



# Helmint Saptanan Hastalarda İndirekt Hemaglutinasyon Tekniği ile Kistik Ekinokokkozis Seropozitifliğinin Araştırılması<sup>+</sup>

Nilgün Daldal\*, Özlem M. Aycan\*, Metin Atambay\*, Ülkü Karaman\*

\*İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD, Malatya

Helmintler, insanda çeşitli parazitliklere ve bunlarla ilgili hastalıklara (Helmintiyoz) neden olurlar. Kistik ekinokokkozis, *Echinococcus granulosus* larvalarının ara konaklara yerleşerek gelişmesi sonucu ortaya çıkan bir hastalıktır.

Kist hidatik tanısında klinik bulgular, radyolojik ve serolojik yöntemler kullanılmaktadır. Ancak serolojik yöntemlerdeki çapraz reaksiyonlar tanıda sorun yaratmaktadır.

Çalışmada; helmintli hastalarda, Echinococcosis tanısında kullanılan İndirekt Hemaglutinasyon (IHA) Tekniği ile seropozitiflik düzeyinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, dışkılarında *Taenia saginata*, *Hymenolepis nana* ve *Ascaris lumbricoides* yumurtaları saptanan 30 hasta serumunda IHA ile anti-*Echinococ* antikorları araştırılmıştır. Helmintiyozlu 30 hastanın 14 (%47)'ü pozitif bulunmuştur. *T. saginata* ile enfekte 14 hastanın 5 (%35)'inde, *H. nana* ile enfekte 12 hastanın 8 (%66)'inde ve *A. lumbricoides* ile enfekte 4 hastanın 1 (%25)'inde IHA pozitifliği saptanmıştır.

Kist hidatik ön tanısı almış hastalardaki seropozitivite düzeyi %40 iken incelenen helmintli hastalarda %47 olarak saptanmış ve bu iki oran arasında anlamlı fark bulunamamıştır.

Sonuç olarak, bazı parazitler hastalığa sahip kişilerde serolojik yöntemlerle çapraz reaksiyondan dolayı hatalı pozitifliğe rastlanabileceğinin göz önünde bulundurulmasının uygun olacağı kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Helmint, İndirekt Hemaglutinasyon Tekniği (IHA) , Çapraz Reaksiyon

## Determination of Cystic Echinococcosis Seropositivity with Indirect Hemagglutination Technique in Helminthiosis

Helminthes cause helminthiosis in human. Cystic echinococcosis (CE) is a disease resulting from the *Echinococcus granulosus* larvae in intermediate hosts.

Radiologic and serologic methods are used for the diagnosis of CE. However, serologic methods may cause false positive results via cross-reactions.

The aim of this study is to determine the seropositivity with Indirect hemagglutination (IHA) Technique for the diagnosis of echinococcosis in helminthiosis. To achieve this, IHA test was performed for serum samples from 30 patients who have been diagnosed with intestinal helminthiosis. A total of 14 (47%) out of 30 samples were found as seropositive with IHA; 5 (35 %) out of 14 in taeniosis, 8 (66 %) out of 12 in hymenolepiosis, 1 (25 %) of 4 in ascariosis were also found as seropositive.

In conclusion; it should be remembered that, there may be false-positive results due to cross reactions by serologic methods in patients with other parasitic diseases.

**Key Words:** Helmint, Indirect Hemagglutination (IHA) Technique, Cross Reactions

<sup>+</sup>XIII. Ulusal Parazitoloji Kongresi (8-12 Eylül 2003, Konya)'nde sunulmuştur.

Helmintler insan vücudunda birçok doku ve organlarda parazit yaşayarak helmintiyozlara neden olur.<sup>1,2</sup>

Helmintlerden olan *Echinococcus granulosus* larvalarının ara konaklara yerleşerek gelişmesiyle ortaya çıkan kistik ekinokokkozis , dünyada ve Türkiye'de insan ve hayvan sağlığını tehdit eden bir paraziter zoonozdur. Ülkemizde zoo-coğrafi yapının farklılık göstermesi, iklim koşulları, toplumun sosyo-ekonomik düzeyi, veteriner sağlık

örgütündeki yetersizlik ve halkın eğitim eksikliği gibi nedenlerle kistik ekinokokkozis geniş bir yayılış göstermektedir.<sup>1,3</sup>

Yurdumuzda insanlarda kistik ekinokokkozis görülme oranları; çeşitli araştırmalarda % 0.087-0.4 gibi değişen değerlerde bildirilmiş ve bu değişkenlikte yöresel farklılıkların önemli rol oynadığı vurgulanmıştır.<sup>4-6</sup>

