



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



KİSTİK EKİNOKOKKOZ TANISINDA DOĞAL VE REKOMBİNANT ANTİJENLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

Doktora Tezi

Fatma İRVASA BİLGİÇ

Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı

İzmir
(2019)

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**KİSTİK EKİNOKOKKOZ TANISINDA DOĞAL VE
REKOMBİNANT ANTİJENLERİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Fatma İRVASA BİLGİÇ

Danışman
Doç. Dr. Derya DİRİM ERDOĞAN

Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı
Doktora Programı

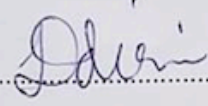
İzmir
(2019)

Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan : Doç.Dr. Derya DİRİM ERDOĞAN

.....

(Danışman)

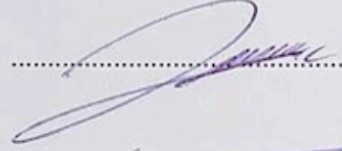
Üye : Prof.Dr. Ahmet ÜNER

.....

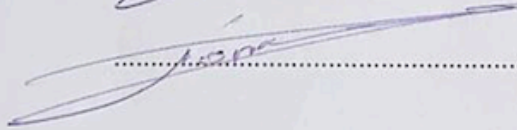
Üye : Prof.Dr. Metin KORKMAZ

.....

Üye : Prof.Dr. Ülgen Zeki OK

.....

Üye : Prof.Dr. Tonay İNCEBOZ

.....

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: 11/06/2019.....

Önsöz

Tüm dünyada yaygın olarak görülen ve zoonotik bir hastalık olan kistik ekinokokkoz, önemli bir halk sağlığı sorunudur. Hastalığın tanısı ve takibinde öncelikli olarak görüntüleme yöntemleri kullanılmakta ve serolojik testlerle desteklenmektedir. Ancak bu yöntemlerin hidatik kistin ayırıcı tanısında ve hastaların tedavi sonrası takibinde yetersiz kaldığı durumlar bulunabilmektedir. Bu nedenle güvenilir serolojik testlere olan ihtiyaç giderek artmaktadır. Kistik ekinokokkozun tanı ve tedavi sonrası takibinde yeni antijenlerin araştırıldığı bu çalışmanın bu konudaki gelişmelere katkıda bulunmasını diliyorum.

İzmir, 4.07.2019

Fatma İRVASA BİLGİÇ

Özet

Kistik Ekinokokkoz Tanısında Doğal Ve Rekombinant Antijenlerin

Karşılaştırılması

Kistik ekinokokkoz (KE) *Echinococcus granulosus* larvalarının neden olduğu en yaygın helmint enfeksiyonlarından biridir. KE tanısı ve takibi serolojik testlerle tamamlanan görüntüleme yöntemlerine dayanır. Başta Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHA) ve Western Blotlama (WB) olmak üzere spesifik antikorların arandığı serolojik testlerde kist sıvısı (KS) en yaygın kullanılan antijen kaynağıdır. Fakat kist sıvısının heterojen yapısı, testlere göre değişen oranlarda yalancı pozitif veya yalancı negatif reaksiyonlara neden olmaktadır. Ayrıca iyileşen hastalarda KS'ye karşı oluşan antikorların uzun süre varlığını koruması nedeniyle tedavi sonrası takipte yetersiz kalabilmektedir. Standardizasyonun sağlanması ve test performansının artırılması amacıyla özellikle kist sıvısının bileşenlerinden Antijen B (AgB) ve Antijen 5 (Ag5)'in alt üniteleri olmak üzere çok sayıda rekombinant antijen tanımlanmıştır. Çalışmamızda, her biri yüksek duyarlılık ve özgüllük değerlerine sahip yeni AgB8/1, AgB8/2 ve Ag5'den oluşan rekombinant füzyon protein (Ag5+AgB8/1+AgB8/2) in total Immunoglobulin G (IgG) ELISA performansları KS ile karşılaştırılmış, KE hastalarının tanı ve takibinde yararlılığı araştırılmıştır. Radyolojik, serolojik ve/veya cerrahi olarak doğrulanmış 182 KE hastasına ait toplam 252 KE hasta serumu, diğer parazit enfeksiyonları açısından klinik, serolojik veya parazitolojik olarak pozitif tanı alan (alveoler ekinokokkoz (AE), fasiyolaz, toksokariyaz, toksoplazmoz, visseral leishmaniyaz, trişineloz) 160 hasta serumu ve sağlıklı bireylere ait 30 serum örneği olmak üzere toplam 442 serum test edilmiştir. Kist sıvısı ve rekombinant antijen ELISA'da duyarlılık sırasıyla %86.5 ve %29.3, özgüllük sırasıyla % 82.6 ve % 94.2 olarak saptanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün bildirdiği şekilde yapılan sonografik sınıflandırmaya göre kist evrelerine göre KS ELISA'nın pozitiflik oranı değiştirmiştir. Buna göre KS ELISA inaktif kist evresine (CE4-CE5) sahip hasta serum örneklerinde düşük oranlarda pozitiflik gösterirken, tedavi öncesi veya postoperatif nüks olduğu bilinen hastalarda, tedavi sonrası iyileşenlere göre daha yüksek seropozitiflik göstermiştir. Rekombinant antijen ELISA'da ise kist evrelerine göre anlamlı bir fark saptanmamış ($P=0,085$) iken, kistin karaciğer ve diğer organlarda yerleşimi arasında anlamlı fark bulunmuştur ($P=0,030$).

Sonuç olarak çalışmamızda ilk kez tanımlanan (Ag5+AgB8/1+Ag8/2) füzyon rekombinant proteini, KE hastalarının tanı ve tedavi sonrası takibinde kullanılabilecek aday antijen olarak değerlendirilmiş, ancak antijenlerin tek tek olan hallerinden daha düşük duyarlılıkta bulunmuştur. Buna, rekombinant antijenlerin birbirine bağlanmasıyla oluşan füzyon proteinin üç boyutlu konfigürasyonu etki etmiş olabilir. Bu nedenle füzyon protein ve bileşenlerinin (Ag5, AgB8/1, Ag8/2) aynı şartlar altında karşılaştırılmalı olarak test edilmesi gerektiği kanısına ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler; *Echinococcus granulosus*; kistik ekinokokkoz; seroloji; kist sıvısı; rekombinant antijen; Ag5+AgB8/1+ AgB8/2

Abstract

Comparison of Native And Recombinant Antigens For Serological Diagnosis of Cystic Echinococcosis

Cystic echinococcosis (CE) is one of the most common helminthic infections and is caused by larvae of the tapeworm *Echinococcus granulosus*. Diagnosis and monitoring CE is mainly based on imaging methods. Serologic tests complement the imaging methods. Cystic fluid (CF) is the most commonly utilized antigen source when performing serologic tests. Specific antibodies are sought in serologic tests such as ELISA, IHA and WB. However, heterogeneous antigenic nature of cyst fluid results in varying percentages of false positive and false negative reactions with respect to the type of serologic test. Additionally, serology may be inadequate in post-treatment follow-up due to long term presence of antibodies against CF in cured patients. In order to ensure standardization and increase test performance many recombinant antigens were described. Two of these antigens are the subunits of the cyst fluid components Antigen B (AgB) and Antigen 5 (Ag5). In our study, recombinant fusion protein (Ag5+AgB8/1+AgB8/2) consisting of AgB8/1, AgB8/2 and Ag5, all of which having a high sensitivity and specificity, was compared to cyst fluid using total Immunoglobulin G (IgG) ELISA test. Also, the usefulness of the recombinant fusion protein (Ag5+AgB8/1+AgB8/2) in the diagnosis and follow-up of CE patients was investigated. Two hundred fifty two patient sera belonging to 182 CE patients whose diagnoses were confirmed radiologically, serologically and/or surgically were tested. Together with 252 CE sera, 160 patient sera from individuals who received a positive clinical, serologic or parasitological diagnosis with regards to other parasitic infections such as alveolar echinococcosis (AE), fascioliasis, toxocariasis, toxoplasmosis, visceral leishmaniasis, and trichinellosis were also tested. Finally, 30 serum samples from healthy individuals were tested bringing the total number of tested serum samples to 442. The sensitivity of cyst fluid and recombinant antigen tested by ELISA were 86.5% and 29.3%, respectively, whereas, the specificity of cyst fluid and recombinant antigen were 82.6% and 94.2%, respectively. Cyst stage as classified by ultrasound according to the World Health Organization (WHO) influenced the positivity rate of cyst fluid ELISA. Cyst fluid ELISA showed low percentage of positivity in patients with inactive cyst stage (CE4-CE5). However, before treatment or in patients with

post-operative relapse seropositivity was higher compared to those who were cured after treatment. In recombinant antigen ELISA no significant difference was found between cyst stages ($P=0,085$), however, significant difference was found between the presence of cyst in the liver and in other organs ($P=0,030$). As a result, fusion recombinant protein (Ag5+AgB8/1+Ag8/2) which first described in our study was determined as a candidate antigen to be used in the diagnosis and post-treatment follow-up of CE patients. However, this recombinant antigen's sensitivity was found to be lower than the sensitivity of the individual antigens. This may be due the three dimensional configuration of the fusion protein resulting from connection of recombinant antigens to each other. For this reason, we conclude that the fusion protein and its constituents (Ag5, AgB8/1, Ag8/2) should be tested comparatively under the same conditions.

Keywords; *Echinococcus granulosus*; cystic echinococcosis; serology; cyst fluid; recombinant antigen; Ag5+AgB8/1+ AgB8/2

İçindekiler

Önsöz.....	II
Özet	III
Abstract.....	V
İçindekiler	VII
Tablolar Dizini.....	IX
Şekiller Dizini.....	X
Grafikler Dizini.....	XI
Kısaltma Listesi	XII
Giriş.....	1
Genel Bilgiler	3
1. Sınıflandırma.....	3
2. Morfoloji.....	4
3. Biyoloji.....	5
4. Epidemiyoloji	6
5. Bulaş	6
6. Klinik.....	7
7. Tanı.....	7
7.1. Klinik Tanı.....	7
7.2. Görüntüleme Yöntemleri	7
7.3. Serolojik tanı.....	8
8. Tedavi	9
Gereç ve Yöntem.....	11
1. Çalışma ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi.....	11

1.1. Çalışma grubu	11
1.2. Kontrol grubu.....	14
2. Çalışmada Kullanılan Yöntemler	15
2.1. Antijenler	15
2.2. Serolojik Yöntemler	17
3. Veri Değerlendirme ve İstatistiksel Analiz.....	22
4. Etik Kurul	23
Bulgular.....	24
1. Kistik Ekinokokkoz hastalarının demografik ve klinik özellikleri.....	24
2. Total IgG ELISA Sonuçları	26
2.1. Tanı duyarlılığı, özgüllüğü ve çapraz reaksiyonlar	27
2.2. ELISA sonuçlarını etkileyen değişkenler.....	28
2.3. Antijenlerin serolojik tanı performansları	30
Tartışma	37
Sonuç ve Öneriler	50
Kaynaklar	51
Ekler	65
Teşekkür	77
Özgeçmiş	78

Tablolar Dizini

Tablo 1: Çalışmamızda tek serum örneği kullanılan ve tedaviye cevaba göre dört gruba ayrılan 117 KE hastasının klinik özellikleri.

Tablo 2: Çalışmamızda ikiden fazla serum örneği kullanılan ve tedaviye cevaba göre dört gruba ayrılan 47 KE takip hastasının klinik özellikleri.

Tablo 3: Ag5 gen sekansında kullanılan primer çiftleri ve GenBank erişim numaraları.

Tablo 4: AgB8/1 gen sekansında kullanılan primer çiftleri ve GenBank erişim numaraları.

Tablo 5: AgB8/2 gen sekansında kullanılan primer çiftleri ve GenBank erişim numaraları.

Tablo 6: Sulandırılan serum örneklerinin plaklara aktarılması.

Tablo 7: KE hastalarının demografik ve klinik özellikleri.

Tablo 8: ELISA ile test edilen kist sıvısı ve rekombinant antijenin ROC analiz parametreleri.

Tablo 9: Kistik ekinokokkoz ELISA testi duyarlılık, özgüllük ve doğruluk değerleri.

Tablo 10: Kontrol (sağlıklı ve çapraz) serumlarının anti-*Echinococcus granulosus* IgG ELISA sonuçları.

Tablo 11: Ekinokokkoz (KE+AE) ELISA testi duyarlılık ve özgüllük değerleri.

Tablo 12: Kist evresi ve kist yerleşimine göre ELISA testlerinin pozitiflik oranları.

Tablo 13: Tek serum örneği olan 135 KE hastasının rekombinant antijen ELISA ve KS ELISA ile seropozitiflik oranlarının karşılaştırılması.

Tablo 14: Cerrahi müdahale veya perkütan tedavi uygulanan 35 KE hastasının takip periyodu sırasında rekombinant antijen ELISA ve KS ELISA ile seropozitiflik oranlarının karşılaştırılması.

Tablo 15: Albendazol tedavisi alan 9 KE hastasının takip periyodu sırasında rekombinant antijen ELISA ve KS ELISA ile seropozitiflik oranlarının karşılaştırılması.

Tablo 16: İzlem yaklaşımı uygulanan 3 KE takip hastasında rekombinant antijen ELISA ve KS ELISA ile seropozitiflik oranlarının karşılaştırılması.

Şekiller Dizini

Şekil 1: Kist sıvısı ve rekombinant antijen için eşik değeri ile ROC eğrisi altında kalan alan (area under the curve-AUC) hesaplanmasında kullanılan ROC eğrisi.



Grafikler Dizini

Grafik 1: Çalışma grubundaki KE hastalarının yaş gruplarına göre dağılımı.



Kısaltma Listesi

KE	Kistik Ekinokokkoz
KS	Kist Sıvısı
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
IHA	İndirekt Hemaglutinasyon Testi
WB	Western Blot
IgG	Immunoglobulin G
AE	Alvoelar Ekinokokkoz
AgB	Antijen B
Ag5	Antijen 5
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
WHO-IWGE	Dünya Sağlık Örgütü Ekinokokkoz Çalışma Grubu
mtDNA	Mitokondriyal Deoksiribo Nükleik Asit
HERACLES	The Human cystic Echinococcosis ReseArch in CentraL and Eastern Societies
USG	Ultrasonografi
BT	Bilgisayarlı Tomografi
MR	Manyetik Rezonans Görüntüleme
PAIR	Perkutan Aspirasyon, Enjeksiyon ve Reaspirasyon
ABZ	Albendazol
MBZ	Mebendazol

Giriş

KE, geçmişte bilinen adlarıyla ‘hidatik hastalık’ veya ‘hidatidoz’ Taeniidae ailesine ait *Echinococcus granulosus* sensu lato larvalarının neden olduğu, dünyanın birçok bölgesinde ciddi halk sağlığı problemlerine neden olan zoonotik bir hastalıktır (Carmena, Benito, & Eraso, 2006; Craig, Hegglin, Lightowers, Torgerson, & Wang, 2017; Eckert, Gemmell, Meslin, & Pawłowski, 2001; Kern vd., 2017; Thompson, 2017). Enfekte köpeklerin dışkıyla atılan yumurtaların fekal-oral yolla alınmasından sonra hidatik kist, başta karaciğer (%65-70), daha az sıklıkla akciğer (%20) olmak üzere tüm organ ve dokularda gelişebilmektedir (Rider, Larrieu, & Odriozola, 1999; Zhang, Wen, Li, Lin, & McManus, 2012). KE’nin klinik yönetimi; cerrahi, perkütan drenaj, benzimidazoller ile ilaç tedavisi ve izlem yaklaşımını kapsar. Yönetimin belirlenmesinde Dünya Sağlık Örgütü - Ekinokokkoz Çalışma Grubu’nun belirlediği ultrasonografik kist sınıflandırılması temel alınmaktadır (Brunetti, Kern, & Vuitton, 2010; McManus, Zhang, Li, & Bartley, 2003; WHO Informal Working Group, 2003).

KE genellikle enfeksiyonun erken dönemlerinde asemptomatik olduğu için başlangıç aşamasında tanı koymak zordur. Tanı görüntüleme yöntemleri ve immünolojik testlerin birlikte kullanılmasına dayanmaktadır (Tamarozzi vd., 2013). Hastalığın erken tanısında ve tedavi sonrası takibinde serolojik testler son derece önemlidir (McManus, Gray, Zhang, & Yang, 2012). İnsanlarda KE’nin tanısında kullanılan temel immünolojik tanı testleri İndirekt Hemaglutinasyon (IHA), Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) ve Western blot (WB)’dir. Bu testler genellikle kist sıvısı (KS) na karşı oluşmuş özgül Immünoglobulin G (IgG) veya tüm antikor izotiplerinin (IHA) aranması esasına dayanmaktadır (Brunetti vd., 2010). KE hastalarındaki kistin sayısı, büyüklüğü ve evreleri, tedavi ile ilişkili olarak serum toplanma zamanları gibi faktörler serolojik testlerin duyarlılığını etkilemektedir. Diğer taraftan başka paraziter veya paraziter olmayan hastalıkları olan bireyler hatta sağlıklı insanlar arasında çapraz reaksiyonlara neden olması ve kist sıvısına karşı oluşmuş antikorların tedaviden yıllar sonra, hastalar iyileşmiş olsa bile, varlığını sürdürebilmesi karşılaşılan diğer problemlerdendir. KS düşük özgüllük-duyarlılık değerleri, standardize edilememesi ve takip hastalarında kullanılamaması nedeniyle klinik izlemde yetersiz kalabilmektedir (Hernandez-Gonzalez vd., 2018). Kist sıvısından

izole edilen oldukça immunojenik olan Antijen B ve Antijen 5'in de içinde olduğu bazı rekombinant antijenlerin serolojik olarak KE'i diğerk patolojilerden ayırt etmekte ve tedavi edilen hastaların takibinde daha iyi sonuçlar verdiğı bildirilmiştir (Jiang, Zhang, Liu, & Feng, 2012; Manzano-Roman, Sanchez-Ovejero, Hernandez-Gonzalez, Casulli, & Siles-Lucas, 2015; Siles-Lucas, Casulli, Conraths, & Müller, 2017; Tamarozzi vd., 2013).

KE'nin güvenilir serolojik tanısı, özellikle hidatik kistin ayırıcı tanısının yapılamadığı durumlarda (basit kist, neoplazm gibi) ve/veya tedavi sonrası hastaların takibinde (postoperatif kavite veya nüksün ayrımının yapılamadığı durumlarda) görüntüleme tekniklerine yardımcı olabilir (Hernandez-Gonzalez vd., 2018). Bu nedenle çalışmamızda, daha önce tanımlanmış ve her biri oldukça yüksek duyarlılık ve özgüllük değerine sahip rekombinant proteinlerden oluşan *Echinococcus granulosus* rekombinant füzyon protein (Ag5+ AgB8/1+ AgB8/2)'in aktif ve inaktif/iyileşmiş hastaların tanı, prognoz ve takibindeki yararlılığının anlaşılması için tanı performansı değerlendirilmiştir.

Genel Bilgiler

1. Sınıflandırma

Phylum (Şube)	: Plathelminthes
Class (Sınıf)	: Cestoda
Subclass (Alt sınıf)	: Eucestoda
Order (Takım)	: Cyclophyllidea
Family (Aile)	: Taeniidae
Genus (Cins)	: <i>Echinococcus</i> (Rudolphi, 1801)
Species (Tür)	: <i>granulosus</i> sensu stricto (Batsh, 1786) <i>equinus</i> (Williams & Sweatman, 1963) <i>ortleppi</i> (Lopez-Neyra & Soler Planas, 1943) <i>canadensis</i> (Webster & Cameron, 1961) <i>intermedius</i> (Lopez-Neyra & Soler Planas, 1943) <i>felidis</i> (Ortlepp, 1937) <i>multilocularis</i> (Leuckart, 1863) <i>shiquicus</i> (Xiao et al., 2005) <i>vogeli</i> (Rausch & Bernstein, 1972) <i>oligarthra</i> (Deising, 1863)

E. granulosus sensu lato sınıflandırması üzerine yıllar önce başlatılan yoğun çalışmalar halen devam etmektedir. Yüksek genetik çeşitlilik sergileyen bu parazit kompleksinin, mitokondriyal DNA (mtDNA) temelinde sekiz farklı genotipe (G1, G3, G4–G8; ve G10) sahip olduğu bilinmektedir (Bowles, Blair, & McManus, 1994; Bowles, Blair, & McManus, 1992; Kinkar vd., 2017; Laurimäe vd., 2018; Lavikainen, Lehtinen, Meri, Hirvelä-Koski, & Meri, 2003). Mitokondriyal genotipi tanımlanan bu parazitler, konak özgüllüğü, morfolojisi, antijenitesi, gelişme oranı ve bulaşma döngüleri açısından önemli ölçüde değişkenlik göstermektedir (Romig, Deplazes, Jenkins, Giraudoux, & Massolo, 2017; Thompson, 2017; Thompson & McManus, 2002). Bu farklılıklar, bazı genotiplerin ayrı türler olarak dikkate alınmasına neden olmuştur. Devam eden taksonomik değişikliğin şu anki durumunda, önceden yapılan adlandırmasına göre *E. granulosus* sensu lato altı türe ayrılmıştır: G1–G3: *E. granulosus* sensu stricto (Kinkar vd., 2017; Romig, Ebi, & Wassermann, 2015), G4: *Echinococcus equinus* ve G5: *Echinococcus ortleppi* (Lymbery, 2017; Thompson & McManus, 2002), G6/G7: *Echinococcus intermedius* (Laurimäe vd., 2018; Thompson,

2017); G8/G10: *Echinococcus canadensis* (Laurimäe vd., 2018; Romig vd., 2017, 2015; Thompson, 2017) Aslan suşu: *Echinococcus felidis* (Romig vd., 2015).

