tipte kistler de oluşabilmektedir. Uniloküler kistler içi sıvı dolu büyükçe bir kese biçimindedir (Altıntaş, 2009).

Bu kesenin duvarı dışta kütiküler (laminar), içte germinal olmak üzere iki farklı tabakadan oluşur. Ayrıca vücudun bu kiste karşı gösterdiği reaksiyon sonucu, en dışta kisti çevreleyen konağa ait bir fibröz adventisyal tabaka (perikist-fibröz kapsül) bulunur (Altıntaş, 2009). Bazen kist rüptüre olup değişik ebatlarda kistler oluşturabilir. İnsanda ise çok büyük kistler gelişebilir ve kistler içinde yavru veziküller görülebilir (Yazar, 1998).

a) Fibröz adventisyal tabaka (kütikül)

Konak dokusu tarafından oluşturulan adventisyal tabaka en dış tabaka olup beyaz renkte, mukopolisakkarit yapıdadır. Bu tabakanın oluşumu post onkosferal gelişimin ilk dönemlerinde başlar (Yazar, 1998; Ertabaklar, 2001). Bu tabakanın koruyucu fonksiyonu olmasına rağmen besin geçişine ve artık madde atılışına engel olmamaktadır. Adventisyal tabaka *E.granulosus*’un gelişmiş canlı kistlerini sarmaktadır. Konakların kist oluşumuna gösterdikleri reaksiyonun değişik olduğu,

çok şiddetli reaksiyonlardan dolayı parazitin öldüğü bildirilmektedir (Yazar, 1998).

b) Kütiküler (laminar) tabaka

Elektron mikroskop ve *in vitro* çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre bu tabaka parazit orijinli olup germinal membran tarafından salgılanma yolu ile üretilmektedir. Laminar tabaka, germinal membran ve protoskolekslerde ortak paraziter antijenlerin bulunması laminar tabakanın oluşumunda germinal tabakanın fonksiyonu olduğu görüşünü desteklemektedir.

Çok sayıda kütikül katlarından oluşmuş esnek, dayanıklı, aselüler bir tabakadır. PAS boyası ile (+) boyanması tipiktir ve tanıda önemlidir. Kistin etrafını sıkıca sararak iç basınç oluşumuna yardım eder (Ertabaklar, 2001). Bakteriler için filtre, bazı maddeler için de ultrafiltre görevi görür. Büyük protein molekülleri, kristaloidler ve bazı kolloidler, lipitler ve lesitin geçebilmektedir (Ertabaklar, 2001; Özcel, 2007).

Laminar tabaka immunolojik bariyer görevini yapıp kisti konağın immunolojik reaksiyonlarından korur. Ancak immunglobulin geçişine izin verdiği bilinmektedir (Yazar, 1998).

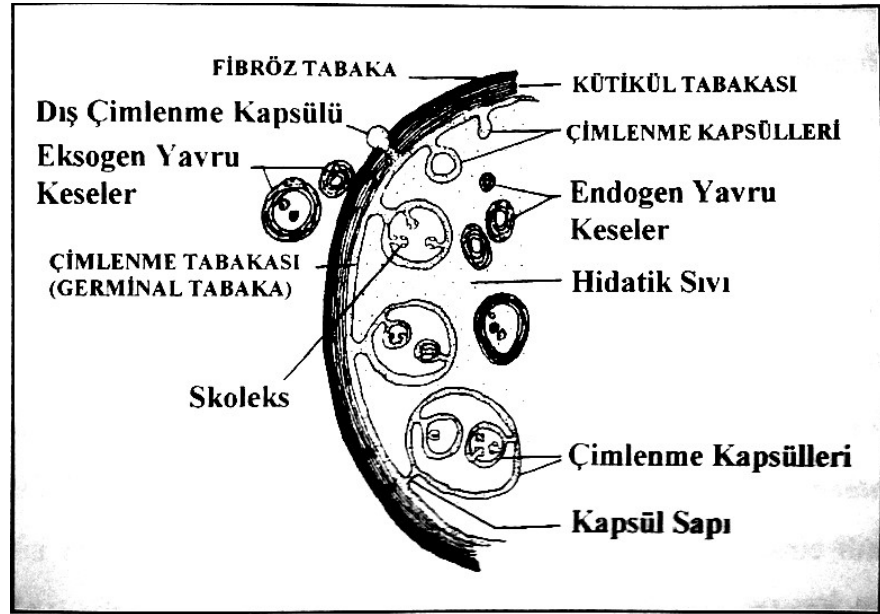
c) Germinal tabaka

Yapısal olarak erişkin parazitin tegümenti ile aynı özellikleri gösterir. Süt beyazı veya sarımsı beyaz renkte, 10-25µm kalınlığındadır ve kolayca ayrılır. Kesenin iç yüzünü örter. 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. Germinal tabakanın aseksüel proliferasyonu ve kapsül oluşumu tamamen içe doğru gelişir. Bazen de dışa doğru büyüyerek dış yavru keseleri oluşturur (Ertabaklar, 2001). Dışa doğru üreyen kız keseler nadir görülmekle birlikte, oluşurlarsa hidatik membran ile konak tarafından oluşturulan fibröz tabaka arasındaki perikistik boşlukta görülürler. Keselerin içleri steril hidatik sıvısı ile dolar. Bazı keselerin içinde kese duvarlarının tekrar invaginasyonu ile içlerinde üreme kapsüllerinin bulunduğu üçüncü nesil torun keseler oluşabilir.

Germinal tabaka tegument, kas, glikojen depolayıcı ve farklılaşmış hücrelerden oluşmaktadır. Tegümental hücreler, hızlı gelişimlerine paralel olarak çok fazla sayıda nükleotid içerir. İki katman arasındaki bağlantı sürekliliğini sağlar (Altıntaş, 2004). Ayrıca germinal membran suya karşı geçirgendir (Yazar, 1998).

d) Çimlenme kapsülleri (üreme kapsülleri- brood kapsüller)

Çimlenme zarından doğan, çeperleri çimlenme zarından yapılmış olan ve 0.25-0.50 mm çapa sahip çimlenme kapsülleri çimlenme zarına ince bir sapla bağlıdır (Şekil 3.3.). Çimlenme kapsülü duvarı, düzensiz aralıklarla nükleus içeren fazlaca vakuolleşmiş bir tabakadır. PAS (+) olan çimlenme kapsülünün içeriğinde dejenere protoskolekslerden ayrılan parçalarında bulunduğu bildirilmektedir (Yazar, 1998).



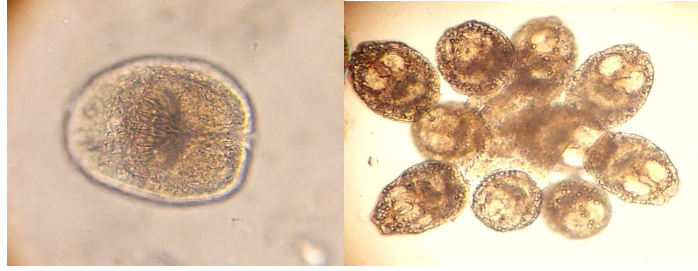
Şekil 3.3. *Echinococcus* çimlenme kapsülü (Altıntaş, 2004).

e) Protoskoleksler

Çimlenme kapsüllerinin içinde genellikle 10-30 adet protoskoleks doğar (Altıntaş, 2004; Özcel, 2007). 0.14-0.16 mm enindeki bu protoskolekslere erişkin formun skolekslerinden ayırt edilebilmesi için bu isim verilmiştir. Her biri 24-29

µm boyunda 32-40 adet çengeli bulunan ve 4 vantuza sahip olan rostellumun bulunduğu kısmın içe doğru dönük olmasından dolayı çengeller protoskolekslerin ortasında görülmektedir (Yazar, 1998). Tam gelişmiş protoskoleksler, invagine rostellum üzerinde çengellerin oluşumuyla karakterizedir. Kist içerisinde protoskolekslerin çekmen, rostellum ve çengellerin bulunduğu ön kısım invagine durumda olup ortamda evaginasyona kadar dış etkilerden korunmaktadır (Altıntaş, 2004). Protoskoleksler çimlenme kapsülünden serbest hale geçerken mitokondrilerin sayılarının arttığı ve evaginasyonun olduğu bildirilmiştir.

Çimlenme kapsüllerinin duvarlarının yırtılmasıyla kist sıvısı içine dökülen protoskoleksler, bir kist içinde milyonlarca sayıda bulunabilirler (Resim 3.3.). Kist içinde serbest halde bulunan protoskoleksler keseleşerek yeni çimlenme kapsüllerini oluşturabilirler (Yazar, 1998).



Resim 3.3. *Echinococcus granulosus* protoskoleksleri (orijinal)

Yaşlı (eski) kistlerin içerisinde kız keseler, serbest protoskoleksler, üreme kapsülleri kist sıvısında bir arada bulunurlar ve ‘hidatid kumu’ olarak adlandırılırlar. İçinde üreme kapsülleri, protoskoleks ve kız keseler görülmeyen kistlere steril, protoskoleks taşıyanlara ise fertil kist denir.

Kistlerin steril olmasında konağın türü ve yaşı önemli rol oynar (Altıntaş, 2009). Yaşlı hayvanlar enfeksiyona daha az duyarlı olup genelde steril kistler oluşturmaktadır. Koyunlarda bulunan kistler genelde fertil iken, sığırlardakiler çoğunlukla sterildir. Sığırlardaki kistlerin %90’ında, domuzlardaki kistlerin %20’sinde, koyunlardaki kistlerin %8’inde protoskoleks bulunmamaktadır (Altıntaş, 2004). Sığırlardaki kistler önce kazeifikasyona sonrada kalsifikasyona uğrar. Konağın yaşının artmasıyla steril kistlerin sayısında da artma görülür.

f) Kist sıvısı

Hidatik kistlerin içleri kaya suyu denen duru, saydam bir sıvı ile doludur. Endojen salgı ürünüdür ve kist çeperlerine belirli bir basınç yapar. Sıvının yoğunluğu 1007- 1015'dir. Hafif baziktir, pH 7.2- 7.4'tür. Hidatik sıvı sterildir, ısıtılınca pıhtılaşmaz ve antijenik özelliği vardır (Özcel, 2007; Ertabaklar, 2001). Bir lt sıvıda;

Sodyum klorür	5.96gr
Üre	0.38gr
Kalsiyum	0.088gr
Albumin	0.08gr
Glukoz	0.224gr
Kreatinin	0.09gr
Amino asit	0.229gr
Proteolitik fermentler	+
Glikolitik fermentler	+

bulunduğu bildirilmiştir (Ertabaklar, 2001; Yazar, 1998).

3.2. Evrimi

Bütün *Echinococ* türleri biyolojik gelişmelerini tamamlayabilmek için iki farklı memeli konağa ihtiyaç duymaktadır. Erişkin parazitler kesin konakların ince bağırsaklarında, metasestodlar ise ara konakların iç organlarında bulunmaktadır (Altıntaş, 2004).

Echinococcus türlerinin larval ve erişkin form olmak üzere farklı gelişim süreçleri bulunmaktadır. Larval formda, germinatif membrandan kistin dışına doğru laminar membran sentezlenirken kistin içine doğru aseksüel çoğalma ile protoskoleksler oluşur. Erişkin formda ise halkaların oluşma, olgunlaşma ve daha sonra seksüel çoğalma safhaları gerçekleşir. Bu safhalar hem biyokimyasal hem de moleküler yönden çok farklı olup, farklı konaklarda ve farklı çevresel koşullarda gerçekleşir. Ayrıca protoskolekslerin çevresel koşullara göre erişkin parazit ya da hidatid kisti oluşturma kapasitesine sahip olması da çalışmaların *Echinococ*'ların gelişme ve farklılaşma mekanizmaları üzerine odaklanmasına yol açmıştır (Özcel, 2009).

Echinococ'lardaki moleküler çalışmalar, daha çok parazitin tür ve suş identifikasyonu için kullanılmakla birlikte parazit-konak ilişkisini belirlemek, hücre içi sinyal mekanizmalarının gösterilmesi gibi pekçok metabolik olayların ortaya çıkarılmasında önemli bir yer tutmaktadır. Son yıllarda *Echinococ*'larda yapılan reseptör çalışmaları konak-parazit ilişkisine ışık tutması açısından önemlidir. Bu çalışmalar parazitin hücre içi sinyal mekanizmalarının anlaşılmasına ve konak stimulanlarının parazit üzerindeki etkisinin gösterilmesine olanak sağlamaktadır. *Echinococ*'larda tanımlanan ilk reseptör tirozin kinaz reseptör ailesi üyesi olan insülin reseptörü olmuştur (Özcel, 2009).

Kesin Konakta Gelişim

Kesin konak, parazitin kistlerini taşıyan organları yiyerek enfekte olmaktadır. Kistler konağın önce çiğneme mekanizması ile daha sonra da midesindeki pepsin sayesinde açılmakta ve içindeki çimlenme kapsülleri serbestleşmektedir. Bu kapsüller içinde invagine halde bulunan protoskoleksler çimlenme kapsülünden dışarı çıkarken evagine olurlar. Protoskoleksin apikal bölgesinin, tegümentin mukopolisakkarit ile örtülü bazal bölgesine invagine olması, skoleksi evagine olacağı zamana kadar korumaktadır. Köpekler üzerinde yapılan bir deneysel çalışmada, *E.granulosus*'un evagine protoskoleksleri ile enfekte edilen köpeklerde, invagine haldeki protoskoleksler ile enfekte edilenlere kıyasla daha az sayıda erişkin parazit oluştuğu görülmüştür (Altıntaş, 2004).

Protoskoleksler ortam farklılıklarına karşı oldukça duyarlıdırlar. Isı ve ozmotik basınç farklılıkları evaginasyona sebep olabilmektedir. Evaginasyon 10-20°C'de birkaç günde gerçekleşirken, 10°C'nin altında olmaz. Spesifik enzimler ve safra evaginasyon için mutlaka gerekli değildir. Fakat bunların oluşu evaginasyon oranının artışına sebep olur. Evaginasyon için aerobik ortam gerekli olup, kesin konakta evaginasyon 6 saat ile 3 gün arasında oluşmaktadır (Yazar, 1998).

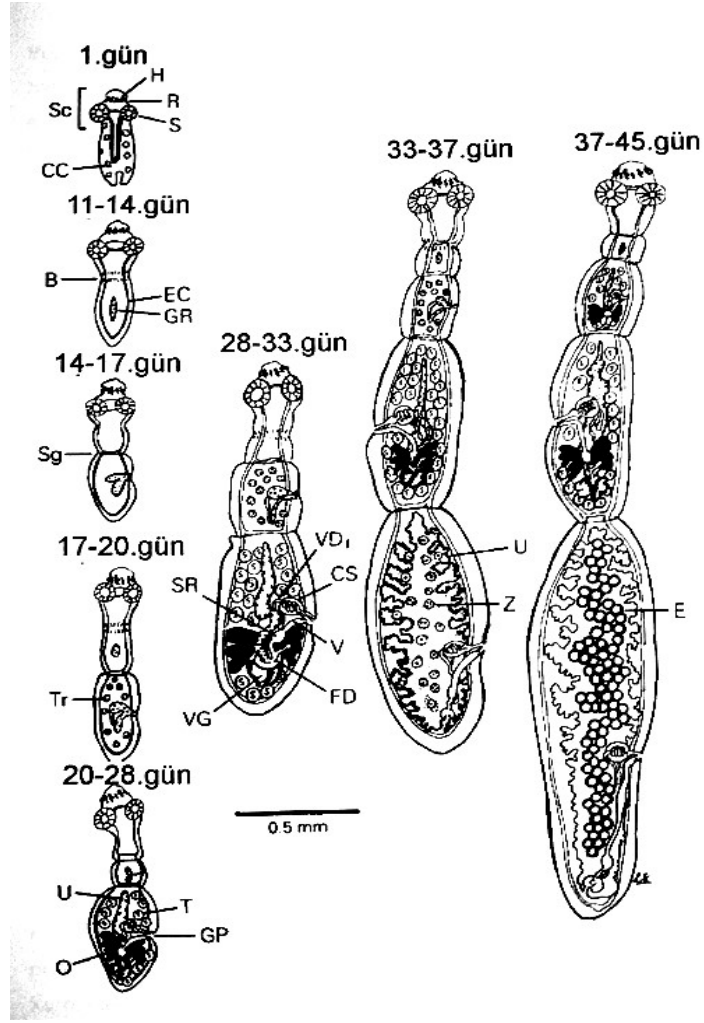
Evagine olan protoskoleksler, enerji kaynağı olarak kullandıkları glikojenden zengindirler ve çok aktif durumdadırlar. İlk 8 gün sonunda aktivitelerinin düştüğü, daha sonra muhtemelen enerji depolarının yenilenmesiyle tekrar arttığı bilinmektedir. Bu protoskolekslerin içinde organik ve inorganik maddelerden zengin cisimcikler bulunmaktadır. Bunların fonksiyonu tam olarak

bilinmemekle birlikte parazitin gelişmesinde rol alan karbondioksit ve fosfat kaynaklarını içerdikleri tahmin edilmektedir. Bu cisimcikler gelişmenin 7.-8. günü kaybolmaktadır (Yazar, 1998).

Erişkin parazitin gelişmesi germinal ve somatiktir. Germinal farklılaşmada önce sıra ile proglottidler oluşur ve olgunlaşır. Somatik farklılaşmada ise parazit boyca büyür ve segmentasyonla her proglottid arasında somatik sınırlar oluşur ki buna strobilizasyon denir. Bu olay tegümentin kıvrımları ve microtriche'lerin birbirine yapışarak bu kıvrımları sabitleştirmesiyle gerçekleştirilmektedir. Enfeksiyonun 3-4. gününde lateral boşaltım kanalları, 7. günde posterior boşaltım kesesi belirginleşir. Erişkin *Echinococ* hermafrodittir ve kendi kendini döller. Kesin konaktaki bazı faktörlerin döllenmede etkili olduğu ve sirusu aktive ettiği düşünülmektedir. Bu faktörler aracılığıyla olan uyarılar olmadığında döllenme gerçekleşmemektedir (Yazar, 1998).

Her protoskoleksten bir parazit gelişmektedir. Enfeksiyondan sonraki 14-17. günlerde ilk halka, 17-20. günlerde ikinci halka, 28-30. günlerde ise üçüncü halka oluşmaya başlar. 33-37. günlerde strobilada üç ya da dört halka bulunur. Enfeksiyondan sonraki 37-45. günlerde son halkadaki uterus içinde embriyonlu yumurtalar görülür (Şekil 3.4.). Erişkin parazitler *E.granulosus*'ta daha çok ince bağırsağın ön ¼'ünde yerleşir. Prepatent süre 34-59 gün kadardır. Kesin konakta yaşam süresi iki yıl kadardır (Altıntaş, 2009). Erişkin helment köpeğin bağırsağında 160-180 gün (5-6 ay) kadar yaşayabilir (Ertabaklar, 2001) .

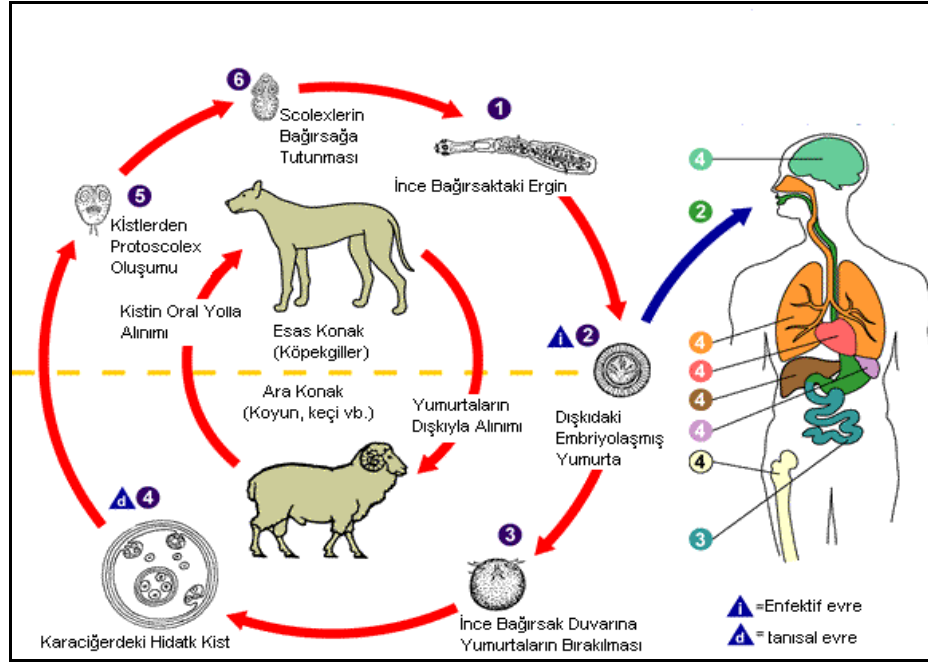
Kesin konakta gelişimini tamamlayan gebe halkalar koparak dışkı ile dışarı atılır. Bazen bu halkalar ince bağırsaklarda parçalandığından, yumurtalar da dışkı ile dışarı atılır. Atılan halkalar ritmik kasılma hareketleri ile dışkı kümesinde yaklaşık 5-40 cm kadar uzaklaşabilirler. Halkaların içindeki enfektif yumurtalar zamanla halkaların parçalanması sonucu serbest kalır. Gerek direkt atılan, gerekse halkaların parçalanmasıyla serbest kalan yumurtalar zamanla etrafa dağılır. Ara konaklar köpek dışkıyla dışarı atılan yumurtaları ağız yoluyla alarak enfekte olmaktadır (Altıntaş, 2009).



