

# Hidatik Kist Tanısında İndirekt Hemaglütinasyon ve Enzim İmmünoessey Testlerinin Karşılaştırılması

Ali Ağaçfidan<sup>1</sup>, Selim Badur<sup>1</sup>, Hovsep Hazar<sup>2</sup>, Ali Emre<sup>2</sup>, Enver Tali Çetin<sup>1</sup>

**Özet:** Çalışmamızda 81 hastanın serumunda *Echinococcus granulosus* antikorları Cellognost® *Echinococcus*-IHA ve Melotest® *Echinococcus* EIA kiti ile karşılaştırılmalı olarak araştırılmıştır. Bu hastaların 35'ini cerrahi ile hidatik kist olduğu ispatlanmış olgular (12'si operasyon sonrası 1-3 ay geçen hastalar, 23'ü operasyon sonrası en az bir yıl geçen hastalar), 46'sını ise röntgen, ultrasonografi ya da bilgisayarlı tomografi ile hidatik kist ön tanısı konmuş hastalar oluşturmaktadır. İncelenen hasta serumlarında IHA ve EIA testlerinden alınan pozitiflik durumuna bakıldığında, tüm olgular birbirine paralellik göstermiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Hidatik kist, serolojik tanı, IHA, EIA.

**Summary:** Comparison of the indirect hemagglutination test and enzyme immunoassay for serodiagnosis of hydatid cyst. Cellognost® *Echinococcus*-IHA and Melotest® *Echinococcus*-EIA kits were compared to detect *Echinococcus granulosus* antibodies in sera of 81 patients in our study. Thirty-five of these patients were surgically proven to have hydatid cyst (12 patients were operated 1-3 months ago and 23 were operated at least one year ago), and 46 of the patients were initially diagnosed as having hydatid cyst by x-ray, ultrasound or CT. The results of IHA and EIA corroborated one another in all cases.

**Key Words:** Hydatid cyst, serodiagnosis, IHA, EIA.

## Giriş

Genellikle köpeklerin bazen kurt, çakal gibi etobur hayvanların incebağırsağında yaşayan *Echinococcus granulosus*'un yumurtaları, bu hayvanların gaitaları ile çevreye yayıldığında; koyun, sığır, deve, geyik ve insanın da dahil olduğu canlılar tarafından kontamine besinlerle alınarak embriyon yumurtadan ayrılmakta ve kan dolaşımına geçerek başta karaciğer olmak üzere akciğerler, dalak, böbrekler, pankreas gibi organlarda hidatik kist hastalığını oluşturmaktadır (Şekil 1). Yapılan çalışmalar hidatik kist oluşumunda kistin lokalizasyonunun karaciğerlerde % 70, akciğerlerde % 10 ve çok az oranda da diğer organlarda olduğunu göstermiştir (1-3).

Hidatik kist hastalığının tanısında kullanılan laboratuvar tanı yöntemleri mikroskopik inceleme, allerjik tanı ve serolojik testler olmak üzere üç grupta toplanmaktadır (4). Bunlar arasında serolojik tanı yöntemleri hastalığın etyolojisinde önemli yer tutmaktadır. Bu amaçla en çok kullanılan testler Weinberg kompleman birleşmesi, laktoks aglütinasyonu (LA), indirekt fluoresan antikor testi (IFA), indirekt hemaglütinasyon testi (IHA) ve enzim immünoessey (EIA)'dır (3,5-7). Bugün tanı amacıyla birçok laboratuvar da duyarlı, özgül ve çok sayıda muayene maddesinin incelenmesine olanak sağlayan testler tercih edilmektedir. Ayrıca kullanılan antijenin saflığı da tanıdan önem taşımakta, diğer sestod infeksiyonları ile oluşabilecek çapraz reaksiyonları da en az seviyeye indirmektedir (2,3).

Hidatik kist olgularında en fazla oluşan antikor spesifik IgG'dir. IgM, IgA, IgE antikorları da oluşmakla birlikte serumdaki seviyeleri oldukça düşüktür. Spesifik IgM antikorları kistin cerrahi operasyonu ile uzaklaştırılmasından sonraki altı ay içinde kaybolmaktadır. Bu nedenle reinfeksiyonların belirlenmesinde IgM antikorlarının saptanması önem taşımaktadır. Ancak, düşük düzeyde bulunan ve duyarlı tanı

**Tablo 1. Cerrahi ile Hidatik Kist Olduğu İspatlanmış 12 Hastadan Alınan Pozitif Serolojik Test Sonuçları\***

Kistin lokalizasyonu	Olgu	IHA**					EIA
		1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	
Karaciğer	12	1	2	1	3	5	12

\* Operasyon sonrası geçen süre 1-3 ay arasında değişmektedir.