2. Morfoloji

Echinococcus spp. sergilediği bazı özellikler nedeniyle Taeniidae ailesindeki diğer cinslerden ayrılır. Erişkin bir *Echinococcus*, diğer Taeniid sestodların aksine birkaç milimetre uzunluğundadır (nadiren 7 mm'den fazla) ve en fazla 6 halkaya sahiptir (Thompson & McManus, 2001).

Echinococcus granulosus erişkini baş (skoleks), boyun ve gövdeden (strobila) oluşur. Skoleks, dört adet kaslı çekmeni ve üzerinde iki sıra çengel bulunan rostellumu ile özelleşmiş tutunma organelidir. Boyun bölgesi, kopan halkaların yerine tomurcuklanma ile yeni halkaların oluştuğu bölgedir. Boynun hemen ardından başlayan gövde kısmı genellikle 3-4 halkadan oluşur (Eckert 1984; Merdivenci 1982; Thompson, 2017; Thompson & Mcmanus, 2001).

Yumurtalar oval ve 30-40 mikron çapındadır. İçlerinde 6 çengelli embriyo (onkosfer: birincil larval evre) bulunur. *Echinococcus granulosus* yumurtaları Taeniidae ailesinin yumurtalarından morfolojik olarak ayırt edilememektedir. (Morseth, 1965; Sakamoto, 1981; Thompson, 2017; Thompson & McManus, 2001)

Ara konaklardaki larval form olan metasesod (ikincil larval evre), içi “kaya suyu” olarak da adlandırılan kist sıvısıyla dolu uniloküler bir kesedir. Kist sıvısı doğal kaynak suyuna benzer özellikte berrak, renksiz, sterildir ve oldukça yoğun antijenik materyal içerir. (Kern, 2003) Kist dışta dayanıklı, elastik ve değişken kalınlıktaki laminar tabaka (ektokist) ile desteklenen iç germinal tabakadan (endokist) oluşur. Parazite ait bu tabakaların dışı, kiste yapışık olmayan, konağa ait, fibröz adventisiyel bir tabaka (perikist) ile çevrilidir. Çimlenme kapsüllerini (üreyici kapsüller/brood kapsül) oluşturan germinal tabakanın aseksüel tomurcuklanması endojen olarak gerçekleşir. Kist içinde protoskoleks ihtiva eden çok sayıda küçük üreyici kapsüller oluşur (Eckert & Deplazes, 2004; Kern, 2003; Thompson, 2017; Thompson & McManus, 2001).

3. Biyoloji

Echinococcus yaşam döngüsünde köpek ve diğer köpekgiller (tilki, kurt, çakal vb.) son konak, tırnaklı hayvanlar (koyun, keçi, domuz, at vb.) ara konaktır. Metasestod evresi keseli hayvanlar (marsupial), kemirgenler, tavşanlar, karnivorlar (etoburlar), insan olmayan primatlar ve insanlar gibi değişik türde konaklarda da gelişebilir. Bu konaklar döngünün tamamlanmasında rol oynayabileceği gibi (ara konak), parazit için “çıkılmaz sokak” olabilirler (rastlantısal konak). Genellikle insanlar rastlantısal konak olarak kabul edilir (Eckert, Gemmell, Meslin, & Pawłowski, 2001; McManus, Zhang, Li, & Bartley, 2003).

Uygun bir ara konak tarafından yutulan *E. granulosus* yumurtaları mide ve ince bağırsakta açılırlar (Holcman & Heath, 1997; Jabbar, Swiderski, Mlocicki, Beveridge, & Lightowers, 2010). Serbest kalan aktive onkosfer ritmik gövde ve çengel hareketleriyle ince bağırsak villuslarına tutunup 30-120 dakika içinde lamina propriaya ulaşır (Jabbar vd., 2010; Swiderski, 1983). Kan veya lenf damarlarına erişen onkosfer dolaşım yoluyla pasif olarak karaciğere taşınmaktadır. Onkosferlerin büyük bölümü karaciğere tutunurken bir kısmı da akciğerlere ulaşır. Çok azı ise genel kan dolaşımına girerek böbrek, dalak, kas, beyin gibi vücudun değişik organ ve dokularına yayılmaktadırlar (Eckert vd., 1984; Kern, 2003; McManus vd., 2003; Thompson & McManus, 2001). Onkosferin son lokalizasyonunu belirleyen faktörler tam olarak bilinmemekle birlikte ara konağın anatomik ve fizyolojik özellikleri ile parazitin türü ve suşunun etkili olabileceği bildirilmektedir (Thompson, 2017). Onkosfer son konumuna ulaştıktan sonra metasestod aşaması gelişir ve birkaç ay sonra aseksüel yolla her biri erişkin bir parazite dönüşebilecek olan protoskoleksler üretilmeye başlar (fertil kist). Protoskoleksler uygun bir kesin konak tarafından yutulduğunda, duodenumda evagine olarak Lieberkühn kriptlerine tutunurlar. Konağın duyarlılığı, tür ve suşlara bağlı olarak değişmekle birlikte enfeksiyondan yaklaşık dört ila altı hafta sonra cinsel olgunluğa erişirler ve enfektif yumurta atılımı başlar (Eckert vd., 2001; Thompson & McManus, 2001). *E. granulosus*'ta zincir köpek (veya diğer köpekgiller), tırnaklı hayvanlar (koyun, keçi, domuz, deve vb.) ve köpek şeklinde uzamaktadır.

4. Epidemiyoloji

Kozmopolitan yayılım gösteren *E. granulosus* enfeksiyonu (KE) dünyada bazı bölgelerde ciddi halk sağlığı sorunlarına yol açmaktadır (Budke, Deplazes, & Torgerson, 2006). Avrasya'nın bazı kısımları (örneğin, Akdeniz bölgesi, Rusya Federasyonu ile bitişik bazı bağımsız devletler ve Çin), Afrika (kuzey ve doğu bölgeleri), Avusturalya ve Güney Amerika'da parazit prevalansının yüksek olduğu düşünülmektedir (Eckert & Deplazes, 2004; Higuera, Brunetti, & McCloskey, 2016). Bunun yanında KE Antarktika'da bulunmazken, İzlanda, Yeni Zelanda, Tazmania, Falkland Adaları ve Güney Kıbrıs'ta kapsamlı kontrol programları ile elimine edilmiştir (Craig vd., 2007). Kuzey ve Orta Avrupa, Kuzey ve Orta Amerika, Pasifik Bölgesi ile Karayipler'deki ülkeler veya bölgelerde *E. granulosus* sporadiktir veya bu ülkeler tarafından rapor edilmemiştir (Eckert & Deplazes, 2004).

Yapılan çalışmalar ve yayınlanan vaka raporları ülkemizde bu hastalığın son derece önemli bir halk sağlığı sorunu olduğunu göstermektedir. Manisa'da 1205 ilkokul öğrencisine USG ile tarama yapılmış; beş öğrencide (%0.4) KE saptandığı rapor edilmiştir (Kilimcioğlu vd., 2006). Farklı hastanelerden, İl Sağlık Müdürlükleri'nden ve Sağlık Bakanlığı'ndan 2001-2005 yılları arasında elde edilen kayıtların retrospektif olarak incelenmesi sonucu ülke çapında KE insidansı 6.30/10.000 olarak bildirilmiştir (Yazar vd., 2008). The Human cystic Echinococcosis ReseArch in CentraL and Eastern Societies (HERACLES) projesi kapsamında 2014-2015 yıllarında abdominal KE'un prevalansını belirlemek amacıyla Balıkesir, Ankara, Aksaray, Şanlıurfa ve Bitlis'te kırsalda yaşayan 8618 kişiye USG ile tarama yapılmış ve %0.59 (53/8616) oranında pozitiflik saptandığı bildirilmiştir (Tamarozzi vd., 2018).

5. Bulaş

Enfekte köpekler tarafından atılan *E. granulosus* yumurtaları ile kontamine olan sebze, meyve ve suların ara konaklar tarafından tüketilmesiyle bulaş gerçekleşmektedir. Ayrıca enfekte köpek ve/veya köpeğin yumurta içeren dışkıyla veya yumurta ile kontamine toprak ve bitki ile temas sonrası ellerin ağıza götürülmesi sonucu da bulaş gerçekleşebilmektedir (Eckert & Deplazes, 2004).

6. Klinik

KE'nin klinik tablosu, söz konusu organ, kistin organ içindeki yerleşim yeri, çevre yapılarla ilişkisi, büyüklüğü ve duvarının bütünlüğü gibi çeşitli özelliklere bağlı olarak oldukça değişkenlik gösterebilmektedir. Ayrıca konağın yaşı, immun sisteminin durumu ve konağın diğer hastalıkları ile parazit genotipi gibi faktörlerin hastalığın seyrinin değişmesinde rolü olduğu düşünülmektedir (Eckert & Deplazes, 2004; Moro & Schantz, 2006; Sadjjadi vd., 2013). KE komplikasyonlar ortaya çıkıncaya kadar genellikle asemptomatik seyreder. Kistin rüptüre olması sonucunda oluşan enfeksiyonlar veya anaflaktik şok, komşu yapılarla fistül gelişmesi veya kistin komşu doku veya organlara baskı yapması sonucu semptomatik hale gelir (Ammann & Eckert, 1996). Birçok hastada (vakaların %40-80'i) yalnız bir organda lokalize olan tek kistik lezyon vardır. Vakaların %70'inde kistik lezyon karaciğerde özellikle sağ lobda yerleşim gösterir. Akciğer ise en fazla etkilenen ikinci organdır ve vakaların %20'sini oluşturur. Bunların dışında kist, karın ve göğüs boşluğu, böbrek, dalak, kemik, beyin, göz, yumurtalık ve testisler, pankreas gibi hemen hemen tüm organ ve dokularda lokalize olabilir (Ammann & Eckert, 1996; Eckert vd., 2001). Yerleştiği organ veya dokuya bağlı olarak semptomlar çeşitlilik gösterebilir.

7. Tanı

KE'nin kesin tanısı klinik bulgular, görüntüleme yöntemleri ve serolojik testlere dayanmaktadır (Brunetti, Kern, & Vuitton, 2010; Brunetti, Troia, Garlaschelli, Gulizia, & Filice, 2004).

7.1. Klinik Tanı

Birçok KE vakası yıllar boyunca asemptomatik olarak seyredip, patognomik bulgu göstermediği için hastalığın tanısı genellikle tesadüfen veya komplikasyonlar geliştiğinde yapılır (Siles-Lucas, Casulli, Conraths, & Müller, 2017).

7.2. Görüntüleme Yöntemleri

İnsanlarda KE'nin tanısı, USG, bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans görüntüleme (MR) ve konvansiyonel radyografi gibi fiziksel görüntüleme yöntemlerine dayanır (Kern vd., 2017; McManus vd., 2003). Bu teknikler

sınıflandırma, evreleme, olası komplikasyonların belirlenmesi ve tedaviye cevabın izlenmesi için kullanılmaktadır (Kern vd., 2017). Abdominal yerleşimli KE'nin tanısında temel yaklaşım USG ile değerlendirmedir (Macpherson & Milner, 2003). Diğer organlara yerleşen kistler, periferik yerleşimli akciğer kistleri de dahil olmak üzere USG ile görüntülenebilir (El Fortia, El Gatit, & Bendaoud, 2006). WHO-IWGE 1995 yılında mevcut sınıflandırmaları referanslar ile değerlendirerek standart bir sınıflandırma geliştirmiştir. Buna göre KE'nin kist evreleri üç grupta incelenir: gelişen ve genellikle fertil aktif kist (CE1, CE2); dejenere olan fakat canlı protoskoleks içeren ara kist (CE3) ve dejenere veya kalsifiye olmuş ve fertil olmayan inaktif kist (CE4, CE5) (WHO Informal Working Group, 2003). CE3 (ara) kistlerini içeren grup, perkutanöz uygulamalara ve/veya ilaç tedavisine verdikleri klinik cevaplardan yola çıkılarak CE3a (endokisti ayrılmıştır) ve CE3b (canlı protoskoleks içeren dejenere kist) şeklinde ayrılmıştır (Brunetti vd., 2010; Junghanss, Menezes da Silva, Horton, Chiodini, & Brunetti, 2008).

7.3.Serolojik tanı

Görüntüleme metotlarının yanında tamamlayıcı rol oynayan immunolojik tanı yöntemleri sadece primer tanı için değil aynı zamanda cerrahi veya tıbbi tedavi sonrası hastaların takibi için de yararlıdır (W. Zhang, Li, & McManus, 2003).

İnsan KE tanısı ve takibi için kullanılan temel serolojik yöntemler özgül IgG antikorlarının saptanmasına dayanmaktadır. Ticari veya ev yapımı olarak hazırlanan serolojik testlerde en yaygın kullanılan antijen, hidatik kist sıvısıdır. Bu antijen karışımı, ELISA, IHA, WB gibi çeşitli tekniklerde kullanılmaktadır. Ham kist sıvısının yanı sıra serolojik testlerde sıklıkla kullanılan ve KS'den elde edilen lipoproteinler olan AgB ve Ag5 de oldukça immunojeniktir ve yapılan çalışmalarla çok iyi karakterize edilmişlerdir (Carmena, Benito, & Eraso, 2006; Siles-Lucas vd., 2017).

Bunların yanı sıra protoskoleks veya erişkin parazitlerin somatik yapıları ile yine larva veya erişkine ait çıkartısal/salgısal ürünler de antijen kaynağı olarak kullanılmaktadır (Carmena vd., 2006). Fakat ham protoskoleks ve somatik antijenlerin KE'nin serolojik tanısında kullanılmasına yönelik yapılan çalışmalar oldukça düşük özgüllüğe sahip olduklarını göstermiştir (Rafiei & Craig, 2002).

Bu doğal antijenlere ek olarak prokaryotik sistemler ile üretilmiş *E. granulosus*'un rekombinant proteinleri ile doğal antijenlerin ikinci türevleri olan türe özgü korunmuş epitoplardan oluşan sentetik peptidler de son yıllarda önem kazanmıştır (Noya, Patarroyo, Guzman, & de Noya, 2003; Siles-Lucas vd., 2017).

KE tanısı için ELISA ve IHA genellikle ilk sıra testleri, WB ise doğrulayıcı test olarak kullanılmaktadır (Doiz vd., 2001; Lawn, Bligh, Craig, & Chiodini, 2004; Manzano-Roman, Sanchez-Ovejero, Hernandez-Gonzalez, Casulli, & Siles-Lucas, 2015; Rigano vd., 2002; Siles-Lucas vd., 2017; W. Zhang, Wen, Li, Lin, & McManus, 2012)

KE'nin tanısında kullanılan diğer bir yöntem vücut sıvılarında antijen aranması esasına dayanmaktadır. KE hastalarında başarılı bir tedaviden on yıl sonra bile özgül antikorlara rastlanabilmektedir (J. Li, Zhang, & McManus, 2004). Bu yöntem, özellikle takip hastalarında yerleşmiş ve aktif enfeksiyonun varlığını göstermesi nedeniyle alternatif tanı aracı olarak kullanılabilir (Craig & Nelson, 1984).

8. Tedavi

KE hastalarında tedavi yönteminin seçilmesinde WHO-IWGE sınıflandırmasından yararlanılmaktadır. Kistin evresine göre cerrahi, perkutanöz sterilizasyon, tıbbi tedavi veya izlem yaklaşımlarından biri ya da birkaçı uygulanabilmektedir (Brunetti, Garcia, & Junghanss, 2011; Brunetti vd., 2010; Brunetti & Junghanss, 2009; McManus, Gray, Zhang, & Yang, 2012).

Cerrahi yöntemler, büyük veya enfekte olan, kendiliğinden rüptür riski yüksek veya önemli organlarda bulunan kistlerin tedavisinde kullanılabilir (Brunetti vd., 2010; McManus vd., 2003). Buna karşın çeşitli organlarda birden fazla bulunan kistlerin tedavisi için pratik bir yöntem değildir. Kist rezeksiyonunu tam yapılamazsa veya küçük lezyonlar tespit edilemeden kalırsa, hastalık tekrarlayabilir (McManus vd., 2012).

Perkutan girişimler, minimal invaziv yaklaşım oldukları için cerrahi girişimlere oranla daha az mortalite ve morbidite riski taşırlar ve maliyetleri daha düşüktür (Smego,

Bhatti, Khaliq, & Beg, 2003). Bu teknikler perkutan aspirasyon, enjeksiyon ve reaspirasyon (Puncture, Aspiration, Injection, Re-Aspiration-PAIR) ve modifiye kateterizasyon yöntemlerini içerir. PAIR kistin germinal tabakasını tahrip ederken, modifiye kateterizasyon yöntemi kistin tamamen boşalmasını sağlar (Junghanss vd., 2008; McManus vd., 2003). PAIR kist içeriğinin USG eşliğinde perkutan iğne yardımıyla aspire edilmesi, kistin içine protoskoleksidal ajanlar (%20 sodyum klorid veya %95 ethanol) verilip, 15-20 dk beklendikten sonra tekrar aspire edilmesi esasına dayanır (Brunetti vd., 2011). Bu yöntemler genellikle opere edilemeyen veya cerrahi girişimi reddeden hastalarda, cerrahi veya perkutan tedavi sonrası nüks gelişen hastalarda, benzimidazol tedavisine cevap vermeyen hastalarda, CE1, CE2 ve CE3a evresindeki kistlerde, gebe hastalarda ve üç yaşından küçük çocuklarda uygulanmaktadır (Kabaalioglu, Ceken, Alimoglu, & Apaydin, 2006).

İlaç tedavisinde, benzimidazoller -albendazol (ABZ) ve mebendazol (MBZ)- genellikle komplike olmayan kistlerin tedavi edilmesinde en etkili ilaçlardır ve invaziv cerrahi yöntemlere alternatif olarak kabul edilir. Bu ilaçlar gebeliğin erken döneminde veya rüptür riski olan kistlere karşı kullanılmamalıdır (Brunetti vd., 2010; McManus vd., 2003).

İzlem yaklaşımı, komplike olmayan kist tiplerinin (CE4 ve CE5) tedavi edilmeden bırakılarak, görüntüleme yöntemleri (özellikle USG) ve serolojik testlerle izlemi yapılması esasına dayanır. Organ işlevini bozmayan veya rahatsızlığa neden olmayan kistlerin zamanla kalsifiye olması ve tamamen inaktif hale gelmesi takip edilir (McManus vd., 2012).

Gereç ve Yöntem

1. Çalışma ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi

Bu çalışmada kullanılan örnekler, Mart 2016 - Mart 2019 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarı'na KE veya diğer paraziter enfeksiyonların (alveoler ekinokokkoz (AE), fasiyolaz, toksokariyaz, toksoplazmoz, visseral leyişmanyaz, trişineloz) tanısı için gönderilmiş olan ve -20°C'de saklanan hasta serumlarını kapsamaktadır. KE hastalarının yaşı, cinsiyeti, kistin lokalizasyonu ve evresi, tedavi şekli gibi bilgiler elektronik demografik ve klinik kayıtlardan ve/veya yüz yüze görüşülerek toplanmıştır (Ek 1 ve 2). Çalışmamızda kullanılan toplam 442 serum örneği şu şekilde gruplandırılmıştır:

1.1.Çalışma grubu

182 KE hastasına ait toplam 252 serum örneğinden oluşmaktadır:

- Cerrahi olarak doğrulanmış 124 KE hastasına ait 169 serum örneği,
- Klinik, radyolojik ve/veya serolojik olarak doğrulanmış fakat cerrahi yöntemle tedavi edilmemiş 58 KE hastasına ait 83 serum örneği.

Bu KE hastalarından 135'inin tek serum örneği (Tablo 1) ve takipleri yapılan 47 kişinin serolojik olarak ardışık en az iki serum örneği olmak üzere toplam 117 serum örneği (Tablo 2) çalışmaya dahil edilmiştir.