Şekil 3.4. *E.granulosus*'un kesin konak (köpek)'teki gelişim evreleri (Thompson'dan değiştirilerek)

B,bant; CC,calcareous corpuscles; CS,cirrus sac; E, embriyonlu yumurtalar; EC, ekskretuar kanal; FD, dişi üreme kanalları; GP, genital delik; GR, genital taslak; H, çengeller; O, ovaryum; R, rostellum; S, salgı bezleri; Sc, skolkes; Sr, seminal kese; Tr, gelişmemiş testis; T, testis; U, uterus; V, vagina; VD_f, vas deferens; VG, vitellus kesesi; Z, zigotlar

Enfekte hayvanın dışkılaması sırasında gebe halkaların bazıları anüsün kenarına yapışarak kalır ve kendi hareketleriyle anüs etrafındaki tüylü kısımlara yayılırlar veya çevreye düşerek etrafa dağılırlar. Böylece enfekte köpeğin üzeri ve çevresi bulaştırıcı duruma gelir (Ertabaklar, 2001). İnsanlar ise enfekte hayvanlara temasla ya da enfekte yiyecek içeceklerle yumurtaları alır (Resim 3.4).



Resim 3.4. *Echinococcus granulosus* hayat döngüsü (www.dpd.cdc.gov.dan değiştirilerek).

Ara konağa girişten sonra yerleşme

Ara konak tarafından alınan yumurtalar mide ve ince bağırsaklarda açılırlar. İki aşamada gerçekleşen açılmada önce embriyoforu oluşturan keratin bloklar parçalanarak onkosfer zarı ortaya çıkmakta, daha sonra onkosfer aktif hale geçerek onkosfer zarını delmektedir. Embriyoforu parçalanmasında pepsin ve pankreatin gibi proteolitik enzimler rol oynamaktadır. Onkosfer membranının açığa çıkması ile birlikte safra tuzlarının etkisiyle membran geçirgenliğinde değişiklikler olmakta ve onkosfer aktif hale geçmektedir. Ara konak seçiminde memelilerdeki safra tuzlarının bileşim farklılıklarının rol oynadıkları düşünülmüş ancak deneysel çalışmalarda intraperitoneal ya da laporotomi ile verilen yumurtaların rodentlerin karaciğer, pleural kavite, akciğer ve peritoneal kavitede gelişmesi, safranın yumurtaların açılmasında şart olmadığını göstermiştir. Peritoneal kaviteye inokule edilen yumurtaların, hızla nötrofil ve muhtemelen hidrolitik enzim salgılayarak embriyoforu erimesine neden olan makrofajlar tarafından çevrildiği çalışmalarla ortaya konulmuştur (Özcel, 2009; Yazar, 1998).

Penetrasyon ve Doku Lokalizasyonu

Onkosfer zarını delerek serbest kalan onkosferler ritmik hareketlerle ince bağırsak villuslarının mikrovillöz kenarlarına tutunmakta, sonra hızla (30-120 dk) villusların epitelial katından geçerek lamina propriaya ulaşmaktadırlar (Özcel, 2009; Yazar, 1998).

Doğanay ve Altıntaş (2009), parazitin, aerobik ortamda safranın, pH'ın, ayrıca ısı, ozmotik basınç ve spesifik enzimler gibi diğer bazı faktörlerin etkisiyle evagine olarak bağırsak villusları arasına, hatta bazen Liberkühn bezlerine kadar giderek çekmen ve çengelleri ile mukoza epiteline sıkıca tutunduğunu bildirmişlerdir.

Penetrasyon, çengeller ve bezlerin salgılarının yardımıyla olmaktadır. Onkosferdeki 3 çift çengel penetrasyon sırasında mikser bıçağı gibi görev yapmakta, dokuları parçalamakta, penetrasyon bezlerinden salgılanan salgılar da onkosferin bulunduğu yerde konak dokularını eriterek penetrasyona yardımcı olmaktadır. Bunun dışında bu salgıların yapışmada yardımcı olduğu, kayganlaştırıcı görevi yaptığı ve onkosferi konağın sindirim enzimlerinden ve immunolojik cevaplardan koruduğu sanılmaktadır (Altıntaş, 2004).

Kistlerin en fazla görüldüğü organlar karaciğer ve akciğerler olup bunun başlıca nedeni bu organların onkosferlerin karşılaştığı ilk büyük kılcal damar ağına sahip olmalarıdır. Bu nedenle onkosferlerin çoğu bu organlarda tutulmaktadır. Onkosferler bağırsak duvarını delerek kan ve lenf damarları yolu ile karaciğere pasif olarak taşınmakta eğer burada tutunurlarsa larval gelişim karaciğerde olmaktadır. Karaciğerde tutunamayanlar portal sistemle kalbe oradan akciğerlere geçip bu organda yerleşebilmektedirler. Akciğerlerde de tutunamayanlar pulmoner venlerle tekrar kalbe taşınıp oradan sistemik dolaşım ile böbrek, beyin, kemik, dalak gibi vücudun herhangi bir organına gidip yerleşebilmektedirler (Yazar, 1998; Ertabaklar, 2001; Özcel, 2007; Altıntaş, 2009; Özcel, 2009). Metasestodun son lokalizasyonunun belirlenmesinde konağın anatomik ve fizyolojik özellikleri, parazitin tür ve suş farklılıklarının rol oynadığı sanılmaktadır.

Postonkosferal Gelişme ve Metasestod Oluşumu

Her bir onkosferden bir kist gelişir. *E.granulosus*'ta kistin gelişmesi oldukça yavaştır. İçlerinde protoskolekslerin oluşması için beş-altı ay süre gerekir. Bu sırada kistlerin çapı 1-2 cm civarındadır. Kistler yıllarca gelişme özelliğine sahiptir. Oluşumunu tamamlamış kistlerin iriliği ceviz büyüklüğünden çocuk başı büyüklüğüne kadar olabilir. İnsanlarda çapı 50 cm'ye varan ve içerisinde 16 litre sıvı bulunan kistler de bildirilmiştir (Altıntaş, 2009). Maksimal gelişimi lokalizasyonuna bağlı olup vücudun bazı bölgelerinde rahatça büyüyemez. Hidatik kist kemikte olduğunda gelişim sıra dışı olur ve sınırlayıcı laminar membran gelişmez. İlk olarak kemik boşluğuna ve etrafa yayılır (Ertabaklar, 2001)

Onkosfer tercih edilen yere ulaşmadan önce post onkosferal gelişme metasestodun yapısını oluşturma yolunda ilerler. Onkosfer yerleşim göstereceği organa ulaştığında metasestod oluşumu başlamaktadır. Onkosferin bir organa yerleşiminden sonra çok hızlı değişim gösterdiği ve 1-14 gün içinde hücre proliferasyonu, onkosfer çengellerinin kaybolması, kas atrofisi, vezikülleşme, orta boşluğun oluşması, germinal ve laminar tabakaların oluşması ile metasestod şekline dönüştüğü bildirilmektedir.

Bulaşmadan 3 saat sonra onkosfer karaciğerin intralobuler kapillerine ulaşır. Burada 2,5 günde bir yangısal nodül, 4. günde kofullaşma, 7. günde ise belirgin veziküler hidatik kist kabarcığı gelişir. Çimlenme zarının gelişerek çekirdeklerinin oluşumu 10. günü bulur. Otuzuncu güne doğru ise çeperi organa ait bir reaksiyon dokusu ile sarılarak kist oluşumu tamamlanmış olur (Özcel, 2007). Yirmibirinci günde hidatik kese 0.25-0.35 mm çapına ulaşır ve içinde sıvı birikimi başlar; 60. günden sonra kesenin çapı 10-30 mm'yi bulur ve çeperi belirgin olmaya başlar; 90. günde çapı 40-50 mm olur ve katları belirginleşir (Ertabaklar, 2001).

Ara konaktaki bu fertil kistler patladığında etrafa dağılan protoskolekslerden sekonder kistler oluşur. Bu olay protoskolekslerin başka bir ara konağın vücut boşluğuna verilmesiyle de gelişir. Ara konaklarda (insan, manda, deve) intrauterin bulaşma da bildirilmiştir (Altıntaş, 2009)

3.3. Bulaşım Yolları

Echinococcus türlerinde gelişme, genelde benzer şekildedir. Kesin konaklar, ara konaklardaki protoskoleksli kist taşıyan organları ya da kistlerin patlaması sonucu protoskolekslerin bulaşmış olduğu organları yiyerek enfekte olur (Altıntaş, 2009)

İnsan ve diğer ara konaklar embriyonlu yumurtaların ağız yoluyla alınmasıyla enfekte olmaktadır. Otçul ve etçil hayvanlar çevreye dağılan yumurtaları otlaklarda, ahırda ot ve saman yeme sırasında ya da nadiren içme suyu ve kıllarına yumurta yapışmış köpek ile temas sonucu alabilirler.

İnsanlar ise enfeksiyonu, yumurtalarla bulaşık sebze ve meyveleri iyi yıkanmadan ve çiğ yemek suretiyle, bazen su ile almakta ancak daha çok enfekte köpeğe temas sonucunda yumurtalarla bulaşan ellerini iyice temizlemeden ağızlarına götürmek suretiyle almaktadırlar. Bir köpeğin enfeksiyonu bulaştırması için bağırsaklarında paraziti bulundurmasının şart olmayıp, enfekte olmayan bir köpek enfekte olan başka bir köpeğin anüsünü koklarken yumurtaların burun ve tüyelerine yapışabileceği, böylece bu köpeği okşayan insana enfeksiyonu bulaştırabileceği bildirilmektedir (Yazar, 1998).

Ayrıca ağız yoluyla bulaşımın dışında çok nadir olmakla birlikte solunum yoluyla da bulaşmanın olabileceği, havadaki tozlarla birlikte alınan yumurtaların akciğerlerde tutularak gelişebileceği bildirilmektedir (Altıntaş, 2004).

Koyunlarda akciğer enfeksiyonunun daha çok görülmesinin nedeni ise burunlarını sürekli otların içinde yere yakın tutup soluk almalarıdır (Yazar, 1998).

Nadir bir bulaşım şekli ise kan yoluyla. Vücuttaki herhangi bir kesik ya da yaradan bulaşabileceği gibi köpek ısırması ve ısırılan yere yumurta teması ile de bulaşabilir (Yazar, 1998).

Trasplasental bulaşımın da olduğu bildirilmiştir (Yazar, 1998).

Hastalığın bulaşmasında:

- Sosyo-ekonomik yetersizlikler,
- Başboş köpekler,
- Kasaplık hayvanların denetimden uzak, gelişi güzel yerlerde bilinçsiz kesilmesi,
- Sağlıksız yaşam koşulları,

- Hastalığın bulaşım şekli, korunma yolları, tehlikesi gibi konularda insanların bilgisizliği,
- Yeterli sayıda ve gerekli koşullarda mezbahaların bulunmaması,
- Kesilen ya da ölen hayvanların kistli organlarının başka hayvanlara yedirilmesi,
- Köpeklerin bilinçsiz beslenmesi,
- Yoğun hayvancılık yapılan bölgelerde korunma amacıyla köpek ve sürünün beraber dolaştırılması,
- Konak ve ara konakların değişken oluşu,
- Echinococcus* yumurtalarının çevre şartlarına karşı dirençli olması rol oynar (Altıntaş, 2004).

3.4. Epidemiyoloji

E. granulosus'un gelişiminde ormansal (silvatik) ve kırsal (pastoral) olmak üzere iki biyolojik döngü vardır.

Ormansal döngü; kurt, çakal, tilki gibi yabani karnivorlar ile geyik, karaca gibi yabani ruminantlar arasında seyreder. Daha çok kuzey Amerika, Asya ve Avrupa'nın yüksek kısımlarında görülen ve *E. granulosus*'un orijinal formunu temsil ettiği düşünülen bu (silvatik) forma evcil ruminantlarda seyrek rastlanır. Ormansal formların neden olduğu insan enfeksiyonları genel olarak öncelikle akciğerlerde lokalize olmakta ve klinik semptomlar belirginlik göstermemektedir.

Kırsal döngü ise; köpek ile başta koyun olmak üzere keçi, sığır, domuz, at, gibi çeşitli evcil hayvanlar ve insanlar arasında görülmektedir. Bu kırsal populasyon arasında önemli farklılıklar olduğu kaydedilmiştir. Örneğin; Büyük Britanya'da *E. granulosus*'un sadece tazi ve at arasında biyolojik evre gösteren at suşu ile köpek ve koyun arasında biyolojik evre gösteren koyun suşu arasında morfolojik ve biyokimyasal farklılıklar saptanmıştır. Nitekim koyun suşu *in vitro* koşullarda seksüel olgunluğa erişirken, at suşu erişememektedir. Yine at suşu ile insanların ve rhesus maymununun enfekte olmadığı sanılmaktadır. Buna karşılık koyun suşu ile insanlar kolaylıkla enfekte olabilmektedir. Bunların dışında *E. granulosus*'un deve/köpek, domuz/köpek, sığır/köpek, vallabi kangurusu/dingo biyolojik döngülerinde de çeşitli farklılıklar görüldüğü bildirilmiştir (Altıntaş, 2009).

Echinococcus'un birkaç ara konak türünün bulunduğu bölgelerde, her birinin farklı bir tür barındırıp barındırmadığını ve sikluslar arasında etkileşim olasılığının var olup olmadığını bilmek epidemiyolojik olarak önemlidir. *E. granulosus* tüm dünyada geniş bir coğrafi bölgeye yayılmıştır. Bu hastalık bütün kıtalar ve kutuplarda, ılıman, tropikal ve subtropikal bölgelerde görülmektedir. Parazit prevalansının en yüksek olduğu bölgeler Avrasya, Afrika, Avustralya ve Güney Amerika'nın bazı bölgeleridir. Enfeksiyonun endemik olarak görüldüğü bölgelerin yanında sporadik olarak da saptanabildiği, Grönland ve İzlanda'da parazite hiç rastlanmadığı bildirilmiştir (Özcel, 2009).

Ülkemizde ve dünyadaki hastalığın yaygınlığına ilişkin veriler yetersiz olmakla beraber genellikle hastane kayıtlarına dayalıdır.

3.4.1. Dünyadaki epidemiyolojisi

E. granulosus'un yaşam döngüsünün, Avrupa'da özellikle Akdeniz'e komşu olan İspanya, İtalya, Yugoslavya, Yunanistan, Türkiye gibi ülkelerde eski Sovyetler Birliği'nin Avrupa dışında kalan kısmında köpek ile koyun arasında, Batı Avrupa ve İrlanda'da ise köpek ile atlar arasında olduğu ve insanlar için çok az morbiditeye neden olduğu görülmüştür. Avrupa'nın Belçika, Almanya ve İsviçre gibi bazı ülkelerde çoğunlukla köpek-sığır döngüsüne rastlanmaktadır. Köpek-domuz döngüsü ise daha çok Polonya, Macaristan gibi bazı Doğu Avrupa ülkelerinde ve eski Sovyetler Birliği'nde görülmüştür (Altıntaş, 2004).

Enfeksiyon Avrupa'nın kuzey ve orta bölgelerinde nadir, güney ve doğu bölgelerinde ise daha sık görülmektedir. Norveç ve İsveç'in kuzeyinde Ren geyikleri ve köpekler arasında döngünün olduğu odaklar bildirilmiştir (Altıntaş, 2004).

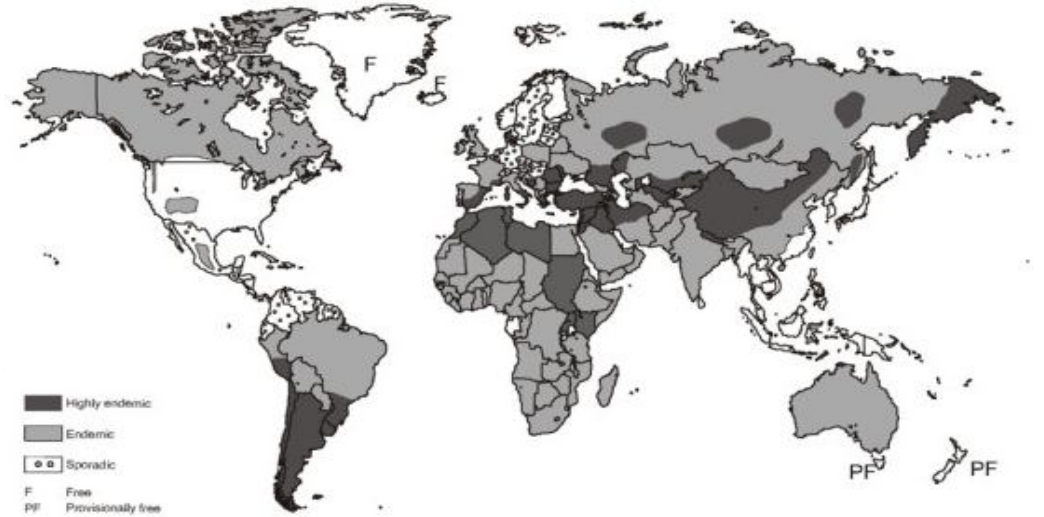
Kıbrıs'da 1970'li yıllara kadar hem insan, hem de hayvanlarda önemli bir sorun olan KE'a karşı, 1971 yılında kontrol programı uygulanmaya başlanmış, ancak 1974'den itibaren program Rum kesimiyle sınırlı kalmıştır. Rum kesiminde 1985 yılında tüm konaklarda eradikasyonun sağlandığı düşünülmüş, ancak sonraki yıllarda düşük oranlarda da olsa enfeksiyona rastlanmasıyla 1993 yılında ikinci bir kontrol programı uygulamaya konulmuştur (Altıntaş, 2004).

Kistik Ekinokokkozis Orta- Doğu ülkelerinde de yaygın görülmektedir. Suudi Arabistan'da tüm genel cerrahi olgularının %0.3'ünü KE oluşturmaktadır.

Kuzey Afrika'da prevalansın Fas, Cezayir, Tunus ve Libya'da yüksek oranda olduğu, Mısır'da ise bu oranın belirgin olarak daha düşük olduğu görülmüştür. Sudan, Etiyopya, Kenya ve Uganda'nın bir kısmının da dahil olduğu Doğu Afrika, yüksek oranda endemik bir bölgedir (Altıntaş, 2004; Altıntaş, 2009).

Avustralya'da 1991-1994 yılları arasında 170 olgu bildirilirken (42,5/yıl), insidansın 0,23/100.000 olduğu saptanmıştır.

Kuzey Amerika'da KE'e çok az rastlanmaktadır ve olguların çoğunu diğer ülkelerden göç eden insanlar oluşturmaktadır. Önceleri İtalyan ve Yunan asıllı göçmenler çoğunlukta iken son yıllarda Orta-Doğu ve Güney Amerika ülkelerinden gelenlerde artış olduğu görülmüştür (Altıntaş, 2004; Altıntaş, 2009) (Resim 3.5.).



Resim 3.5. *E. granulosus*'un Dünya'daki dağılışı (www.jmedicalcasereports.com dan)

3.4.2. Türkiye'deki epidemiyolojisi

Türkiye'de insanlarda KE yurdun her tarafında yaygın olarak görülmektedir, ancak çok az saha çalışması bulunmaktadır. İnsanlardaki enfeksiyon olguları büyük oranda hastane kayıtlarına dayanmakta olup, toplum tabanlı tarama çalışması yok denecek kadar azdır. Ancak gerek hastane kayıtları gerekse son yıllarda insanlar, köpekler ve kesimlik hayvanlar üzerinde yapılan

epidemiolojik çalışmalar ile hastalığın ülkemizdeki durumu hakkında az da olsa bilgi sahibi olunabilmiştir (Altıntaş, 2009).

Sağlık Bakanlığında elde edilen verilere göre; 1955- 1959 yılları arasında 1853, 1960-1964 yılları arasında ise 2451 KE olgusu saptanmıştır. 1965-1968 yılları arasında olgu sayısı 2886 olarak bildirilmektedir. Yine Sağlık Bakanlığı kayıtlarına göre 1984-1986 yılları arasında operasyonla doğrulanmış KE'li hasta sayısı 5964 olup, 1987-1964 yılları arasında 21.303 hasta tedavi için opere edilmiştir ki, bu da yılda 2663 KE'li hasta olduğunu; son olarak yine sağlık bakanlığı kayıtlarına göre 1990-2005 yılları arasında 52.124 hasta tedavi için ameliyat edilmiştir ki, bu da yılda 3257 KE'li hasta olduğunu göstermektedir. Tahmini opere olgu sayısı 100.000'de 0.87-6.6'dır. Ancak bunlar yalnızca operasyonla doğrulanmış olgular olduğundan, gerçek hasta sayısının ne olduğu belli değildir. Yine bazı araştırmacılara göre ülkemizde KE'nin görülme oranı 0.8-2.0/100.000 ya da %0.3-0.087 gibi değişen değerlerdedir. Bunun oldukça fazla olan yöresel farklılıklardan kaynaklandığı düşünülebilir (Altıntaş, 2009).