\*\* En son serum sulandırımında alınan pozitiflik.

yöntemleri ile belirlenen IgM antikorlarının düzeyi olgulara göre de farklılık göstermektedir. Hasta serumlarında bu antikorların her zaman belirlenmemesi nedeniyle tanıda kullanılan testlerde, spesifik IgG antikorları araştırılmakta ve antikor titrasyonunda görülen değişim değerlendirilerek tanı yönlendirilmektedir (2-4,8).

Birçok laboratuvar da hidatik kist tanısında IHA pratik, özgül ve duyarlı olması nedeniyle tercih edilmektedir (3,9-12). Ayrıca bu amaçla hazırlanmış çok sayıda ticari kit mevcuttur. Hidatik kistin tanısında oldukça önemli rol oynayan EIA, günümüze kadar birçok gelişmiş laboratuvar da araştırma amacıyla sıklıkla kullanılmıştır. Ancak rutin amaçla kullanılmak üzere geliştirilmiş ticari bir kit mevcut olmadığından kullanım alanı sınırlı kalmıştır (3,13-16).

Bugün İspanya'da Melotec S.A. firması tarafından geliştirilen Melotest® *Echinococcus*-EIA ticari kiti, hidatik kistin tanısında kullanıma sunulmuştur. Ekinokok antijeni ile kaplı EIA mikropaklarında *E. granulosus*'a karşı oluşan IgG antikorları enzim işaretli anti-IgG konjugesi ile gösterilmektedir. Oldukça pratik olan bu yöntemle 30 dakika gibi kısa bir sürede sonuç almak mümkündür.

Bu çalışmada cerrahi ile hidatik kist olduğu ispatlanan olgularda ve röntgen, ultrasonografi ya da bilgisayarlı tomografi (BT) ile hidatik kist ön tanısı konan hastaların serumlarında ekinokok antikorları Cellognost® *Echinococco-*

(1) İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı, Çapa-İstanbul.

(2) İstanbul Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Çapa-İstanbul

**Tablo 2 . Cerrahi ile Hidatik Kist Olduğu İspatlanmış 23 Hastadan Alınan Pozitif Serolojik Test Sonuçları\***

Kistin lokalizasyonu	I H A**					EIA
	Olgu	1/32	1/64	1/128	1/256	
Karaciğer	19	3	4	5	7	19
Akciğer	4	2	1	1	0	4

\* Operasyon üzerinden en az 1 yıl geçmiştir.

\*\* En son serum sulandırımında alınan pozitiflik.

sis-IHA ve Melotest® Echinococcosis-EIA kitleri ile karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır.

### Yöntemler

İstanbul Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda hidatik kist olduğu cerrahi ile ispatlanan olgular iki grupta toplanmıştır. Operasyon sonrası üzerinden 1-3 ay geçen karaciğer hidatik kistli 12 hastanın serumları birinci grupta; operasyon sonrası üzerinden en az bir yıl geçen 23 hastanın (19 karaciğer, 4 akciğer hidatik kistli) serumları ikinci grupta toplanmıştır. Röntgen, ultrasonografi ya da BT ile hidatik kist ön tanısı konan 46 hastanın serumları da çalışma kapsamında yer almıştır.

Hidatik kist antikorlarını belirlemek amacıyla tanıda Cellognost®-Echinococcosis-IHA (Behring, Marburg, Germany) ve Melotest®-Echinococcosis-EIA (Melotec S.A., Barcelona-Spain) ticari kitleri kullanılmıştır.

IHA'da hasta serumları 1/32 oranında dilüsyondan başlayarak test edilmiş, pozitif olgularda titrasyon katları şeklinde artırılmıştır. EIA'da ise sonuçlar kalitatif olarak değerlendirilmiştir.