Ayrıca antijenlerin tanı performanslarının belirlenmesi için tek veya birden fazla serum örneğiyle çalışmaya dahil edilen KE hastaları tedavi şekilleri ve durumları göz önüne alınarak 3 alt gruba ayrılmıştır. Buna göre;

- 1- Cerrahi ve/veya perkütan aspirasyon teknikleri kullanılarak tedavi edilen, takip süresi boyunca USG ve/veya BT/MR ile nükse dair bir bulgu göstermeyen hastalar "iyileşmiş"; nüks olduğu gösterilen hastalar ise "iyileşmemiş" olarak gruplandırılmıştır. Bu iki gruba da girmeyen ve bu girişimler sonrası durumları değerlendirilemeyen hastalar "bilinmeyen" başlığı altında toplanmıştır.

KE hastaları (n=117)	Yaş ort. (Hasta yaşı aralığı)	Kist lokalizasyonu ve evreleri ^a				Tedavi Şekli		
		Tek organ tutulumu			Çoklu organ tutulumu	Cerrahi yön. ve/veya PAIR	ABZ	Cerrahi/PAIR + ABZ
		Akciğer	Karaciğer	Diğer organlar				
İyileşen/ tedaviye iyi yanıt veren KE hastaları (n=47)	43,08 (5-73)	(n=4) CE1 (1) Bilinmeyen (3)*	(n=30) CE1 (3) CE2 (1) CE3b (1) CE3a (2) CE4 (10) CE5 (3) Bilinmeyen (10)*	(n=3)	(n=10) CE3a (1) CE4 (3) CE5 (2) Bilinmeyen(4)*	10	12	25
İyileşemeyen/ tedaviye zayıf yanıt veren KE hastaları (n=39)	46,43 (8-77)	(n=0)	(n=26) CE1 (3) CE2 (4) CE3b (2) CE3a (2) CE4 (4) CE5 (3) Bilinmeyen (8)*	(n=1)	(n=12) CE2 (1) CE3b (1) CE3a (1) CE4 (3) CE5 (1) Bilinmeyen (5)*	9	2	28
Tedaviye cevabı bilinmeyen KE hastaları (n=21)	31 (5-66)	(n=4)	(n=14) CE1 (3) CE3a (1) CE4 (1) CE5 (1) Bilinmeyen (8)*	(n=1)	(n=2) CE1 (1) Bilinmeyen (1)*	5	4	12
İzlem yaklaşımı (n=10)	50,8 (32-83)	(n=0)	(n=7) CE3b (1) CE4 (4) CE5 (1) Bilinmeyen (1)*	(n=1)	(n=2) CE3a (1) CE4 (1)			

Tablo 1: Çalışmamızda tek serum örneği kullanılan ve tedaviye cevaba göre dört gruba ayrılan 117 KE hastasının klinik özellikleri.
(Herhangi bir tedavi uygulanmamış veya tedavi prosedürü bilinmeyen 18 KE hastası dahil edilmemiştir)

^a DSÖ'nün bildirdiği şekilde (WHO Informal Working Group, 2003) yapılan sonografik sınıflandırmaya göre kist evreleri (CE1-CE5).

* Kist evresi sınıflandırılmamış veya bilinmeyen hasta sayısı.

Takip hastaları (n=47)	Yaş ort. (Hasta yaş aralığı)	Kist lokalizasyonu ve evreleri ^a				Tedavi Şekli		
		Tek organ tutulumu			Çoklu organ tutulumu	Cerrahi ve/veya PAIR	ABZ	Cerrahi/PAIR + ABZ
		Akciğer	Karaciğer	Diğer organlar				
İyileşen/ tedaviye iyi yanıt veren KE hastaları (n=25)	32,12 (7-68)	(n=4)	(n=10) CE2 (2) CE3b (1) CE4 (2) CE5 (1) Bilinmeyen (4)*	(n=1)	(n=10) CE1 (2) CE2 (4) Bilinmeyen (4)*	7	4	14
İyileşemeyen/ tedaviye zayıf yanıt veren KE hastaları (n=9)	41,7 (9-68)	(n=1)	(n=2) CE2 (1) Bilinmeyen (1)*	(n=0)	(n=6) CE1 (4) CE2 (2)	3	2	4
Tedaviye cevabı bilinmeyen KE hastaları (n=10)	32,3 (13-64)	(n=1)	(n=6) CE3b (1) Bilinmeyen (5)*	(n=1)	(n=2) CE1 (2)	4	3	3
İzlem yaklaşımı (n=3)	56,33 (38-77)	(n=0)	(n=3) CE4 (3)	(n=0)	(n=0)			

Tablo2: Çalışmamızda ikiden fazla serum örneği kullanılan ve tedaviye cevaba göre dört gruba ayrılan 47 KE takip hastasının klinik özellikleri.

^a DSÖ'nün bildirdiği şekilde (WHO Informal Working Group, 2003) yapılan sonografik sınıflandırmaya göre kist evreleri (CE1-CE5).

* Kist evresi sınıflandırılmamış veya bilinmeyen hasta sayısı.

2- Albendazol ile tedavi edilmiş hastalar da yukarıda belirttiği şekilde takip edilmiş ve üç alt gruba ayrılmıştır. İlaç tedavisi sonrasında kistin aktif (CE1, CE2 ve CE3b) veya ara (CE3a) evrelerinden inaktif (CE4, CE5) evresine dönüşen hastalar “tedaviye iyi yanıt veren”; ilaca zayıf reaksiyon gösteren yani kist evreleri değişimi izlenemeyen hastalar “tedaviye zayıf yanıt veren” ve ilaca yeni başlamış, sonuçları henüz gözlemlenemeyen hastalar “bilinmeyen” olarak gruplandırılmıştır.

3- Hiçbir tedavi almayan, komplike olmayan CE4 veya CE5 kist evresine sahip ve sadece izlem yaklaşımı uygulanan hastalar bu grupta değerlendirilmiştir.

Ayrıca tek serum örneği olan, herhangi bir tedavi uygulanmamış veya tedavi prosedürü bilinmeyen 18 KE hastası bu üç gruba da dahil edilmemiş ve Tablo 1’de yer almamıştır.

1.2. Kontrol grubu

Serolojik testlerin özgüllük ve duyarlılıklarının belirlenmesi için aşağıdaki kriterlere göre seçilmiş toplam 190 serum örneğinden oluşmaktadır:

1.2.1 Çapraz kontrol grubu ($n=160$)

- Diğer parazit enfeksiyonlar açısından klinik, serolojik veya parazitolojik olarak pozitif tanı alan hastaların 104 serum örneği (23 AE, 22 fasiyolaz, 29 toksokariyaz, 9 toksoplazmoz, 8 visseral leyişmanyaz, 13 trişineloz),
- Ürtiker, sırt ağrısı, öksürük gibi genel klinik şikayetleri ile başvuran, diğer parazit enfeksiyonları olmayan ve ayırıcı tanıda KE düşünülmesine rağmen bu hastalığı destekleyen radyolojik bulguları bulunmayan 56 hastanın serum örneğini kapsamaktadır.

1.2.2. Sağlıklı kontrol grubu ($n=30$) daha önce gönüllü olarak laboratuvarımıza kan vermiş sağlıklı bireylere ait toplam 30 serum örneğinden oluşmaktadır.

2. Çalışmada Kullanılan Yöntemler

Araştırmamızda belirlenen serum örneklerine KS ve yurtdışından temin edilen rekombinant antijen ile laboratuvarımızda hazırladığımız ELISA yöntemi uygulanmıştır.

2.1. Antijenler

2.1.1. Kist sıvısı:

Kist sıvısı, kesim sırasında koyunların karaciğerinde tespit edilen fertil kistlerden laboratuvar ortamında, aseptik koşullarda aspire edilmiştir. Kist sıvısı 15 dakika boyunca 1000 g'de santrifüj edildikten sonra süpernatant ayrılmış ve kullanılıncaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

2.1.2. Rekombinant antijen:

Bu çalışmada yeni tanımlanmış rekombinant füzyon protein (Ag5+AgB8/1+AgB8/2) kullanılmıştır. Proteinin yapı modellenmesi, klonlanması, ekspresyonu ve pürifikasyonu Advanced BioDesign (Saint Priest - France) tarafından yapılmıştır.

Çalışmamızda ilk kez kullanılmış olan rekombinant füzyon protein, AgB'nin 8 kDa büyüklüğündeki alt ünitelerinden Frosch ve arkadaşları (1994) tarafından tanımlanan AgB8/1 ve Fernandez ve arkadaşları (1996) tarafından tanımlanan AgB8/2 rekombinant antijenleri ile Lorenza ve arkadaşları (2005) tarafından tanımlanan rAg5'in (22-484 aminoasitler, başlangıç peptidini içermez) birleştirilmesiyle oluşturulmuştur (Fernandez, Ferreira, Fernandez, Zaha, & Nieto, 1996; Frosch, Hartmann, Mühlischlegel, & Frosch, 1994; Lorenzo, Last, & Gonzalez-Sapienza, 2005). Kullanılan primer çiftlerinin nükleotit dizileri ve referans alınan GenBank erişim numaraları Tablo 3, 4 ve 5'de gösterilmiştir. Füzyon proteini oluşturacak sekansları birbirine eklemek için EAAAK sekansına sahip α -heliks form oluşturan bağlayıcılar kullanılmıştır.

Tablo 3: AgB8/1 gen sekansında kullanılan primer çiftleri ve GenBank erişim numaraları.

AgB8/1	
GenBank erişim no.	AF143813
Forward (F)	5'-GCGGATCCGTGGTGGTTACTCAGGCT-3'
Reverse (R)	5'-GCGAATTCGAGCAAAATCTATGACTA-3'

Tablo 4: AgB8/2 gen sekansında kullanılan primer çiftleri ve GenBank erişim numaraları.

AgB8/2	
GenBank erişim no.	U15001
Forward (F)	5'-ATTTGTGGAGACAATCGC-3'
Reverse (R)	5'-AGGCAAATCATGTGTCCC-3'

Tablo 5: Ag5 gen sekansında kullanılan primer çiftleri ve GenBank erişim numaraları.

Ag5	
GenBank erişim no.	JF970202.1
Forward (F)	5'-GGATCCGAATTCTTGGAGCTCACTCTCGATCCAG-3'
Reverse (R)	5'-CCAAGCTTCATTAGACTGCGTAGCGGTTGATCC-3'

2.2. Serolojik Yöntemler

Laboratuvarımızda hazırladığımız ELISA Lorenzo ve ark (2005)'e göre modifiye edilerek uygulanmıştır (Lorenzo et al., 2005).

2.2.1. Tamponlar ve solüsyonlar

Antijenler

Kist sıvısı: Koyun fertil karaciğerinden alınan kist sıvısı, hazırlık aşamasından sonra, negatif kontrol serum ve seyreltme oranı bilinen pozitif kontrol serum örnekleri kullanılarak ELISA ile test edilmiştir. Seri seyreltmelerle denenen antijenin optimum performans veren seyreltmesi (7 µl/ml) belirlenmiştir.

Rekombinant antijen (Ag5+AgB8/1+AgB8/2) : 1 mg/ml konsantrasyonundaki *Echinococcus granulosus* füzyon protein.

▪ *Fosfat tampon (Phosphate Buffer Saline, PBS)*

Malzemeleri:

1. Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) (Sigma Aldrich, Kat. no: 7778-77-0)
2. Disodyum fosfat (Na_2HPO_4) (Mallinckrodt Baker, Holland Kat. No: A2943-1000)
3. Potasyum klorür (KCl) (Merck, Kat. no:1.04936.1000)
4. Sodyum klorür (NaCl) (Appli Chem GmbH, Germany, Kat. No: A0830-1000)
5. Distile su (dH_2O)

PBS Stok (20X) hazırlanması:

0.4 Molar (M) KH_2PO_4

0.4 M Na_2HPO_4 hazırlanmıştır.

- 750 ml 0.4 M Na_2HPO_4 solüsyonu 300 ml 0.4 M KH_2PO_4 solüsyonu ile karıştırılmıştır. Toplam hacim 1 litre olacak şekilde şişedeki karışımın 50 ml'si

atılmıştır 360 gr NaCl ve 4 gr KCl tartılıp hazırlanan solüsyona eklenmiştir. Daha sonra dH₂O ile toplam hacim 2 litreye tamamlanmıştır (pH 7.2).

- 100 ml'lik şişelere bölünüp, otoklavlanan solüsyon +4°C'de saklanmıştır.

PBS (1X) hazırlanması:

- 100 ml PBS Stok (x20) 1900 ml dH₂O ile karıştırılmıştır.

▪ *Bloklama, serum ve konjuge sulandırma solüsyonu*

Malzemeleri

- 1- Yağsız Süt Tozu (Chemcruz, Kat. No: A0830-1000)
- 2- dH₂O

Solüsyonun hazırlanması

- 500 mg yağsız süt tozu tartılıp, PBS 1X ile 100 ml'e tamamlanmıştır.
- %0.5 lik süt tozu-PBS solüsyonu kullanmadan hemen önce taze hazırlanmıştır.

▪ *Konjuge*

- İnsan IgG'nin dört alt tipini de tanıyabilen Horse Radish Peroxidase (HRP) işaretli rekombinant protein G kullanılmıştır (Invitrogen HRP – REC – Protein G) (Sigma Aldrich, Katalog no :A-3187)
- Konjuge, kullanılmadan hemen önce 3/11000 oranında konjuge sulandırma solüsyonu kullanılarak seyreltilmiştir.

▪ *Substrat:* Tetrametil-benzidin

Substrat, Ülker (2005)'in bildirdiği şekliyle aşağıdaki gibi hazırlanmıştır.

Tetramethyl-benzidin (TMB) Stok

120 mg 3,3',5,5'-Tetrametil-benzidin

2 ml N,N- Dimetilasetamid ile çözülür

- 4 M HCl 1ml eklendikten sonra distile su ile 50 ml'ye tamamlanıp, +4 °C derecede saklanır.

TMB Tampon

20 gr potasyum sitrat manohidrat

17.5 ml N,N- Dimetilasetamid

- 300 ml distile su ve 300 µl H₂O₂ eklenip, son hacim distile su ile 500 ml ye tamamlanmıştır.
- Çalışma substrat solüsyonu için stok TMB, TMB tampon ile 10 kat sulandırılmıştır.
- ***Durdurma solüsyonu (seyreltilmiş sülfirik asit)***

Malzemeler

1. % 95-98 sülfirik asit (H₂SO₄) (Merck, Katalog no:1 00713.2500)
2. dH₂O

Solüsyonun hazırlanması

1 lt'lik steril cam şişe içine konulan 680 ml dH₂O üzerine yavaşça 40 ml % 95-98 H₂SO₄ eklenmiş ve karıştırılarak homojenize edilmiştir. Solüsyon oda ısısında saklanmıştır.

2.2.2. Yöntemin uygulanması

- ***Plakların antijenle kaplanması***

1. ***Kist sıvısı:*** 7 µl/ml olacak şekilde PBS solüsyonu ile sulandırılmış ve düşük bağlama kapasitesine sahip 96 çukurlu ELISA plağına (Greiner Bio-One™), her çukura 100 µl olacak şekilde aktarılmıştır.

2. ***Rekombinant antijen:*** 1.5 µg/ml olacak şekilde PBS ile sulandırılmış ve yüksek bağlama kapasitesine sahip 96 çukurlu ELISA plağına (Nunc MaxiSorp™), her çukura 100 µl olacak şekilde aktarılmıştır.

- Plaklar +4°C’de bir gece bekletilmiştir.

▪ **Serum sulandırımı:**

- Hazırladığımız ELISA yöntemlerinde serum örnekleri %0.5’lik süt tozu-PBS ile 1/100 oranında sulandırılmıştır.
- Her serum örneği için çift çukur çalışılmış ve her ELISA plağında KE açısından iki pozitif, bir eşik ve bir negatif kontrol serumları kullanılmıştır.

▪ **Bloklama**

- Bir gece +4°C’de bekletilen plaklar yatay çalkalayıcıda oda ısısına getirildikten sonra çukurlardaki antijen solüsyonu dökülmüş ve her çukura 100 µl olacak şekilde bloklama solüsyonu aktarılmıştır. Plaklar yatay çalkalayıcı üzerinde, oda ısısında 15 dakika inkübe edilmiştir.

▪ **Serumların ELISA plaklarına aktarılması**

- Süre sonunda bloklama solüsyonu dökülmüş, sulandırılmış hasta ve kontrol serum örnekleri her çukura 100 µl olacak şekilde çift çukura aktarılmıştır (Tablo 6). Plaklar yatay çalkalayıcı üzerinde, oda ısısında 15 dakika inkübe edilmiştir.

Tablo 6: Sulandırılan serum örneklerinin plaklara aktarılması

HASTA 1	HASTA 1	HASTA 9	HASTA 9	HASTA 17	HASTA 17	HASTA 25	HASTA 25	HASTA 33	HASTA 33	HASTA 41	HASTA 41
HASTA 2	HASTA 2	HASTA 10	HASTA 10	HASTA 18	HASTA 18	HASTA 26	HASTA 26	HASTA 34	HASTA 34	HASTA 42	HASTA 42
HASTA 3	HASTA 3	HASTA 11	HASTA 11	HASTA 19	HASTA 19	HASTA 27	HASTA 27	HASTA 35	HASTA 35	HASTA 43	HASTA 43
HASTA 4	HASTA 4	HASTA 12	HASTA 12	HASTA 20	HASTA 20	HASTA 28	HASTA 28	HASTA 36	HASTA 36	HASTA 44	HASTA 44
HASTA 5	HASTA 5	HASTA 13	HASTA 13	HASTA 21	HASTA 21	HASTA 29	HASTA 29	HASTA 37	HASTA 37	NEG	NEG
HASTA 6	HASTA 6	HASTA 14	HASTA 14	HASTA 22	HASTA 22	HASTA 30	HASTA 30	HASTA 38	HASTA 38	EŞİK	EŞİK
HASTA 7	HASTA 7	HASTA 15	HASTA 15	HASTA 23	HASTA 23	HASTA 31	HASTA 31	HASTA 39	HASTA 39	POZİTİF	POZİTİF
HASTA 8	HASTA 8	HASTA 16	HASTA 16	HASTA 24	HASTA 24	HASTA 32	HASTA 32	HASTA 40	HASTA 40	POZİTİF	POZİTİF

▪ **Konjuge (İkincil Antikor)**

- Plaklar dökülüp 3 kez PBS ile ELISA cihazında yıkanmıştır.
- Daha sonra tüm çukurlara 100 µl olacak şekilde 3/11.000 oranında sulandırılmış REC-Protein G peroksidaz konjuge aktarılmıştır.
- Plaklar yatay çalkalayıcı üzerinde, oda ısısında 15 dakika inkübe edilmiştir.

▪ ***Substrat***

- Plaklar dökülüp 3 kez PBS ile ELISA cihazında yıkanmıştır.
- Bir plak için 11 ml TMB solüsyonu hazırlanmıştır (1 ml TMB stok + 10 ml TMB tampon).
- Bütün çukurlara 100 µl olacak şekilde aktarılmıştır.
- Plaklar, kromojenik reaksiyon gerçekleşmesi için oda ısısında karanlık ortamda 15 dakika inkübe edilmiştir.

▪ ***Durdurma***

- Önceden hazırlanmış olan durdurma solüsyonu bütün çukurlara 75'er µl aktarılmıştır.

▪ ***Okuma***

- Kromojenik değişiklik BioTek ELx808 marka spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okunmuştur. Ardından sayısal değerler hasta listesine geçirilerek hastalar değerlendirilmiştir.

▪ ***Değerlendirme Aşaması***

- Negatif serumların optik dansite (OD) ortalamasının üç standart sapma (3SD) fazlası eşik değer (cut-off) olarak belirlenmiştir. Serumların OD değerlerinin eşik değere bölünmesiyle serumların pozitiflik oranları 1/80, 1/160, 1/320 ...1/10000 seyreltme şeklinde ikişer kat artırılarak belirlenmiştir.

3. Veri Değerlendirme ve İstatistiksel Analiz

- ELISA testinde KE hastalarına ait pozitif sonuç veren serumlar “gerçek pozitif”, negatif sonuç verenler “yalancı negatif” olarak gruplandırılmıştır. Ayrıca sağlıklı ve çapraz kontrol grubunda yer alan hastaların serumlarından pozitif sonuç verenler “yalancı pozitif”, negatif sonuç verenler ise “gerçek negatif” olarak değerlendirilmiştir.
- İlgili tanı parametrelerini hesaplamak için aşağıdaki formüller kullanılmıştır.

$$\begin{aligned}\text{Duyarlılık} &= \frac{\text{Gerçek Pozitif}}{\text{Gerçek Pozitif} + \text{Yalancı Negatif}} \\ \text{Özgüllük} &= \frac{\text{Gerçek Negatif}}{\text{Gerçek Negatif} + \text{Yalancı Pozitif}} \\ \text{Doğruluk} &= \frac{\text{Gerçek Pozitif} + \text{Gerçek Negatif}}{\text{Gerçek Pozitif} + \text{Gerçek Negatif} + \text{Yalancı Pozitif} + \text{Yalancı Negatif}}\end{aligned}$$

- Duyarlılık, özgüllük ve doğruluk için hesaplanan güven aralıkları “tam olarak” Clopper-Pearson güven aralıklarıdır (Blyth & Still, 1983).
- KS ve rekombinant füzyon proteinin çalışma özellikleri bu hesaplamaların dışında ROC (Receiver Operating Characteristic) eğrisi kullanılarak da değerlendirilmiştir.
- Her iki antijen ile her bir hasta grubu arasında her bir takip periyodunda seropozitifliğin karşılaştırılması için Pearson Ki-Kare testi kullanılmıştır. Tüm istatistiksel analizler SPSS Statistics V25 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapılmıştır. P değeri ≤ 0.05 anlamlı kabul edilmiştir.