Ülkemizde bu konuda yapılmış epidemiolojik çalışmalar çok azdır. Türkiye'de ilk kez yapılan bir seroepidemiolojik araştırmada, İzmir ve civarında yaşayan 2055 kişide %3.45 oranında seropozitiflik ve 291/100.000 (6/2055) prevalans saptanmıştır. Yine İzmir ve civarında yapılan retrospektif bir çalışmada, 1997-1998 yılları arasında 591 KE'li olgu ve 1997-2001 yılları arasında ise 840 KE'li olgu tespit edilmiştir. Manisa'da portatif ultrasonografi (USG) kullanılarak merkeze bağlı beş köyün ilköğretim okulunda 1205 çocuğun beşinin çeşitli organlarında KE saptanırken; yine aynı ilde 37 okulda yaşları 7-14 arasında olan ilköğretim çağındaki 6093 öğrenci incelenmiş, yedisi yeni ve ikisi eski (ameliyat olmuş) olmak üzere toplam 9 (%0.15) olgu saptanmıştır. Kars'ta 11 köyde 2001 kişide USG kullanılarak ve şüpheli olgulara serolojik tanı yöntemleri de uygulanarak yapılan taramada ise ilköğretim çağındaki çocuklarda KE saptanmazken erişkinlerde üç kişide KE, bir kişide alveolar ekinokokkozis (AE) saptanmıştır (Altıntaş, 2004).

Yazar ve ark.larının 2008 yılında yayımladıkları makalede Türkiye'deki olguların bölgesel dağılımları tespit edilmiştir;

Marmara Bölgesi; Bursa, Edirne, Tekirdağ ve Kırklareli illerinde değişik hastanelerde KE tanısı ile opere edilen hastalara ait veriler değerlendirilmiştir. Toplam 2534 olguya KE tanısı konmuştur.

Ege Bölgesi: İzmir, Denizli, Manisa, Afyon, Aydın, Uşak, Kütahya ve Muğla'dan elde edilen bilgilere toplam 2114 olguya KE tanısı konmuştur.

Akdeniz Bölgesi; Adana, Antalya, Burdur, Hatay, Isparta, İçel, Kahramanmaraş ve Osmaniye illeri İl Sağlık Müdürlüklerinin 2001-2005 yılları arasındaki beş yıllık verilerine göre toplam 2578 olguya KE tanısı konmuştur.

İç Anadolu Bölgesi; 13 ilde (Aksaray, Ankara, Çankırı, Eskişehir, Karaman, Kayseri, Kırıkkale, Kırşehir, Konya, Nevşehir, Niğde, Sivas, Yozgat) toplam 5.404 olguya KE tanısı konmuştur.

Karadeniz Bölgesi; Sağlık Bakanlığı verilerine bakıldığında (Amasya, Artvin, Bolu, Çorum, Giresun, Gümüşhane, Kastamonu, Ordu, Rize, Samsun, Sinop, Tokat, Trabzon, Zonguldak, Bayburt, Bartın, Karabük, Düzce) toplam 428 olgudur.

Doğu Anadolu Bölgesi; Ağrı, Bitlis, Elazığ, Malatya, Erzincan, Erzurum, Hakkari, Van, Kars ve Ardahan illerinde faaliyet gösteren çeşitli hastanelerde 2001-2005 yıllarında opere edilen hasta kayıtları kullanılmıştır. toplam 844 hasta opere edilmiştir..

Güneydoğu Anadolu Bölgesi; Adıyaman, Batman, Diyarbakır, Gaziantep, Kilis, Mardin, Siirt ve Şanlıurfa illerinde son beş yılda KE tanısı almış hastalar değerlendirilmiştir. Toplam 887 olguya KE tanısı konulmuştur (Yazar, 2008).

Sonuç olarak; KE yurdumuzun yalnızca belli bölgelerinde değil görülme sıklığı değişken de olsa tüm bölgelerinde yayılış göstermektedir (Altıntaş, 2003)

4. KİSTİK EKİNOKOKKOZİS KLİNİĞİ

4.1 Belirtileri

Kistik Ekinokokkozis olgularının %65'inin asemptomatik olması hastalığın ancak diğer hastalıklar araştırılırken rastlantısal olarak tespit edilmesine yol açmaktadır. KE'in semptomları kistin lokalizasyonuna bağlıdır. Semptomatik hastalarda klinik bulgular çok değişkendir ve hastalığa özgün değildir. Semptomlar;

Tutulan organ,

Lezyonun büyüklüğü ve yeri,

Genişleyen kistin sıkıştırdığı komşu yapılar (safra yolları, damarlar vb.)

Kistin spontan veya travmatik rüptürü,

Bakteriyel enfeksiyon,

Kistin protoskolekslerle veya kız kistlerle yayılımı

Astım, anafilaksi veya membranöz nefropati gibi immunolojik reaksiyonlara bağlı olarak değişmektedir (Ertabaklar, 2001).

Cinsiyet dağılımı önemli bir özellik göstermese de, çalışmaların büyük bir kısmında kadınlarda daha fazla görüldüğü bildirilmektedir. Hastaların mesleki dağılımına bakıldığında ise epidemiyolojik ve sosyo-ekonomik şartlara bağlı olarak ülkeden ülkeye farklılıklar görülmektedir (Altıntaş, 2009).

Genel belirtileri: generalize ürtiker, eozinofili ve çocuklardaki gelişme geriliğidir. Bu belirtiler genel olarak helmintiyazlarda görülebilen belirtiler olup özellikle KE'nin endemik olduğu bölgelerde KE'yi düşündürmektedir (Yazar, 1998).

Bölgeden bölgeye fark etmekle birlikte KE, en sık karaciğerde (%60-85) görülmekte ve çoğunlukla sağ lobda yerleşmektedir. Multipl kistler diğer organlara nazaran karaciğerde daha sık görülmektedir. Olguların çoğunda (%72) soliter tek bir kist mevcuttur. Karaciğer kistlerinin %10-15'i enfekte olur (Ertabaklar, 2001). Enfeksiyon gelişmesi ile parazitin öldüğü ve kistin inaktif hale geçtiği kabul edilmektedir (Altıntaş, 2004). Hepatik tutulumun en önemli kaynağı portal vendir. Karaciğer sağ lobunun sol lobdan daha büyük, portal kan dolaşımının bu lobda daha fazla olması nedeniyle kistlerin %80-85'i sağ lobda, %15-20'si sol lobda yerleşim gösterir (Altıntaş, 2009).

En sık yerleşim alanı olan karaciğer kist hidatiği olan hastalar genellikle künt bir sağ üst kadranda ağrısı ve karında şişlikten yakınırırlar. En sık fiziki muayene bulgusu hepatomegalidir (Altıntaş, 2004). Karaciğerde çoğunlukla safra yollarını sarar ve safra akımını engeller. Bu şekle biliyer form (forme biliaire) (%80-90) denir. Hastada bulantı, kusma birden bire gelen karın ağrıları vardır (Özcel, 2007). Sağ hipokondriumda özellikle solunumla artan ağrı vardır (Yazar, 1998).

Parankime yerleşen kistler ur özelliği gösterir. Bu şekil ise tümöral form (forme tumorale) (%10-20) adını alır. Çoğunlukla ön lobta saptanır. El sırt ve omuza vuran ağrılar vardır. Karaciğerin üst lobuna yerleşen kistler uzun süre gizli kalır. Diyafragmayı yukarı iterek akciğere basınç yapar. Bunun sonucunda soluma güçlüğü ve öksürük dikkati çeker. Karaciğer arka lobuna yerleşim ise çok seyrekdir. Karaciğerin ortasına yerleşen kistler, vena porta üzerine basınç yaparak karında sıvı toplanmasına yol açar (Özcel, 2007).

Kistik Ekinokokkozis karaciğerden sonra ikinci sıklıkla (%10-30) akciğerlerde görülmektedir. Her yaşta görülmekle birlikte genç erişkinlerde sıktır (11-30 yaş rası). Kistler %70 tek, %30 multipl ve sıklıkla sağ alt lobda görülmektedir. %7 bilateral ve %5 tek akciğerde multipl olarak görülmektedir. %14 oranında ise karaciğerle beraber görülmektedir (Ertabaklar, 2001).

Akciğer hidatik kisti çok yavaş büyür. Yıllarca belirti vermeyebilir. Olguların ¼'ünde göğüs ağrıları seyrek olarak öksürük ve balgam çıkarma görülür.

Akciğerin radyolojik incelemesinde, komplikasyon yapmamış kist yuvarlak, homojen ve belirgin sınırlı yoğun bir kitle biçimindedir. Akciğer hidatik kistinin kendiliğinden ya da herhangi bir etki ile çeperi yırtılabilir. Bu hastanın ağzından, burnundan tuzlu ve parlak sıvı boşalır. Hidatik kist plevra boşluğuna açılırsa güçlükle soluma, şiddetli ağrı ve siyanoz şekillenir. Anafilaktik şok ölüme yol açar (Özcel, 2007). Lokal belirtilerden en önemlisi hemoptizidir. Balgamda çizgi şeklinde kandan, öldürücü kanamalara kadar her derecede olabilir. Genellikle hemoptizi kistin yırtılmasının yakın olduğunu gösteren bir belirtidir ve miktarı da azdır. Plevraya yakın kistlerde göğüs ağrısı mevcut olabilir. Çok büyük kistler çocuklarda göğüs deformitesi yapabilir (Yazar, 1998).

Hidatik kist böbreğe, dalağa, beyine ve kemik iliğine yerleşebilir. Bu durumda o organlara ait klinik bulgular ortaya çıkar. Kemik boşluklarında gelişen

hidatik kistler öncelikle femurun üst ucunda, tibia ve humerusda bulunurlar. Buralarda boşluklar boyunca normal şekillerinden farklı bir gelişim gösterirler. Dışta adventisia tabakası yoktur. Buralarda yerleşen kistler kemiği tahrip ederek kırılmalarına neden olurlar (Özcel, 2007).

Dalak kist hidatiği; kist hidatikli hastaların %2.5-3'ünü oluşturur. Sol hipokondriumda şişkinlik, ağrı, bulantı gibi semptomlara neden olabilir. Böbrek yerleşimli kistler çoğunlukla tektir ve korteks yerleşimlidir (Altıntaş, 2009).

Merkezi sinir sistemi, göz veya kalp gibi yaşam için önemli organlara yerleşmesi durumunda, bu dokularda tahrip sonucu ölümlere neden olur (Göçmen, 2000). Serebral kist hidatik: olguların %0.5-2 sini oluşturur. Erken semptom verir. Prognozu kötüdür. Çoğunlukla sekonder ve tektir. Çok hızlı (yılda 10 cm) büyürler (Ertabaklar, 2001). Beynin her bölgesinde yerleşim gösterse de, en sık olarak orta serebral arter komşuluğunda yerleşir (Altıntaş, 2004; Altıntaş, 2009). Genellikle çocukluk çağında görülen hastalığın semptomları kafa içi basıncın artması sendromu (KİBAS) belirtileridir. Bu belirtiler şiddetli baş ağrısı, bulantı, kusma, iştme ve görme bozuklukları ve koma hali ile özetlenebilir (Yazar, 1998).

Kistler değişik organlara açılabilir ve açıldığı yere göre de semptomlar vermektedir. Rüptürün en sık gerçekleştiği yerler safra yolları (%12) ve toraktır (%2.2) (Tinsley, 2013).

- Safra yollarına rüptür; şiddetli karın ağrısı, ateş, kusma, sarılık, alerjik reaksiyonlar ve bazen kardiovasküler kollaps görülebilir.
- Sindirim kanalına rüptür; bağırsağa, mideye açılabilir ve hematemez (kan kusma) veya melena (koyu renkli kanlı dışkı) ile hidatik membranlar atılabilir.
- Peritona rüptür; travmatik veya spontan olabilir. Peritonit tablosu ve anafilaktik şok gelişebilir (Ertabaklar, 2001). Bunda iki ihtimal mevcuttur:
 1. Kist peritonda kapalı bir bölgeye açılır ve bir kistlenme zarı ile çevrilir. Bu halde genel durum bozulmaz, fakat karın asimetric olarak çok büyür, safra, hidatik sıvı ve kist artıklarıyla doludur.
 2. Kist yırtıldıktan sonra bütün peritona yayılır, çok sayıda sekonder kist tüm periton yüzeyinde ve karın içi organlarda gelişir. Hasta uzun süre bu sekonder kistlere dayanır, ancak büyüyen kistlerin

intestinal ve üretral organları sıkıştırmaya başlamasıyla belirtiler ortaya çıkmaya başlar ve hasta sonunda klasik bir hidatik kaşeksi tablosu içinde ölür. Operasyonun mümkün olduğu durumlarda hasta kurtarılabilir (Altıntaş, 2009).

Tinsley ve ark.larının (2013) yaptıkları literatür taraması sonucu ulaştıkları bilgilerde anafilaksiyle sonuçlanan intraperitoneal rüptürlerin genellikle Türkiye'den olduğu ve İngiltere'de bu gibi rüptürlerin olmadığı bildirilmektedir.

- Toraksa rüptür; genellikle travmalardan sonra görülür ve sekonder plevra kist hidatiği gelişebilir.
- Vena cava'ya rüptür; çok nadirdir.

Hidatik kistlerin aorta, inferior vena kava ve kalbe açıldığı da bildirilmiştir (Altıntaş, 2004).

En yaygın komplikasyon kistin rüptürüdür, internal veya eksternal olabilir ve sekonder enfeksiyona, anafaktik şoka ve karaciğerin yer değiştirmesine sebep olabilir. Travma, kist rüptürünün nedenlerinden biridir ve acil girişim gerektirmektedir (Ertabaklar, 2001). Kisti yırtılan hastalar ani başlayan, çok şiddetli karın ve baş ağrıları ile kıvranırlar, panik içindedirler, ateş kısa sürede 40°C'ye yükselir, aynı zamanda genel bir ürtiker yerleşir (Altıntaş, 2009).

Hidatik kistin kalsifikasyonu sık görülmeyen bir durumdur. Önemi çok iyi bilinmemesine rağmen uzun yıllar direkt grafilerde kalsifikasyon görülmesi tanısal açıdan önemli bir bulgu olarak değerlendirilmiştir (Altıntaş, 2004).

4.2. Tanı

Taniya yardımcı olması için öncelikle hastanın anamnez bilgileri gerekmektedir. Yaşadığı yer, köpek sahibi olup olmadığı, hastalık açısından endemik olan bölgelere gidip gitmediği gibi bilgiler hastalığın durumunu desteklemektedir.

Kistik ekinokokkozisin çok geniş klinik ve patolojik belirtileri olmasından dolayı tanı koymak için tek bir yöntem belirlemek olanaksızdır. Genellikle tanı radyolojik yöntemler kullanılmakta serolojik testler tanıyı destekleyici olarak uygulanmaktadır. Gerekirse moleküler tanı yöntemleride uygulanarak doğru tanının konulması sağlanır.

Tanı farklı süreçlerle sağlanabilir;

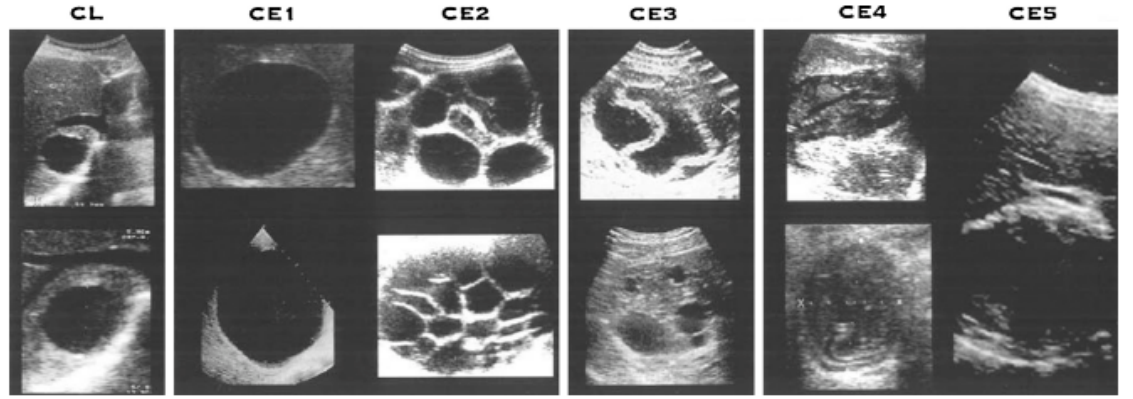
- 1) Klinik özelliklere göre şüphe edilmesi ya da tarama sonucu,
- 2) Radyolojik görüntüleme yöntemlerinin kullanılması ve şüpheli kistlerin özelliklerinin ortaya konulması,
- 3) İmmunolojik yöntemlerin kullanılması ve spesifik antikorların (ELISA, Arc 5 antikor vs) gösterilmesi,
- 4) Şüpheli olgularda herhangi bir kontrendikasyon yoksa tanısal ponksiyon yapılması,
- 5) Cerrahi, veya ponksiyon ile elde edilen örneklerde protoskolekslerin ya da parazitin gösterilmesi (Altıntaş, 2004).

Radyolojik görüntüleme yöntemleri

Radyolojik görüntüleme yöntemleri tanıda çok yardımcıdır. Kistin yerleştiği organa göre direkt grafiler, ultrasonografi (US), bilgisayarlı tomografi (BT) ve magnetik rezonans (MR) görüntüleme tanı aracı olarak yardımcıdır.

Görüntüleme yöntemlerinde ultrasonografi invazif olmayan en önemli tanı yöntemi olup doğru tanı oranı %90 dolaylarındadır. Özgüllüğü %91 olan bu yöntemde internal eko önemli bir bulgudur. Ultrasonografi bulgularına göre beş tipte kist tanımlanmıştır. Tip II, III ve V en sık rastlanan bulguları kapsar. Gerek ultrasonografi gerekse bilgisayarlı tomografi ameliyat sonrası izlemde de yararlıdır (Altıntaş, 2004).

Dünya sağlık örgütü içinde oluşturulan Ekinokok Çalışma Grubu (WHO-İnformal Working Group on Echinococcosis (WHO-IWGE)) Kasım 1997'de Lizbon'da yapılan XVIII. Uluslararası Hidatidoloji Kongresi'nde kabul edilen ultrasonografik tiplendirmelerin standardize edilmesi gerektiğini vurgulamış ve bu tipteninin aşağıdaki şekilde olması kabul edilmiştir (Resim 4.1):



Resim 4.1. WHO standart sınıflandırması (Brunetti, 2010)

Tip 1 (Ce4); Uniloküler, sınırlar tam olarak seçilemeyen, uniform anekoik tek bir kist, genellikle yuvarlak ama oval de olabilir. Genellikle infertildir fakat kist büyüdükçe fertilitte artabilir. US'da tanı koydurucu özellikler nadiren saptanır ve tanı için daha ileri tetkiklere ihtiyaç duyulur.

Tip 2 (Ce1); Uniloküler, tek kist, kist içeriğinin ekosu, sıklıkla hidatik kum olarak adlandırılan çimlenme kapsülünün yer değiştirmesinden dolayı (kar yağdı manzarası) iyidir. Kist duvarı görünür. Genellikle fertildir ve şekil yuvarlak veya ovaldir.

Tip 3 (Ce2); Multiveziküler, çok bölmeli kistler; kız kistler "bal peteği" görünümünü oluşturur. Kız kistler kısmen veya tamamen asıl kisti doldurabilir. Kist duvarı görülebilir ve kistin şekli genellikle yuvarlak veya ovaldir. Genellikle fertildir. US bulguları tanı koydurucudur.

Tip 4 (Ce3); Kız kistler içerebilen uniloküler kistler, laminar membranın kist duvarından ayrılması ve kist sıvısı içerisinde yüzmesine bağlı anekoik görüntü "nilüfer çiçeği" manzarası olarak adlandırılmaktadır. Kistin yuvarlaklığı, intrakistik sıvı basıncının düşmesine bağlı olarak bozulmuştur. Kist dejenere olmaya başlamasına rağmen fertildir. US bulguları tanı koydurucudur.

Tip 5; Kist heterojen hipo veya hiperekoikdejeneratif içeriğe sahiptir. "yün topu" gibi görünüm membranların dejenerasyonuna işaret etmektedir. Bu görüntüdeki ölü kistlerin çoğunluğu infertildir. US bulguları tanı koydurucu değildir.

Tip 6 (Ce5); Kist karakteristik kalın kalsifiye, yay şeklinde ve konik bir gölge oluşturan duvarla çevrilidir. Kist çoğunlukla fertil değildir. US bulguları tanı için kesin olmamakla birlikte destekleyicidir

Yukarıda açıklanan tiplendirmeye göre klinik olarak 3 grup belirlenmiştir.

Grup 1: Aktif grup; 2cm'den büyük gelişmekte ve sıklıkla fertil olan kistleri kapsar. Tip 1, Tip 2, Tip 3 bu gruba dahildir.

Grup 2: Geçiş grubu; Kistte dejeneratif değişiklikler başlamıştır, fakat genellikle canlı protoskoleksler içermektedir. Tip 4 bu gruba dahil edilmektedir.