Erişkin paraziti bağırsaklarında bulduran konakların (Köpek , Kurt vb.) dışkılarıyla atılan *E. granulosus* yumurtaları insan ve doğal ara konak olan koyun, keçi, sığır gibi değişik türden hayvanlarda enfeksiyona sebep olmaktadır. Hastalığın başta karaciğer olmak üzere; akciğer, böbrek, dalak, beyin, kemik, kalp gibi hemen her organa yerleştiği bilinmektedir.<sup>1,3,4</sup>

Tanıda, daha çok radyolojik yöntemlerden faydalanılmasına rağmen kist hidatiğin tümör, apse ve basit kist gibi olgulardan ayırıcı tanısının yapılabilmesi ayrıca operasyon sonrası nükslerin daha sağlıklı bir şekilde değerlendirilebilmesi için radyolojik tanının serolojik tanı yöntemleri ile de desteklenmesi gerekmektedir. Kist hidatik tanısında kullanılan serolojik yöntemlerden biri İndirekt hemaglutinasyon (IHA) tekniğidir.<sup>4,7</sup> Ancak serolojik yöntemlerin yorumlanmasında yalancı pozitiflik ve çapraz reaksiyonların da göz önünde bulundurulmasının yararlı olacağı bildirilmiştir.<sup>8-10</sup>

Çalışmada, kist hidatik tanısında serolojik yöntemlerin çapraz reaksiyonlar oluşturabilmesi sonucu tanıda meydana gelen güçlüklerin giderilmesi amaçlanmıştır. Bu nedenle Parazitoloji Anabilim dalı laboratuvarında, 1999-2002 yılları arasında, kist hidatik ön tanısı almış hastalarda İndirekt Hemaglutinasyon (IHA) Tekniği ile saptanan seropozitivite sonuçlarıyla diğer helmintli hastalardaki sonuçlar değerlendirilmiştir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmada, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı laboratuvarına bağırsak paraziti bakışı için gelen ve *T. saginata*, *H. nana* ve *A. lumbricoides* saptanan toplam 30 hastanın serumları alınmış ve kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır.

IHA tekniğinde, standart tannik asit yöntemi ile koyun kist sıvısı antijen olarak kullanılmış olup toplanan serumlarda anti-*Echinococ* antikolları araştırılmıştır.

Hayvan kesim yerlerinden (mezbaha) alınan kist hidatikli koyun karaciğerleri bekletilmeden laboratuvara getirilerek, içlerinde protoskoleks olan kistlerdeki hidatik sıvı steril koşullarda aspire edilmiştir. Diğer büyük partiküllerin çökmesi için 30 dakika bekletilmiş, ardından 1000 devirde 15 dakika santrifüj edilmiş ve üsteki sıvı tüplere bölünerek -20 °C'de saklanmıştır.

Çalışmada kullanılan manuel IHA yöntemi kaynak bilgilerdeki prosedüre göre uygulanmıştır.<sup>11,12</sup> Sonuçların değerlendirilmesinde antijenli plakta düğme şeklinde bir çökelti var ise NEGATİF, kenarları tırtıklı bir halka oluşmu ise POZİTİF olarak kabul edilmiştir.

Bulgular istatistik yöntemlerle değerlendirilmiştir.

## BULGULAR

Helmintiyozlu 30 hastanın 14'ü (%47) IHA testi ile pozitif bulunmuştur ( Tablo 1). Kist hidatik ön tanılı hastalarda saptanan %40 evren oranı kabul edilerek farklı bağırsak helmintleriyle enfekte hastaların seropozitiflik oranları arasında evren oranı önemlilik testine göre fark saptanamamıştır (P>0.05). Farklı parazitler için saptanan pozitivite oranları iki yüzde arasındaki farkın önemlilik testi ile karşılaştırılmış ve aralarında anlamlı fark saptanamamıştır(p>0.005).

Helment pozitif hasta serumlarında IHA testi pozitiflik titreleri ise Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo1:** Helmint Pozitif Hasta Serumlarının İndirekt Hemaglutinasyon Testi Dağılımı

| Parazitler             | İndirekt Hemaglutinasyon Testi |           |           |           |           |            |
|------------------------|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
|                        | Pozitif                        |           | Negatif   |           | Toplam    |            |
|                        | Sayı                           | %         | Sayı      | %         | Sayı      | %          |
| <i>T. saginata</i>     | 5                              | 35        | 9         | 65        | 14        | 100        |
| <i>H. nana</i>         | 8                              | 66        | 4         | 34        | 12        | 100        |
| <i>A. lumbricoides</i> | 1                              | 25        | 3         | 75        | 4         | 100        |
| <b>Toplam</b>          | <b>14</b>                      | <b>47</b> | <b>16</b> | <b>53</b> | <b>30</b> | <b>100</b> |