4. Etik Kurul

“Kistik Ekinokokkoz Tanısında Doğal Ve Rekombinant Antijenlerin Karşılaştırılması” adlı tez çalışmamın tüm aşamaları Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarı’nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada yer alan serum örneklerinin kullanımı için Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’ndan (Karar No:15-1/49) ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu’ndan (Karar No: 19-5.2T/71) onay alınmıştır (Ek 3).

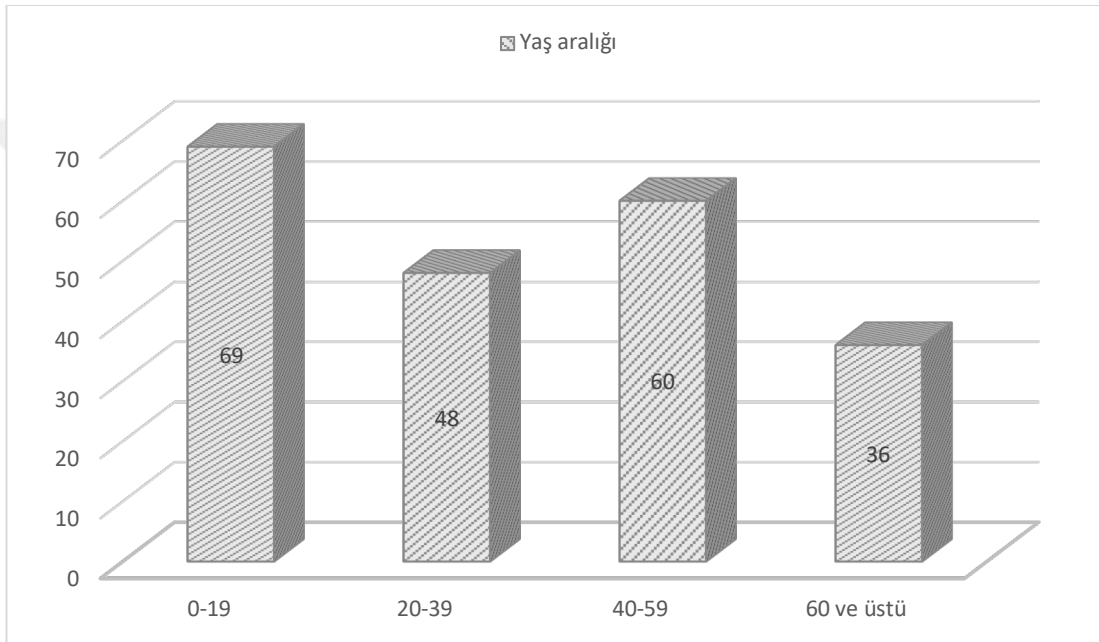


Bulgular

1. Kistik Ekinokokkoz hastalarının demografik ve klinik özellikleri

Çalışmaya alınan KE hastalarının 112'si kadın (% 61.5), 70'i erkek (% 38.5) olup, ortalama yaşları 40.39 ± 19.48 (yaş aralığı = 5-83) olarak saptanmıştır. KE hastaları 0-19 yaş aralığında en fazla olmak üzere yaş gruplarına göre dengeli dağılım gösterdiği belirlenmiştir (Grafik 1).

Grafik 1: Çalışma grubundaki KE hastalarının yaş gruplarına göre dağılımı.



KE hastalarına ait demografik ve klinik bilgiler Tablo 7'de gösterilmiştir.

Çalışmamızda serum örneklerini kullandığımız toplam 182 kistik ekinokokkoz hastasından 136'sında tek organ tutulumu; karaciğer (111), akciğer (14), beyin-omurilik (2), kemik (4), meme (2), dalak (1), adneksiyal alan (1), karın boşluğu (1) ve 46 hastada çoklu organ tutulumu olduğu belirlenmiştir (Tablo 7).

Tablo 7: KE hastalarının demografik ve klinik özellikleri.

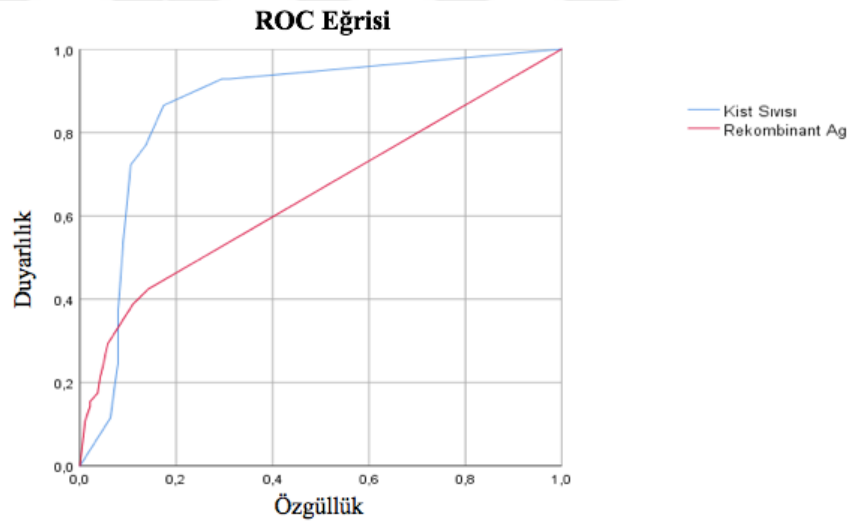
Özellikler	Sayılar (oran)
Cinsiyet	
Kadın	112 (%61.5)
Erkek	70 (%38.5)
Kist yerleşimi	
Karaciğer	111 (%61)
Diğer	71 (%39)
Kist evresi	
CE1	23 (%12.6)
CE2	18 (%10)
CE3a	10 (%5.5)
CE3b	7 (%3.9)
CE4	30 (%16.5)
CE5	12 (%6.5)
Bilinmeyen	82 (%45)

Dünya Sağlık Örgütü'nün bildirdiği şekilde (WHO Informal Working Group, 2003) yapılan sonografik sınıflandırmaya göre kist evreleri gruplandırılmıştır. Buna göre KE hastalarının %26.5'inin aktif (CE1: %12.6, CE2: %10, CE3b %3.9), %5.5'i ara (CE3a) ve %23.0'ünün inaktif (CE4: %16.5, CE5: %6.5) kist evresine sahip olduğu görülmüştür. Hastaların %45'inin ultrasonografi takibinin dış merkezde yapılması, karaciğer dışı yerleşim gösteren kist varlığı veya hastanın yeterli bilgisi olmaması gibi nedenlere bağlı olarak kist evresi belirlenememiştir (Tablo 7).

2. Total IgG ELISA Sonuçları

Kist sıvısı ve rekombinant antijen; KE hastaları, sağlıklı bireyler (sağlıklı kontrol), diğer paraziter enfeksiyonlara sahip veya paraziter olmayan başka bir hastalık tanısı almış bireylere (çapraz kontrol) ait serum örnekleri kullanılarak IgG ELISA ile test edilmiştir. Negatif ve pozitif reaksiyonların ayrımının daha efektif yapılmasını sağlayan eşik değerin belirlenmesi için serum seyreltme değerlerinin ROC analizleri yapılmıştır. Eşik değer olarak belirlenen 1/120 seyreltmenin üstünde olan serumlar (1/160 ve üzeri) pozitif olarak kabul edilerek sonuçlar değerlendirilmiştir (Şekil 1-Tablo 8).

Şekil 1: Kist sıvısı ve rekombinant antijen için eşik değer ile ROC eğrisi altında kalan alan (area under the curve-AUC) hesaplanmasında kullanılan ROC eğrisi.



Tablo 8: ELISA ile test edilen kist sıvısı ve rekombinant antijenin ROC analiz parametreleri.

Antijen	AUC $\pm$ SD	CI (%95)	Eşik değer	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
KS	0,863 $\pm$ 0,020	0,823-0,903	120,00	86.5	82.6
Rekombinant antijen	0,651 $\pm$ 0,026	0,601-0,702	120,00	29.3	94.2

AUC: ROC eğrisi altında kalan alan (area under the curve); SD: Standart sapma (standart deviation); CI: Güven aralığı (confidence interval)

2.1.Tanı duyarlılığı, özgüllüğü ve çapraz reaksiyonlar

Her bir antijen için ELISA'nın duyarlılık, özgüllük ve doğruluk değerleri Tablo 9'da; sağlıklı ve çapraz kontrol serumlarının özgül IgG ELISA sonuçları Tablo 10'da gösterilmiştir. Duyarlılık hesaplanırken serum örnekleri tedavi öncesi-sonrası olarak ayrılmamış, antijenlerin genel performansı değerlendirilmiştir. Buna göre kist sıvısının duyarlılığı %86.51, özgüllüğü %82.63 iken rekombinant antijenin duyarlılığı %29.37, özgüllüğü %94.21 olarak saptanmıştır. Test doğruluğu kist sıvısı için %84.84, rekombinant antijen için ise %57.24 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 9: Kistik ekinokokkoz ELISA testi duyarlılık, özgüllük ve doğruluk değerleri.

		Kist Sıvısı	Rekombinant Antijen
Duyarlılık	n/N	218/252	74/252
	%	86.51	29.37
	%95 CI	81.66 - 90.4	23.82 - 35.41
Özgüllük	n/N	157/190	178/190
	%	82.63	94.21
	%95 CI	76.48- 87.73	89.88 - 97.07
Doğruluk	%	84.84	57.24
	%95 CI	81.15 - 88.06	52.48 - 61.90

N: toplam serum sayısı. n: seropozitif serum sayısı.

Tablo 10: Kontrol (sağlıklı ve çapraz) serumlarının anti-*Echinococcus granulosus* IgG ELISA sonuçları.

Grup (test edilen serum sayısı)	Pozitif reaksiyon sayısı	
	Kist Sıvısı	Rekombinant Ag
Sağlıklı kontrol (30)	0	0
Alveoler ekinokokkoz (23)	17	7
Fasiyolaz (22)	1	0
Toksokariyaz (29)	1	0
Toksoplazmoz (9)	2	0
Visseral leishmaniyaz (8)	1	2
Trişineloz (13)	0	0
Paraziter olmayan hastalıklar (56)	11	2

Ayrıca rekombinant antijenin bileşenlerinden Ag5 ve AgB alttip proteinlerinin, *E. granulosus* ve *E. multilocularis* türlerinde yüksek oranda benzeşim göstermesi nedeniyle KE hasta serumlarının yanı sıra AE hasta serumları da pozitif kontrol kabul edilerek duyarlılık ve özgüllük hesaplanmıştır (*Echinococcus* cins spesifik IgG ELISA) Buna göre kist sıvısının duyarlılığı %85.45, özgüllüğü %90.42 iken rekombinant antijenin duyarlılığı %29.35, özgüllüğü %97.59 olarak saptanmıştır. Test doğruluğu kist sıvısı için %87.33, rekombinant antijen için ise %54.98 olarak hesaplanmıştır (Tablo 11).

Tablo 11: Ekinokokkoz (KE+AE) ELISA testi duyarlılık ve özgüllük değerleri.

		Kist Sıvısı	Rekombinant Antijen
Duyarlılık	n/N	235/275	81/275
	%	85.45	29.35
	%95 CI	80.72-89.40	24.04-35.10
Özgüllük	n/N	16/167	4/167
	%	90.42	97.59
	%95 CI	84.91-94.42	93.95-99.34
Doğruluk	%	87.33	54.98
	%95 CI	83.86 – 90.29	50.21 – 59.68

N: toplam serum sayısı. n: seropozitif serum sayısı.

2.2.ELISA sonuçlarını etkileyen değişkenler

Kist evresi ve kistin yerleşim yeri gibi klinik değişkenler ve bu değişkenlerin ELISA'nın pozitiflik oranı üzerine etkileri Tablo 12'de gösterilmiştir.

Kist evrelerine göre antijenlerin performansı değerlendirildiğinde, KS ELISA'da anlamlı fark saptanmıştır ($p=0,015$). Kist sıvısı (% 63.6-97.4) ile yapılan ELISA testi rekombinant antijenle (% 23.3-45.5) yapılanlara göre oldukça yüksek seropozitiflik oranına sahip olduğu görülmüştür. Kist sıvısı ELISA için, CE3b hariç, aktif kist evresine sahip hastalar (CE1: %97,4, CE2: %96.7); rekombinant antijen ELISA için ise, CE1 (%44,7), CE3a (%45.5) ve CE5 (%38.5) kist evresine sahip hastalar en yüksek pozitiflik oranını göstermiştir . Buna karşın kist sıvısı ELISA ve rekombinant

antijen ELISA testlerinde sırasıyla CE3b (%63.6) ve CE2 (%23.3) evresine sahip hasta serumları düşük oranlarda seropozitiflik göstermiştir.

Tablo 12: Kist evresi ve kist yerleşimine göre ELISA testlerinin pozitiflik oranları.

	Kist Sıvısı n (%)	Rekombinant Antijen n (%)
Kist evresi	p= 0,015	p= 0,085
CE1 (N= 38)	37 (97,4)	17 (44,7)
CE2 (N= 30)	29 (96,7)	7 (23.3)
CE3a (N= 11)	8 (72.7)	5 (45.5)
CE3b (N= 11)	7 (63.6)	4 (36.4)
CE4 (N= 34)	27 (79.4)	9 (26.5)
CE5 (N=13)	10 (79.4)	5 (38.5)
Bilinmeyen (N=115)	100 (87,0)	27 (23.5)
Kist yerleşimi	p= 0,159	p= 0,030
Karaciğer (N= 207)	177 (85,5)	66 (31.9)
Diğer (N= 45)	41 (91.1)	8 (17.8)

N: toplam serum sayısı. n: seropozitif serum sayısı

Kist sıvısı ile yapılan ELISA testinde kist evreleri arasında anlamlı fark saptanmıştır (p= 0,015). Rekombinant antijenle yapılan ELISA testinde ise kist yerleşimleri arasında anlamlı fark bulunmuştur (p= 0,030).

Organ yerleşimine göre hasta serumları karaciğer ve diğer olarak ayrılmıştır. Kistin yerleşim yerlerinden biri karaciğer olan çoklu organ tutulumlu hastalar da karaciğer olarak gruplanmıştır. Diğer yerleşim ise, karaciğer dışındaki tek veya çoklu organ tutulumlu hastaları kapsamaktadır. Bu klinik değişkenlere göre antijenlerin ELISA performansı değerlendirilmiştir. Rekombinant antijen ELISA testinde organ yerleşimlerine göre anlamlı fark saptanmıştır (p= 0,030). Kist sıvısı ELISA'nın, karaciğerde %85,5 ve diğer organlarda %91.1 duyarlılığa sahip olduğu görülmüştür. Buna karşın rekombinant antijen ELISA testinde karaciğer tutulumunda (tek veya çoklu) diğer organ tutulumuna göre seropozitiflik oranı daha yüksek saptanmıştır. Rekombinant antijen ELISA için kistin karaciğer ve diğer organ yerleşimlerinde duyarlılıkları sırasıyla %31.9 ve %17.8 olarak belirlenmiştir (Tablo 12).

2.3.Antijenlerin serolojik tanı performansları

Antijenlerin serolojik tanı performansları değerlendirilirken hastalar iki gruba ayrılmıştır:

2.3.1. Tek serum örneği bulunan 135 KE hastası,

2.3.2. Farklı izlem sürelerinde en az iki serum örneği bulunan 47 KE takip hastasına ait toplam 117 serum örneği.

İki grubun istatistiksel analizleri birbirinden ayrı olarak değerlendirilmiştir.

2.3.1. Tek serum örneği bulunan KE hastalarında test performansları

Serum örneklerinin alınma zamanı, tedavi şekilleri, tedaviye verdikleri cevaplara göre klinik gruplara ayrılan 135 KE hastasına ait ELISA performansları Tablo 13’ de gösterilmiştir. Buna göre, her iki antijen de tedavi öncesi alınan serum örneklerinde, ilaç tedavisine zayıf yanıt veren ve ilaç tedavisine cevabı bilinmeyen hastaların serumlarında yüksek oranda pozitif reaksiyon göstermiştir. Bu klinik gruplarda seropozitiflik oranı KS ELISA testinde %100, rekombinant antijen ELISA testinde ise %50 saptanmıştır. Postoperatif iyileşme gösteren hastalarda kist sıvısı %68.6, rekombinant antijen %22.9 oranında seropozitiflik göstermiştir. Diğer taraftan postoperatif nüks olduğu belirlenen “iyileşmeyen” ve tedavi sonucu bilinmeyen hastalarda duyarlılığın postoperatif iyileşen hastalara oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak bakıldığında, her iki antijen için de tedaviye göre pozitiflik oranının anlamlı olarak düştüğü gözlemlenmiştir. Kist sıvısı ile yapılan ELISA testlerinde klinik gruplar arasında anlamlı fark saptanmıştır ($P=0.039$).

Tablo 13: Tek serum örneği olan 135 KE hastasının rekombinant antijen ELISA ve KS ELISA ile seropozitiflik oranlarının karşılaştırılması.

KE hastaları (hasta sayısı)	Kist Sıvısı ELISA P=0,039	Rekombinant Antijen ELISA P= 0,180
	Seropozitif hasta sayısı (%)	Seropozitif hasta sayısı (%)
Cerrahi/PAIR sonrası iyileşen (35)	24 (68,6)	8 (22,9)
Cerrahi/PAIR sonrası iyileşmeyen (37)	31 (83,8)	14 (37,8)
Cerrahi/PAIR sonrası tedaviye cevabı bilinmeyen (17)	16 (94,1)	5 (29,4)
ABZ ile tedaviye iyi yanıt veren (12)	10 (83,3)	4 (33,3)
ABZ ile tedaviye zayıf yanıt veren (2)	2 (100,0)	1 (50,0)
ABZ ile tedaviye cevabı bilinmeyen (4)	4 (100,0)	2 (50,0)
Tedavi (operasyon/ABZ) öncesi (18)	18 (100,0)	9 (50,0)
İzlem yaklaşımı (10)	7 (70,0)	1 (10,0)
Toplam (135)	112 (83)	44 (32,6)

2.3.2 Takip hastalarında test performansları

Farklı izlem süresinde en az iki serum örneği bulunan 47 KE takip hastasının 35'ine cerrahi müdahale ve/veya perkütan tedavi, 9'una sadece ABZ tedavisi uygulandığı ve üç hastaya da hiçbir tedavi verilmeden sadece izlem yaklaşımı yapıldığı belirlenmiştir. Her iki antijen ile yapılan testlerde klinik gruplar arasında anlamlı fark saptanmıştır (rekombinant antijen $P= 0,014$; kist sıvısı $P= 0,009$).

Cerrahi müdahale veya perkütan tedavi uygulanan KE hastalarının takip periyodunda rekombinant antijen ELISA ve KS ELISA'nın seropozitiflik oranları Tablo 14'de özetlenmiştir. Rekombinant antijen ile yapılan testlere genel olarak bakıldığında, takip süresi boyunca ilgili antikor seviyelerinde kademeli bir azalma gözlenmiştir. Tanı anında (D0; cerrahi/PAIR öncesi) "iyileşen" grubundaki KE hastalarından %33.5'i yüksek seyreltmede pozitiflik göstermiştir. Operasyon/PAIR'den 6 ay sonra %14.3; 1 yıl sonra %30.8; 2 yıl sonra %25; 3 yıl sonra %20; 5 ve daha fazla yıl sonra %12.5 oranında rekombinant antijenle antikorlar tespit edilebilmiştir. İstisnai olarak cerrahi işlem/PAIR'den 4 yıl sonra alınan takip serumları seropozitif saptanmıştır. Diğer taraftan "iyileşen" grubundaki KE hastalarının takip periyodu boyunca alınan serum örneklerinin hemen hepsinde (1Y ve 2Y hariç) KS ile saptanan antikorlar yüksek seviyelerde tespit edilmiştir. Tedaviden 1 ve 2 yıl sonra alınan serum örneklerinin pozitif reaksiyon oranı sırasıyla %76.9 ve %87.5 olarak bulunmuştur (Tablo 14). KS ELISA ile yapılan takiplerde operasyon sonrası 1 ve 2. yılda negatif sonuç veren bu iki hastadan birinde kistin karaciğer; diğerinde çoklu organ (karaciğer ve böbrekte) yerleşimi gösterdiği ve operasyondan 1 yıl sonra seronegatifleştiği görülmüştür. Genel olarak rekombinant antijenle yapılan ELISA testinde IgG seviyeleri KS ELISA'ya göre çok daha hızlı düşüş göstermektedir.