Grup 3: İnaktif grup; Dejenere olmuş veya kısmen ya da tamamen kalsifiye olmuş kistleri kapsar. Çok nadiren canlı protoskoleksler içerebilir. Tip 5 ve Tip 6 bu gruba dahil edilmektedir (Ertabaklar, 2001).

Bilgisayarlı tomografi (BT) herhangi bir organı izleme olanağı sunması, daha küçük kistleri saptaması, boyutlarını ölçmesi, kisti kesin lokalize edebilmesi ve parazitik kist oluşumlarını parazitik olmayandan daha kolay ayırtedebilmesi özellikleri nedeniyle USG'ye oranla daha üstündür. Ancak BT'nin yüksek maliyeti bazı endemik ülkelerde kullanımını kısıtlamakta olduğu bildirilmiştir (Yazar, 1998). Manyetik rezonans (MR)'ın KE tanısında BT'ye bir üstünlüğü yoktur. Fakat intrahepatik ve ekstrahepatik venöz sistemin görüntülenmesinde MR daha yararlıdır (Ertabaklar, 2001).

BT ya da manyetik rezonans görüntüleme daha çok kistlerin yapılarını belirlemekte yardımcıdır (Zeng, 2013).

Radyografi akciğer kistlerinin tanısında kullanılır. Rüptüre olmamış kistler keskin kenarlı, genellikle yuvarlak veya oval, 1-20cm arasında, homojen sıvı ile dolu olarak görülürler. Kist büyüyüp yaşlandıkça fibröz perikistik tabakanın artması nedeniyle konturları keskinliğini kaybeder ve düzensizleşir (Ertabaklar, 2001).

Serolojik tanı yöntemleri

Laboratuvar teşhisinde serolojik ve immunolojik yöntemler tanıyı destekler. Casoni deri testi ve Weinberg (kompleman birleşmesi reaksiyonu) yöntemi bugün için tanıda fazla bir değer taşımamaktadır. Özellikle ELISA ve hemaglutinasyon testleri başta olmak üzere aglutinasyon, presipitasyon, immuno-floresans, immüno-elektroforez günümüzde tanıda sıklıkla kullanılan testlerdir (Özcel, 2007).

Serolojik testler, hasta serumlarındaki *Echinococcus granulosus* antijenlerine karşı oluşan antikörleri belirlemekte antijeni belirlemekten daha duyarlıdır (Tenguria, 2013).

Testlerin tanıdaki sensitivite ve spesifitesi:

- Antijenin kalitesi, saflığı, karakteri
- Hastanın immünoglobulin cevabı
- Testin spesifitesi
- Seçilen teknolojinin duyarlılığına bağlı olarak değişmektedir (Ertabaklar, 2001).

Hidatik kist sıvısı, protoskoleksler ve kütikül farklı antijenik yapı gösterirler. Bazı antijenik fraksiyonlar *Taenia saginata*, *Fasciola hepatica* ve *Schistosoma mansoni* antijenleri ile ortak özellik taşırlar. Hidatik kist antijenlerinden lipoprotein yapısındaki 5 antijeni ve B antijeni hidatik kiste özeldir.

Antijen 5: Capron ve ark. tarafından 1967 yılında tanımlanmıştır. Isıya dayanıksız ve lipoprotein yapıdadır. İndirgenmiş koşulda SDS-PAGE'de 67 kDa büyüklüğünde, indirgenmiş koşulda ise 24 ve 38 kDa olmak üzere iki bileşene sahiptir. Moleküler ağırlığının kullanılan saflaştırma yöntemlerine bağlı olarak 60.000- 400.000 dalton arasında değiştiği ve polimerik bir yapısı olduğu bildirilmektedir. Tanıdaki kullanımı nematod, sestod ve trematodlar arasındaki çapraz reaksiyonlar nedeniyle sınırlıdır (Ertabaklar, 2001).

Antijen B: Oriol ve ark. tarafından 1971 yılında tanımlanmıştır. Isıya dayanıklı, 100°C'de 15 dk'de antijenitesi bozulmadan kalabilen, lipoprotein yapıda bir antijendir. SDS-PAGE'de indirgenmiş ve indirgenmemiş şartlarda 8/12, 16 ve 20/24 kDa olmak üzere 3 subünitten oluşmaktadır. Moleküler ağırlığının 120 kDa olduğu tahmin edilmektedir ve en küçük alt üni (8/12 kDa) güçlü immünojenik özelliğe sahiptir. Kist sıvısında antijen 5'e oranla 10 kez daha yoğundur. Her iki antijenin de germinatif tabakalardan veya protoskolekslerden kaynaklandığı gösterilmiştir (Ertabaklar, 2001).

Serolojik testlerin, enfeksiyonlu kişilerin serumundaki spesifik antikörleri tespit etme kapasitesinin (sensitivite) ve KE hastalığı olanları diğer parazitik ve klinik hastalığı olanlardan ayırma kapasitesinin (spesifite); kullanılan antijenin cinsi ve hazırlama şekli, değişik pozitiflik kriterleri, kistin canlılığı ve

lokalizasyonu, parazitin suşu gibi birçok sebebe bağlı olarak farklı oldukları bilinmektedir (Yazar, 1998).

Kullanılacak serolojik ve immunolojik yöntemlerin sentivite ve spesifitesi tanının doğru olması için yüksek değerde olmalıdır. Bundan dolayı aynı hasta serumuna birden fazla test uygulanarak değerlerin doğruluğu kontrol edilir.

Casoni deri testi: İlk kez 1912 yılında Casoni tarafından uygulanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından uygulanmaması tavsiye edilmiştir (Yazar, 1998).

Kompleman birleşmesi testi (Weinberg): ilk kez 1906 yılında Ghedini tarafından kullanılmıştır. Günümüzde artık kullanılmamaktadır (Ertabaklar, 2001).

Lateks Aglutinasyon Testi (LAT): Testin duyarlılığı %83, özgüllüğü %94'dür. Günümüzde çok nadir kullanılmaktadır (Özdemir, 2005).

İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHAT): Bu testte tannik asitle duyarlandırılan eritrositlerin yüzey gerilimlerinin değişmesiyle antijen tutmaları özelliğinden yararlanılmaktadır. Çalışma prensibi antijenle kaplanan koyun eritrositlerinin serumda bulunan antikörlerle aglutinasyon vermesi esasına dayanan IHA testi ilk kez 1957 yılında Garabedian ve arkadaşları tarafından KE tanısında kullanılmıştır.

IHA testinin hassaslığını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada; dört hemaglutinasyon yöntemi karşılaştırılmalı olarak çalışılmış ve 1/32 serum dilusyonları üzeri pozitif kabul edildiğinde, benzidin ve formollü IHA testlerinin en iyi sonuç verdiği, IHA'nın en hassas test olduğu bildirilmiştir. Buna rağmen KE dışında bir hastalığı olanlarda ve sağlıklı insanlarda yüksek oranda çapraz reaksiyon ve yalancı pozitiflik saptamışlardır. Tannik asit ve glutraldehide ile duyarlılaştırılmış eritrosit kullanılan IHA testinde diğer testlerin aksine KE olgularında daha düşük pozitif sonuç alınmasına rağmen, diğer paraziter ve non-paraziter hastalıklı ve sağlıklı kişilerin serumunda non-spesifik reaksiyonlara düşük oranda rastlanılmıştır. Sonuçta KE için en hassas IHA yönteminin tannik asit kullanılan yöntem olduğu belirlenmiştir. Ayrıca benzidin'in kanserojen oluşu, tannik asit yönteminin formol testinden daha basit uygulanır olması KE tanısı için en uygun IHA yönteminin tannik asitli yöntem olduğu sonucuna vardırırmıştır (Ertabaklar, 2012).

İndirekt Floresan Antikor Testi (IFAT): Immunofluoresans, fluoresceine isocyanate, fluoresceine isothiocyanate, Rodamin B200 gibi floresans verici maddelerle işaretlenmiş antikorun antijenle oluşturduğu serolojik reaksiyona dayanan bir tanı yöntemidir. İşaretlenmiş antikorlar spesifik antijenlerle bağlanınca floresans mikroskop altında görülebilir hale gelmektedir.

KE tanısında ilk kez 1964 yılında Azevedo ve Rombert tarafından kullanılan IFA testinde, antijen olarak skoleks veya çimlenme zarı kesit antijeni kullanılmaktadır.

Bütün skoleks antijeni; skoleksler, fertil kistten kist sıvısı ile birlikte steril şartlarda alınıp Phosphate Buffer Saline (PBS pH 7.2) veya fizyolojik tuzlu su ile birkaç kez yıkanır. Temiz ve çizilmiş lamalar üzerine pastör pipeti ile damlalar halinde konup kurutularak kullanılıncaya kadar (birkaç ay) -20°C 'de saklanır (Altıntaş, 2004).

Skoleks kesit antijeni; steril tüp içine alınan skoleksler, fizyolojik tuzlu su ile 3-4 kez yıkandıktan sonra temizlenmiş fare ince bağırsağına doldurularak iki ucu bağlanır ve -20°C 'de dondurulur. Kriyostatla 4-6 μm kalınlığında kesitler alınarak lamlara üçer adet konur ve -20°C 'de saklanır (Altıntaş, 2004).

Çimlenme zarı kesit antijeni; kist içinden elde edilen zarlar küçük parçalara ayrılıp fizyolojik tuzlu su ile birkaç kez yıkandıktan sonra kobaydan ya da tavşan alınmış ince çizgili kasa sarılarak dondurulur ve kesit alınır. Alınan kesitler lamalar üzerine konup -20°C 'de saklanır (Altıntaş, 2004).

Sonuçlar Floresan mikroskopta değerlendirilir. Pozitif preparatlarda sarı-yeşil floresan veren bu testin oldukça duyarlı olmasına rağmen, düşük serum dilasyonlarında *Taenia solium* ve diğer bazı parazit hastalıklarında çapraz reaksiyon verdiği de bildirilmiştir (Altıntaş, 2004).

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Testi: Polistren plaklara emdirilmiş antijen moleküllerine bağlanan özel antikorlar üzerine, indirekt olarak enzim işaretli anti-insan immunoglobulinlerin bağlanması ve bileşimindeki enzimin substratı ile renk vermesi esasına dayanan bu test 1971 yılında Engvall ve Perlmann tarafından geliştirilmiştir.

Yöntemin avantajları:

- ✧ Duyarlı ve güvenilir olması
- ✧ Kolay uygulanabilirliği

- ✧ İşaretli immün ayıracıların uzun süre saklanabilmesi
- ✧ Radyoizotopların kullanılmasındaki atıkların yok edilmesi probleminin olmayışı
- ✧ Enzim işaretleri için kromojenik substrat kullanılarak görülebilir ve okunabilir sonuçlar vermesi
- ✧ Çok sayıda serum çalışmasına olanak vermesi nedeniyle epidemiyolojik çalışmalarda kolaylık sağlaması

Yöntemin dezavantajları:

- ✧ Özel aletlere ihtiyaç duyulması
- ✧ Deneyimli personel gerektirmesi
- ✧ Pahalı bir yöntem oluşu (Altıntaş, 2004; Yazar, 1998).

Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) ve Western Blot (immunoblotting) yöntemi:

A) SDS-PAGE yöntemi;

Protein karışımlarının polyacrylamid jel içinde analizine dayanan bu yöntem oldukça hızlı ve mikrogramla ifade edilebilecek bir hassasiyete sahip olduğu gibi boyama veya otoradyografi ile jeldeki proteinlerin teşhisinde son derece hassas bir yöntemdir. Klasik elektroforetik yöntemler içerisinde modifiye edilmiş çok farklı jel sistemleri varsa da SDS-PAGE bunlar içerisinde en popüler olanlardan birisidir. Yöntemin en önemli özelliklerinden bir tanesi çok sayıda komponent içeren proteinlerin kompleks karışımlarının ayrılmasını sağlamasıdır. Ayrıca polyacrilamide jel'in güçlü yapısından dolayı deterjanların veya denatüre edici ajanların da kullanılması ile elektroforez için ideal ortam oluşturması, yöntemin popülaritesini artırmaktadır.

Yöntemin avantajları:

- ✧ Membranlardan elde edilen suda erimez proteinler deterjanlar vasıtasıyla solüsyon içerisinde muhafaza edilebilmektedir.
- ✧ Viral partiküller ve multimerik proteinler gibi makromoleküler kompleksler sodium dodecyl sulfat (SDS) veya üre gibi ajanlarla polipeptid bileşimlerine ayrılabilirler.

- ✧ Çözünmeyi takiben hemen hemen tamamen büyüklükleri veya yükleri tarafından idare edilen polipeptidlerin hareketlerini sağlamak mümkündür.
- ✧ Bazen ayrıştırılan proteinlerin denatüre edici ajanları uzaklaştırmak suretiyle yeniden oluşumlarını sağlamak da mümkündür.

SDS-PAGE'in kullanıldığı alanlar:

- Proteinlerin saflığının araştırılması
- Proteinlerin molekül ağırlığının saptanması
- Protein konsatrasyonunun doğrulanması
- Proteinlerin bileşiklerinin tanısı (Proteolysis'in tanısı)
- Protein modifikasyonun belirlenmesi
- Antikor üretimi için protein antijenlerin konsantrasyonu ve seperasyonunun yapılması
- Radyoaktif olarak işaretlenmiş proteinlerin seperasyonu
- Western blot analizi için antijen hazırlama yöntemi olarak kullanılması.

Günümüzde proteinlerin analizi için belki de en çok kullanılan SDS-PAGE yöntemi proteinlerin karakterizasyonunda, karşılaştırılmasında ve kantitatif olarak elde edilmesinde kullanılan, pahalı olmayan, hızlı ve tekrarlanabilir bir yöntemdir. Bunun için son derece geniş bir kullanım alanına sahiptir. Proteinlerin elektroforezinde, proteinin şekli, moleküler kütlesi, ortamın pH'ı ve bu pH'da proteinin anyon veya katyon olması gibi özellikler nedeniyle, farklı proteinler farklı göç hızı gösterirler ve birbirlerinden ayrı noktalara doğru hareket ederler. SDS'e bağlanan proteinler genellikle denatüre olup çözünürlük kazanarak şekillerini değiştirirler. Böylece proteinler (asidik veya bazik) negatif yüklenmiş kompleksler olarak yüklerindeki ve büyüklüklerindeki farklılığa göre polyacrylamide jelin kalbura benzer matriksinde elektroforezile seperasyona tabi tutulurlar.

Polyacrylamide jeller, acrylamide ve bisacrylamide'den kimyasal polimerizasyon ile elde edilmektedir. Polimerizasyonu başlatmak için amonium persülfat ve katalizör olarak da TEMED (N, N, N, N-tetramethylethylenediamine) kullanılmaktadır.

SDS jel sisteminin asıl popüleritesi ‘‘stacking gel’’ kullanılmasından kaynaklanan rezolüsyonun (çözülürlüğü) mükemmel oluşundandır. Bu sistemde örnekler büyük hacimlerden çok küçük zonlara konsantre edilir ve daha sonra farklı türlerin daha iyi seperasyona uğraması sağlanır. Bu sistem ‘‘seperating gel’’ üzerine ‘‘stacking gel’’ koymakla kurulur. Bunlar pH’ları farklı jellerdir. Örnek sistemdeki stacking jele konur. Elektrik akımı uygulandığında, iyonlar elektrotlara doğru hareket ederler, stacking gel’deki pH ortamında protein-SDS kompleks Cl^- iyonları (sistem içinde bulunan) ve glycinate iyonları (rezervuar buffer içinde bulunan) arasında hareket ederler. Sistemde en büyük hareketliliğe sahip olan iyon Cl^- iyonlarıdır. Bunu takip eden daha büyük iyonlar stackin gel’in dar zonlarına konsantre olurlar, fakat burada etkili bir şekilde seperasyona uğramazlar. Hareketli zonlar seperating gel’e ulaştıklarında bunların her birinin hareketleri oradaki pH’da değişir ve glycinate iyon cephesi protein-SDS kompleks zonlarını önüne katarak, bunları buffer içindeki elektrik sahasında büyüklük ve yüklerine göre seperasyona uğramak üzere bırakırlar (Yazar, 1998).

SDS –PAGE için gerekli materyaller:

Elektroforez aleti (Minigel apparatus): Genellikle kullanılan ve kullanıcılar tarafından önerilen alet Bio-Rad Mini-Protean’dır. Protokoller diğer sistemlere de uygulanabilirlerse de mini jel sistem kullanılan malzeme ve materyalden tasarrufu sağlaması nedeniyle tavsiye edilmektedir.

1. Güç kaynağı (Power supply): 200V, 500 mA
2. Kaynamış su banyosu
3. Eppendorf tüpler
4. Çalkalayıcı (Rotary shaker)
5. Mikropipet (50-100µl kapasiteli)

SDS-PAGE’de iki tip jel kullanılmaktadır.

1. Separating (Running gel) jel: seperasyona tabi tutulacak örneğin komponentlerine ayrıldığı, küçük gözenekli, pH’ı 8.3 olan ve gözenek büyüklüğü örnekteki polipeptidlerin moleküler ağırlığının heterojenitesine göre ayarlanabilen kısımdır. Acrylamide’in yüksek konsantrasyonları (%10-12) kullanılırken, yüksek moleküler ağırlıklı

proteinlerin seperasyonu için düşük konsantrasyonları (%5-6) tercih edilmektedir.

2. Stacking jel: büyük gözeneklidir, pH'nın 6.8 olduğu ve örneğin konsantre edildiği kısımdır.

B) Western blot (immunoblotting) 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 (1975) tarafından ortaya atılmıştır. Immunoblotting ya da Western blotting adı verilen bu immunokimyasal yöntemler bir membran üzerine sabitleştirilmiş proteinleri tanımlamada kullanılmaktadır. Bu transfer yöntemi “blotting” diye adlandırılır, çünkü elektroforez ile jel içinde ayrıştırılan proteinlerin transfer edildikleri nitroselüloz membran üzerindeki bant örnekleri, orjinal jel üzerindeki örneklerin tam anlamıyla kopyasıdır. Proteinlerin membranlara transferi de “Western blotting”, DNA izolasyonu için kullanılan yöntem “Southern blotting”, RNA izolasyonu için kullanılan yöntem ise “Northern blotting” olarak isimlendirilmiştir.

Orjinal jel ile çalışmak yerine Western blot ile çalışmanın pek çok avantajı vardır. Bunlar şöyle sıralanabilir:

- ◆ Hızlı boyanma (staining) ve renginin açılması (destaining)
- ◆ Örneklerin hazırlanan jel içinde hızlı bir şekilde lokalize olabilmesi
- ◆ Düşük konsantrasyonlardaki örneklerin dahi tanımlanabilmesi
- ◆ Jel seperasyonundan sonra örneklerin sürekli kaydedilebilmesi.

Western blot için gerekli materyaller:

1. Elektroblot aleti (Bio Rad Mini Trans-Blot Electrophoretic Transfer Cell)
2. Güç kaynağı (Power supply): 200V, 500 mA
3. Whatman filtre kağıdı (3MM)
4. Nitroselüloz (Nitrocellulose) membran (por büyüklüğü 0.2-0.45 µm)
5. Çalkalayıcı (Rotary shaker)
6. Jel inkübasyonunda kullanılmak üzere plastik veya cam kaplar
7. Özel pipet uçları

İmmunoblotting iki aşamada gerçekleştirilmektedir:

- 1) Protein jelden nitroselüloz membrana transfer edilir,
- 2) Spesifik antikor ile epitopun birleşmesi sağlanır.

Proteinin transferi en başarılı şekilde elektroforez ile gerçekleştirilmektedir. Genellikle kullanılan iki transfer yöntemi vardır:

Yarı-kurutma ile blotting (semi-dry blotting): Jel ve immobilize edilmiş membran, buffer ile ıslatılmış filtre kağıtları içinde tutularak 10-30 dakika akım geçirilir.

Islak (tank) blotting (wet blotting): Jel-membran sandwich sistemi elektrotransfer için transfer buffer içine konulur ve en az 45 dakika ya da tüm gece boyunca transfer işlemi devam eder.

SDS-PAGE ile elektroforeze tabi tutulan proteinler transfere hazır hale gelirler. Bu aşamadan sonra uygulanacak olan Western blot yönteminin ana hatlarını şu şekilde sıralamak mümkündür:

1. Seperasyona tutulan proteinlerin nitroselüloz membrana (ya da naylon veya benzeri membranlara) transfer edilmesi
2. Non-spesifik bağlanmayı önlemek için membran üzerindeki protein bağlanma kısmının bloke edilmesi (blocking)
3. Transfer edilmiş ilgili proteine spesifik antikorun bağlanması
4. Birinci antikora enzim işaretli ikinci antikorun bağlanması
5. Enzim bağlı kompleksin membrana uygun enzim-substrat solüsyonu uygulanarak yerleştirilmesi

Blotting membranları: çok çeşitli membranlar immunoblotting'de kullanılmasına rağmen en fazla kullanılan nitroselüloz membrandır. Nitroselüloza proteinlerin bağlanmasının fizikokimyasal temelinin büyük oranda birbirlerine karşı olan hidrofobik etkilerine bağlı olduğuna inanılmaktadır.