### Sonuçlar

Cerrahi ile karaciğer hidatik kisti olduğu ispatlanan ve operasyon sonrası üzerinden 1-3 ay geçen 12 olgunun tamamında IHA ve EIA pozitif sonuç vermiştir. IHA'da 12 olgunun birerinde 1/64 ve 1/256, ikisinde 1/128, üçünde 1/512 ve beşinde 1/1024 oranında pozitiflik elde edilmiştir (Tablo 1). İkinci grupta yer alan ve cerrahi ile hidatik kist olduğu ispatlanan ve üzerlerinden en az bir yıl geçen 19 karaciğer hidatik kistli olgunun, üçünde 1/32, dördünde 1/64, beşinde 1/128 ve yedisinde 1/256; akciğer hidatik kistli dört olgunun ise birerinde 1/64 ve 1/128, ikisinde 1/32 oranında IHA ile pozitiflik belirlenmiştir. Ayrıca bu gruptaki hastaların tamamında EIA pozitif sonuç vermiştir (Tablo 2). Röntgen, ultrasonografi ya da BT ile karaciğer hidatik kist ön tanısı konan 30 olgunun birinde 1/2048, ikisinde 1/256, yedisinde 1/512 ve sekizinde 1/1024 oranlarında; akciğer hidatik kist ön tanılı yedi olgunun ise ikisinde 1/512 oranında IHA testi ile pozitiflik saptanmıştır. Bu grupta da IHA pozitif bulunan tüm hastalarda EIA pozitif sonuç vermiştir. Böbrek, dalak ve pankreasında hidatik kist düşünülen hastalarda ise her iki test negatif kalmıştır (Tablo 3).

### İrdeleme

Hidatik kist tanısında kullanılan laboratuvar tanı

yöntemleri infeksiyonun etyolojisinin belirlenmesinde önemli rol oynamakta, ayrıca klinik, radyolojik ve ultrasonografik bulgulardan alınan sonuçların doğrulanmasına da yardımcı olmaktadır (2,3). Hastalığın laboratuvar tanısında eskiden oldukça yaygın kullanılan Weinberg kompleman birleşmesi deneyi ve Casoni deri testi özgüllük ve duyarlılığının düşük olması nedeniyle günümüzde yerini daha güvenilir ve pratik yöntemlere bırakmıştır (3,5,9).

Çalışmamızda IHA ve EIA testleri karşılaştırmalı olarak hidatik kistli ve ön tanı hastaların serumlarında ekonokok antikorlarını belirlemek amacıyla araştırılmıştır. Buna göre operasyon sonrası 1-3 ay geçen ve karaciğer hidatik kistli olduğu belirlenen 12 olgunun tamamında IHA ve EIA testleri pozitif sonuç vermiştir. Ayrıca operasyon sonrası üzerinden en az bir yıl geçen olgularda da her iki test ile pozitiflik elde edilmiştir. Her iki teste elde edilen pozitiflik birbirlerine paralellik göstermiş, ancak IHA'da serum dilüsyonu yapıldığından antikor titrasyonunu belirlemek mümkün olmuştur. Operasyon sonrası 1-3 ay geçen hastalarda alınan IHA pozitifliği 1/64-1/1024 arasında değişirken, operasyon sonrası en az bir yıl geçen hastaların serumlarında belirlenen IHA pozitifliği ise 1/32-1/256 arasında değişmiştir. Yapılan çalışmalarda IHA'da 1/512-1/2048 serum dilüsyonlarında alınan pozitifliğin kistin varlığının göstergesi olarak kabul edildiği, 1/32-1/128 arasında elde edilen pozitiflikte ise diğer bir doğrulama metoduna gerek olduğu vurgulanmıştır (9,11). Ayrıca hidatik kistli olgularda kistin bütünlüğü, canlı kalma süresi ve lokalize olduğu organın durumu da konak canlıda oluşacak immün yanıtı etkilemektedir. Operasyon sonrası geçen süre de, alınan pozitiflik durumunu belirlemektedir (2,3). Buna göre elde ettiğimiz sonuçlara bakıldığında operasyon sonrası geçen süreye bağlı olarak IHA'da alınan pozitiflik serum dilüsyonlarına bağlı olarak düşmüştür.