Cerrahi işlem veya perkütan tedavi sonrası nüks olduğu belirlenen KE hastaların serumları (iyileşmeyen) rekombinant antijen ELISA ile çalışıldığında iyileşen KE hasta grubuna benzer şekilde antikor yanıtın giderek azaldığı görülmüştür. Tedavi öncesi (D0) serum örneği olmayan bu hastalarda altı ay ve bir yıl sonra seropozitiflik oranı %100 iken, iki ve üç yıl sonra %33.3'e düştüğü ve dört yıl sonra seronegatifleştiği saptanmıştır. KS ELISA testinde takip periyodlarının her birinde alınan tüm serum örneklerinde %100 pozitiflik tespit edilmiştir. Aynı şekilde cerrahi

veya perkütan olarak tedavi edilmiş fakat tedaviye cevabı bilinmeyen KE hasta serumları da KS ELISA testinde %100 pozitif antikor yanıt göstermiştir. Bu grup hastaları rekombinant antijen ile çalışıldığında seropozitiflik oranının tedavi sonrası takip sürelerine göre %0-50 arasında değiştiği, yukarıda bahsedilen hastalara benzer şekilde zaman içinde de serolojik cevabın negatifleştiği tespit edilmiştir (Tablo 14). Ayrıca kist sıvısı iyileşen-iyileşmeyen ayrımı yapılmadan tüm takip serumlarında %100 oranında pozitif reaksiyon verirken, rekombinant antijen ELISA testinin tüm serumlarda postoperatif yaklaşık 4 yıl sonra seronegatifleştiği görülmektedir (Tablo 14).



Tablo 14: Cerrahi müdahale veya perkütan tedavi uygulanan 35 KE hastasının takip periyodu sırasında rekombinant antijen ELISA ve KS ELISA ile seropozitiflik oranlarının karşılaştırılması.

	D0	6A	1Y	2Y	3Y	4Y	≥5Y
İyileşen (N=21)	n= 3	n= 7	n= 13	n= 8	n= 5	n= 8	n= 8
Kist Sıvısı ELISA-pozitif (%)	3 (100)	7 (100)	10 (76.9)	7 (87.5)	5 (100)	8 (100)	8 (100)
Rekombinant antijen ELISA-pozitif (%)	1 (33.5)	1 (14.3)	4 (30.8)	2 (25.0)	1 (20.0)	0 (0)	1 (12.5)
İyileşmeyen (N= 7)	n= 0	n= 2	n= 3	n= 3	n= 3	n= 2	n= 4
Kist Sıvısı ELISA-pozitif (%)		2 (100)	3 (100)	3 (100)	3 (100)	2 (100)	4 (100)
Rekombinant antijen ELISA-pozitif (%)		2 (100)	3 (100)	1 (33.3)	1 (33.3)	0 (0)	0 (0)
Bilinmeyen (N=7)	n=4	n= 8	n= 4	n= 4	n= 1	n= 0	n= 0
Kist Sıvısı ELISA-pozitif (%)	4 (100)	8 (100)	4 (100)	1 (100)	1 (100)		
Rekombinant antijen ELISA-pozitif (%)	4 (100)	2 (25.0)	2 (50.0)	0 (0)	0 (0)		

N: hasta sayısı. n= toplam serum sayısı. D0: tanı serumu (tedaviden önce). 6A: tedaviden 6 ay sonra alınan serum. 1Y: tedaviden bir yıl sonra alınan serum. 2Y: tedaviden iki yıl sonra alınan serum. 3Y: tedaviden üç yıl sonra alınan serum. 4Y: tedaviden dört yıl sonra alınan serum. ≥5Y: tedaviden beş veya daha fazla yıl sonra alınan serum.

Albendazol ile tedavi edilen KE hastalarının takip periyodu Tablo 15’de özetlenmiştir. Buna göre kist sıvısının %50-100 oranında ELISA pozitifliği gösterdiği ve başarılı bir ilaç tedavisinden sonra bile seropozitifliğini koruduğu görülmüştür. Diğer taraftan rekombinant antijenle yapılan ELISA testinde duyarlılık kist sıvısına göre daha düşük olmasına rağmen (%0-100), iki tedaviye iyi yanıt veren KE hastasında ve bir tedaviye cevabı bilinmeyen hastada, tanı anında ya da ilaca başlamadan önce pozitif reaksiyon verirken, tedavi sürecinden sonra hızla seronegatifleştiği tespit edilmiştir.

Tablo 15: Albendazol tedavisi alan 9 KE hastasının takip periyodu sırasında rekombinant antijen ELISA ve KS ELISA ile seropozitiflik oranlarının karşılaştırılması.

	D0	1Y	4Y	5Y
Tedaviye iyi yanıt veren N=4	n= 2	n= 4	n=1	n=1
Kist Sıvısı ELISA-pozitif (%)	2 (100.0)	2 (50.0)	1(100.0)	1(100.0)
Rekombinant antijen ELISA-pozitif (%)	1 (50.0)	0 (0)	1(100.0)	0 (0)
Tedaviye zayıf yanıt veren N=2	n= 0	n= 9		
Kist Sıvısı ELISA-pozitif (%)		9 (100.0)		
Rekombinant antijen ELISA-pozitif (%)		0 (0)		
Bilinmeyen N=3	n= 1	n= 6		
Kist Sıvısı ELISA-pozitif (%)	1 (100.0)	4 (66.6)		
Rekombinant antijen ELISA-pozitif (%)	1 (100.0)	0 (0)		

N: hasta sayısı. n= toplam serum sayısı. D0: tanı serumu (tedaviden önce). 1Y: tedaviden bir yıl sonra alınan serum. 4Y: tedaviden dört yıl sonra alınan serum. 5Y: tedaviden beş yıl sonra alınan serum.

Dünya Sağlık Örgütü'nün bildirdiği şekliyle yapılan sonografik sınıflandırmaya göre komplike olmayan CE4 veya CE5 kist evrelerine sahip, hiçbir tedavi almayan ve izlem yaklaşımı uygulanan üç KE hastası kist sıvısı ELISA ve rekombinant antijen ELISA ile değerlendirildiğinde seropozitiflik oranları sırasıyla %50 ve % 33.3 olarak saptanmıştır (Tablo 16).

Tablo 16: İzlem yaklaşımı uygulanan 3 KE takip hastasında rekombinant antijen ELISA ve KS ELISA ile seropozitiflik oranlarının karşılaştırılması.

İzlem (N=3)	n=6
Kist Sıvısı ELISA-pozitif (%)	3 (50.0)
Rekombinant antijen ELISA--pozitif (%)	2 (33.3)

N: hasta sayısı. n= toplam serum sayısı.

Tartışma

KE dünyanın birçok bölgesinde önemli halk sağlığı problemlerinden biridir (Craig, Rogan, & Allan, 1996). Ülkemizde de, oldukça yaygın görülen bu zoonotik hastalığın prevalansının %0.51 olduğu bildirilmiştir (Tamarozzi vd., 2018). KE vakalarının cinsiyet ve yaş dağılımları, bölgelere ve geleneklere göre değişen sosyal alışkanlıklar nedeniyle farklılık gösterebilmektedir (Tamarozzi vd., 2018). Çalışmamızda yer alan 182 KE hastasının cinsiyet dağılımı incelendiğinde, Yolasıgma vd. (2006), Hakverdi, Culha, Canda, Yaldiz, & Altintas (2008) ve Orsten vd. (2018)'nin yaptığı çalışmalara benzer şekilde, kadınların (%61.5) erkeklere (%38.5) göre daha fazla etkilendiği görülmüştür. Tiaoying vd. (2005) Çin'in Doğu Siçuan Bölgesi'nde Tibet popülasyonlarında yaptığı ekinokokkoz taramasının sonucunda çalışmamızla uyumlu olarak kadınlardaki (%14.7) prevalansın erkeklere (%11.0) göre daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Araştırmacı; köpekleri beslemek, yakıt için gübre toplamak ve hayvancılığı sağlamak gibi işlerden sorumlu olan kadınların *Echinococcus* ile enfekte köpekler ve kontamine olmuş çevreye daha fazla maruz kalmaları nedeniyle daha yüksek oranda etkilendiklerini bildirmiştir. Bu araştırmada 50-60'lı yaşlarda KE prevalansının maksimum seviyeye ulaştığı gösterilmiştir (Tiaoying vd., 2005). Orsten vd. (Orsten vd., 2018) araştırmalarında yer alan KE hastalarının daha çok orta yaş ve üzeri olduğunu bildirmişlerdir. Bunun aksine çalışmamızda KE hastaları yaş gruplarına göre dengeli dağılım gösterirken ortalama yaş ortalaması 40.39 ± 19.48 olarak hesaplanmıştır. Türkiye Manisa bölgesinde öğrenciler ile yapılan bir çalışmada hastaların ortalama yaşının 20.75 ± 1.48 bulunduğunu bildirilmiştir (Kilimcioğlu vd., 2013). Yine başka bir çalışmada, Diyarbakır'da 2002-2007 yılları arasında histopatolojik tanı almış KE hastalarını retrospektif olarak değerlendirilmiş ve hastaları ortalama yaşı 27.01 bulunmuştur (Ozekinci, Bakir, & Mizrak, 2009).

Hidatik kist vakalarının yaklaşık %90'ı karaciğer (% 65-75) ve akciğerde (%15-20) yerleşirken, diğer organların %5-13 oranında etkilendiği bildirilmiştir. (Wani vd., 2012). Araştırmacılar, dalak, böbrek, periton boşluğu, deri ve kasları içeren KE insidansının her birinin yaklaşık % 2-3 olduğunu; kalp, beyin, omurilik, kolon, ovaryum, pankreas, safra kesesi, tiroid bezi, meme ve kemiklerin her birinin ise yaklaşık % 1 veya daha az oranında etkilendiğini bildirmişlerdir (McManus vd., 2003).

Çalışmamızda serum örneklerini kullandığımız toplam 182 kistik ekinokokkoz hastasından 136'sında (%74.75) tek organ tutulumu; karaciğer (%61), akciğer (%17), beyin-omurilik (%1), kemik (%2.1), meme (%1), dalak (%0.6), adneksiyal alan (%0.6), karın boşluğu (%0.6) ve 46 hastada (%25.25) çoklu organ tutulumu olduğu belirlenmiş ve bildirilen oranlarla uygun olduğu görülmüştür.

Daha önce kist tedavisi almamış hastaların USG ile değerlendirilmesinin bulaş dinamikleri hakkında fikir vermesi nedeniyle oldukça önemli olduğu düşünülmektedir (Tamarozzi vd., 2018). Tamarozzi vd. (2018) tarafından Bulgaristan, Romanya ve Türkiye'de yapılan ultrasonografi ile popülasyon taramasından elde edilen veriler ışığında, Türkiye'de 34798 kişinin *E.granulosus* ile enfekte olabileceği ve bu hastaların %32.8'inde aktif kist evresi bulunabileceği ön görülmüştür. Elde edilen bu veri, çalışmamızda yer alan aktif kist evresine sahip hastaların oranları (% 29.6) ile uyumludur.

İnsanlarda ekinokokkozun erken tanısı hastalığın yönetimi ve tedavisinde oldukça önemlidir. KE'nin tanısı kist yapılarının USG, MR ve BT gibi çeşitli görüntüleme metotlarıyla tanımlanarak başta ELISA ve WB olmak üzere immünolojik tanı testleriyle doğrulanması esasına dayanır (Eckert & Deplazes, 2004).

Hidatik kist sıvısı, hazırlanması ve bulunabilirliği kolay olduğu için KE'nin serolojik tanısında ve tedavi sonrası takibinde kullanılan testlerin ana antijen kaynağıdır (Carmena vd., 2006; Ortona vd., 2000; Siles-Lucas vd., 2017). Ayrıca lipoprotein yapısında ve oldukça immunojenik olan antijen AgB ve Ag5 de serolojik testlerde sıkça kullanılan kist sıvısı bileşenleridir (Carmena vd., 2006; Siles-Lucas vd., 2017). Fakat enfekte ara konak hayvanlardan toplanan bu doğal antijenler oldukça heterojen oldukları için serolojik testlerde yalancı pozitif veya yalancı negatif sonuçlara neden olabilmektedirler (Rafiei & Craig, 2002). Benzer problemler erişkin parazit veya protoskolekslerden elde edilen somatik veya çıkartısal/salgısal ürünlerin kullanımında da meydana gelebilmektedir (Rafiei & Craig, 2002). Bu nedenle doğal antijenlere iyi bir alternatif olan rekombinant antijenlerin veya sentetik peptitlerin kullanımı, testlerde özgül olmayan reaksiyonların azaltılmasına ve farklı laboratuvarlarda

standardize olarak elde edilip tanısal değerlendirmelere imkan verebilir (Siles-Lucas vd., 2017). Bu amaçla şimdiye kadar KE'nin insanlardaki serolojik tanısı için çeşitli rekombinant antijen ve sentetik peptitler tanımlanmıştır (Gonzalez-Sapienza, Lorenzo, & Nieto, 2000; Rott vd., 2000; Siles-Lucas vd., 2017; Virginio vd., 2003). Bunun yanında son yıllarda üzerinde yoğun olarak çalışılan, iki veya daha fazla antijenik yapının bir araya getirilmesiyle yeni biyomoleküller oluşturulması esasına dayanan füzyon protein teknolojisinin, immünolojik tanı testlerinin performansını arttırmak için yeni proteinler oluşturmaya uygun olduğu gösterilmiştir (Fathi vd., 2018).

Çalışmamızda, ilk kez tanımlanan rekombinant füzyon protein (Ag5+AgB8/1+Ag8/2) geniş bir serum paneli kullanılarak ELISA ile test edilmiş, duyarlılığı ve özgüllüğü KS ile karşılaştırılmıştır. Bunun yanında aktif veya inaktif / iyileşmiş enfeksiyonu olan hastaların ayırımında yararlılığı araştırılmıştır.

Kist sıvısının antijen olarak kullanıldığı spesifik IgG ELISA'da duyarlılığının genellikle kabul edilebilir düzeylerde olduğu bildirilmektedir (Siles-Lucas vd., 2017). Yapılan çalışmalarda kist sıvısı antijenlerine karşı spesifik IgG ELISA duyarlılık değerinin % 64.8 - 100 arasında değiştiği gösterilmiştir (Manzano-Roman vd., 2015). Çalışmamızda kist sıvısının total IgG ELISA ile duyarlılığı %86.51 bulunmuştur. Sonuçlarımızla uyumlu olarak, Virginio vd. (2003) altı farklı *E. granulosus* rekombinant antijenini değerlendirildiği çalışmada, KS duyarlılığını %83.1 olarak bildirmiştir. Benzer sonuçlar Hernandez-Gonzalez vd. (2008) ve Ahn vd. (2015) tarafından da rapor edilmiştir. Buna karşın Kilimcioğlu vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada KS ELISA duyarlılığı %66.7 olarak hesaplanmıştır.

Çalışmamızda iki veya daha fazla antijenin kombinasyonunun tanı performansını arttıracak olasılarından yola çıkılarak oluşturulan rekombinant füzyon protein (Ag5+AgB8/1+Ag8/2) test edilmiş, fakat beklenilenin aksine, bileşimindeki antijenlerin ve kist sıvısının duyarlılık değerlerinin oldukça altında kalmıştır. Yapılan testlerde rekombinant antijen, kist sıvısına göre oldukça düşük duyarlılık göstermiştir. Buna göre füzyon proteinin ELISA'daki duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %29.3 ve %94.2 bulunmuştur. Sonuçlarımızın aksine, rekombinant AgB8/1 (RecEgAgB1/

rAgB1)'in test edildiği çeşitli çalışmalarda duyarlılığın %55–94.6 arasında değiştiği bildirilmiştir (Carmena vd., 2006; Ito vd., 2014; Lorenzo, Ferreira, vd., 2005; Manzano-Roman vd., 2015; Savardashtaki, Mostafavi-pour, & Sarkari, 2018). rEgAgB8/1'in ticari kit ile karşılaştırıldığı bir çalışmada, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %93 ve %92 olarak bulunmuştur (Savardashtaki vd., 2018). Mohammadzadeh, Sako, Mahmoud, Sarkari, & Ito (2012) Türkiye, Çin ve Japonya'da yaşayan KE hastalarının serumlarını aynı antijen ile test etmiş ve benzer performanslar bildirmişlerdir. Çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan başka serolojik tanı çalışmalarında EgAgB8/1'in yüksek duyarlılık ve özgüllük değerleri rapor edilmiştir (T. Li vd., 2010; List vd., 2010; Mamuti vd., 2004). Bu çalışmaların aksine Lorenzo, Ferreira, vd., (2005) rEgAgB8/1 ve rEgAgB8/2'nin de içinde olduğu başlıca altı antijeni değerlendirdikleri çok merkezli araştırmada bu iki rekombinant antijene ait oldukça değişken duyarlılık ve özgüllük değerleri elde etmişlerdir. Buna göre altı ayrı laboratuvar da çalışılan testlerde rEgAgB8/1 ve rEgAgB8/2'nin ortalama duyarlılıkları sırasıyla %68.4 ve %44.6, ortalama özgüllükleri sırasıyla %87.6 ve %86.2 olarak rapor edilmiştir. Rekombinant AgB'nin iki alt tipinin (rEgAgB8/1, rEgAgB8/2) IgG ELISA ile karşılaştırıldığı diğer bir çalışmada duyarlılık sırasıyla %54.84 ve %83.87, özgüllük sırasıyla %80.17 ve %98.28 bulunmuştur (Rott vd., 2000).

Lorenzo, Last, vd.. (2005) Ag5'in iki farklı rekombinant antijenini (RecEgAg5; tam format ve RecEgAg53.38; 38 kDa versiyonu) test etmişler ve ana proteine göre tanı performansının önemli ölçüde düştüğünü göstermişlerdir. Buna göre RecEgAg5'in duyarlılığı %65 bulunurken, WB ile Ag5'in en antijenik bileşeni olarak tanımlanan 38 kDa büyüklüğündeki alt ünitenin (RecEgAg53.38) duyarlılığı %21 olarak hesaplanmıştır (Auer, Stöckl, Suhendra, & Schneider, 2009).

Virginio vd. (2003) çalışmalarında insanlarda KE'nin immünolojik tanısında kullanılan umut vadeden antijenleri (AgB8/2, AgB8/1, EgCMDH, EgCaBP2, EgAFFPt, EgAFFPf) IgG alt grupları-spesifik ELISA ile değerlendirmişler ve tüm antijenler için (AgB8/2 hariç) total IgG spesifik ELISA'da negatif reaksiyon veren serumların IgG4 alt grubu kullanıldığında seropozitif olduğunu ortaya koymuşlardır. Li vd. (Y. Li vd., 2012) Ag5'e karşı IgG1, IgG4 ve IgE sınıfı antikorların baskın

olduğunu, IgG4 kullanıldığında duyarlılık ve özgüllüğün arttığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde birçok araştırma antikör titre ve izotip profillerinin zaman içinde değiştiğini, bu nedenle tedaviye cevabın takip edilmesi için kullanışlı olduğunu göstermiştir (Ben Nouir vd., 2009; Daeki, Craig, & Shambesh, 2000; Doiz vd., 2001; Lawn vd., 2004; W. Zhang & Mcmanus, 2006). Ayrıca IgG4 cevabının kist gelişimi, büyümesi ve hastalığın progresyonu (CE1, CE2, CE3a, CE3b) ile ilişkili olduğu; IgG1, IgG2 ve IgG3 cevaplarının ise kist dejenere veya kısmi/tam kalsifiye iken (CE4, CE5) baskın olduğu gösterilmiştir (Daeki vd., 2000; Lawn vd., 2004; Shambesh, Craig, Wen, Rogan, & Paolillo, 1997). Bu nedenle serolojik testlerde IgG4 alt grubunun kullanımı ile duyarlılığın artırılabilceği bildirilmiştir (Tamarozzi vd., 2013; Virginio vd., 2003). Çalışmamızda rekombinant füzyon antijenin yalnızca total IgG spesifik ELISA ile değerlendirilmesinin duyarlılığın beklenenden daha düşük saptanmasının bir nedeni olabileceği düşünülmüştür.