Por büyüklüğü 0.45 μm olan nitroselüloz çok amaçlı kullanılmaktadır, fakat düşük molekül ağırlıklı (molecular weight, MA) polipeptidler bağlanmaksızın geçip giderler. Bu moleküller için 0.1 μm membranlar önerilmektedir. Ancak matriks yoğunluğunun yüksek olması düşük MA'lı proteinlerin transferinin hatalı sonuçlanmasına neden olabilmektedir.

Proteinlerin membrana fikse edilmesi, yıkama ve inkübasyon safhalarında yıkanıp gitmelerini önlemektedir. Asit/alkol, gluteraldehid, kimsayal çapraz

bağlayıcılar ve ultraviyole ışınlarına tutma hep kullanılmıştır, fakat birçok proteinin epitopları böyle muamelelere hassastırlar ve antikolar tarafından tanımlanamayabilirler.

Blocking: eğer antijenler antiserum, monoklon antikor ya da bazı problarla tanımlanacak ise probun non-spesifik bağlanmasını önlemek için membran üzerindeki protein bağlanma kısmını bloke etmek gerekmektedir. Bu işlem için genellikle casein kullanılmaktadır. Toz halinde süt veya casein oldukça iyidir, düşük background verir, ucuzdur ve hazır bulunabilmektedir.

Primer antikor bağlanması: Primer antikor bağlanmasında ortamda bulunabilecek “azide” molekülü substrat reaksiyonunda peroxidase’ı inhibe edebileceğinden, primer antikor çözeltisinin hiçbir “azide” molekülü içermemesi gerektiği bildirilmiştir.

Sekonder (işaretili) antikoların bağlanması: Burada aranan antikor türleri için spesifik Ig veya protein A kullanılır.

Substrat reaksiyonu: Substrat solüsyonunda değişik kimyasallar kullanılabilir.

Testin değerlendirilmesi: Membran şeritleri üzerinde oluşan örneklere ait bantlar Molecular Weight Standart’a ait bantlarla karşılaştırılır.

Görüntüleme yöntemlerinin ve serolojik yöntemlerin kombinasyonu her zaman güvenilir tanı konulmasını sağlar (Zeng, 2013).

Son zamanlarda geliştirilen “dipstic” yöntemi KE serolojik tanısında dikkate alınan bir metottur. (Van Doorn, 2007; Al-sherbiny, 2004). Yirmialtı KE hastası ve diğer parazitik hastalığı olan 35 hasta ile yapılan bir çalışmada (deve hidatik kist sıvısı antijen olarak kullanılmıştır) %100 sensitivite ve %91.4 spesifite elde edilmiştir. Uygulama kolaylığı, 15 dk içerisinde yanıt vermesi ve sensitivite-spesifite yüksekliğine sahip olması ELISA ve WB gibi ekipman ve teknik deneyimi olmayan laboratuvarlar için kabul edilebilir alternatif bir tanı yöntemi olarak bildirilmiştir (Al-sherbiny, 2004).

4.3. İmmunoloji

Echinococcus granulosus’un metasesod enfeksiyonu, enfeksiyonun başlangıcından aylar veya hatta yıllar sonra bile tespit edilemeyen yavaş gelişen hidatik kist ile karakterizedir. Kistlerin inatçı karakteri immunologların dikkatini

çekmiştir. Bu güne kadar yapılan çalışmalara göre *E.granulosus* ve diğer *Tenia*'larda konağın immunolojik yanıtı iki dönemde incelenmektedir:

1. Gelişme dönemi (pre-encystment)
2. Olgun dönem (post-encystment)

Metasestod enfeksiyonuna karşı immunité daha fazla dikkatleri çekmiştir. İnsanlarda sıklıkla antikor seviyesi (IgG, IgM, IgE) yükselmiştir. Bununla birlikte hastaların önemli bir kısmında (>%30) dolaşan spesifik antikorlar açısından seronegatif olabilir. Koyunlarda da aynı durum söz konusudur ve sebebi tam olarak bilinmemektedir. Enfeksiyon süresince antikor üretimi, kistten periyodik olarak antijen salınarak ve/veya T helper hücrelerinin kontrol ettiği B hücre regülasyonuna bağlıdır. Hidatik kistli hastalarda kist sıvısına karşı IgG1 ve IgG4 antikorları baskındır. Bununla birlikte farklı antijenler farklı subgrupları öncelikli olarak tanımaktadır. Antijen 5 IgG1'i, antijen B IgG4'ü öncelikli olarak tanımaktadır (Özcel, 2009).

IgG düzeyleri IgM ve IgA'ya göre daha yaygın olarak saptanırken, kistlerin cerrahi olarak çıkarılmasından sonra IgM düzeyinin akciğer kistli hastalarda dört-altı ay, karaciğer kistli hastalarda 12 ay içinde normal değerine döndüğü, IgG düzeyinin ise uzun süre yüksek kaldığı, özellikle bazı Ig sentezlerinde organ spesifikasyonunun üzerinde durulması gerektiği gösterilmiştir. Karaciğer ve periton ekinokokkozisi genellikle akciğer, beyin ve göz enfeksiyonlarına göre daha kuvvetli antikor reaksiyonları oluşturabilirken, bazı hastalarda ise diğer Ig'ler normal düzeyde saptanmasına rağmen yüksek IgE düzeyleri dikkat çekici bulunmuştur. Helmin enfeksiyonlarında IgE antikor düzeyinin artması immün cevabın karakteristik bir doğasıdır ve bu yükselmiş IgE düzeyi sıklıkla alerjik yanıtla birliktedir (Altıntaş, 2009).

Cerrahiden ya da kemoterapiden sonra KE hastaları hastalıktan ve enfeksiyondan kurtulduklarına dair dikkatle takip edilmelidir. Antikor teşhisi tedavi sonrası takipte önemli bir yöntemdir. IgG alt sınıflarının serumdaki analizi, değişiklikleri kantitatif olarak daha net bir şekilde gösterir. Eğer hastanın kistleri başarılı bir şekilde çıkarılmış ise IgG4 operasyon sonrası kısa bir sürede negatif olur. Bunun aksine, eğer relaps olursa ELISA'da IgG4 titresi yükselir. Bu nedenle IgG4'ün hasta takibinde iyi bir markır olduğu düşünülmektedir. Spesifik IgE ve IgM-ELISA da bu konuda yardımcıdır (Altıntaş, 2009).

Hastalarda sıklıkla antikor seviyesi yükselmesine karşın bu antikorların parazite zararlı etkilerinin olduğunu destekler bir bulgu yoktur. Kist etrafında eozinofil, nötrofil, makrofaj infiltrasyonu görülebilir fakat yaşlı kistte fibröz tabaka laminar membranı konak dokusundan ayırmaktadır. Kist tamamen geliştiğinde, bu aşamada parazitin konak immun yanıtından etkilenmediği kabul edilmektedir. Kistlerin ölümünde direkt bir immunolojik fenomen tanımlanmamasına rağmen büyük ihtimalle olabileceği düşünülmektedir. Sekonder kistlerin fareden fareye aktarıldığında %40'ından fazlasının öldüğü deneysel olarak gösterilmiştir. Bu da kistlerin immunolojik olarak öldürülebileceğini destekler bir bulgudur (Altıntaş, 2009).

4.4. Tedavi

Tedavi aşamasındaki en önemli konulardan birisi kist hidatiğin medikal veya cerrahi bir hastalık olup olmadığı konusundan kaynaklanmaktadır. Tedavinin amacı; komplikasyonlarla beraber hastalığı yok etmek, lokal hastalığı ortadan kaldırmak ve mortalite ve morbidite oranını en aza indirerek rekürrensi azaltmaktır (Altıntaş, 2009; Altıntaş, 2004).

Karaciğer hidatik kistlerinin geleneksel tedavisi cerrahidir. Ancak cerrahi sonuçlar yüksek oranda mortalite, morbidite, postoperatif rekürrens ve uzun hastanede kalış süresi gerektirmektedir (Altıntaş, 2004). Medikal tedavide kullanılan benzimidazole bileşikleri operasyon uygulanmayan olgularda ve perkütan girişimler sırasında, ayrıca nüksleri önlemek amacıyla cerrahi öncesi ve sonrasında kullanılabilir (Ertabaklar, 2001).

Mebendazole 1977 yılında uygulanmaya girişinden bu yana başarılı sonuçlar ile tanımlanmıştır. Önerilen medikal tedavi süresi 6 aydır. Mebendazolün maximum dozu 300mgr/kg/gün iken albendazol için maximum doz 30mgr/kg/gün olarak verilmektedir. Medikal tedavi hamilelikte ve 2 yaş altında uygulanması kontrendikedir (Özcel, 2007).

İlaç tedavisinin amacı paraziti yok etmek, nüksü önlemek bunun yanında morbidite ve mortaliteyi en aza indirmektir. Albendazol ile olan medikal tedavinin tek başına kullanılmaması tavsiye edilmektedir. Albendazol diğer benzimidazollere göre daha iyi absorbe edilebilir fakat Praziquantel ile kombine olarak uzun süre boyunca kullanım gerektirmektedir (Tinsley, 2013).

Ultrasonografinin pratik hayata hızla girmesi ile birlikte perkütan kateter ile kistin boşaltılması ve sklerozan madde enjeksiyonu sık olarak kullanılmaya başlanmıştır. Perkütan tedavinin özellikle uniloküler kistlerde uygulanması önerilmektedir. PAIR (Ponksiyon, Aspirasyon, İnjektasyon, Reaspirasyon) tekniği ile literatürde başarılı sonuçlar vermektedir (Altıntaş, 2004).

Aşı geliştirme çalışmalarında hayvanlar açısından önemli adımlar atılarak EG95 olarak kodlanan bir aşı geliştirilmiştir. Aşının hayvanlarda ticari olarak kullanılabilmesi için saha çalışmaları devam etmektedir. Ancak insanlar açısından aynı başarıdan bahsetme olanağı henüz yoktur (Altıntaş, 2004).

4.5. Kontrol ve Korunma

Bulaşıcı hastalık kontrolü dendiğinde; bulaşıcı hastalıkların toplumda salgın yapmalarının önlenmesi, olgu sayılarının en aza indirilmesi, olanaklıysa eradike edilmesi için yapılan her türlü sağlık hizmeti anlaşılmalıdır. Bu sürecin etkin şekilde götürülebilmesi için enfeksiyon zincirinin kırılması, zincirin kırılabilmesi için de onu oluşturan ögelerin iyi anlaşılması gerekmektedir (Altıntaş, 2004).

Hastalığın karmaşık bulaşma zinciri göz önünde bulundurulduğunda eğitimin sürece müdahale etmede ne kadar önemli olduğu anlaşılmaktadır. Risk grubunun tüm toplum olması nedeniyle eğitim verilecek kitleleri, mekanları ve araçları aşağıdaki şekilde sıralayabiliriz;

1. Eğitim verilecek kitleler
 - Okul çocukları
 - Köpek sahipleri
 - Hayvancılık yapanlar
 - Mezbaha çalışanları
 - Kasaplar
 - Çiftçiler
 - Tedavi edilen hastalar ve yakınları
 - Anne-babalar
2. Eğiteceğimiz kitlelere ulaşabilmek için kullanacağımız eğitim ortamları;
 - Okullar

- Sağlık kurumları (özellikle sağlık ocakları)
 - Kışlalar
 - Camiler (özellikle Kurban Bayramı'nda)
3. Eğitimde kullanacağımız araçlar;
- Örgün eğitimde sağlık bilgisi kitapları
 - Yazılı ve görsel basın (Kurban Bayramı öncesinde yoğunlaştırarak)
 - El ilanları, afişler, broşürler (Kurban Bayramı öncesinde yoğunlaştırarak)

Enfeksiyon zincirinde yer alan önemli bir canlı olarak köpeklere yönelik yapılacak girişimleri ise şu şekilde sıralayabiliriz;

1. Köpek sayısının kontrol altında tutulması
 - ✓ Köpek nüfus planlaması (dişi sokak köpeklerinin belediyeler tarafından kısırlaştırılması)
 - ✓ Bütün köpeklerin kayıtlı hale getirilmesi ve sahip değişikliklerinin belediyelere bildirilmesi
 - ✓ Kayıt altına alınan köpeklerin kimlik kaydını ve aşı durumunu gösteren tasmaların kullanılmasının zorunlu hale getirilmesi
 - ✓ Başıboş köpeklerin belediyelerce toplanarak barınma evlerinde tutulması
 - ✓ Köpek sahipliliğinin özendirilmesi
2. Köpeklerin parazitle enfekte olmalarının önlenmesi
 - ✓ Arakonak olan kasaplık hayvanların kesiminin yalnızca mezbahalarda yapılması
 - ✓ Hayvan kesim yerlerinin kesinlikle veteriner kontrolünde olması
 - ✓ Mezbahalarda kesim sonrası kistli organların uygun biçimde yok edilmesi
 - ✓ Mezbahaların yakın çevresine köpeklerin gelmesinin önlenmesi
 - ✓ Ölen hayvanların cesetlerinin uygun şekilde imhası
3. Erişkin parazite yönelik girişimler;
 - ✓ Köpeklerin enfekte olup olmadıklarına bakmaksızın hepsinin arecolin uygulamasına tabi tutulması
 - ✓ Arecolin uygulamasının en az yılda iki kez yapılması
4. Köpeklerin paraziti bulaştırmasının önlenmesi

- ✓ Köpeklerin sebze bahçeleri, çocuk bahçeleri ve parklarda dışkılamalarının önlenmesi
- ✓ Çocuk yuvalarına, gıda maddesi satan yerlere köpeklerin sokulmasının önlenmesi (Altıntaş, 2004).

Parazitin karmaşık yaşam döngüsü, korunma ve kontrol programlarının yürütülebilmesi için multidisipliner bir yaklaşım gerektirmektedir. Dolayısıyla ilgili kurum ve kuruluşların bu konu üzerinde bir örgütlenme yapısına girmesi, belirli aralıklarla yapılacak durum değerlendirmelerine göre stratejiler belirlemeleri gerekmektedir.

Örgütlenmede görev alması gerekenler:

- a. Üniversiteler;
 - Tıp fakülteleri,
 - Veteriner fakülteleri.
- b. Bakanlıklar;
 - Sağlık Bakanlığı,
 - Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı,
 - Milli Eğitim Bakanlığı,
 - İçişleri Bakanlığı,
 - Çevre ve Orman Bakanlığı.
- c. Meslek örgütleri;
 - Türk Tabipleri Birliği,
 - Türk Veteriner Hekimleri Birliği,
 - Türk Eczacılar Birliği.
- d. Belediyeler
- e. Sivil toplum kuruluşları;
 - Türkiye Hidatidoloji Derneği,
 - Türkiye Parazitoloji Derneği.
- f. Uluslar arası örgütler;
 - DSÖ
 - FAO (zoonoz)

5. MATERYAL-METHOD

5.1. Materyal

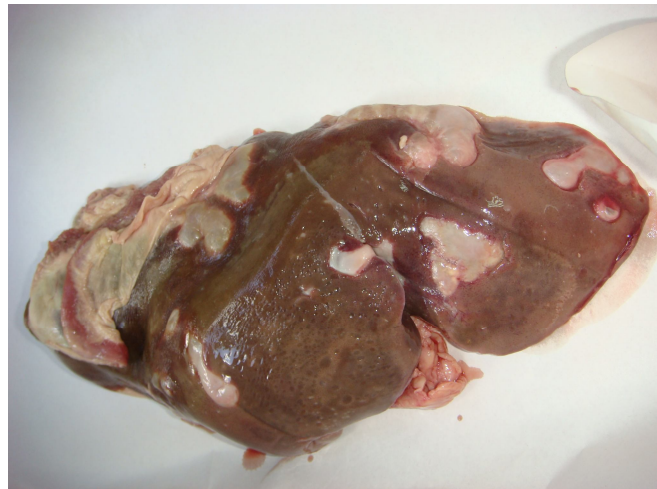
Hasta Örneklerinin Toplanması:

Çalışmamıza Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve Behçet Uz Çocuk Hastanesine başvurmuş, ameliyatla (11 hasta) ya da PAIR ile (11 hasta) kist hidatik tanısı konmuş toplam 22 hasta alınmıştır.

Pozitif kontrol olarak, kist hidatik olduğu operasyonla doğrulanmış ve serolojik olarak yüksek, orta ve düşük pozitiflik gösteren hasta serumları, negatif kontrol olarak ise KE hastalığı olmadığı bilinen sağlıklı bireylerin serumları kullanılmıştır. Çapraz reaksiyonları ortaya çıkarmak için daha önceden diğer parazitik hastalıkların (Fasciolasis, Trichinellasis) tanısı konularak alınmış hasta serumları kullanılmıştır.

Eriyik Antijen Hazırlanması:

TANSAŞ Entegre Et Tesislerinden elde edilen hidatik kistli koyun karaciğerleri (Resim5.1.) laboratuvarımıza getirilip, hidatik sıvı fertil kistlerden enjektör ile steril şartlarda aspire edilmiştir (Resim 5.2.). Kist sıvısı tüplere bölünerek, protoskolekslerin ve diğer partiküllerin çökmesi için bir süre bekletilip, soğutmalı santrifüjde 3000 devir/dakikada 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üstteki sıvı alınarak protein konsantrasyonu ölçülmüş ve -20°C de saklanmıştır.



Resim 5.1. Kistli koyun karaciğeri (orijinal)



Resim 5.2. Hidatik sıvının alınması (Orijinal)

Protoskoleks Antijeni Hazırlanması;

- Santrifuj sonrası dipte çökelen protoskoleksler toplanmıştır.
- Steril PBS ile protoskoleksler süspansiyon haline getirilmiştir.
- Tüp içerisine konulan materyal buz içerisinde dondurulmuştur.
- Ardından 37°C su banyosu içerisine alınmıştır. Bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır.
- En son çözürmeden sonra buz banyosu içinde 2x30 sn 70W ultrasonikasyona tabi tutulmuştur.
- Daha sonra 30dk 14.000 rpm de +4°C de santifuj edilmiştir.
- Supernatant ayrılarak 0.22 µm lik filtrelerden geçirilmiştir.
- Filtrelenen materyalin protein konsantrasyonu ölçülmüştür.
- -20°C de saklanmış ve uygun konsantrasyonları ayarlanıp, kullanılmıştır.

Protein Konsantrasyonunun Ölçülmesi;

ELISA ve Western Blot testlerinde kullanılacak olan eriyik antijenin mg/ml cinsinden protein konsantrasyonunun bilinmesi gerekmektedir. Bunu saptamak için “Bio-Rad Protein Assay Kitleri” kullanılarak farklı koyun kist sıvılarında ve protoskoleks eriyik antijeninde “Micro Quant Spektrofotometre” ile ölçümler ve hesaplamalar yapılmıştır. Protein konsantrasyonu saptanan antijenler kullanılmak üzere -20°C’de saklanmıştır.

5.2. Method

Çalışmada serolojik tanı yöntemi olarak Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ve Western Blot (WB) yöntemi uygulanmıştır.

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

a) Plakların antijen kaplanması:

ELISA plağının her çukuruna protein konsantrasyonu 5 µg/ml düşecek şekilde sulandırılan eriyik antijenden tüm çukurlara 100 µl konularak, antijenle kaplanmış plaklar üstleri kapatılıp, 1 gece boyunca +4°C'de bırakılmıştır. Daha sonra içindeki eriyik antijeni dökülen ve böylece inkübasyonu sağlanmış olan antijen kaplı plaklar kullanılıncaya kadar +4°C'de saklanmıştır.

b) Stok tampon ve solüsyonların hazırlanması:

Casein Buffer (CB) :

(%5LİK) KAZEİN

250 ml lik şişeye 50 ml dH₂O konur. Üzerine 1 gr NaOH eklenir.

Şişe 50°C de manyetik karıştırıcı ile karıştırılır.

Homojenize olduktan sonra üzerine 12,5 gr kazein yavaşça eklenir (kazein alkali ortamda çözünür).

Çözündükten sonra üzerine 50 ml daha dH₂O eklenerek homojenize olması için manyetik karıştırıcıda karıştırılır.

Katılma olursa üzerine max 150 ml ye kadar daha dH₂O eklenir ve 45dk karıştırılır.

Üzerine 25 ml daha dH₂O eklenir (işlemler hep karışırken yapılır).

3 saat sonra 200 ml ye kadar dH₂O ile tamamlanır ve 2 dk beklenir.

Sonra 15 ml dH₂O + 6,250 ml 4M HCl Pastör pipetiyle yavaş yavaş konur.

Bu sırada peynirleşme olabilir.

Hazırlanan kazein max 250ml olmalıdır (ph ayarlama kullanılanlarda hesap edilmeli).

Peynirleşme gidince pH ayarlanır (her seferinde HCl 2ml konulmalı)

pH 7—7,5 olmalıdır. Asidik olursa NaOH eklenir.

Küçük miktarlara bölünerek kullanılıncaya kadar - 20°C de muhafaza edilir

%5 lik kazein -20°C den çıkarılıp çözdürülür.

5ml kazein PBS ile 50 ml ye tamamlanarak hazırlanır.

Phosphate Buffer Saline (PBS):

Pbs Stok:

Bir şişeye 1 lt dsu + 0,4 M KH_2PO_4 (asit) 54,4 gr konur.

Diğer şişeye 1 lt dsu + 0,4 M Na_2PO_4 (baz) 56,8 gr konur.

3. Şişeye ise (1 lt lik) 200ml KH_2PO_4 + 700 ml Na_2PO_4 konur.