## Helmint Saptanan Hastalarda İndirekt Hemaglutinasyon Tekniği ile Kistik Ekinokokkozis Seropozitifliğinin Araştırılması

Tablo 2: Helmint Pozitif Hasta Serumlarında IHA Testi Pozitiflik Titreleri

| Parazitler            | İndirekt Hemaglutinasyon Titreleri |      |      |      |       | Toplam |
|-----------------------|------------------------------------|------|------|------|-------|--------|
|                       | 1/8                                | 1/16 | 1/32 | 1/64 | 1/128 |        |
| <i>T.saginata</i>     | 1                                  | 3    | -    | 1    | -     | 5      |
| <i>H. nana</i>        | 2                                  | 2    | 2    | 1    | 1     | 8      |
| <i>A. lubricoides</i> | -                                  | -    | -    | -    | 1     | 1      |

Tablo 2 incelendiğinde 1/8 ile 1/128 arasındaki sulandırılmalarda seropozitif saptanan olgu sayıları gör÷lmektedir.

### TARTIşMA

Kistik ekinokokkozis'te serolojik tanı diğer parazitler hastalıklarda olduğu gibi konağın parazite karşı gösterdiği hücrel ve sıvısal immün yanıtın ortaya konması esasına dayanmaktadır. Serolojik testlerin, hasta olanları yakalama kapasitesine sensitivite (duyarlılık), hasta olmayanları ayırma kapasitesine ise spesifite (özgüllük) adı verilmektedir. Sensitivite ve spesifitenin kullanılan antijenin cinsine ve hazırlama şekline, değişik pozitiflik kriterlerine, kistin canlılığına, lokalizasyonuna, parazitın suşuna ve bunun gibi birçok nedene bağlı olarak farklılık gösterdiği bilinmektedir. Sonuç olarak immunolojik tanının sensitivite ve spesifitesinin artırılmasını sağlamak için aynı serumun birden fazla serolojik yöntemle test edilmesi önerilmektedir.<sup>13</sup>

Yapılan çalışmalara göre, kist hidatik tanısında IHA testi %70-97 oranında güvenilir bulunmuştur.<sup>13, 14</sup> Sermet, yaptığı bir çalışmada; operasyonla doğrulanmış 36 akciğer, karaciğer ve kalp orijinli kist hidatik olgusunda operasyon öncesi uyguladığı IHA testi ile %100 pozitif sonuç aldığını bildirmiştir.<sup>15</sup> Varela-Diaz ve ark.<sup>7</sup> IHA testinin dört değişik uygulaması içerisinde en uygun olanının tannik asitli IHA testi olduğunu ve kist hidatik tanısında IHA testinin mevcut testler arasında en spesifik test olduğunu bildirmişlerdir. Yazar'a göre,<sup>13</sup> Altıntaş, operasyon ile doğrulanmış CE'li olgularda, operasyon öncesi uyguladığı IHA testi ile %93.3 oranında seropozitiflik saptamıştır.

Birçok antijen *Echinococcus* türleri için spesifik değildir. Bazı *Echinococcus* antijenlerinin sadece diğer sestod enfeksiyonlarıyla değil, aynı zamanda trematod ve nematodlarla da reaksiyon verdikleri gösterilmiştir. Diğer parazitler hastalıklarla çapraz reaksiyon veren bu ortak antijenler CE'in tanısında spesifitenin düşmesinden sorumludurlar. Spesifitenin düşmesine neden olan laminar membran, kist sıvısı ve protoskolekslerde bulunduğu saptanan nonspesifik antijenlerden bir diğeri de P1 kan grubu aktivitesidir.

Bu nedenle CE'li hastalar yüksek P1 aktivitesine sahiptirler. Fakat diğer bazı parazitler hastalıklarda da bu aktivite olduğundan tanıda çapraz reaksiyon verebilmektedir.<sup>13</sup>