Ülkemizde insanlarda ekinokokkoz (KE ve AE) enfeksiyonlarından sorumlu iki tür *E. granulosus* ve *E. multilocularis* arasında AgB alt tipleri ve Ag5'in yüksek oranlarda homoloji gösterdiği bilinmektedir (Mamuti vd., 2006; L. Zhang & McManus, 1996). Bu nedenle bu iki türü serolojik olarak ayırmak pek mümkün olmamaktadır (Hernandez-Gonzalez vd., 2012). Bu nedenle çalışmamızda KS ve rekombinant antijen ELISA'nın cins spesifik ekinokokkoz tanısındaki performansı değerlendirilmiştir. Buna göre KS ve rekombinant antijenin duyarlılıklarında artış olmazken (sırasıyla %85.75 ve %29.35), özgüllük değerlerinde ılımlı yükselme gözlenmiştir (sırasıyla %90.42, %97.59).

Rekombinant füzyon protein ve kist sıvısının tanı performanslarını değerlendirmek için 160 çapraz kontrol serum (paraziter ve nonparaziter hastalar) örneği ve 30 sağlıklı kontrol serumları kullanılmış, rekombinant antijen ve kist sıvısının özgüllük değerleri sırasıyla %94.18 ve %82.63 hesaplanmıştır. Beklendiği üzere, kist sıvısı, önceki çalışmalarda gösterilen (Ferreira & Zaha, 1994; Irabuena, Nieto, Ferreira, Battistoni, & Ferragut, 2000; Liance vd., 2000; Rott vd., 2000), diğer helmintlerle ortak epitopları nedeniyle nispeten zayıf özgüllük göstermiştir.

Serolojik testlerde kullanılmak üzere doğal yolla enfekte olmuş hayvanlardan toplanan kist sıvısının kompozisyonu, kistin gelişim aşamaları ve enfekte farklı konaklardaki parazit fenotipleri arasındaki varyasyonlar nedeniyle değişkenlik gösterebilmektedir (Ahn vd., 2015; Aziz vd., 2011). Bunların yanı sıra kist bütünlüğü ve fertilitesi de KS'nin bileşenlerini etkileyen önemli faktörlerdendir (Siles-Lucas vd., 2017). Bu nedenle farklı kaynaklardan elde edilen kist sıvısının heterojen karakterde olması tanı performansında önemli değişikliklere yol açabilmektedir (Siles-Lucas vd., 2017). Kist sıvısı ELISA'da karşılaştığımız yalancı pozitiflik, özellikle doğal antijenlerin kullanıldığı serolojik tanı çalışmalarında sıkça karşılaşılan problemlerden biridir. Farklı coğrafi bölgelerde sağlıklı bireylerin serumları kist sıvısı-spesifik IgG ELISA ile çalışılmış ve değişik oranlarda yalancı pozitiflik gözlenmiştir (Özgüllük; İran: %53.8, Hindistan: %87.5, İtalya: %100) (Mohammadzadeh vd., 2012; Tamarozzi vd., 2013; W. Zhang vd., 2012). Alveolar ekinokokkoz (Carmena vd., 2006; Eckert & Deplazes, 2004; Manzano-Roman vd., 2015), klonorşiyaz (Jin, Anvarov, Khajibaev, Hong, & Hong, 2013), fasiyolaz ve şistosomiyaz (Tawfeek vd., 2011), askariyaz, amöbiyaz ve malignite (Chirag vd., 2015), tenyaz, paragonimiyaz, çengelli solucan enfeksiyonu, gnatostomiyaz, strongiloidiyaz, trişineloz, kapillariyaz, trişuriyaz (Dekumyoy, Riyong, Pakdee, & Waikagul, 2005) gibi paraziter veya paraziter olmayan hastalıkları olan bireylere ait serumların kist sıvısıyla çapraz reaksiyon verdiği bilinmektedir. Kist sıvısı ile özellikle AE hastalarının yüksek oranda çapraz reaksiyon gösterdiği bildirilmiştir (>%50; Hernandez-Gonzalez vd., 2012).

Çalışmamızda çapraz kontrol serumları KS ELISA ile değerlendirildiğinde, sağlıklı kontrol ve trişineloz serum örneklerinin her birinin seronegatif olduğu (%100), buna karşın önceki çalışmalarla uyumlu olarak 23 AE hasta serumlarından 17'si (%73.9) ve 22 fasiyolaz hasta serumlarından 1'inin (%4.54) çapraz reaksiyon gösterdiği tespit edilmiştir. Virginio vd. (2003) KS ELISA ile 18 toksokariyaz hasta serumundan 3'ünün pozitiflik gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda bu oran 1/29 olarak saptanmıştır. Ayrıca diğer paraziter enfeksiyonlar ile kist sıvısının çapraz reaktivitesinin boyutunu tanımlamak için ülkemizde yaygın görülen toksoplazmoz ve leyişmanyaz hasta serumları da test edilmiş, yalancı pozitiflik oranları sırasıyla %22.2

ve %12.5 olarak hesaplanmıştır. Paraziter olmayan hastalıkları olan bireylerle de çapraz reaksiyon oranı (%19.7) oldukça yüksek bulunmuştur.

Kullanılan antijen çeşidinin yanı sıra, antijenlerin kalitesi ve serum panelinin özellikleri de KE serolojik tanısında kullanılan testlerin doğruluğunu etkileyebilmektedir (Chemale, Haag, Ferreira, & Zaha, 2001). Doğal antijenlerin aksine prokaryotik sistemlerde klonlanan rekombinant antijenlerin diğer parazit enfeksiyonlara karşı daha az çapraz reaksiyon gösterdiği bildirilmişlerdir (Kalantari vd., 2010).

Kist sıvısının oldukça immunojenik ana bileşenlerinden biri olan Ag5'in multigen ailesi tarafından kodlandığını bilinmektedir (L. Zhang & McManus, 1996) *E. multilocularis* ve *Taenia* spp tarafından da eksprese edilen Ag5, *E. granulosus*'ta bulunan Ag5 sekansı ile yüksek benzerlik (%90) göstermektedir (Siles-Lucas vd., 2017). Bu nedenle AE ve sistiserkoz hastalarının antikorları ile çapraz reaksiyon vermektedir (Manzano-Roman vd., 2015). Lorenzo vd. (Lorenzo, Last, vd., 2005) rAg5'in AE ve sistiserkoz hastalarının antikorları ile çapraz reaksiyon verdiğini ve özgüllüğünün %89 olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada rAg5-38s ile yalnızca AE hasta serumları yalancı pozitiflik göstermiş ve özgüllük %97 değerinde bulunmuştur.

Kist sıvısının önemli bileşenlerinden AgB'nin de Ag5'e benzer şekilde, multigen ailesi tarafından kodlanan beş gen grubundan (EgAgB8/1- EgAgB8/5) oluştuğu ve bu farklı alt ünitelerin amino asit diziliminde % 44-81 oranında benzerlik gösterdiği bildirilmektedir (Haag, Alves-Junior, Zaha, & Ayala, 2004). Her bir izoformun *Echinococcus granulosus* ve *Echinococcus multilocularis* türleri arasında %90 oranında, ve daha düşük olarak *Taenia* cinsi parazitlerle homoloji gösterdiği bildirilmektedir (Mamuti vd., 2006). Bu benzerliğin AgB doğal saflaştırılmış ve rekombinant formlarının başta AE ve sistiserkoz olmak üzere diğer helmint enfeksiyonlar ile çapraz reaksiyona sebep olduğu rapor edilmiştir (Carmena vd., 2006; Manzano-Roman vd., 2015; Rott vd., 2000)

Rott vd. (2000)'nin yaptığı çalışmada rAgB8/1 AE hastalarının %50'sinde pozitif bulunurken, şistosomiyaz, toksokariyaz ve sistiserkoz hasta serumlarıyla da çapraz reaksiyon gösterdiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada rAgB8/2, *Echinococcus multilocularis*, *Echinococcus vogeli* ve *Taenia solium* ile enfekte hasta serumlarıyla test edilmiş ve seropozitiflik göstermemiştir. Bu nedenle rEgAgB8/2 nin daha özgül olduğu ve *E. granulosus* enfeksiyonlarını diğer *Echinococcus* türlerinin neden olduğu enfeksiyonlardan ayırabileceği bildirilmiştir (Rott vd., 2000).

Leggatt & McManus (1994), rAgB8/1'in AE ve şistosomiyaz hastaları ile çapraz reaksiyona neden olurken, sistiserkoz hastalarının hepsinde negatif reaksiyon gösterdiğini rapor etmişlerdir. Carmena vd. (2006) onkoserkiyaz, şistosomiyaz ve toksokariyaz enfeksiyonu olan hasta serumlarının da yalancı pozitiflik gösterdiğini bildirmektedir.

Özetle, farklı izoformları olan rekombinant EgAgB'nin özellikle AE ve sistiserkozdan etkilenen hastalarda seropozitiflik gösterdiği bildirilmiştir (Carmena vd., 2006; Rott vd., 2000) Ayrıca onkoserkiyaz, şistosomiyaz ve toksokariyaz enfeksiyonu olan hasta serumları ile de yalancı pozitiflik gösterdiği bilinmektedir (Carmena vd., 2006). Çalışmamızda 23 AE hasta serumu kullanılmış ve bunlardan 7 (%30)'si rekombinant füzyon proteini ile pozitif bulunmuştur. Rekombinant antijen ayrıca visseral leyişmanyaz (%25) ve paraziter olmayan hastalıkları olan bireylerin serumlarıyla da (%4) çapraz reaksiyon vermiştir. Sonuçlarımızın aksine, Fathi vd. (2018) yeni füzyon rekombinant protein (2b2t+EPC1)'i KE serolojik tanısı için değerlendirdikleri çalışmalarında visseral leyişmanyaz hasta serumları negatif bulunurken, fasiyolaz (%16.6), toksoplazmoz (%6.6), toksokariyaz (%25) hasta serumlarının çapraz reaksiyon gösterdiğini bildirmişlerdir.

Kist sayısı, büyüklüğü, lokasyonu ve evreleri, serum toplama zamanı (ilaç tedavisinden önce ve sonra) gibi birçok klinik değişkenin serolojik testlerin sonucunu etkilediği bilinmektedir (Manzano-Roman vd., 2015).

Çalışmamızda KE hasta serumlarının kist evrelerine göre gösterdiği seropozitiflik oranı incelendiğinde, önceki araştırmalar ile uyumlu olarak, inaktif kist gruplarında aktif kist gruplarına göre azalma olduğu görülmüştür (Daeki vd., 2000; Hernandez-Gonzalez vd., 2018; Pagnozzi vd., 2014). Tamarozzi vd. (2013) rAgB ELISA’da aktif ve inaktif kist grupları arasında seropozitiflik oranının yanı sıra OD değerlerinde de anlamlı fark olduğunu bildirmişlerdir. Son yıllarda yapılan bir çalışmada, hidatik kistin antijenik bileşenleri karşılaştırmalı proteom analiziyle incelenmiş ve farklı kist evrelerinde tanımlanmış bazı antijenlerin düzeylerinin değiştiği ortaya konulmuştur. Buna göre CE2 ve CE3 kist evresindeki hastalar farklı AgB ve Ag5 proteoformlarına karşı güçlü antikor yanıt gösterirken, CE1, CE4 ve CE5 evrelerinde temel olarak Ag5 ve katepsin B’e reaksiyon vermiştir (Ahn vd., 2015). Kist evrelerine göre kistin antijenik kompozisyonun değişmesiyle, değişik evrelerdeki (aktif, ara veya inaktif) hastaların spesifik antijenlere karşı antikor reaktivitelerinin de büyük ölçüde etkilendiği düşünülmektedir (Hernandez-Gonzalez vd., 2018). Bu bakımdan Jiang, Zhang, Liu, & Feng (2012), tanı testlerinin duyarlılığının artırılması için birden fazla rekombinant antijenin kombine edilmesini önermektedir. Ek olarak, AgB genlerinde farklı *E. granulosus* genotiplerinde yüksek polimorfizm ve değişik transkripsiyon profilleri mevcuttur (Siles-Lucas vd., 2017). Bu durum, ilgili doğal ve rekombinant antijene karşı oluşan immün cevabı etkileyebilmektedir (Hernandez-Gonzalez vd., 2018).

Çalışmamızda KS ELISA da saptanan seropozitiflik oranlarının kist evreleriyle uyumlu olduğu gözlenirken, rekombinant antijen ELISA da aktif kist evrelerinde duyarlılık daha yüksek olsa da, evreler tek tek değerlendirildiğinde uyumsuzluk göze çarpmaktadır. Rekombinant antijen ELISA; CE1, CE3a ve CE5 evrelerinde en yüksek seropozitiflik oranını göstermiştir. İnaktif kist evresindeki (CE5) hastaların seropozitiflik oranının, aktif kist (CE2) evresindekilere göre daha yüksek olması, füzyon proteinin bileşenlerinden Ag5’in esas olarak CE1 ve CE5 kist evrelerinde spesifik antikorları uyarmasından kaynaklandığı düşünülmüştür (Ahn vd., 2015). Ayrıca aktif veya inaktif olma olasılığı eşit olan CE3a (Hosch vd., 2008); CE2, CE3b ve CE4 evrelerine göre daha yüksek oranda seropozitiflik göstermiştir. Her bir kistin gerçek canlılık durumunun laboratuvar ortamında analizi yapılamadığından pozitif

sonuç veren serumların aktif ve/veya negatif sonuçlananların inaktif kist evresine sahip olup olmadığını değerlendirmek mümkün değildir. Bu nedenle bu yüksek pozitifliğin az sayıdaki CE3a evresi hastaların kist canlılığından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

Karaciğer tutulumlu KE vakalarının, akciğer, beyin ve diğer organlara yerleşmiş hidatik kisti olan hastalara göre daha yoğun immün reaksiyon verdiği bilinmektedir (Craig & Nelson, 1984; Gottstein, 1992). Hepatik KE vakalarında tanı duyarlılığının kullanılan antijen ve yöntemle göre değişmekle birlikte %85- 90 arasında olduğu bildirilmektedir. Buna karşın pulmoner kist lokalizasyonunda, duyarlılık önemli derecede düşük iken (%50-60), çoklu organ tutulumlarında yükseldiği rapor edilmiştir (%90-100) (Barnes vd., 2012). Duyarlılıktaki bu farklılıklara, testte kullanılan antijen veya diğer faktörlerin (teknik, antikor izotipi gibi) neden olduğu düşünülmüş ancak tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (Hernandez-Gonzalez vd., 2008). Tamarozzi vd. (2013), çalışmalarında karaciğer dışı / çoklu kist vakaları az sayıda olduğu için istatistiksel değerlendirmeye dahil edememişler ancak vakaları sayısal olarak değerlendirdiklerinde kist lokalizasyonunun önemli olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda rekombinant antijen ELISA testinde kist yerleşimleri arasında anlamlı fark bulunmuştur ($P= 0,030$). Buna göre karaciğer tutulumlu hasta serumlarının diğer organ tutulumlu hastaların serumlarına göre daha yüksek oranda pozitif reaksiyon verdiği tespit edilmiştir. Hernandez-Gonzalez vd. (2008) sonuçlarımızın aksine, tanı için kullanılan antijenden bağımsız olarak, kist lokalizasyonunun antikor seviyeleri üzerinde önemli bir değişiklik yapmadığını bildirmişlerdir.

KE hastalarının klinik yönetimindeki tartışmalı noktalardan biri, serolojinin tedavi edilen hastaların takibindeki faydasıdır (Hernandez-Gonzalez vd., 2018). KS'ye karşı oluşan antikorların iyileşmeden sonra bile uzun yıllar varlığını sürdürdüğü bilinmektedir (Hernandez-Gonzalez vd., 2018). Bu nedenle bazı araştırmacılar spesifik IgG alt gruplarının ve IgG'den farklı antikor izotiplerinin saptanmasının immünolojik tanı testlerinin performanslarının geliştirilmesinde kullanılabileceğini öne sürmektedir (McVie, Ersfeld, Rogan, & Craig, 1997; Sarkari & Rezaei, 2015;

Virginio vd., 2003; Marinova, Nikolov, Michova, Kurdova, & Petrunov, 2011; Zarzosa vd., 1999).

Kist sıvısına karşı oluşan IgE'nin yüksek özgüllük ve anti KS total IgG'ye göre nispeten daha yüksek duyarlılığa sahip olduğu bildirilmiştir (Sjölander, Guisante, Torres-Rodriguez, & Schröder, 1989). Khabiri, Bagheri, Assmar, & Siavashi (2006) Ag5'e özgü IgE'nin, KE hastalarının ancak % 70.1'inde tespit edilebildiğini fakat özgüllüğün % 100 olduğunu rapor etmişlerdir. Bunlara ilaveten protoskoleks spesifik IgE'nin protoskolekslere ilk maruziyetten 3 ila 14 gün sonra artmaya başladığı ve tedavi sonrası iyileşen KE hastalarında hızla negatifleştiği gösterilmiştir (Riley, Dixon, Jenkins, & Ross, 1986). Bu nedenle IgE'nin, KE hastalarının erken tanısında ve aktif enfeksiyonun bir belirtisi olarak kullanılabileceğini öne süren çalışmalar mevcuttur (Wellington & Kern, 2001). Fakat bu izotip ve alt izotipler KE hastalarının çoğunda saptanabilir düzeyin altında kalmaktadır (Manzano-Roman vd., 2015). Bunların yanı sıra birçok araştırmacı tedavi edilen KE hastalarının takibinde kullanılabilecek daha duyarlı ve daha özgül rekombinant ve saflaştırılmış doğal antijenler geliştirmek üzerine yoğunlaşmıştır (Hernandez-Gonzalez vd., 2018). Bu çalışmalara en iyi örnekler; rekombinant AgB, AgB2t, Ag2B2t, AgP29 ve HSP20'dir. KE'nin başarılı cerrahi tedavisinden sonra bahsi geçen antijenlere karşı oluşan antikor titrelerinin düştüğü bildirilmiştir (Ben Nouir vd., 2009; Hernandez-Gonzalez vd., 2008, 2018; J. Li vd., 2004; Pagnozzi vd., 2016; Stojkovic vd., 2017). Çalışmamızda cerrahi müdahale veya perkütan tedaviden sonra iyileşen hastalar rekombinant füzyon proteine karşı zaman içinde seronegatifleşmiş olsalar da, benzer şekilde nüks olduğu belirlenen "iyileşmeyen" hastaların rekombinant antijenle saptanan antikorları da giderek azalmıştır. Bu sonuçlar göz önüne alındığında rekombinant antijenin cerrahi veya perkütan tedavi sonrasında KE hastalarının takibi için kullanışlı olmadığı düşünülmektedir.

ELISA duyarlılığını istatistiksel olarak etkileyebilen bir diğer klinik değişken ilaç tedavisidir. İlaç tedavisi sonrası hastaların, B2t ve 2B2t antijenlerine karşı önemli ölçüde seropozitifleştiği bildirilmiştir (Hernandez-Gonzalez vd., 2018). Benzer şekilde ilaç tedavisinin rekombinant antijen B1 ile yapılan serolojik testleri etkilediği

gösterilmiştir (Lissandrin vd., 2016; Tamarozzi vd., 2013). Tamarozzi vd. (2013) özellikle serum alınma zamanındaki ilaç kullanımının ilgili antijene karşı oluşan (anti-rekombinant AgB1) antikor seviyesi üzerinde önemli ölçüde etkili olduğunu bildirmiştir. Birçok araştırmacı ilaç tedavisi sonrası zarar gören kistten sızan antijenlerin antikor yanıtı arttırdığını, antijenik yoğunluğun ve kist bütünlüğünün konak immün sisteminin uyarılmasında oldukça önemli olduğunu ileri sürmektedir (T. Li vd., 2012; Lissandrin vd., 2016; Tamarozzi vd., 2013). Buna karşın çalışmamızda yalnızca ilaç tedavisi alan KE takip hastalarının serumları incelendiğinde, kist sıvısı ELISA ile izlem süresi boyunca pozitifliklerini korudukları görülürken, rekombinant antijene karşı oluşan antikorların tedaviden en az bir yıl sonra negatifleştiği tespit edilmiştir. Diğer taraftan tek serum örneği çalışılan serum panelinde, testlerin performansları değerlendirildiğinde rekombinant antijen ELISA ile en yüksek duyarlılık (%50) ilaç tedavisi alan hastalardan elde edilmiştir. Fakat yalnızca ABZ tedavisi alan KE hasta takip serumlarımızın az sayıda olması ve seri halinde bulunmaması, ilaç tedavi süresi ve serum örneğinin alınma zamanındaki ilaç kullanımı ile ilgili bilgi eksiklikleri nedeniyle kesin sonuçlara varmak mümkün olamamıştır.