Oluşan karışımın pH'sı= 7,25 (7,4- 7,5) olur.

Üzerine 4gr KCl ilave edilir ve 50 ml lik falconlara konularak +4°C de saklanır.

Pbs Kullanım:

50 ml PBS stok + 50 ml Doymuş NaCl 2lt'ye dsu ile tamamlanır.

Konjuge:

Anti Human IgG Peroxidase Conjugate Antibody 1/5000 oranında PBS ile sulandırılıp kullanılır.

Substrat:

Her plak için 0,011 gr Pnpp + 11 ml DEAB kullanılır.

DEAB (Dietanolamin Buffer):

50 ml Dietanolamin koyu renkli şişeye boşaltılır.

400 ml dH_2O ilave edilerek manyetik karıştırıcıda karıştırılır ve pH ölçülür.

pH HCl ile yavaş yavaş 9.8 e getirilir.

pH 9.8 olunca 0.05 gr MgCl_2 tartılıp karıştırılır

dH_2O ile 500 ml ye tamamlanır ve +4°C de saklanır.

c) Yöntemin Uygulanması:

*Kullanılacak antijenlerin protein konsantrasyonu ölçülür.

*Antijenler uygun konsantrasyon ayarlanarak PBS ile sulandırılır. Bir plak için yaklaşık 10 ml hazırlanır.

*Her çukura 100 µl konularak +4°C de bir gece bekletilir.

*Sulandırım plağında dilüsyonları yapılan hasta serumları antijen kaplı plağın içi döküldükten sonra 100'er µl aktarılır.

*1,5 saat oda ısısında, rotorda inkübasyona bırakılır.

*Plak 3 defa PBS ile yıkanır.

*Konjuge her çukura 100er µl olacak şekilde konulur.

*1 saat oda ısısında rotorda inkübe edilir.

*Tekrar yıkama yapılır.

*Substrat 100µl olarak konur.

*Plak karanlık ortamda yaklaşık 10 dk rotorda bekletilir.

*Spektrofotometrede uygun dalga boyunda okuma gerçekleştirilir.

SDS Page ve Western Blot (WB)

a) Stok Tampon ve Solüsyonların Hazırlanışı;

Tank Buffer;

3gr Tris

14.4gr Glisin

10 ml %10 SDS

Distile su ile bir litreye tamamlanır. pH:8.3'e ayarlanır.

Transfer Buffer;

1.93 gr Tris

9gr Glisin

Distile su ile bir litreye tamamlanır. pH:8.8'e ayarlanır.

Saptama solüsyonu;

1 volüm %50 Metanol - 1 volüm %10 Glasial asetik asit

Boyama Solüsyonu;

0.1 gr Coomassie blue

45 ml. Metanol

10 ml. Glasial asetik asit

45ml distile su

Açma solüsyonu;

50 ml. Metanol
50 ml. Glisial asetik asit
400ml. Distile su

Sample buffer;

3.55 ml. Distile su
1.25 ml. 0.5M Tris-HCl
2.5 ml. Gliserol
2 ml. %10 SDS
0.2 ml. %0.5 Bromphenol blue
Kullanırken 50 µl mercaptoethanol ile 950 µl sample buffer karıştırılır.

Tris Buffer Saline;

1.21 gr. Tris
14.62 gr. NaCl
500 ml. distile su

PBS+Tween20

500 ml. PBS
0.5 ml. Tween 20

b) Jellerin Hazırlanışı;

Seperating jel hazırlanışı;

3.56 ml. Distile su
830 µl. 3M Tris-Hcl
2.2 ml. %30 acrylamide/bisacrylamide
33.3 µl. %20 SDS
66.6 µl. %10 APS
6.6 µl. TEMED

Stacking jel hazırlanışı:

1.83 ml. Distile su

310 µl. 1,5M Tris-Hcl

330 µl. %30 acrylamide/bisacrylamide

12.5 µl. %20 SDS

10µl %10 APS

25 µl. TEMED

c) Yöntemin uygulanması:

-Cam plaklar alkollü bez ile silinerek temizlenir.

-Alt jel bileşenler hazırlanıp cam plaklar arasına pastör pipeti yardımı ile dökülür. Üzerine bir miktar distile su eklenerek 15 dk polimerleşmesi beklenir.

-Distile su kurutma kağıdı yardımı ile alınır. Üst jel bileşenleri hazırlanır ve pastör pipeti ile cam plaklar arasına dökülür ardından kullanılacak tarak yerleştirilir.

-15 dk jelin polimerleşmesi beklenir.

-Jeller polimerleştikten sonra tarak çıkarılarak 1 kez distile su ile 2 kez Tank buffer ile kuyucuklar yıkanır. Cam plaklar elektroforez tankına yerleştirilir. Sample buffer hazırlanıp uygun oranda antijenle karıştırılır.

-Mikro pipet yardımı ile marker ve antijenler yüklenir.

-Tank buffer elektroforez tankına koyulur ve 15 dakika 100V, 1saat 20 dk 200V sabit akım verilerek elektroforez gerçekleştirilir.

-Elektroforezin son 15 dk'sında Nitroseloz membran, filtre kağıdı ve fiber pad'ler transfer buffer içine alınır.

-Elektroforez tamamlandıktan sonra jel ve nitroselüloz membran transfer düzeneğine alınır. 400 mA'de 1 saat transfer edilir.

-Transferden çıkan jel önce sabitleme solüsyonunda yarım saat bekletilir ardından yarım saat boyama solüsyonuna alınır. Boyama solüsyonundan sonra açma solüsyonuna alınır.

-Transferden alınan membran ise %3 lük BSA/TBS solüsyonuna alınarak, bir gece +4°C de bekletilir.

-Ertesi gün membranlar ince stripler halinde kesilir veBSP - Tween 20 solüsyonu ile yıkama yapılır.

-% 0.5lik BSA/TBS karışımı ile sulandırılan hasta serumları ile stripler 1 saat muamele edilir. 1 saat sonra PBS – Tween 20 ile yıkama yapılır.

-1/1000 oranında hazırlanan konjuge eklenerek 1 saat daha inkübasyona bırakılır.

-Son yıkama sadece PBS ile yapılarak striplerin üzerine substrat eklenir. 15-20 dk karanlıkta bekletilerek bantlaşmaların oluşması beklenir.

-Filtre kağıdına konulup kurutulan stripler bir kağıda yapıştırılarak değerlendirilir.

6. BULGULAR

Çalışmamıza 2009-2013 yılları arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinin Genel Cerrahi ve Girişimsel Radyoloji Bölümlerine değişik hastanelerden sevk edilen ya da şahsen başvuran, cerrahi operasyon geçiren (11 hasta) veya PAIR işlemi yapılan (11 hasta) olmak üzere toplam 22 hasta alınmıştır. Çocuk hastaların biri Behçet Uz Çocuk Hastanesinden diğeri de Ege Üniversitesi Hastanesi Çocuk Cerrahisi Bölümünden alınmıştır. Olgulardan 5cc düz kan alınmış, 3000 devir/dk'da çevrilmiş ve serumları kullanılmaya kadar -20°C de saklanmıştır. Çalışmaya alınan hastalardan operasyon veya PAIR öncesinde ve sonrasında kan alınmıştır. Hastalar 6 ay, 12 ay ve 18 aylık kontrollere çağırılarak takibe alınmıştır.

Hastaların demografik bilgilerini tanımlamak için hazırladığımız anket uygulanmıştır. Bu anket ile hastalar; köpek sahibi olma, hayvan besleme ya da hayvancılıkla uğraşma, ilaç kullanımı ve kesim sonucu kistleri tanıma ya da yok etme ile ilgili bilgi açısından sorgulanmıştır.

Hastaların 12'si kadın (%54.5), 10'u erkektir (%45.4). Kadınların yaş ortalaması 39, erkeklerin yaş ortalaması 44'tür. Kist hidatik en fazla %22.7 (5 hasta) ile 31-40 yaş grubunda görülmektedir (Tablo 6.1.).

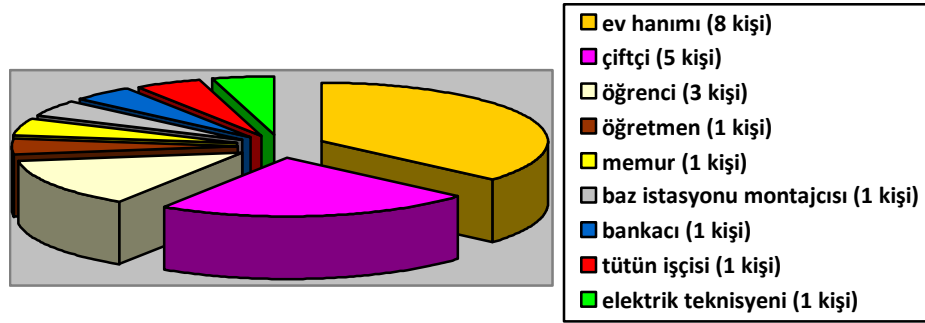
Yaş grubu	Erkek	%	Kadın	%	Toplam sayı	Toplam %
0-10		0	1	4.54	1	4.54
11-20	1	4.54	1	4.54	2	9.09
21-30	1	4.54	2	9.09	3	13.63
31-40	3	13.63	2	9.09	5	22.72
41-50	1	4.54	2	9.09	3	13.63
51-60	2	9.09	2	9.09	4	18.18
61 üzeri	2	9.09	2	9.09	4	18.18
Toplam	10	45.4	12	54.5	22	99.9

Tablo 6.1. Olguların yaş gruplarına göre cinsiyet dağılımı

Hastaların yaşadıkları illere ve mesleklere göre dağılımı Şekil 6.1.ve Şekil 6.2'de görülmektedir.



Şekil 6.1. Olguların yaşadıkları illere göre dağılımı



Şekil 6.2. Olguların mesleklere göre dağılımı

Kist Hidatik hastalığının belirleyici semptomları bulunmadığı için hastalık bazen uzun yıllar boyunca tespit edilememektedir. Çalışmamızdaki olgularda en sık rastlanan yakınma %77.22 ile ağrıdır (yorulunca ağrı, böbrek ağrısı, sağ omuz ağrısı, bel ağrısı, baş ağrısı, karın ağrısı). Bunu %22.7 ile ele gelen kitle, %18.18 ile sırt ağrısı ve %13.62 ile yorgunluk yakınması takip etmiştir (Tablo 6.2.).

Semptomlar	Olgu sayısı	%
Ağrı	17	77.22
İştahsızlık	2	9.08
Sırt ağrısı	4	18.18
Şişkinlik	2	9.08
El uyuşması	1	4.54
Yorgunluk	3	13.62
Halsizlik	1	4.54
Nefes alırken batma	1	4.54
Ele gelen kitle	5	22.7
Hepatomegali	1	4.54
İstifra	1	4.54
Gaz	1	4.54
Göğüs ağrısı	1	4.54
Şikayeti olmayan	1	4.54

Tablo 6.2. Olguların yakınmaları ve yüzdeleri.

Olgularımızın %27.2'si (6 kişi) köpek beslerken, %68.1'i (15 kişi) köpek beslememiştir. Bir olgumuzun ise ailesi köpek beslemektedir (Tablo 6.3.).

Köpek besleme	Olgu sayısı	%
Köpek besleyenler	6	27.2
Köpek beslemeyenler	15	68.1
Ailesinde köpek olan	1	4.54

Tablo 6.3. Olguların köpek besleme öyküsü

Halen hayvancılık yapan hasta sayısı 4 (%18.1) olup eskiden hayvancılıkla uğraşmış hasta sayısı ise 5 (%22.7)'tir. Hayvancılıkla uğraşmış toplam hasta sayısı 9 (%40.9)'dur (Tablo 6.4.).

Hayvancılık yapma	Olgu sayısı	%
Hayvancılık yapan	4	18.1
Eskiden hayvancılık yapan	5	22.7
Hayvancılık yapmayan	13	59.1

Tablo 6.4. Olguların hayvancılık yapma öyküsü

Hayvancılıkla uğraşan ve kesim yapan bir hastamız kistleri çöpe attıklarını, daha önceden hayvancılık ve kesim yapmış 2 hastamız ise kistleri toprağa gömdüklerini belirtmişlerdir. Kistleri tanıyan hasta sayısı 3'tür (%13.63) (Tablo 6.5.) .

Hayvancılık yapma ve kisti tanıma	Olgu sayısı	%
Kist tanıyıp çöpe atıyor	1	4.54
Kisti tanıyıp toprağa gömüyor	2	9.08

Tablo 6.5. Olguların kesim yapma ve kisti tanıma öyküsü

Olgularımızın %45.4'ü (10 kişi) operasyon veya PAIR geçirmeden önce ilaç kullanımına başlamış olup, diğer 12 (%54.5) hasta ilaç tedavisi almamıştır (Tablo 6.6.).

İlaç kullanma	Olgu sayısı	%
İlaç kullanan	10	45.4
İlaç kullanmayan	12	54.5

Tablo 6.6. Olguların ilaç kullanım durumları

Kistlerin lokalizasyonuna bakıldığında; hastaların 17'sinde (%77.2) karaciğer, 4'ünde (%18.1) hem karaciğer hem akciğer, 1'i (4.54) sol bacak uylukta yerleşim vardır. Karaciğerdeki yerleşimde ise kistler %54.5 oranında sağ lobda, %1.6 oranında sol lobda, %9.08 oranında ise her iki lobdadır (Tablo 6.7.).

Kist lokalizasyonu	Olgu sayısı	%
Karaciğer sağ lob	12	54.5
Karaciğer sol lob	3	13.6
Karaciğer her iki lob	2	9.08
Karaciğer + Akciğer	4	18.18
Sol bacak uyluk	1	4.54

Tablo 6.7. Olguların kist lokalizasyonları

Karaciğer, akciğer ve sol bacak uylukta lokalize olan kistlerin %45.38 (10 hasta)'inin Ce4, %27.24 (6 hasta)'ünün Ce2, %18.16 (4 hasta)'sının Ce1, %13.6 (3 hasta)'sının Ce3, %4.54 (1 hasta)'ünün Ce5 tipte olduğu görülmektedir (Tablo 6.8).

Kist tipi	Lokalizasyon	Olgu sayısı	Toplam	
			%	%
Ce 1	Karaciğer	3	13.62	18.16
	Karaciğer + akciğer	1	4.54	
Ce 2	Karaciğer	3	13.62	27.24
	Karaciğer + akciğer	2	9.08	
	Sol bacak uyluk	1	4.54	
Ce 3	Karaciğer	3	13.62	13.6
Ce 4	Karaciğer	8	36.3	45.38
	Karaciğer+akciğer	2	9.08	
Ce 5	Karaciğer	1	4.54	4.54

Tablo 6.8. Olguların kist tipleri ve lokalizasyonları

Cerrahi operasyon geçirmiş ya da PAIR işlemi yapılmış 22 hastadan alınan toplam 62 serum örneği, kist sıvısı ve protoskoleks antijeni kullanılarak ELISA ve WB yöntemleri ile çalışılmıştır. ELISA yöntemi ile elde edilen IgG, IgE, IgG4 sonuçları Tablo 6.9., Tablo 6.10. ve Tablo 6.11'de gösterilmiştir.

Değerlendirmede ≥ 160 titre pozitif olarak kabul edilmiştir. Kist sıvısı antijeni ile protoskoleks eriyik antijeni ile elde edilen sonuçlar paralellik göstermekte ancak antikor titrelerinde protoskoleks eriyik antijeni ile daha düşük pozitiflik görülmektedir.

Cerrahi operasyon geçiren 11 hastanın 9'unda operasyon öncesi, operasyon sonrası ve 6. ay kontrolündeki IgG pozitiflik seviyelerinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Bu hastaların 7'sinde hidatik kist sıvısı ile yapılan ELISA-IgG sonuçları 1/10000 ve üzeri yüksek poziftir.

IgG'si yüksek pozitif olan 3 hastanın birinde IgE pozitif, birinde IgG4 pozitif ve diğesinde de hem IgE hem de IgG4 her iki antijenle de pozitif olarak bulunmuştur.

Hastaların ikisinde 12. aydaki kontrolde yüksek antikor pozitifliği düşük pozitif ve birinde negatif olmuştur.

Hastanın birinde IgG seviyesi operasyon öncesi ve sonrası negatifken 6. ayda pozitif olarak saptanmıştır. Diğer bir hastada ise operasyon öncesinde düşük pozitif olan IgG seviyesi operasyon sonrasında negatif iken 6. ay kontrolünde tekrar düşük pozitiflik göstermiştir.

Protoskoleks eriyik antijeni ile yapılan IgG-ELISA'da yalnızca bir hasta yüksek pozitiflik göstermişken diğer hastalar daha düşük pozitiflik göstermiştir. Ancak sonuçlar hidatik kist sıvısı antijeni ile yapılan IgG-ELISA ile uyumlu bulunmuştur.

PAIR işlemi geçiren 11 hastanın 7'sinde PAIR günü ve 6. ay kontrolündeki hidatik kist sıvısı antijeni kullanılarak yapılan ELISA-IgG seviyelerinde anlamlı bir değişim görülmemiştir. Hastaların 3'ü PAIR günü negatif iken hastaların biri hariç 12 ve 18 aylık kontrollerde de negatif sonuç vermiştir. Bir hasta 6 aylık kontrolde 1/640 pozitif bulunmuştur. Bu hastanın IgE-ELISA sonucu da pozitif bulunmuştur. Hastalardan birinde ise PAIR günü düşük pozitif bulunan IgG-ELISA sonuçları 12 ay sonrasında yüksek pozitiflik göstermiştir.

ELISA-IgG ile 22 hastanın 18'i pozitif (1/160 ile 1/10.000) 4'ü negatif bulunmuştur. Negatif çıkan hastaların biri cerrahi operasyon geçirmiş Ce1 tip, 3'ü PAIR hastası olup biri Ce1, ikisi Ce4 tiptedir. Kistler karaciğer yerleşimlidir.

ELISA-IgE kist sıvısı antijeni ile hastaların 9'unda, protoskoleks antijeni ile hastaların 8'inde pozitif bulunmuştur. IgE yanıtı pozitif olan hastalar genellikle Ce1, Ce2 ve Ce4 tip kiste sahiptir. Ce4 kisti bulunan bir hastada (C2) IgE yanıtı orta pozitif bulunmuş ve bu pozitiflik yaklaşık bir sene sonraki kontrolünde de aynı derecede bulunmuştur.

ELISA-IgG4 sonuçlarına bakıldığında cerrahi operasyon geçiren hastanın birinde ameliyat öncesi ve sonrasına oranla pozitifliğin 6.ayda düştüğü (1/1280 - 1/320), bir hastada ise yükseldiği (1/160-1/320) görülmüştür. PAIR işlemi yapılan 3 hastada pozitif saptanmış ELISA-IgG iki hastada aynı pozitiflikte seyrederken

bir hastada sınırda olan pozitiflik 6 aylık kontrolde negatif sonuç vermiştir. IgG4 yanıtı pozitif olan hastaların Ce2 ve Ce4 kist tipinde oldukları görülmüştür.

Protoskoleks eriyik antijeni uygulanan ELISA sonuçları hidatik kist sıvısı antijeni uygulanan ELISA sonuçları ile uyumlu bulunurken sadece 18. ay kontrollerini yaptığımız bir hasta hidatik kist sıvısı antijeni ile tüm kontrollerde negatiflik göstermiş fakat protoskoleks antijeni ile 6. ay ve 12. ay kontrolünde pozitiflik vermiş ve daha sonra tekrar negatifleşmiştir.

HASTA NO	KİST SIVISI ANTİJENİ IgG					PROTOSKOLEKS ANTİJENİ IgG				
	O.Ö.	O.S.	6. AY K.	12. AY K.	18 AY K.	O.Ö.	O.S.	6. AY K.	12. AY K.	18. AY K.
1-C1	1/160	1/640	1/320			1/640	1/640	1/320		
2-C2	1/10000	1/10000	1/10000			1/640	1/640	1/640		
3-C3	1/10000	1/10000	1/10000			1/2500	1/640	1/1280		
4-C4	1/640	1/640	1/640			1/640	1/640	1/160		
5-C5	1/10000	1/10000	1/10000	1/320		1/1280	1/2500	1/2500	1/320	
6-C6	1/10000	-	1/10000	neg		1/1280	-	1/1280	neg	
7-C7	1/10000	1/10000	1/10000			1/2500	1/5000	1/10000		
8-C8	1/10000	1/2500	neg	neg		1/640	1/640	neg	neg	
9-C9	1/10000	1/10000	1/10000	1/640		1/2500	1/2500	1/2500	1/320	
10-C10	1/160	Neg	1/160			1/320	1/160	1/640		
11-C11	neg	Neg	1/2500			neg	neg	1/640		
12-P1	neg		neg			neg		neg		
13-P2	1/1280		1/2500		1/640	1/640		1/640		1/640
14-P3	1/10000		1/10000			1/640		1/640		
15-P4	1/2500		1/2500			1/160		1/160		
16-P5	1/10000		1/1280			1/2500		1/640		
17-P6	1/10000		1/160			1/320		1/640		
18-P7	neg		1/320			neg		1/320		
19-P8	neg		neg	neg	neg	neg		1/320	1/320	neg
20-P9	1/640		1/640			1/160		1/160		
21-P10	1/10000		1/1280		1/160	1/640		1/640		1/160
22-P11	1/640		1/10000	1/10000		1/320		1/640		

Tablo 6.9. Kist sıvısı ve protoskoleks eriyik antijeni kullanılarak saptanan IgG-ELISA sonuçları ve takip süreleri.