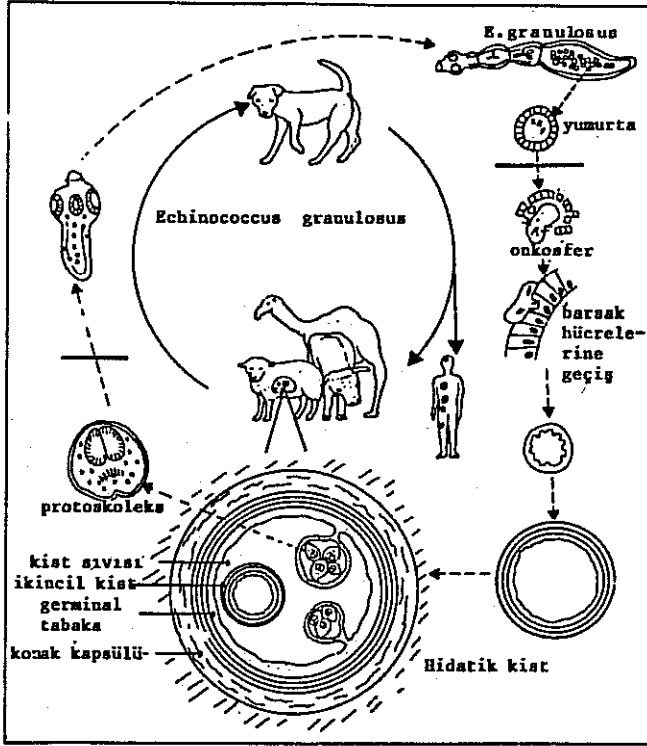
Çalışmamızın üçüncü grubunu oluşturan röntgen, ultrasonografi ya da BT ile hidatik kist ön tanısı konan 46 hastanın 20'sinde (% 43,4) IHA ve EIA pozitif sonuç vermiştir. Buna göre karaciğer hidatik kist ön tanılı 30 olgunun 18'inde (% 60) ve akciğer hidatik kist ön tanılı yedi olgunun ikisinde her iki test ile pozitiflik elde edilmiştir. Diğer hidatik kist ön tanılı hastalarda bu testlerin negatif kalmış olması başka tanı yöntemlerine (Casoni, LA, IFA) gereksinim göstermekle birlikte, duyarlılığı oldukça yüksek olan IHA ve EIA testlerinden alınan negatiflik göz önünde tutularak olguların hidatik kist olmayabileceği de düşünülmektedir (3,6,7).

IHA ve EIA testlerinin duyarlılığı ve özgüllüğü konusun-

**Tablo 3 . Röntgen, Ultrasonografi ya da BT ile Hidatik Kist Ön Tanısı Konan 46 Hastadan Alınan Pozitif Serolojik Test Sonuçları**

Kistin lokalizasyonu	Olgu	I H A**				EIA
		1/256	1/512	1/1024	1/2048	
Karaciğer	30	2	7	8	1	18
Akciğer	7	0	2	0	0	2
Böbrek	5	0	0	0	0	0
Dalak	2	0	0	0	0	0
Pankreas	2	0	0	0	0	0

\*\* En son serum sulandırımında alınan pozitiflik



Şekil 1. *E.granulosus*'un yaşam siklusu (2)

da yapılan çalışmalarda oldukça olumlu sonuçlar alınmıştır. Özellikle her iki testin birlikte uygulanmasının hidatik kist enfeksiyonunun yorumlanmasında önemli rol oynadığı vurgulanmıştır (3,9).

Wattal ve arkadaşları (3) cerrahi ile akciğer hidatik kist olduğu ispatlanan 22 olgunun % 59'unda IHA ve tamamında EIA; karaciğer hidatik kist olduğu ispatlanan 21 olgunun % 76.2'sinde IHA ve yine tamamında EIA pozitif bulunmuştur. Njeruh ve arkadaşları (9) ise IHA ve EIA'nın hidatik kist tanısında duyarlılığı ve özgüllüğünü araştırmışlar, buna göre her iki testin duyarlılığı % 100, özgüllüğü ise % 85 olarak belirlenmiştir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise cerrahi ile hidatik kist olduğu ispatlanan 35 hastanın % 85.7'sinde IHA ve tamamında EIA pozitif sonuç vermiştir (16). Diğer bir çalışmada ise IHA'nın duyarlılığı % 94.3, özgüllüğü ise % 92 olarak belirlenmiştir (10).

Çalışmamızda IHA ve EIA testlerinden alınan pozitiflik durumu tüm olgularda birbirine paralellik göstermiştir. Buna karşın Wattal ve arkadaşları (3), Afferni ve arkadaşları (17) ve Pini ve arkadaşları (18) akciğer hidatik kistli olgularda IHA'nın duyarlılığının daha düşük olduğunu ortaya koymuştur. Ancak bu çalışmada akciğer hidatik kistli ve ön tanı hastaların sayısının az olması, bu olgularda IHA'nın gerçek duyarlılığının belirlenmesinde olumsuz rol oynamıştır.