Çalışmamızda ELISA'da farklı klinik yönetim yaklaşımlarında değerlendirilen hastaların sayısı istatistiksel analiz için kabul edilebilir olsa bile antijenin performansının tam olarak değerlendirilebilmesi için yeterli değildir. Ayrıca laboratuvarımıza KE tanısı için başvuran hastaların arşiv serum örnekleri kullanıldığından, hastaların bir çoğunun ilk tanı ve takip süreleri boyunca seri serumlarına ulaşamamıştır. Bu nedenle antijenin tedavi öncesi ve sonrası süreçte, tedaviye cevabın değerlendirilmesi için serumlar karşılaştırmalı olarak test edilememiştir. Diğer taraftan KS ELISA ile elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde seropozitiflik oranının hasta iyileşse bile uzun süre varlığını koruduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle benzer çalışmalarda da belirtildiği gibi kist sıvısı tedavi sonrası takip hastalarında kullanılmaya elverişli antijenik materyal değildir (Hernandez-Gonzalez vd., 2018). Diğer taraftan tek örneği olan 135 KE hastasının ELISA sonuçları değerlendirildiğinde, kist sıvısı ile yapılan testlerde klinik gruplar arasında anlamlı fark olduğu görülmüştür ($P=0.039$). Buna göre, tedavi öncesi, ABZ tedavisi alan ve postoperatif iyileşmeyen hasta serumlarının pozitiflik oranı yükselirken, postoperatif

iyileşen hastalarda seropozitiflik önemli derecede azalmıştır. Benzer şekilde rekombinant antijen de bu hasta grubuyla test edildiğinde daha iyi tanı performansı göstermiş, cerrahi veya perkütan tedavi sonrası iyileşen hastalarda testin genel ortalamasının altında seropozitiflik tespit edilmiştir.

Tedavi almaksızın kendiliğinden inaktive olan kistlere sahip hastaların (izlem yaklaşımı) takip periyodu boyunca kist evrelerinin değişmediği (USG ile) bilinmektedir. Fakat bu hastaların takip serumları arşivimizde bulunmadığından tespit edilen spesifik antikorların zaman içindeki değişimi belirlenememiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda ilk kez tanımlanan (Ag5+AgB8/1+Ag8/2) füzyon rekombinant proteini, KE hastalarının tanı ve tedavi sonrası takibinde kullanılabilecek aday antijen olarak değerlendirilmiş, ancak antijenlerin tek tek olan hallerinden daha düşük duyarlılıkta bulunmuştur. Buna, rekombinant antijenlerin birbirine bağlanmasıyla oluşan füzyon proteinin üç boyutlu konfigürasyonu etki etmiş olabilir. Bu nedenle füzyon protein ve bileşenlerinin (Ag5, AgB8/1, Ag8/2) aynı şartlar altında karşılaştırılmalı olarak test edilmesi gerektiği kanısına ulaşılmıştır.

Sonuç ve Öneriler

Çalışmamızda ELISA testinin tanı performansları karşılaştırıldığında rekombinant füzyon proteinin özgüllüğü kist sıvısına göre yüksek olsa da, duyarlılığının, kist sıvısı kullanılan testlere göre oldukça düşük olduğu görülmüştür. Füzyon protein tanısal anlamda istenilen duyarlılığa sahip olmamakla birlikte, kist canlılığının değerlendirilmesi, kist gelişiminin tahmin edilmesi veya tedavi sonrası takipte kullanımı açısından, klinik olarak sınıflandırılmış hasta gruplarında değerlendirilmesine yönelik çalışmalar planlanabilir. Bu amaçla,

- çalışmamızda kullanılan serum paneli ile füzyon proteinin her bir bileşeninin (AgB8/1, AgB8/2 ve Ag5) ayrı ayrı karşılaştırılması,
- özellikle ilaç ile tedavi edilen ve izlem yaklaşımı uygulanan hastalarda prospektif çalışmaların gerektiği kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

- Ahn, C. S., Han, X., Bae, Y. A., Ma, X., Kim, J. T., Cai, H., ... Kong, Y. (2015). Alteration of immunoproteome profile of *Echinococcus granulosus* hydatid fluid with progression of cystic echinococcosis. *Parasites and Vectors*, 8, 10. <https://doi.org/10.1186/s13071-014-0610-7>
- Ammann, R. W., & Eckert, J. (1996). Cestodes *Echinococcus*. *Gastroenterology Clinics of North America*, 25, 655–689.
- Auer, H., Stöckl, C., Suhendra, S., & Schneider, R. (2009). Sensitivity and specificity of new commercial tests for the detection of specific *Echinococcus* antibodies. *Wiener klinische Wochenschrift*, 121(supplement 3), 37–41. <https://doi.org/10.1007/s00508-009-1233-4>
- Aziz, A., Zhang, W., Li, J., Loukas, A., McManus, D. P., & Mulvenna, J. (2011). Proteomic characterisation of *Echinococcus granulosus* hydatid cyst fluid from sheep, cattle and humans. *Journal of Proteomics*, 74, 1560–1572. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.02.021>
- Barnes, T. S., Deplazes, P., Gottstein, B., Jenkins, D. J., Mathis, A., Siles-lucas, M., ... Heath, D. D. (2012). Challenges for diagnosis and control of cystic hydatid disease. *Acta Tropica*, 123, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.02.066>
- Ben Nour, N., Gianinazzi, C., Gorgii, M., Müller, N., Nouri, A., Babba, H., & Gottstein, B. (2009). Isolation and molecular characterization of recombinant *Echinococcus granulosus* P29 protein (recP29) and its assessment for the post-surgical serological follow-up of human cystic echinococcosis in young patients. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 103, 355–364. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2008.09.020>
- Blyth, C. R., & Still, H. A. (1983). Binomial Confidence Intervals. *Journal of the American Statistical Association*, 78(381), 108–116. <https://doi.org/10.1080/01621459.1983.10477938>
- Bowles, J., Blair, D., & Mcmanus, D. P. (1994). Molecular genetic characterization of the cervid strain ('northern form') of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology*, 109, 215–221.
- Bowles, J., Blair, D., & McManus, D. P. (1992). Genetic variants within the genus

- Echinococcus identified by mitochondrial DNA sequencing. *Molecular and biochemical parasitology*, 54(2), 165–173.
- Brunetti, E., Garcia, H. H., & Junghanss, T. (2011). Cystic Echinococcosis : Chronic , Complex , and Still Neglected. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5(7), e1146. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001146>
- Brunetti, E., & Junghanss, T. (2009). Update on cystic hydatid disease. *Current Opinion in Infectious Disease*, 22, 497–502. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e328330331c>
- Brunetti, E., Kern, P., & Vuitton, D. A. (2010). Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta Tropica*, 114, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.11.001>
- Brunetti, E., Troia, G., Garlaschelli, A. L., Gulizia, R., & Filice, C. (2004). Twenty years of percutaneous treatments for cystic echinococcosis: a preliminary assessment of their use and safety. *Parassitologia (Rome)*, 46, 367–370.
- Budke, C. M., Deplazes, P., & Torgerson, P. R. (2006). Global Socioeconomic Impact of Cystic Echinococcosis. *Emerging Infectious Diseases*, 12(2), 296–303.
- Carmena, D., Benito, A., & Eraso, E. (2006). Antigens for the immunodiagnosis of *Echinococcus granulosus* infection: An update. *Acta tropica*, 98(1), 74–86. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2006.02.002>
- Chemale, G., Haag, K. L., Ferreira, H. B., & Zaha, A. (2001). *Echinococcus granulosus* antigen B is encoded by a gene family. *Molecular and biochemical parasitology*, 116, 233–237.
- Chirag, S., Fomda, B. A., Khan, A., Malik, A. A., Lone, G. N., Khan, B. A., & Zahoor, D. (2015). Detection of hydatid-specific antibodies in the serum and urine for the diagnosis of cystic echinococcosis in patients from the Kashmir Valley , India. *Journal of Helminthology*, 89, 232–237. <https://doi.org/10.1017/S0022149X13000837>
- Craig, P. S., Mcmanus, D. P., Lightowers, M. W., Chabalgoity, J. A., Garcia, H. H., Gavidia, C. M., ... Schantz, P. M. (2007). Prevention and control of cystic echinococcosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 7, 385–394. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(07\)70134-2](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70134-2)
- Craig, P. S., & Nelson, G. S. (1984). The detection of circulating antigen in human

- hydatid disease. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 78(3), 219–227.
- Craig, P. S., Rogan, M. T., & Allan, J. C. (1996). Detection, screening and community epidemiology of teniid cestode zoonoses: cystic echinococcosis, alveolar echinococcosis and neurocysticercosis. *Advances in Parasitology*, 38, 169 – 250.
- Daeki, A. O., Craig, P. S., & 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), 319–328.
- Dekumyoy, P., Riyong, D., Pakdee, W., & Waikagul, J. (2005). Negative-ELISA using native and filtrated cystic fluid antigens to rule out cystic echinococcosis. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 36, 139–145.
- Doiz, O., Benito, R., Sbihi, Y., Osuna, A., Clavel, A., & Gomez-Lus, R. (2001). Western blot applied to the diagnosis and post-treatment monitoring of human hydatidosis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 41, 139–142.
- Eckert, J., & Deplazes, P. (2004). Biological , Epidemiological , and Clinical Aspects of Echinococcosis , a Zoonosis of Increasing Concern. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(1), 107–135. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.1.107>
- Eckert, J., Gemmell, M. A., Matyas, Z., & Soulsby, E. J. L. (1984). *Guidelines for Surveillance Prevention and Control of Echinococcosis/Hydatidosis* (No. VPH/81.28). WHO.
- Eckert, J., Gemmell, M. A., Meslin, F. X., & Pawłowski, Z. S. (2001). *WHO / OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals : a Public Health Problem of Global Concern*. problem of global concern. World Organisation for Animal Health (Office International des Epizooties), Paris, France, and World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- El Fortia, M., El Gatit, A., & Bendaoud, M. (2006). Ultrasound Wall-Sign in Pulmonary Echinococcosis (New Application). *Ultraschall in der Medizin*, 27, 553–557. <https://doi.org/10.1055/s-2006-927232>
- Fathi, S., Jalousian, F., Hosseini, S. H., Najafi, A., Darabi, E., & Koohsar, F. (2018). Design and construction of a new recombinant fusion protein (2b2t+EPC1) and its assessment for serodiagnosis of cystic echinococcosis. *Apmis*, 126(5), 428–439. <https://doi.org/10.1111/apm.12838>

- Fernandez, V., Ferreira, H. B., Fernandez, C., Zaha, A., & Nieto, A. (1996). Molecular characterisation of a novel 8-kDa subunit of *Echinococcus granulosus* antigen B. *Molecular and biochemical parasitology*, 77, 247–250.
- Ferreira, H. B., & Zaha, A. (1994). Expression and analysis of the diagnostic value of an *Echinococcus granulosus* antigen gene clone. *International Journal for Parasitology*, 24(6), 863–870.
- Frosch, P., Hartmann, M., Mühlischlegel, F., & Frosch, M. (1994). Sequence heterogeneity of the echinococcal antigen B. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 64, 171–175.
- Gonzalez-Sapienza, G., Lorenzo, C., & Nieto, A. (2000). Improved immunodiagnosis of cystic hydatid disease by using a synthetic peptide with higher diagnostic value than that of its parent protein, *Echinococcus granulosus* antigen B. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(11), 3979–3983.
- Gottstein, B. (1992). Molecular and Immunological Diagnosis of Echinococcosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 5(3), 248–261.
- Haag, K. L., Alves-Junior, L., Zaha, A., & Ayala, F. J. (2004). Contingent, non-neutral evolution in a multicellular parasite: natural selection and gene conversion in the *Echinococcus granulosus* antigen B gene family. *Gene*, 333, 157–167.
- Hakverdi, S., Culha, G., Canda, M. S., Yaldiz, M., & Altintas, S. (2008). Problem of cystic Echinococcosis in Hatay. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 32, 340–342.
- Hernandez-Gonzalez, A., Muro, A., Barrera, I., Ramos, G., Orduna, A., & Siles-Lucas, M. (2008). Usefulness of Four Different *Echinococcus granulosus* Recombinant Antigens for Serodiagnosis of Unilocular Hydatid Disease (UHD) and Postsurgical Follow-Up of Patients Treated for UHD. *Clinical and Experimental Immunology*, 15(1), 147–153. <https://doi.org/10.1128/CVI.00363-07>
- Hernandez-Gonzalez, A., Sanchez-Ovejero, C., Manzano-Roman, P., Gonzales Sanchez, M., Manuel Gelgado, J., Padro-Garcia, T., ... Siles-lucas, M. (2018). Evaluation of the recombinant antigens B2t and 2B2t, compared with hydatid fluid, in IgG- ELISA and immunostrips for the diagnosis and follow up of CE patients. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12(9), e0006741. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006741>
- Hernandez-Gonzalez, A., Santivanez, S., Garcia, H. H., Rodriguez, S., Munoz, S.,

- Ramos, G., ... Siles-Lucas, M. (2012). Improved serodiagnosis of cystic echinococcosis using the new recombinant 2B2t antigen. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6(7), e1714. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001714>
- Higueta, N. I. A., Brunetti, E., & McCloskey, C. (2016). Cystic Echinococcosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(3), 518–523. <https://doi.org/10.1128/JCM.02420-15>
- Holcman, B., & Heath, D. D. (1997). The early stages of *Echinococcus granulosus* development. *Acta tropica*, 64, 5–17.
- Hosch, W., Junghanss, T., Stojkovic, M., Brunetti, E., Heye, T., Kauffmann, G. W., & Hull, W. E. (2008). Metabolic viability assessment of cystic echinococcosis using high-field ¹ H MRS of cyst contents. *NMR in Biomedicine*, 21, 734–754. <https://doi.org/10.1002/nbm>
- Irabuena, O., Nieto, A., Ferreira, A. M., Battistoni, J., & Ferragut, G. (2000). Characterization And Optimization Of Bovine *Echinococcus granulosus* Cyst Fluid To Be Used In Immunodiagnosis Of Hydatid Disease By ELISA. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 42(5), 255–262.
- Ito, A., Dorjsuren, T., Davaasuren, A., Yanagida, T., Sako, Y., Nakaya, K., ... Chuluunbaatar, G. (2014). Cystic Echinococcoses in Mongolia: Molecular Identification , Serology and Risk Factors. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(6), e2937. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002937>
- Jabbar, A., Swiderski, Z., Mlocicki, D., Beveridge, I., & Lightowlers, M. W. (2010). The ultrastructure of taeniid cestode oncospheres and localization of host - protective antigens. *Parasitology*, 137, 521–535. <https://doi.org/10.1017/S0031182009991260>
- Jiang, L., Zhang, Y., Liu, M., & Feng, Z. (2012). Analysis on the reactivity of five subunits of antigen B family in serodiagnosis of echinococcosis. *Experimental Parasitology*, 131, 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2012.03.009>
- Jin, Y., Anvarov, K., Khajibaev, A., Hong, S., & Hong, S. T. (2013). Serodiagnosis of Echinococcosis by ELISA Using Cystic Fluid from Uzbekistan Sheep. *The Korean Journal of Parasitology*, 51(3), 313–317. <https://doi.org/10.3347/kjp.2013.51.3.313>
- Junghanss, T., Menezes da Silva, A., Horton, J., Chiodini, P. L., & Brunetti, E. (2008).

- Clinical Management of Cystic Echinococcosis : State of the Art , Problems , and Perspectives. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 79(3), 301–311.
- Kabaalioglu, A., Ceken, K., Alimoglu, E., & Apaydin, A. (2006). Percutaneous imaging-guided treatment of hydatid liver cysts: do long-term results make it a first choice? *European Journal of Radiology*, 59, 65–73.
- Kalantari, E., Bandehpour, M., Pazoki, R., Taghipoor-Lailabadi, N., Khazan, H., Mosaffa, N., ... Kazemi, B. (2010). Application of recombinant *Echinococcus granulosus* antigen B to ELISA kits for diagnosing hydatidosis. *Parasitology Research*, 106, 847–851. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-1726-0>
- Kern, P. (2003). *Echinococcus granulosus* infection : clinical presentation , medical treatment and outcome. *Langenbeck's Archives of Surgery*, 388(6), 413–420. <https://doi.org/10.1007/s00423-003-0418-y>
- Kern, P., Menezes da Silva, A., Akhan, O., Vizcaychipi, K. A., Budke, C. M., & Vuitton, D. A. (2017). The Echinococcoses : Diagnosis , Clinical Management and Burden of Disease. *Advances in Parasitology*, 96, 260–369. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.09.006>
- Khabiri, A. R., Bagheri, F., Assmar, M., & Siavashi, M. R. (2006). Analysis of specific IgE and IgG subclass antibodies for diagnosis of *Echinococcus granulosus*. *Parasite Immunology*, 28, 357–362. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2006.00837.x>
- Kilimcioğlu, A. A., Girginkardeşler, N., Korkmaz, M., Özkol, M., Düzgün, F., Östan, I., ... Ok, Ü. Z. (2013). A mass screening survey of cystic echinococcosis by ultrasonography , Western blotting , and ELISA among university students in Manisa , Turkey. *Acta tropica*, 128, 578–583. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.08.010>
- Kilimcioğlu, A. A., Özkol, M., Bayındır, P., Girginkardeşler, N., Östan, İ., & Ok, Ü. Z. (2006). The value of ultrasonography alone in screening surveys of cystic echinococcosis in children in Turkey. *Parasitology International*, 55, 273–275. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2006.07.002>
- Kinkar, L., Laurimäe, T., Sharbatkhori, M., Simsek, S., Lavikainen, A., Irshadullah, M., ... Saarma, U. (2017). New mitogenome and nuclear evidence on the

- phylogeny and taxonomy of the highly zoonotic tapeworm *Echinococcus granulosus* sensu stricto. *Infection, Genetics and Evolution*, 52, 52–57. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.04.023>
- Laurimäe, T., Kinkar, L., Moks, E., Romig, T., Omer, R. A., Casulli, A., ... Saarma, U. (2018). Molecular phylogeny based on six nuclear genes suggests that *Echinococcus granulosus* sensu lato genotypes G6 / G7 and G8 / G10 can be regarded as two distinct species. *Parasitology*, 1–9. <https://doi.org/https://doi.org/10.1017/S0031182018000719>
- Lavikainen, A., Lehtinen, M. J., Meri, T., Hirvelä-Koski, V., & Meri, S. (2003). Molecular genetic characterization of the Fennoscandian cervid strain, a new genotypic group (G10) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology*, 127(Pt 3), 207–215.
- Lawn, S. D., Bligh, J., Craig, P. S., & Chiodini, P. L. (2004). Human cystic echinococcosis: evaluation of post-treatment serologic follow-up by IgG subclass antibody detection. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 70(3), 329–335.
- Leggatt, G. R., & McManus, D. P. (1994). Identification and diagnostic value of a major antibody epitope on the 12 kDa antigen from *Echinococcus granulosus* (hydatid disease) cyst fluid. *Parasite Immunology*, 16, 87–96. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.1994.tb00327.x>
- Li, J., Zhang, W. B., & McManus, D. P. (2004). Recombinant antigens for immunodiagnosis of cystic echinococcosis. *Biological procedures online*, 6(1), 67–77. <https://doi.org/10.1251/bpo74>
- Li, T., Ito, A., Chen, X., Sako, Y., Qiu, J., Xiao, N., ... Craig, P. S. (2010). Specific IgG responses to recombinant antigen B and Em18 in cystic and alveolar echinococcosis in China. *Clinical and Vaccine Immunology*, 17(3), 470–475. <https://doi.org/10.1128/CVI.00466-09>
- Li, T., Ito, A., Pengcuo, R., Sako, Y., Chen, X., Qiu, D., ... Craig, P. S. (2012). Post-Treatment Follow-Up Study of Abdominal Cystic Echinococcosis in Tibetan Communities of Northwest Sichuan Province, China. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5(10), e1364. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001364>
- Li, Y., Xu, H., Chen, J., Gan, W., Wu, W., Wu, W., & Hu, X. (2012). Gene cloning,

- expression, and localization of antigen 5 in the life cycle of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology Research*, 110, 2315–2323. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2766-9>
- Liance, M., Janin, V., Bresson-hadni, S., Vuitton, D. A., Houin, R., & Piarroux, R. (2000). Immunodiagnosis of *Echinococcus* Infections : Confirmatory Testing and Species Differentiation by a New Commercial Western Blot. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(10), 3718–3721.
- Lissandrin, R., Tamarozzi, F., Piccoli, L., Tinelli, C., Silvestri, A. D., Mariconti, M., ... Brunetti, E. (2016). Factors Influencing the Serological Response in Hepatic *Echinococcus granulosus* Infection. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 94(1), 166–171. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0219>
- List, C., Qi, W., Maag, E., Gottstein, B., Müller, N., & Felger, I. (2010). Serodiagnosis of *Echinococcus* spp. Infection: Explorative Selection of Diagnostic Antigens by Peptide Microarray. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 4(8), e771. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000771>
- Lorenzo, C., Ferreira, H. B., Monteiro, K. M., Rosenzvit, M., Kamenetzky, L., Garcia, H. H., ... Gonzalez-Sapienza, G. (2005). Comparative Analysis of the Diagnostic Performance of Six Major *Echinococcus granulosus* Antigens Assessed in a Double-Blind, Randomized Multicenter Study. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(6), 2764–2770. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.6.2764>
- Lorenzo, C., Last, J. A., & Gonzalez-Sapienza, G. (2005). The immunogenicity of *Echinococcus granulosus* antigen 5 is determined by its post-translational modifications. *Parasitology*, 131, 669–677. <https://doi.org/10.1017/S0031182005008309>
- Lymbery, A. J. (2017). *Phylogenetic Pattern, Evolutionary Processes and Species Delimitation in the Genus Echinococcus*. *Advances in Parasitology* (C. 95). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.07.002>
- Macpherson, C. N. L., & Milner, R. (2003). Performance characteristics and quality control of community based ultrasound surveys for cystic and alveolar echinococcosis. *Acta tropica*, 85, 203–209. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(02\)00224-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0001-706X(02)00224-3)
- Mamuti, W., Sako, Y., Nakao, M., Xiao, N., Nakaya, K., Ishikawa, Y., ... Ito, A.