HASTA NO	KİST SIVISI ANTİJENİ IgE					PROTOSKOLEKS ANTİJENİ IgE				
	O.Ö.	O.S.	6. AY K.	12. AY K.	18 AY K.	O.Ö.	O.S.	6. AY K.	12. AY K.	18. AY K.
1-C1	neg	Neg	neg			1/640	neg	neg		
2-C2	1/320	1/160	1/160			1/640	1/640	1/640		
3-C3	1/640	1/640	1/640			1/640	1/640	neg		
4-C4	neg	Neg	neg			neg	neg	neg		
5-C5	neg	Neg	neg	neg		neg	neg	neg	Neg	
6-C6	neg	-	neg	neg		neg	-	neg	Neg	
7-C7	neg	Neg	neg			neg	neg	neg		
8-C8	neg	Neg	neg	neg		neg	neg	neg	neg	
9-C9	neg	1/640	1/640	neg		neg	1/640	neg	neg	
10-C10	1/640	Neg	neg			neg	neg	neg		
11-C11	neg	1/640	neg			neg	neg	neg		
12-P1	1/640		neg			1/160		neg		
13-P2	neg		neg		neg	neg		neg		neg
14-P3	1/640		1/640			1/160		neg		
15-P4	1/640		1/640			1/640		1/640		
16-P5	1/640		1/640			1/320		neg		
17-P6	1/640		1/640			1/160		1/160		
18-P7	1/640		1/640			neg		1/160		
19-P8	neg		neg	neg		neg		neg	neg	
20-P9	neg		neg			neg		neg		
21-P10	neg		neg		neg	neg		neg		neg
22-P11	neg		neg	neg		neg		neg	neg	

Tablo 6.10. Kist sıvısı ve protoskoleks eriyik antijeni kullanılarak saptanan IgE-ELISA sonuçları ve takip süreleri.

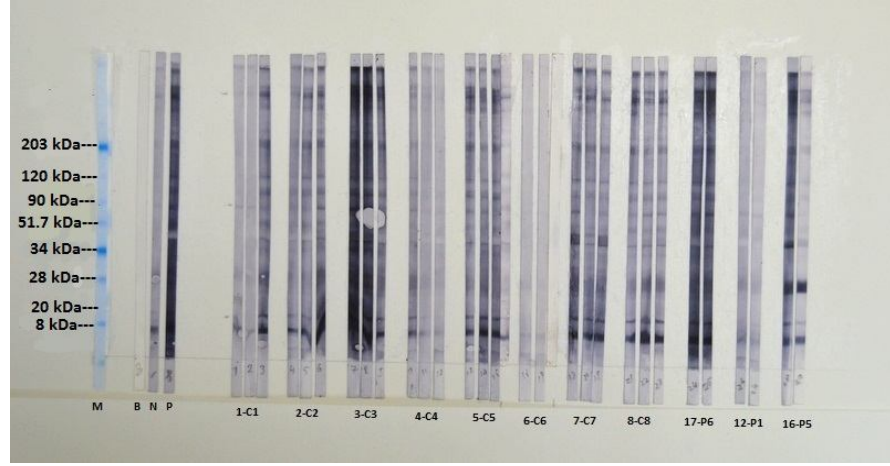
HASTA NO	KİST SIVISI ANTİJENİ IgG4					PROTOSKOLEKS ANTİJENİ IgG4				
	O.Ö.	O.S.	6. AY K.	12. AY K.	18 AY K.	O.Ö.	O.S.	6. AY K.	12. AY K.	18. AY K.
1-C1	neg	Neg	neg			neg	neg	neg		
2-C2	neg	Neg	neg			neg	neg	neg		
3-C3	1/1280	1/1280	1/320			1/1280	1/640	1/640		
4-C4	neg	Neg	neg			neg	neg	neg		
5-C5	neg	Neg	neg	neg		neg	neg	neg	neg	
6-C6	1/160	-	1/320	neg		neg	-	neg	neg	
7-C7	neg	Neg	neg			neg	neg	neg		
8-C8	neg	Neg	neg	neg		neg	neg	neg	neg	
9-C9	neg	Neg	neg	neg		neg	neg	neg	neg	
10-C10	neg	Neg	neg			neg	neg	neg		
11-C11	neg	Neg	neg			neg	neg	neg		
12-P1	neg		neg			neg		neg		
13-P2	neg		neg		neg	neg		neg		neg
14-P3	1/160		neg			1/160		neg		
15-P4	neg		neg			neg		neg		
16-P5	1/640		1/640			1/640		1/640		
17-P6	1/2500		1/2500			1/2500		1/2500		
18-P7	neg		neg			neg		neg		
19-P8	neg		neg	neg		neg		neg	neg	
20-P9	neg		neg			neg		neg		
21-P10	neg		neg		neg	neg		neg		neg
22-P11	neg		neg	neg		neg		neg	neg	

Tablo 6.11. Kist sıvısı ve protoskoleks eriyik antijeni kullanılarak saptanan IgG4-ELISA sonuçları ve takip süreleri.

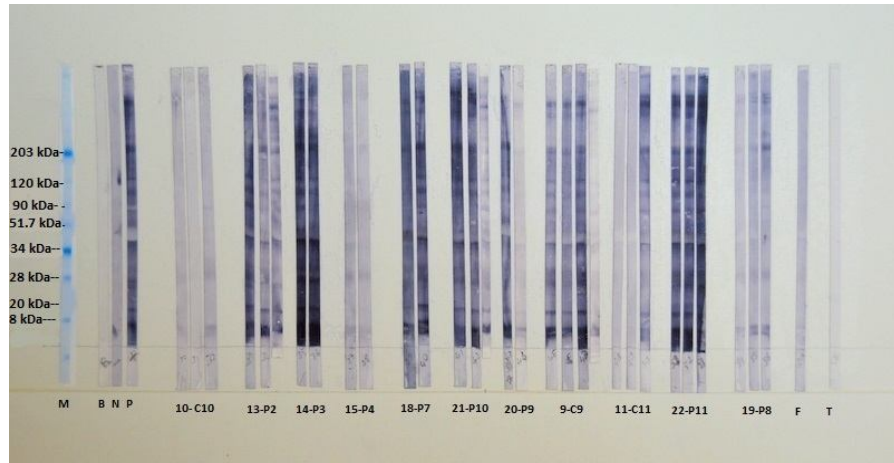
Hidatik kist sıvısı antijeni ile yapılan IgG-WB testinde ise 8 kDa, 16-18 kDa, 26-28kDa, 38 kDa ve 203 kDa bantlar elde edilmiştir. ELISA ile negatif sonuç veren hastaların IgG-WB sonuçlarında da bantlar elde edilmişse de daha silik bantlar oluşmuştur. Diğer helmint enfeksiyonları ile (Fasciolasis, Trichinellosis) çapraz reaksiyon görülmemiştir (Resim 6.1. ve 6.2).

Protoskoleks antijeni ile yapılan WB ise düşük bantlaşma göstermiş ve sağlıklı sonuç elde edilememiştir (Resim 6.3).

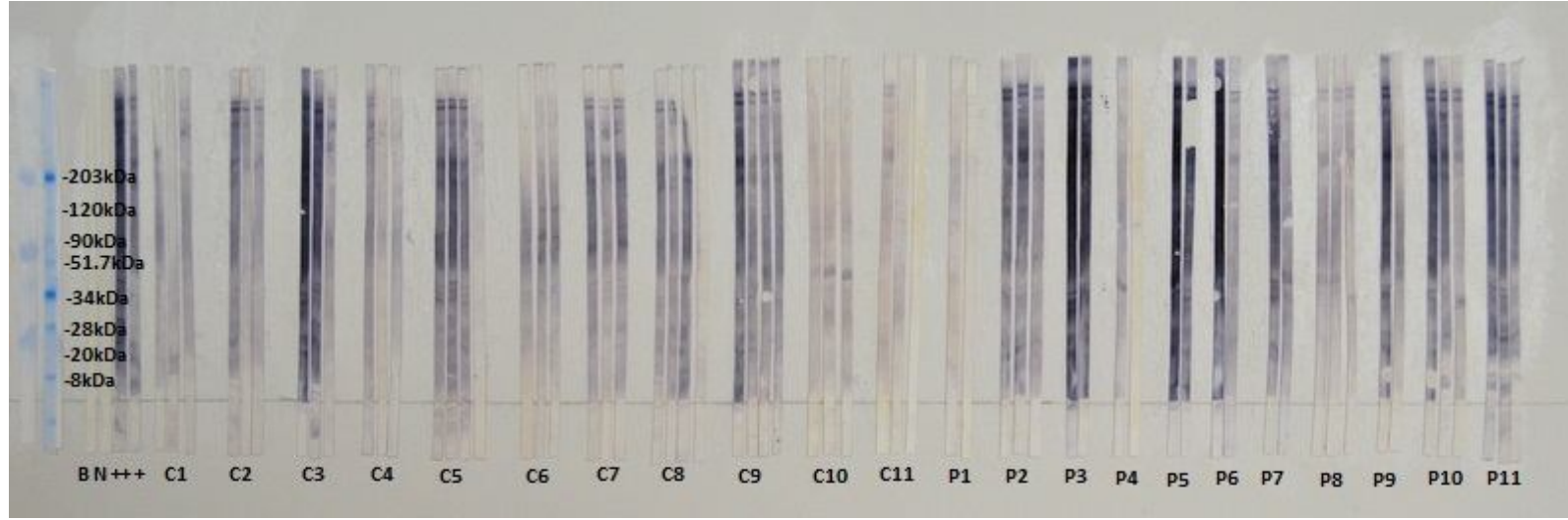
Çalışmamızda ELISA-IgG ile IgG-WB testleri paralellik göstermektedir. Ancak ELISA-IgG ile negatif sonuç alınan bazı hastalarda IgG-WB ile pozitif sonuç elde edilmiştir. PAIR günü ve 6 aylık kontrolde ELISA ile negatif sonuç alınan P1 nolu hastada 8 ve 28 kDa bantlar silik bir şekilde elde edilmiştir. Yine PAIR günü ELISA ile negatif ancak 6 aylık kontrolde 1/320 pozitif sonuç alınan P7 nolu hastada da tüm bantlar gerek PAIR günü gerekse 6 aylık kontrolde (daha belirgin olarak) elde edilmiştir. Yine ELISA ile PAIR günü, 6 aylık, 12 aylık ve 18 aylık kontrollerde negatif sonuç veren P8 nolu hastada 8, 28, 38 ve 203 kDa bantlar PAIR günü ve 6 aylık kontrolde silik pozitif olarak, ancak 18 aylık kontrolde 8, 28 ve 203 kDa bantlar daha belirgin olarak görülmüştür (Tablo 6.12).



Resim 6.1. Hidatik kist sıvısı antijeni ile hastaların IgG-Western Blot sonuçları (1). Marker, blank/ negatif/ pozitif kontrol, 1-c1 (sırasıyla operasyon öncesi, operasyon sonrası, 6. ay kontrolü), 2-c2 (sırasıyla operasyon öncesi, operasyon sonrası, 6. ay kontrolü), 3-c3 (sırasıyla operasyon öncesi, operasyon sonrası, 6. ay kontrolü), 4-c4 (sırasıyla operasyon öncesi, operasyon sonrası, 6. ay kontrolü), 5-c5 (sırasıyla operasyon öncesi, operasyon sonrası, 6. ay kontrolü, 12. ay kontrolü), 6-c6 (sırasıyla operasyon öncesi, 6. ay kontrolü, 12. ay kontrolü), 7-c7 (sırasıyla operasyon öncesi, operasyon sonrası, 6. ay kontrolü), 8-c8 (sırasıyla operasyon öncesi, operasyon sonrası, 6. ay kontrolü), 17-p6 (sırasıyla operasyon öncesi, operasyon sonrası, 6. ay kontrolü), 12-p1 (sırasıyla operasyon öncesi, operasyon sonrası, 6. ay kontrolü), 16-p5 (sırasıyla operasyon öncesi, operasyon sonrası, 6. ay kontrolü).



Resim 6.2. Hidatik kist sıvısı antijeni ile hastaların IgG-Western Blot sonuçları (2). Marker, blank/ negatif/ pozitif kontrol, 10-c10 (sırasıyla operasyon öncesi, operasyon sonrası, 6. ay kontrolü), 13-p2 (sırasıyla pair öncesi, 6. ay kontrolü), 14-p3 (sırasıyla pair öncesi, 6. ay kontrolü), 15-p4 (sırasıyla pair öncesi, 6. ay kontrolü), 18-p7 (sırasıyla pair öncesi, 6. ay kontrolü), 21-p10 (sırasıyla pair öncesi, 6. ay kontrolü, 18. Ay kontrolü), 20-p9 (sırasıyla pair öncesi, 6. ay kontrolü), 9-c9 (sırasıyla operasyon öncesi, operasyon sonrası, 6. ay kontrolü, 18. ay kontrolü), 11-c11 (sırasıyla operasyon öncesi, operasyon sonrası, 6. ay kontrolü), 22-p11 (sırasıyla pair öncesi, 6. ay kontrolü, 12. ay kontrolü), 19-p8 (sırasıyla pair öncesi, 6. ay kontrolü, 12. ay kontrolü), fasciola, trichinella



Resim 6.3. Protoskoleks eriyik antijeni ile hastaların IgG- Western Blot sonuçları.

HASTA NO	KİST SIVISI ANTİJENİ IgG –WB				
	O.Ö.	O.S.	6. AY K.	12. AY K.	18 AY K.
1-C1	8, 21	8 silik	8, 16, 28, 38, 203		
2-C2	8, 16, 203 silik	8, 16, 203	8, 16, 28, 38, 203		
3-C3	8, 16, 28, 38, 203	8, 16, 28, 38, 38, 203	8, 16, 28, 38, 203		
4-C4	8, 16, 28, 203	8, 16, 28 silik	8, 16, 28 silik		
5-C5	8, 16, 28, 38, 203	8, 16, 28, 38, 203	8, 16, 28, 38, 203	8, 16	
6-C6	8 silik	NA	8 silik	Band yok	
7-C7	8, 16, 28, 38, 203	8, 16, 38, 203	8, 16, 28, 38, 203		
8-C8	8, 16, 28, 38, 203	8, 16, 28, 38, 203	8, 16, 28, 38, 203		
9-C9	8, 16, 28, 38, 203	8, 16, 28, 38, 203	8, 16, 28, 38, 203	8, 38 silik	
10-C10	8, 28 silik	Band yok	8, 28 silik		
11-C11	Band yok	Band yok	8, 16, 38 silik 203 belirgin		
12-P1	8, 28 silik		8, 28 silik		
13-P2	8, 16, 28, 38, 203		8, 16, 28, 38, 203		8, 16, 28, 38, 203
14-P3	8, 16, 28, 38, 203		8, 16, 28, 38, 203		
15-P4	8, 28, 38 silik		8, 28, 38 silik		
16-P5	8, 16, 28, 38, 203		8, 16, 28, 38, 203		
17-P6	8, 16, 28, 38, 203		8, 16, 28 belirgin 38, 203 silik		
18-P7	8, 16, 28, 38, 203		8, 16, 28, 38, 203 daha belirgin		
19-P8	8, 28, 38, 203 silik		8, 28, 38, 203 silik	8, 28, 203 daha belirgin	
20-P9	8, 16, 28, 38, 203		8, 16, 38 silik		
21-P10	8, 16, 28, 38, 203		8, 16, 28, 38, 203		8, 16 silik
22-P11	8, 16, 28, 38, 203		8, 16, 28, 38, 203	8, 16, 28, 38, 203 daha belirgin	

Tablo 6.12. Hastalarda IgG-WB ile elde edilen bantlar

O.Ö: Operasyon öncesi

O.S: Operasyon sonrası

N.A: Uygulanmadı

7. TARTIŞMA

Kist hidatikte tanı koydurucu spesifik bulguların olmaması, klinik bulguların yanında radyoloji ve özellikle bazı spesifik laboratuvar testlerine yönelimi arttırmıştır.

Radyolojik yönden tanının da bazı dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar kistin basit kist, tümör, apse gibi olgularla karıştırılması ve yanlış tedavi uygulanması durumlarıdır. Bu nedenlerle laboratuvar testlerinin ayırıcı tanı özelliklerinden yararlanılması gerekmektedir. Ancak serolojik laboratuvar testlerinde de kistin büyüklüğü, lokalizasyonu, yapısı, canlılığı ve kişinin immun sistem aktivitesine bağlı olarak yanlış pozitif ya da yanlış negatif sonuçlar da elde edilebilmektedir. Bu gibi yanlış pozitif ya da yanlış negatif sonuçlarla karşılaşmamak için mutlaka birden fazla serolojik testin beraber kullanılması gerekmektedir. Bu gereklilik günden güne farklı serolojik testlerin ortaya çıkmasını ve daha doğru sonuçların elde edilebileceği yeni yöntemlerin geliştirilmesi çalışmalarını hızlandırmaktadır.

Evcil hayvan ara konaklardan alınan antijen, kist sıvısı ya da homojenat olarak birçok testte kullanılmaktadır. Bunun yanında antijenik kaynaklar laboratuvar kullanımı için çoğunlukla sınırlıdır. Çünkü *Echinococ* antijeni parazitik materyalin ulaşılabilirliğine bağlıdır ve bu materyalin kalite kontrolü çok zor, standardizasyonu ise çok geniş bir skala gerektirmektedir. Bu durum immunodiagnostik testlerde sensitivite ve spesifiteyi büyük oranda etkilemektedir. Bu nedenle de kullanılan antijenlerin de önemi büyüktür.

Kistin lokalizasyonuna göre antikor yanıtının değiştiği, akciğer kistlerinde serolojik testlerin duyarlılıklarının azaldığı bilinmektedir (Altıntaş, 1999; Huchon, 1999). Akciğerdeki, böbrekteki ve dalaktaki kistler düşük antikor seviyeleri ile bağlantılıdır. Yapılan bir çalışmada *Echinococcus* bakımından endemik olan bir bölgede tarama yapılmış ve şehirdeki insanların %26 sının Hidatik kist sıvısına karşı antikora sahip olduğu belirlenmiştir. Oysaki şehir nüfusunun sadece %2 sinde hidatik kist olgusuna rastlanmıştır. Antikor seviyelerine bakılarak çıkarılan prevalans hastalığın gerçek durumunu göstermemektedir (Gavidia, 2008; Zhang, 2012).

Zhang ve ark.larının (2011) yaptığı bir çalışmada belirli bir bölgede 1844 kişi serolojik ve ultrasonografik yöntemlerle taranmış, hastaların sadece 24'ü KE hastası olarak bulunmuştur. Bu hastalardan ise 18'i cerrahi operasyon (kistektomi) geçirmiştir. Operasyon geçiren hastalardan birinde relaps görülürken, bir diğerinde ise travma sonucu relaps görülmüştür. Bir diğer hasta ise cerrahi operasyondan yaklaşık 8 yıl sonra tekrar enfekte olmuştur. Antikorların değişimi farklı sebeplerden etkilenebileceği için bu gibi takip çalışmalarında serolojinin yanı sıra ultrasonografik yöntemlerin de kullanılması hasta takibinde önemli rol oynamaktadır. Çalışmamızda, hasta takibinde radyolojik ve serolojik yöntemler birlikte kullanılmıştır.

Tenguria ve ark.larının (2013) bir çalışmasında IgG için yapılan ELISA sensitivitesinin karaciğer için %90, akciğer için %75 olduğu belirtilmiştir. Poretti ve ark (1999), Nasrieh ve Abdel-Hafiz (2004), Hanillo ve ark. (2005) yaptıkları çalışmalarda bu bulguları desteklemektedir.

Sensitivite değerlerine göre irdelendiğinde;

-ELISA yönteminin en yüksek sensitivite değerine(%96.7) sahip olduğu, ancak diğer testlerle arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı,

-Birleşik kullanımda WB'in IFA, IHA ve ELISA ile kombinasyonunun sensitiviteyi %100'e yükselttiği ancak ELISA'nın tek başına uygulandığında elde edilen %96.7'lik sensitivite değeri ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadığı,

-IFA(%94.7), IHA(%94.7), WB(%96.0)'ın tek başına uygulanması ile IFA+WB(%100.0), IHA+WB(%100.0), ELISA+WB(%100.0)'ın birlikte kullanımları arasında anlamlı bir farkın olduğu saptanmıştır(p=0.008).

Spesifite değerlerine göre irdelendiğinde ise;

-WB yönteminin en yüksek spesifite değerine sahip olduğu ve diğer testlerle arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu(p<0.05),

-Birleşik uygulamalarda spesifite değerinin düştüğü, WB'in tek başına uygulanmasında elde edilen spesifite değerine oranla aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu(p<0.05) tespit edilmiştir.

Bu veriler dikkate alındığında; özellikle KE düşünülen ancak karar verilemeyen hastalarda Western blot yönteminin doğrulama yöntemi olarak kullanılmasının son derece yararlı olacağı görülmektedir (Yazar,1998). Bizim

çalışmamızda da ELISA ve WB testleri birlikte kullanılarak sensitivite ve spesifisitenin yükseltilmesi amaçlanmıştır.