*Echinococcus* cinsi cestodların erişkin ve larvalarının antijenlerinin bazı ayrılıklara sahip olduğu ve bir çok antijenin hidatik kist sıvısı, protoskoleksler ve kütük÷lden ayrıştırılmış olduğu bildirilmiş, ayrıca hidatik kist antijenlerinin konak kanında bulunabildiği de saptanmıştır. Bu antijenlerden iyi bağışıklık veren ve ısıya dayanıksız bir lipoprotein olan antijen 5, hem çimlenme zarında ve protoskolekslerin parankiminde hem de çıkartı sisteminde bulunmaktadır. Yine lipoprotein olan antijen B ise 100 °C de 15 dakika ısıya dayanabilmekte ve dış kütük÷, çimlenme kaps÷lü ile protoskolekslerin dış örtüsünde bulunmaktadır. Hidatik kiste ısıya dayanıklı iki antijenin daha olduğu ve bunların da *T. saginata*, *Fasciola hepatica* ve *Schistosoma mansoni* ile ortak reaksiyonlara girebildiği ayrıca başka sestodlar arasında da ortak olanların bulunduğu bildirilmiştir.<sup>16</sup> Çalışmada, dışkı bakısında helment bulunan kişilerin serumlarında kist hidatik tanısında kullanılan IHA tekniği ile çapraz reaksiyonu araştırılmıştır.

Yazar'a göre<sup>8</sup> Orhan, *E. granulosus* ile diğer sestodlar arasında grup spesifik antijenlerin varlığını araştırmış ve *T. taeniaformis*, *T. solium*, *T. saginata*, *T. pisiformis* ve *T. hydatigena* sestodlarında grup spesifik antijenleri saptamıştır

Bir çok araştırmacı testteki hatalı pozitiflikleri kullanılan antijenin cinsine ve hazırlanış şekline ayrıca taeniosis, fascioliosis, schistosomiosis, cysticercosis, karaciğer sirozu ve malignensi gibi hastalıklara sahip olan kişilerde oluşan serum antikorları ile kist hidatiğe karşı oluşan serum antikorları arasındaki çapraz reaksiyona bağlamışlardır.<sup>13</sup>

Unat'a göre<sup>17</sup> Vural, 213 kist hidatikli, 46 *T. saginata*'lı ve 38 *H. nana*'lı hastalarda IHA, komplement bağlanması, agarda çift difüzyonlu presipitasyon ve deri içi deneylerini yapmış ve *T. saginata*'lılardan başka *H. nana*'lılarda da çapraz reaksiyon oluşabildiğini bildirmiştir. Araştırmada ise, 13 *T. saginata*'lı hastanın

4'ünde (%30), 12 *H. nana*'lı hastanın 8'inde (%66) kist hidatik pozitif sonuç alınmıştır.

Yazar ve ark.<sup>8</sup> CE tanısında kullanılan serolojik tanı yöntemleri ile diğer paraziter hastalıkların varlığında karşılaşılabilecek çapraz reaksiyonların araştırılması amacıyla yaptıkları çalışmada, IHA yöntemiyle %2.86 oranında seropozitiflik saptamışlardır. Araştırmada ise %47 oranında çapraz reaksiyon saptanmıştır.

Çalışmada ayrıca IHA testi ile *A. lubricoides*' li 4 hastanın 1'inde (%25) pozitif sonuç alınmıştır. Değişik parazitlerle saptanan seropozitivite oranları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Benzer olarak Yazar, *Echinococcus* antijenlerinin sestodların yanında trematod ve nematod enfeksiyonlarında da çapraz reaksiyon verebileceğini bildirmiştir.<sup>13</sup> Saptanan bir pozitif olgunun örnek sayısı azlığı nedeni ile istatistiki olarak anlamlı olmadığı, ayrıca olgunun tanı konulmamış bir kist hidatik olabileceğinin de değerlendirilmesi gerektiği düşünülmüştür.

Malatya ili Devlet Hastanesi ve İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi hematoloji polikliniğine başvuran kist hidatik tanısı veya ön tanısı almamış, eosinofilisi %10-80 arasında değişen toplam 103 hastanın serumları IHA yöntemi ile çalışılmış ve %10-16 arasında değişen eosinofili saptanan hastaların 16'sında (%15.5) kist hidatik- IHA pozitifliği saptanmıştır.<sup>10</sup>

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim dalı laboratuvarında 1999-2002 yılları arasında kist hidatik ön tanısı almış hastalar IHA Tekniği ile incelenmiş, 1/32 dilüsyonun üzeri seropozitif kabul edildiğinde seropozitivite %40 olarak saptanmıştır (18). Bu %40'lık oran ile çalışmamızda saptanan helmintli hastalardaki seropozitivite oranı olan %47 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Kist hidatik ön tanı hastalar ile barsak helmintiyozlu hastaların serolojik benzerlikleri, bulaşma yollarının benzerliği