Son derece önemli bir sağlık problemi olan hidatik kist hastalığının laboratuvar tanısında yeni yöntemlerin geliştirilmesi, enfeksiyonun belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Özellikle tanıda başvurduğumuz IHA ve EIA tesile-

rinin birlikte kullanılması, alınan sonuçların birbirini doğrulamasında oldukça yararlı olmuştur. Ayrıca kullanıma yeni sunulan EIA'da elde ettiğimiz sonuçlar dikkate alınarak hidatik kist enfeksiyonlarının tanısında kullanılan diğer yöntemlere, bu testin alternatif rol oynayabileceği belirlenmiştir. Duyarlılığı yüksek olan ve çok sayıda muayene maddesinin incelenmesine olanak sağlayan EIA hasta serumlarında spesifik IgG antikorları saptadığından retrospektif çalışmaların yapılmasına imkan sağlayabilir. Ancak aktif enfeksiyonun varlığını saptayabilmek için kantitatif değerlendirme yapmak gerektiğinden, "cost-benefit" durumu düşünülürse EIA'da alınan sonuçların IHA ile serum dilüsyonu yapılarak değerlendirilmesi daha yararlı olacaktır.

#### Kaynaklar

1. Çetin ET, Ang Ö, Töreci K. *Tıbbi Parazitoloji*. 4. baskı. İstanbul: Bayda Yayın No. 15, 1985.
2. Craig PS. Immunology of human hydatid disease. In: *ISI Atlas of Science: Immunology*, 1988; 0894-3745: 95-100.
3. Wattal C, Malla N, Khan IA, Agarwal SC. Comparative evaluation of enzyme linked immunosorbent assay for the diagnosis of pulmonary echinococcosis. *J Clin Microbiol* 1986; 24: 41-6.
4. Ağaçfidan A. Hidatik kist tanı yöntemlerinde laboratuvarın yeri. *Sendrom* 1991; 3: 40-2.
5. Kasımoğlu Ö, Yakacıklı S, Öneş Ü. Casoni antijeni ile Weinberg reaksiyonu ilişkisi. *Türk Mikrobiyol Cemiyet Derg* 1972; 2: 117-20.
6. Dighero MW, Bradstreet CMP. The serodiagnosis of human hydatid disease: 1. The routine use of latex-agglutination and complement fixation in diagnosis. *J Helminthol* 1979; 53: 283-6.
7. Singh BP, Dhar DN. Indirect fluorescent antibody test for the detection of antibodies to Echinococcus granulosus in experimentally infected pups. *Vet Parasitol* 1988; 28: 185-90.
8. Altuntaş N, Özcel MA. IgG and IgM levels in cyst hydatid patients, before and after operation using immuno-fluorescence technique. *Türk Parazit Derg* 1991; 15: 31-40.
9. Njeruh FM, Okelo GBA, Gathuma JM. Usefulness of indirect hemagglutination (IHA) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the diagnosis of human hydatidosis. *East Afr Med J* 1989; 66: 301-4.
10. Özçelik S, Saygı G. Kist hidatik tanısında indirekt hemagglutinasyon deneyinin duyarlılığı ve özgüllüğü. *Türk Parazit Derg* 1990; 14: 21-6.
11. Cellognost Echinococcosis. Behring indirekt hemagglutinasyon testi tanıtım broşürü, Marburg, Germany, 1990.
12. Chemtal AK, Bowry TR, Ahmad Z. Evaluation of five immunodiagnostic techniques in Echinococcosis patients. *Bull WHO* 1981; 59: 767-72.
13. Farag H, Bout D, Capron A. Specific immunodiagnosis of human hydatidosis by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Biomedicine* 1975; 23: 276-8.
14. Iacona A, Pini C, Vicari G. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) in the serodiagnosis of hydatid disease. *Am J Trop Med Hyg* 1980; 29: 95-102.
15. McLaren ML, Lillywhite JE, Andrew CS. Indirect enzyme linked immunosorbent assay (ELISA): practical aspects of standardization and quality control. *Med Lab Sci* 1981; 38: 245-51.
16. Altaş K. İnsanda hidatidoz tanısında ELISA çalışmaları. *Cerrahpaşa Tıp Fak Derg* 1984; 15: 92-112.
17. Afferni C, Pini C, Misiti-Dorello P, Bernardini L, Conchedda M, Vicari G. Detection of specific IgE antibodies in sera from patients with hydatidosis. *Clin Exp Immunol* 1984; 55: 587-92.
18. Pini C, Pastore R, Valesini G. Circulating immune complexes in sera of patients infected with Echinococcus granulosus. *Clin Exp Immunol* 1983; 51: 572-78.