Serolojik yöntemler hasta takibinde de önemli rol oynamaktadır. Antikor titrelerindeki azalma ve artışlar hastanın tedavisi hakkında bilgi verebileceği gibi nökslerin erken yakalanmasında da yardımcı olabilir. ELISA-IgG ile hastaların ikisinde 12. aydaki kontrolde yüksek antikor pozitifliği düşük pozitif ve birinde negatif olmuştur. Bu durum operasyonun başarılı geçtiği ve nöks ihtimalinin olmadığı şeklinde değerlendirilmiştir. Hastanın birinde ise, IgG seviyesi operasyon öncesi ve sonrası negatifken 6. ayda pozitif olarak saptanmıştır. Bu da hastada olası bir nöks ihtimalini düşündürmektedir. Aynı şekilde PAIR günü düşük pozitif bulunan IgG-ELISA sonuçları 12 ay sonrasında yüksek pozitiflik gösteren bir hastada da nöks ihtimali düşünülmeli ve hasta takibedilmelidir.

C11 nolu hastamızın IgG-ELISA sonuçları operasyon öncesi ve sonrasında negatif iken 6. ay kontrolünde pozitif sonuç vermiştir. Bu hastanın hidatik kist sıvısı ile yapılan IgG-WB testine baktığımızda *Echinococcus*'a özgü 6-8 kDa, 16-18 kDa ve 24-26 kDa luk bantlar ELISA testiyle uyumlu olarak sadece 6. ay kontrolünde belirgindir. Bu da hastalığın nöks ihtimalinin göz önüne alınması gerektiğine işaret etmektedir.

Li ve ark.larının (2011) yaptığı bir çalışmada ise Tibet bölgesindeki Albendazol ile tedavi olan ve iyileştirilmiş hastalarda bir tarama yapılmış ve kabaca iki adet IgG dinamiği elde edilmiştir. Bu profillerden birinde IgG seviyesi önceleri yüksek seyredip, ardından ani bir düşüş göstermekte, diğeri ise aşamalı bir düşüş göstermektedir. Bizim çalışmamızda ise IgG seviyeleri her iki profili de yansıtmakla beraber, antikor seviyesindeki değişimin uzun yıllar boyunca takip edilmesi gerekliliğinden dolayı kesin bir ifade kullanmak doğru değildir.

Kahrıman ve ark.larına göre (2011) perkütanöz tedavi çocuklardaki Tip1 ve Tip 2 Hidatik kistlerinde albendazol profilaksisiyle beraber etkili, güvenli ve iyi tolere edilebilen bir yöntemdir. Çalışmamızda bulunan iki çocuk hastadan biri Tip1(Ce4) diğeri Tip 2(Ce1) hidatik kiste sahiptir. PAIR işlemiyle beraber albendazol tedavisi de uygulanan çocuklarda elde edilen sonuçlar Kahrıman ve ark.larının (2011) yaptığı çalışma ile uyumlu olarak bulunmuştur.

Vuitton (2010) ve Zhang (2006)'a göre larval *Echinococcus* kistlerinin insan ve hayvanlardaki antikor cevabı IgG nin yanında IgM, IgA ve IgE de olabilmektedir.

IgE antikorunun genelde parazitik reaksiyonlarda ve alerjik reaksiyonlarda ortaya çıktığı bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada rekombinant *Echinococcus* antijeni kullanılarak IB yöntemi denenmiş ve pozitifliği %33 olarak bulunmuştur (Zhang, 2012). Hidatik kist sıvı antijeni kullanılan çalışmamızda ise 22 hastanın 10unda (%45), protoskoleks eriyik antijeni kullanılan çalışmamızda da 10 hastada (%45) IgE pozitifliği gözlenmiştir. Farkın kullanılan antijenle bağlantılı olabileceği düşünülebilir.

Bayraktar ve ark.larına (2005) göre hastaların relaps durumlarında ya da canlı, büyüme gösteren kistlerinde IgG1 ve IgG4 seviyeleri yüksektir ve yüksek seviyede kalmayı sürdürür. Bizim çalışmamızda IgG4 bakımından pozitif olan 5 hastadan sadece C3 ve P5 nolu hastaların sonuçları bu çalışmayla uyumlu bulunmuş ve hastaların relaps açısından bir daha taranması gerekliliği ortaya çıkmıştır.

Spesifik IgG1 ve IgG4 konsantrasyonundaki azalma ise kist infiltrasyonu ve kalsifikasyonu ile karakterizedir (Bayraktar, 2005). Bu durum ise IgG4 yanıtının kistin gelişimi, büyümesi ve hastalığın seyri ile ilgili olduğunu, IgG1, IgG2 ve IgG3 yanıtının ise infiltre olmuş kistlerde ya da kistin konak tarafından yok edildiği durumlarda ortaya çıktığını göstermektedir (Daeki, 2000). Bizim çalışmamızdaki C5 ve P3 nolu hastaların sonuçları da bu çalışmayla uyumlu bulunmuştur.

Rekombinant antijenlerle IgG subunitlerini belirlemek için yapılan ELISA çalışmasında %51-70 arasında IgG4 ün varlığı belirlenmiştir. Yine aynı çalışmada %7-18 arasında total IgG bakımından pozitif sonuç veren hasta serumları IgG subunit ELISA çalışmasında negatif bulunmuştur (Jiang, 2012). Bizim çalışmamızda IgG pozitif yanıt veren 21 hastanın ise sadece 5i (%23.8) IgG4 bakımından pozitif yanıt vermiştir.

Aslan ve ark.larının (2011) yaptıkları WB-IgG kit çalışmasında 25 opere olmayan hastanın 23'ü (%92), 33 opere olan hastanın 18'i (%54.5) pozitif bantlaşma vermiştir. Ayrıca kullanılan 22 sağlıklı hasta serumunun hiçbiri pozitif yanıt vermemiştir. Bununla beraber P7(7 kDa) bantlaşması pozitif olan tüm opere

ve non-opere olgularda görülmüştür. Aslan ve ark.ları, P7 bantlaşmasının non-opere olgularda görülmesinin nedenini hastalığın aktifliğiyle ilişkili olduğu şeklinde açıklamışlardır. Opere olgularda bulunan %54.5 luk pozitifliğin varlığı ise circulating antikorlara, küçük kistlerin re-aktive olmasına ya da operasyon sırasındaki hatalara bağlanmıştır. P7 bantlaşmasının non-opere olgularda görülmesini, ilaç kullanımının etkinliğini takip etmede önemli bir yol gösterici olabileceği belirtilmiştir.

Bizim çalışmamıza aldığımız tüm hastalar cerrahi operasyon ya da PAIR işlemi geçirmiş hastalardır. Bu nedenle test sonuçlarında şüpheli bir durum söz konusu değildir. Bu hasta serumlarına optimize ettiğimiz IgG-Western Blot testi kist sıvısı antijeni kullanılarak uygulanmış ve toplam 62 stripten yalnızca 3'ünde *E. granulosus*'a özgü 7-8 kDa ağırlığındaki proteinin varlığı görülmemiştir.

Metwally ve ark.larına (2013) göre kistlerin cerrahi yöntemlerle çıkarıldıktan sonra hastalarda *E. granulosus* antikorunun uzun süren varlığı relaps açısından güvenilmez sonuçlar vermektedir. Li ve ark (2004) ise serum antikorlarının hidatik kistlerin alınmasından sonraki 10 yıl kadar uzun bir süre pozitif kalabileceğini belirtmişleridir.

Bizim çalışmamızda antikor yanıtı takip boyunca düşerek negatifleşen hastalar bulunmakla beraber, yüksek seviyede pozitiflik gösteren hastalar da bulunmaktadır. Dolayısıyla antikor değişimlerinin belirli bir zaman diliminde takip edilmesinin prognoz açısından sağlıklı bir sonuç veremeyeceği ortadır. Ancak bu hastaların 6 aylık kontrollerle sürekli bir takibe alınması hastalığın seyri açısından önemli olacaktır.

8. SONUÇ

Çalışmamızda KE'in serolojik tanısında, serum içerisindeki spesifik antikorların tespitine dayanan ELISA ve WB yöntemleri kullanılmıştır.

Hastaların serumları operasyon öncesi, operasyon sonrası ve belirli aralıklarla alınıp, serolojik yöntemler uygulanmış ve zamana bağlı antikor durumu gözlemlenmiştir. Kistin oluşumu ve lokalizasyonu ile ilgili durumlar dışında, hastaların ilaç kullanımı, mesleği, nüks olup olmaması gibi etkenler de antikor değişimlerinde rol oynayarak farklı durumlar ortaya çıkmasına neden olmuştur.

Elde ettiğimiz veriler, yurt dışındaki ve ülkemizdeki araştırmacıların çalışmalarıyla genelde uyumludur.

Sonuç olarak; herhangi bir nüks olayını engellemek ve erken tanı koymak için takiplerin uzun yıllar sürmesi, hastanın klinik bulguları ile birlikte radyolojik ve sensitivitesi, spesifitesi yüksek birden fazla (ELISA ve WB) serolojik yöntem kullanılarak spesifik IgG ve IgG4 antikorlarının değerlendirilmesi yararlı olacaktır. Çalışmamızda elde ettiğimiz 203 kDa luk proteinin hastalığın tanı ve takibinde önemli olabileceğini düşünmekteyiz. Ancak bunun için daha uzun süreli takip ve çalışma yapılması gerekmektedir kanısındayız. Bu da bize *Echinococcus granulosus* hakkında daha bilinmeyen, araştırılması gereken durumların varlığını göstermektedir.

Çalışmamızın bu konuda çalışacak diğer araştırmacılara yol gösterici olacağı inancındayız. Uzun yıllar boyunca sürdürülmesi gereken takip periyodunun rutin bir prosedüre oturtularak, takibinin kolaylaştırılması ile hastalığın kontrol altında tutulmasını sağlamaya yardımcı olacağını umuyoruz.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Al-Sherbiny M.M., Magid A.A., Farrag M.K., Fayad M.H., Makled M.K., Tawfeek G.M., Ali N.M.S., 2004, Application and assessment of a dipstick assay in the diagnosis of hydatidosis and trichinosis, Parasitology Research, June 2004, 93, 2, 87-95pp.

Altıntaş N., 2003, Past to present: echinococcosis in Turkey. (Special Issue: New Dimensions in Hydatidology in the New Millennium. Eds. Nazmiye Altıntaş, Peter Schantz) Acta Tropica, 85, 105-112.

Altıntaş N., Doğanay M., 2009, Zoonozlar, Bilimsel Tıp Yayınevi

Altıntaş N., Tınar R., Çoker A., 2004, Echinococcosis, Hidatidoloji Derneği Yayın no:1.

Altıntaş N., Yazar S., 1999, Cystic echinococcosis 'de tanı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 1999; 23: 160-8.

Aslan M., Celik D.G., Yuksel P., Saribas S., Cakan H., Bahar H., Abdelkareem A., Ziver T., Yakar H. and Kocazeybek B., 2012, The diagnostic role of indirect fluorescence antibody in cystic echinococcus and the role of western blot in following-up patients with cystic echinococcus after surgery, African Journal of Microbiology Research, 6(35), 6432-6437 pp.

Bayraktar M.R., Mehmet N., Durmaz R., 2005, Th1 and Th2 Inducing Cytokines in Cystic Echinococcosis, Türkiye Parazitoloji Dergisi, 29 (3): 167-170.

Brunetti E., Kern P., Vuitton D. A., 2010, Expert Consensus For The Diagnosis And Treatment Of Cystic and Alveolar Echinococcosis In Humans, Writing Panel for the WHO-IWGE2, Acta Tropica 114,(2010),1–16.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Daeki A.O., Craig P.S. and Shambesh M.K., 2000, IgG-subclass antibody responses and the natural history of hepatic cystic echinococcosis in asymptomatic patients, *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 94, 4, 1 June 2000 , 319-328(10) pp.

Eckert J., Gemmell MA., Matyas Z. and Soulsby E.JL., 1984, Guidelines for surveillance, prevention and control of Echinococcosis. WHO.VPH/81, 28.

Ertabaklar H., Dayanır Y. ve Ertuğ S., 2012, Aydın İlinin Farklı Bölgelerinde Ultrason ve Serolojik Yöntemlerle Kistik Ekiinokokkoz Araştırılması ve Eğitim Çalışmaları, *Türkiye Parazitoloj Derg* , 36: 142-6

Ertabaklar H., 2001, *Echinococcus granulosus* Protoskolekslerinden İn vitro Mikrokist Geliştirilmesi ve Albendazole ve Mebendazol'un Mikrokistler üzerindeki İn vitro Etkinliğinin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, 115s.

Engvall E., Perlmann P., 1972, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Elisa III. Quantitation of Specific Antibodies by Enzyme-Labeled Anti-Immunoglobulin in Antigen-Coated Tubes, *The Journal of Immunology*, July 1, 1972, vol. 109 no. 1 129-135

Farag H., Bout D. And Capron A., 1975, Determination of Spesifik Antibodies in Human Hydatid Disease by ELISA Using a Pure Spesifik Antigen, *Immunology*, 59,710.

Facon B., Chamekh M., Dissous C., Capron A., 1991, Moleculer cloning of an *Echinococcus granulosus* protein expressing animmunogenic epitope of Antigen 5, *Mol Biochem Parasitol* 45:233-240.

Garabedian G.A., Matossian R.M., Djanian A.Y., 1957, An indirect hemagglutination test for hydatid disease. *J Immunol* 1957; 78: 269-72.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Gavidia C.M., Gonzalez A.E., Zhang W., McManus D.P., Lopera L., Ninaquispe B., Garcia H.H., Rodríguez S., Verastegui M., Calderon C., Pan W. K. Y. and Gilman R.H., 2008, Diagnosis of Cystic Echinococcosis, Central Peruvian Highlands, Emerging Infectious Diseases, 14, 2.

Göçmen B., 2000, Genel Parazitoloji, T.C. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı.

Haniloo A., Massoud J. and Rokni M., 2005, Evaluation and comparison of antigen-B ELISA and antigen B immunoblotting in immunodiagnosis of cystic hydatid disease, Pak. J. Med. Sci., 21, 352-356.

Huchon G., Roche N., 1999, Fungal and parasitic pneumonia. In: Albert RK, Spiro RG, Jett JR, eds. Comprehensive Respiratory Medicine. London: Mosby; 1999, 5.23

Kahrman G., Ozcan N. and Donmez H., 2011, Hydatid cysts of the liver in children: percutaneous treatment with ultrasound follow-up, Pediatr Radiol 4, 890–894.

Kanvar J.R., Kaushik S.P., Sawhney M.S., Kamboj M.S., Mehta S.K., Vınayak V.K., 1992, Specific antibodies in serum of patients with hydatidosis recognised by immunoblotting, 1. Med. Microbiol. - Vol. 36, 651.

Köksal A.Ş., Arhan M. ve Oğuz D., 2004, Kist Hidatik, Yüksek İhtisas Hastanesi Gastroenteroloji Bölümü, Sıhhiye, Ankara

Li J., Zhang Y., Liu M. and Feng Z., 2012, Analysis on the reactivity of five subunits of antigen B family in serodiagnosis of echinococcosis, Experimental Parasitology 131 (2012), 85–91.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Li T., Ito A., Pengcuo R., Sako Y., Chen X., Qiu D., Xiao N., Craig P.S., 2011, Post-Treatment Follow-Up Study of Abdominal Cystic Echinococcosis in Tibetan Communities of Northwest Sichuan Province, China, 5, 10, 1364.

Merdivenci A., Aydınhoğlu K., 1982, Hidatidoz, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları.

Metwally D.M. and Al-Olayan E.M., 2013, Serum Antibody Detection in Echinococcosis: Specificity of Hydatidosis enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) IgG, Life Science Journal, 10(1).

Musiani P., Piantelli M., Lauriola L., Arru E., Pozzuoli R., 1978, *Echinococcus granulosus*: Specific quantification of the two most immunoreactive antigens in hydatid fluids, J. Clin Path 31, 475-478.

Nasrieh M.A. and Abdel-Hafez S.K., 2004, *Echinococcus granulosus* in Jordan: assessment of various antigenic preparations for use in the serodiagnosis of surgically confirmed cases using enzyme immuno assays and the indirect haemagglutination test. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 48(2), 117-123.

Özcel M.A., Özbel Y. ve Ak M., 2007, Tıbbi Parazit Hastalıkları, Türkiye Parazitoloji Derneği PK. 81 Bornova/ İzmir.

Özcel M.A., Tanyüksel M., Eren H., 2009, Moleküler Parazitoloji, Meta Basım.

Özdemir A., 2005, Adana ve Çevresinde Yaşayan insanlarda Kistik Ekinokokkoz (Hidatidoz) Antikorlarının Serolojik Yöntemle Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, T.C. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalı.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Poretti D., Felleisen E., Grimm F., Pfister M., Teuscher F., Zuercher C., Reichen J. and Gottstein B., 1999, Differential Immunodiagnosis between cystic hydatid disease and other cross reactive pathologies, Am. J. Trop. Med. Hyg. 60: 193-198.

Rickard M.D., 1984, Serological diagnosis and post-operative surveillance of human hydatid disease. Latex agglutination and immunoelectrophoresis using crude cyst fluid antigen. Pathology 1984; 16: 207-10.

Snabel V., Altintas N., D'Amelio S., Nakao M., Romig T., Yolasiğmaz A., Gunes K., Turk M., Busi M., Hüttner M., Sevcova D., Altintas N., Dubinsky P., 2009, Cystic echinococcosis in Turkey: genetic variability and first record of the pig strain (G7) in the country, Parasitology Research, Volume 105, Issue 1, pp 145-154

Thompson R.C.A., Limbery A.J., 1995, Echinococcus and Hydatid Disease, 477p.

Tinsley B., Abbara A., Kadaba R., Sheth H., and Sandhu G., 2013, Spontaneous Intraperitoneal Rupture of a Hepatic Hydatid Cyst with Subsequent Anaphylaxis: A Case Report, Hindawi Publishing Corporation, Volume 2013, Article ID 320418, 4.

Tenguria R.K., Naik M.I., Bhat J.A., 2013, Evaluation Of Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) For IgG In The Diagnosis Of Human Hydatid Disease, International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology, 4, 1, 299.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Van-Doorn H.R., Wentink-Bonnema E., Rentenaar R.J., Gool T., 2007, Specific cross-reactivity in sera from cystic echinococcosis patients in an enzyme-linked immunoelectrotransfer blot for cysticercosis diagnostics, *Trans R Soc Trop Med Hyg* 101 (9), 948-950

Vuitton D.A. and Gottstein B., 2010, *Echinococcus multilocularis* and Its Intermediate Host: A Model of Parasite-Host Interplay, Hindawi Publishing Corporation *Journal of Biomedicine and Biotechnology* Volume 2010, Article ID 923193, 14 pages

Yazar S., 1998, Cystic Echinococcosis (CE)'in Tanısında SDS-Page ve Western Blot Yönteminin Diğer Serolojik Tanı Yöntemleri ile Karşılaştırılması, Doktora tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 150s.

Yazar S., Özkan A.T., Hökelek M., Polat E., ve ark., 2008, Türkiye'de 2001-2005 Yılları Arasında Kistik Ekinokokkozis, *32, 3,* 208-220 s.

Zang W., Xing Y., Wang Y.H., Xu X., 2011, Community Survey for Human Cystic Echinococcosis in Northwest China: a Long Term Follow-up Study, *International Conference on Human Health and Biomedical Engineering* August 19-22, Jilin, China

Zhang W., Wen H., Li J., Lin R. and McManus D.P., 2012, Immunology and Immunodiagnosis of Cystic Echinococcosis: An Update, Hindawi Publishing Corporation *Clinical and Developmental Immunology*, Volume 2012, Article ID 101895, 10 pages

Zhang W., Zhang Z., Shi B., Li J., You H., Tulson G., Dang X., Song Y., Yimiti T., Wang J., Jones M.K. and McManus D.P., 2006, Vaccination of Dogs against *Echinococcus granulosus*, the Cause of Cystic Hydatid Disease in Humans, *The Journal of Infectious Diseases*, 194:966–74

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Zheng F., Wang X., Ma S., Qiao J. and Ilyar S., 2013, Surgical treatment of pericardial echinococcosis: report of eight cases, Chinese Medical Journal 2013;126 (3).

- <http://entropyholds.pl>
- www.phsource.us/PH/PARA/Chapter_8.htm
- www.jmedicalcasereports.com
- www.dpd.cdc.gov.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı: Elif

Soyadı: GÜNEYSU

Mektup Adresi: Ege Üniveristesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji Anabilim Dalı, 35100, Bornova- İzmir/TÜRKİYE

E-posta: elif.guneysu@hotmail.com

Doğum tarihi: 10/08/1987

Doğum yeri : İstanbul

Eğitim

Derecenin Tipi	Çalışma Alanı	Yıl	Üniversite
Lisans	Zooloji	05-09	Ege Üniversitesi
Yüksek Lisans	Zooloji	09-13	Ege Üniversitesi

Yüksek Lisans Tez Adı:

“Kistik Ekinokokkozisli Hastaların Tanı Ve Takibinin Elisa Ve Western Blot Yöntemleriyle Değerlendirilmesi”