de dikkate alındığında multiparazitizm olasılığının da değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmada kist hidatik öntanısı konmuş hastalar ile *T. Saginata*, *H. Nana* ve *A. lubricoides* ile enfekte hastalar arasında seropozitivite farkı olmadığı ortaya konmuştur. İleri çalışmalarla benzerliğin hangi oranda çapraz reaksiyondan kaynaklandığı araştırılması kanısına varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Unat EK, Yücel A, Atlas K, Samastı M, Unat'ın Tıp Parazitolojisi (5. baskı). Cerr. Tıp Fak. Vakfı Yay no:15, s:19-49, 1995.
2. Merdivenci A, Medikal Helmintoloji. İst. Üniv Cerr. Tıp Fak. Yay, s:1-11, 1973.
3. Gottstein B, Reichen J, Echinococcosis/Hydatidosis. Manson's Tropical Diseases (Ed. Manson-Bahr P.E.C) 20th Ed W.B Saunders Com. 1996 :1486-1508.
4. Merdivenci A, Aydınhoğlu K, Hidatidoz (Hidatik Kist Hastalığı). İst. Üniv Tıp Fak.Yay. s:92-98, 1982.
5. Daldal N, Özdemir N, Kist Hidatik'in Patogenezi. İnsanlarda ve hayvanlarda kist hidatik. T. Parazitol Dern Yay no: 10, 1991:65-76.
6. Yılmaz M, Ay S, Serhatoğlu S, Kılıç SS, Türkoğlu A, Koçak F, EBK işçilerinde İHA yöntemiyle Kist hidatik ve Amöbiyaz araştırması. *T Parazitol Derg* 1989; 13:45-49.
7. Varela-Diaz VM, Coltorti EA, Prezioso U, Lopez-Lemes MH, Guisantes JA, Yarzabal LA. Evaluation of three immunodiagnostic tests for human hydatid disease. *Am J Trop Med Hyg*, 1975; 24(2):312-9.
8. Yazar S, Altıntaş N, Cystic Echinococcosis (CE)'in Serolojik Tanısında Karşılaşılan Çapraz Reaksiyonların Araştırılması. *T Parazitol Derg* 1999;23(2):129-132.
9. Varela-Diaz VM, Coltorti EA, de Zavaleta O, Perez-Caviglia H, Zabert EI, Guarnera EA. Immunodiagnosis of human hydatid disease: applications and contributions to a control program in Argentina. *Am J Trop Med Hyg* 1983; 32(5):1079-87.
10. Atambay M, Aycan OM, Karaman Ü, Daldal N, Eozinofili Hastalarda Kistik Ekinokokkozis Seroprevalansı. *T Parazitol Derg* 2002; 26(4):400-402.
11. Alkan Z. Kist Hidatikte Sero- Epidemiyolojik Araştırmalar. Uzmanlık Tezi. Ege Üniv Tıp Fak Parazitoloji AD. İzmir,1991
12. Kuman HA. İndirekt Hemaglutinasyon. Parazit Hastalıklarında Tanı. (Ed. Özcel M.A, Altıntaş N) T Parazitol Dern. Yay. No 15, İzmir-1997 :166-168
13. Yazar S. Cystic Echinococcosis (CE)'in Tanısında SDS-PAGE ve Western Blot Yönteminin Diğer Serolojik Tanı Yöntemleri İle Karşılaştırılması. Doktora Tezi. Ege Üniv Tıp Fak Parazitoloji AD, İzmir,1998
14. Özçelik S, Saygı G. Kist Hidatik Tanısında İndirekt Hemaglutinasyon Denciyinin Duyarlılığı ve Özgüllüğü. *T Parazitol Derg* 1990. 14(1):21-26
15. Sermet İ. İnsan hidatik kist olgularında operasyondan önce ve sonra serum antikorları düzeyinin saptanması ve uygulanan yöntemlerin değerlendirilmesi. Doçentlik tezi, Ege Üniv Tıp Fak Parazitoloji AD, İzmir, 1980
16. Özkan C. Edirne Ve Çevresinde Kist Hidatigin Casoni Ve İndirekt Hemaglutinasyon Testleri İle Sıklığının Araştırılması. Yüksek lisans tezi. Trakya Üniv. Edirne,1991
17. Unat EK, Ekinokok'ların ve Enfeksiyonlarının Tarihçesi. İnsanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik. T Parazitol Dern Yay no:10: 1991;1-10.
18. Karaman Ü, Daldal N, Atambay M, AycanMO. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 1999-2002 Tarihleri Arasında İncelenen Hidatik Kist Ön Tanılı Olguların Serolojik Sonuçları. *İnönü Üniv Tıp Fak Der* 2002;9(4):233-235

## Yazışma Adresi:

Prof.Dr. Nilgün Daldal  
İnönü Ün. Tıp Fak. Parazitoloji AD. Malatya  
Tel : 422 341 0204  
E-Posta : ndaldal@inonu.edu.tr