- (2006). Recent advances in characterization of *Echinococcus* antigen B. *Parasitology International*, 55, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2005.11.008>
- Mamuti, W., Yamasaki, H., Sako, Y., Nakao, M., Xiao, N., Nakaya, K., ... Ito, A. (2004). Molecular Cloning , Expression , and Serological Evaluation of an 8-Kilodalton Subunit of Antigen B from *Echinococcus multilocularis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(3), 1082–1088. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.3.1082>
- Manzano-Roman, R., Sanchez-Ovejero, C., Hernandez-Gonzalez, A., Casulli, A., & Siles-Lucas, M. (2015). Serological Diagnosis and Follow-Up of Human Cystic Echinococcosis : A New Hope for the Future ? *BioMed Research International*, 2015, 428205. <https://doi.org/10.1155/2015/428205>
- Marinova, I., Nikolov, G., Michova, A., Kurdova, R., & Petrunov, B. (2011). Quantitative assessment of serum-specific IgE in the diagnosis of human cystic echinococcosis. *Parasite Immunology*, 33, 371–376. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2011.01292.x>
- McManus, D. P., Gray, D. J., Zhang, W., & Yang, Y. (2012). Diagnosis, treatment, and management of echinococcosis. *BMJ*, 344, e3866. <https://doi.org/10.1136/bmj.e3866>
- McManus, D. P., Zhang, W., Li, J., & Bartley, P. B. (2003). Echinococcosis. *The Lancet*, 362, 1295–1304.
- Mcvie, A., Ersfeld, K., Rogan, M. T., & Craig, P. S. (1997). Expression and immunological characterisation of *Echinococcus granulosus* recombinant antigen B for IgG4 subclass detection in human cystic echinococcosis. *Acta tropica*, 67, 19–35.
- Merdivenci, A., & Aydınlioğlu, K. (1982). *Hidatidoz (Hidatik Kist Hastalığı)* (No:2972/97). İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları.
- Mohammadzadeh, T., Sako, Y., Mahmoud, S., Sarkari, B., & Ito, A. (2012). Comparison of the usefulness of hydatid cyst fluid, native antigen B and recombinant antigen B8/1 for serological diagnosis of cystic echinococcosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 106, 371–375. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2012.01.012>

- Moro, P., & Schantz, P. M. (2006). Cystic echinococcosis in the Americas. *Parasitology International*, 55, 181–186. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2005.11.048>
- Morseth, J. (1965). Ultrastructure of Developing Taeniid Embryophores and Associated Structures. *Experimental Parasitology*, 16, 207–216.
- Noya, O., Patarroyo, M. E., Guzman, F., & de Noya, B. A. (2003). Immunodiagnosis of Parasitic Diseases with Synthetic Peptides. *Current Protein & Peptide Science*, 4, 299–308. <https://doi.org/10.2174/1389203033487153>
- Orsten, S., Boufana, B., Ciftci, T., Akinci, D., Karaagaoglu, E., Ozkuyumcu, C., ... Akhan, O. (2018). Human cystic echinococcosis in Turkey : a preliminary study on DNA polymorphisms of hydatid cysts removed from confirmed patients. *Parasitology Research*, 117, 1257–1263.
- Ortona, E., Rigano, R., Margutti, P., Notargiacomo, S., Ioppolo, S., Vaccari, S., ... Siracusano, A. (2000). Native and recombinant antigens in the immunodiagnosis of human cystic echinococcosis. *Parasite immunology*, 22, 553–559.
- Ozekinci, S., Bakir, S., & Mizrak, B. (2009). Evaluation of cystic echinococcosis cases given a histopathologic diagnosis from 2002 to 2007 in Diyarbakir. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 33, 232–235.
- Pagnozzi, D., Addis, M. F., Biossa, G., Roggio, A. M., Tedde, V., Mariconti, M., ... Uzzau, S. (2016). Diagnostic Accuracy of Antigen 5-Based ELISAs for Human Cystic Echinococcosis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(3), e0004585. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004585>
- Pagnozzi, D., Biossa, G., Addis, M. F., Mastrandrea, S., Masala, G., & Uzzau, S. (2014). An Easy and Efficient Method for Native and Immunoreactive Echinococcus granulosus Antigen 5 Enrichment from Hydatid Cyst Fluid. *PLoS ONE*, 9(8), e104962. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104962>
- Rafiei, A., & Craig, P. S. (2002). The immunodiagnostic potential of protoscolex antigens in human cystic echinococcosis and the possible influence of parasite strain. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 96(4), 383–389. <https://doi.org/10.1179/000349802125001195>
- Rigano, R., Ioppolo, S., Ortona, E., Margutti, P., Profumo, E., Ali, M. D., ... Siracusano, A. (2002). Long-term serological evaluation of patients with cystic

- echinococcosis treated with benzimidazole carbamates. *Clinical and Experimental Immunology*, 129, 485–492.
- Riley, E. M., Dixon, J. B., Jenkins, P., & Ross, G. (1986). Riley EM, Dixon JB, Jenkins P, Ross G (1986) *Echinococcus granulosus* infection in mice: host responses during primary and secondary infection. *Parasitology*, 92(pt 2), 391–403.
- Romig, T., Deplazes, P., Jenkins, D., Giraudoux, P., & Massolo, A. (2017). *Ecology and Life Cycle Patterns of Echinococcus Species. Advances in Parasitology* (C. 95). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.11.002>
- Romig, T., Ebi, D., & Wassermann, M. (2015). Veterinary Parasitology Taxonomy and molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus* sensu lato. *Veterinary Parasitology*, 213, 76–84. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.07.035>
- Rott, M. B., Fernandez, V., Farias, S., Ceni, J., Ferreira, H. B., Haag, K. L., & Zaha, A. (2000). Comparative analysis of two different subunits of antigen B from *Echinococcus granulosus*: gene sequences, expression in *Escherichia coli* and serological evaluation. *Acta tropica*, 75, 331–340.
- Sadjjadi, S. M., Mikaeili, F., Karamian, M., Maraghi, S., Sadjjadi, F. S., Shariat-Torbaghan, S., & Kia, E. B. (2013). Evidence that the *Echinococcus granulosus* G6 genotype has an affinity for the brain in humans. *International Journal for Parasitology*, 43, 875–877. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.06.008>
- Sakamoto, T. (1981). Electron Microscopical Observations on the Egg of *Echinococcus multilocularis*. *Memoirs of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University*, 17, 165–174.
- Sarkari, B., & Rezaei, Z. (2015). Immunodiagnosis of human hydatid disease: Where do we stand? *World Journal of Methodology*, 5(4), 185–195. <https://doi.org/10.5662/wjm.v5.i4.185>
- Savardashtaki, A., Mostafavi-pour, Z., & Sarkari, B. (2018). Comparison of the Utility of Recombinant B8/2 Subunit of the Antigen B, Native Antigen, and a Commercial ELISA Kit in the Diagnosis of Human Cystic Echinococcosis. *Iranian Biomedical Journal*, x(x), 1–7.
- Shambesh, M. K., Craig, P. S., Wen, H., Rogan, M. T., & Paolillo, E. (1997). IgG1 and IgG4 serum antibody responses in asymptomatic and clinically expressed cystic echinococcosis patients. *Acta Tropica*, 64, 53–63.

- Siles-Lucas, M., Casulli, A., Conraths, F. J., & Müller, N. (2017). Laboratory Diagnosis of *Echinococcus* spp . in Human Patients and Infected Animals. *Advances in Parasitology*, 96, 159–257. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.09.003>
- Sjölander, A., Guisante, J., Torres-Rodriguez, J., & Schröder, H. (1989). The diagnosis of human hydatidosis by measurement of specific IgE antibody by enzyme immunoassay. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 21(2), 213–218.
- Smego, J. R. A., Bhatti, S., Khaliq, A. A., & Beg, M. A. (2003). Percutaneous aspiration injection-reaspiration drainage plus albendazole or mebendazole for hepatic cystic echinococcosis: a meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases*, 37, 1073–1083.
- Stojkovic, M., Adt, H. M., Rosenberger, K., Boubaker, G., Hernandez-Gonzalez, A., Junghanss, T., ... Siles-Lucas, M. (2017). Follow-up of surgically treated patients with cystic echinococcosis: can novel recombinant antigens compete with imaging? Analysis of a patient cohort. *Tropical Medicine and International Health*, 22(5), 614–621. <https://doi.org/10.1111/tmi.12859>
- Swiderski, Z. (1983). *Echinococcus granulosus*: hook-muscle systems and cellular organisation of infective oncospheres. *International Journal for Parasitology*, 13(3), 289–299.
- Tamarozzi, F., Akhan, O., Cretu, C. M., Vutova, K., Akinci, D., Chipeva, R., ... Casulli, A. (2018). Prevalence of abdominal cystic echinococcosis in rural Bulgaria, Romania, and Turkey : a cross-sectional, ultrasound-based, population study from the HERACLES project. *The Lancet Infectious Diseases*, 3099(18), 1–10. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30221-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30221-4)
- Tamarozzi, F., Sako, Y., Ito, A., Piccoli, L., Grisoli, A., Itoh, S., ... Brunetti, E. (2013). Recombinant AgB8 / 1 ELISA test vs . commercially available IgG ELISA test in the diagnosis of cystic echinococcosis. *Parasite immunology*, 35, 433–440. <https://doi.org/10.1111/pim.12050>
- Tawfeek, G. M., Elwakil, H. S., El-hoseiny, L., Thabet, H. S., Sarhan, R. M., Awad, N. S., & Anwar, W. A. (2011). Comparative analysis of the diagnostic performance of crude sheep hydatid cyst fluid, purified antigen B and its subunit (12 Kda), assessed by ELISA ,in the diagnosis of human cystic echinococcosis.

- Thompson, R. C. A. (2017). *Biology and Systematics of Echinococcus*. *Advances in Parasitology* (C. 95). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.07.001>
- Thompson, R. C. A., & McManus, D. P. (2001). Chapter 1 Aetiology : parasites and life-cycles. In: *Eckert J, Gemmell M, Meslin F-X, Pawlowski Z, eds. WHOI/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. Paris: World Organisation for Animal Health*, 1–19.
- Thompson, R. C. A., & McManus, D. P. (2002). Towards a taxonomic revision of the genus *Echinococcus*. *Trends in parasitology*, 18(10), 452–457. [https://doi.org/10.1016/S1471-4922\(02\)02358-9](https://doi.org/10.1016/S1471-4922(02)02358-9)
- Tiaoying, L., Jiamin, Q., Wen, Y., Craig, P. S., Xingwang, C., Ning, X., ... Schantz, P. M. (2005). Echinococcosis in Tibetan Populations, Western Sichuan Province, China. *Emerging Infectious Diseases*, 11(12), 1866–1873.
- Virginio, V. G., Hernandez, A., Rott, M. B., Monteiro, K. M., Zandonai, A. F., Nieto, A., ... Ferreira, H. B. (2003). A set of recombinant antigens from *Echinococcus granulosus* with potential for use in the immunodiagnosis of human cystic hydatid disease. *Clinical and Experimental Immunology*, 132, 309–3015.
- Wani, R. A., Wani, I., Malik, A. A., Parray, F. Q., Wani, A. A., & Dar, A. M. (2012). Hydatid disease at unusual sites. *IJCR*, 3, 1–6.
- Wellinghausen, N., & Kern, P. (2001). A new ImmunoCAP assay for detection of *Echinococcus multilocularis* -specific IgE. *Acta tropica*, 79, 123–127. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(01\)00087-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0001-706X(01)00087-0)
- WHO Informal Working Group. (2003). International classification of ultrasound images in cystic echinococcosis for application in clinical and field epidemiological settings. *Acta tropica*, 85, 253–261. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(02\)00223-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0001-706X(02)00223-1)
- Yazar, S., Ozkan, A. T., Hokelek, M., Polat, E., Yılmaz, H., Özbilge, H., ... Artış, T. (2008). Cystic echinococcosis in Turkey from 2001–2005. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 32, 208–220.
- Yolasigmaz, A., Reiterova, K., Turk, M., Reyhan, E., Bozdog, A. D., Karababa, A. O., ... Altıntaş, N. (2006). Comparison of serological and clinical findings in turkish

- patients with cystic echinococcosis. *Helminthologia*, 43(4), 220–225.
<https://doi.org/10.2478/s11687-006-0041-x>
- Zarzosa, M. P., Orduna Domingo, A., Gutierrez, P. A., Cuervo, M., Prado, A., Bratos, M. A., ... Torres, A. R. (1999). Evaluation of Six Serological Tests in Diagnosis and Postoperative Control of Pulmonary Hydatid Disease Patients. *Parasitology*, 35, 255–262.
- Zhang, L., & McManus, D. P. (1996). Purification and N-terminal amino acid sequencing of *Echinococcus granulosus* antigen 5. *Parasite immunology*, 18, 597–606.
- Zhang, W., Li, J., & McManus, D. P. (2003). Concepts in Immunology and Diagnosis of Hydatid Disease. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(1), 18–36.
<https://doi.org/10.1128/CMR.16.1.18-36.2003>
- Zhang, W., & Mcmanus, D. P. (2006). Recent advances in the immunology and diagnosis of echinococcosis. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 47(1), 24–41. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2006.00060.x>
- Zhang, W., Wen, H., Li, J., Lin, R., & McManus, D. P. (2012). Immunology and immunodiagnosis of cystic echinococcosis: An update. *Clinical and Developmental Immunology*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/101895>

Ekler

Ek 1: Bilgilendirilmiş Hasta Olur Formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU
LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!
Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.
Bu çalışmanın adı ne?
Kistik Ekinokokkoz Tanısında Doğal ve Rekombinant Antijenlerin Karşılaştırılması
Bu çalışmanın amacı ne?
Kist hidatik (kist hastalığı veya kistik ekinokokkoz (KE) olarak da bilinir) sıklıkla köpek dışkılarıyla atılan parazit yumurtalarının insana bulaşmasıyla oluşan paraziter bir hastalıktır. Klinik ve radyolojik bulgularla kist hidatik şüphesi oluşan hastalarda, kan testleriyle parazite karşı oluşmuş serumdaki antikorlara bakılır. Bunun için yapılan serolojik testlerdeki sorunlardan en önemlileri standardizasyon yokluğu ve testlerin tanıdaki hassaslığı ve doğruluğudur. Yapılan bu çalışmayla KE tanısında, tekrarlanabilir, tanımlanmış rekombinant antijenlerle hassaslığı ve doğruluğu yüksek serolojik tanı testleri geliştirilebilecek, paraziter hastalıkların sık rastlandığı ülkemizde, yalancı KE pozitifliği verebilen paraziter hastalıklardan ayırımı yapılabilecektir.
Size nasıl bir uygulama yapılacak?
Laboratuvarımıza gönderilmiş kan örneğinizde hekiminizin isteği gereği, rutin olarak hastalığa yönelik ELISA IgG ve IHA testleri çalışılmış, sonuçlarınız raporlandırılmış ve serum örneğiniz daha sonraki kontrollerinizde kullanılmak üzere, bir yıl süreyle derin dondurucularda arşive kaldırılmış olacaktır. Çalışmamızda, arşivdeki serum örneğiniz serolojik testlerle çalışılacak ve önceki sonuçlarınızla karşılaştırılacaktır. Sizden yeni kan örneği alınmayacak, kullanılacak serum miktarı sonraki kontrollerinizi etkilemeyecek düzeyde olacaktır. Sağlıklı gönüllü iseniz veya diğer paraziter hastalıkların tanısı için hekiminizin isteği ile daha önce laboratuvarımıza vermiş olduğunuz kan örneğinden elde edilen ve -20°C’de saklanan arşiv serumlarınız ile ekinokokkoza yönelik serolojik testler çalışılacaktır.
Farklı tedaviler için araştırma gruplarına rastgele atanma olasılığı nedir?
Bu tanı yöntemi ile ilgili bir araştırma olup, araştırma amaçlı herhangi bir tedavi uygulanmayacaktır.
Ne kadar zamanınızı alacak?

Çalışmamızda, daha önce tanı için laboratuvarımıza verdiğiniz ve tarafımızdan saklanmış olan kan örneğiniz kullanılacağı için hiç vaktiniz alınmayacaktır.
Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı kaçtır? Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 700'dür.
Sizden alınacak biyolojik materyallere ne olacak ve analizler nerede yapılacak? (analizlerin yurtdışında yapılması durumunda biyolojik materyallerin nereye gönderileceğinin açıklanması), Çalışmamızda, sizden alınmış daha önce alınmış ve -20°C'de saklanmış serum örneğiniz EÜTF Parazitoloji AD Seroloji Laboratuvarında serolojik testlerde (ELISA IgG) çalışılacak ve önceki sonuçlarınızla karşılaştırılacaktır.
Sizden beklenen nedir? Sizin sorumluluklarınız nelerdir? Araştırma ile ilgili olarak daha önce laboratuvarımıza verdiğiniz ve tarafımızdan saklanmış olan kan örneğinizin bu çalışmada kullanılması için onay vermeniz ve varsa şikayetleriniz ile kistin yerleştiği organ ve/veya organlar ile geçirmiş olduğunuz kist hidatik ameliyatları hakkında bilgi vermeniz sizin sorumluluklarınızdır. Bu koşullara uymadığınız durumlarda araştırmacı sizi bilgilendirerek araştırmadan çıkarabilir.
Çalışmaya katılmak size ne yarar sağlayacak? Bu araştırmadan sizin tıbbi olarak doğrudan bir yarar sağlamanız söz konusu değildir. Ancak çalışmadan çıkarılan sonuçlar doğrultusunda KE tanısında, tekrarlanabilir, doğru ve güvenilir serolojik tanı testleri geliştirilebilecektir. Bu da hastalığın doğru tanısında veya tedavi sonrası izlenmesinde yardımcı olabilir.
Araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar nelerdir? Herhangi bir nedenle doktorunuz sizin isteğiniz olmadan ancak bilginiz dahilinde çalışmadan çıkarabilir.
Çalışmaya katılmak size herhangi bir zarar verebilir mi? Bu araştırma için ek bir kan alma veya girişim uygulanmayıp, saklanmış kan örneğiniz kullanılacağından çalışmaya katılmanızın herhangi bir riski veya size zarar vermesi söz konusu değildir.
Eğer katılmak istemezseniz ne olur?

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırıcıyı bilgilendirerek araştırmadan ayrılabilirsiniz.
Size uygulanabilecek olan alternatif yöntemler nelerdir? Yoktur.
Bu çalışmaya katıldığım için bana herhangi bir ücret ödenecek mi? Bu �alışma gönüllülük esasına dayanmaktadır, katılımcılara herhangi bir ücret ödenmemektedir.
Bu çalışmaya katıldığım için ben herhangi bir ücret ödeyecek miyim? Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa �detilmeyecektir.
Bilgilerin gizliliği: Tüm kişisel ve tıbbi bilgileriniz gizli kalacak, sadece bilimsel amaçlarla kullanılacaktır. Araştırma sonuçlarının yayınlanması halinde dahi kimliğiniz gizli kalacaktır.
Bu çalışmanın sorumlusunun iletişim bilgileri 1- Adı, soyadı: Doç. Dr. Derya DÜRÜM ERDOğAN 2- Ulaşılabilir telefon numarası: 0 232 390 47 33 3- Görev yeri: E.�. Tıp Fakültesi Parazitoloji AD.
Çalışmaya Katılma Onayı: Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırıcıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi biliyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum. Bilgilendirilmiş gönüllü olurunun imzalı ve tarihli bir kopyasının bana verileceğini biliyorum.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		
Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		
Araştırma ekibinde yer alan ve araştırma hakkında bilgilendirmeyi yapan yetkin bir araştırmacının		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TELEFONU		
TARİH		

Ek 2: Olgu Rapor Formu

Çalışma Adı: Kistik Ekinokokkoz Tanısında Doğal ve Rekombinant Antijenlerin Karşılaştırılması

Olgu No / Hasta Kodu:

Tarih:

Parazitoloji Protokol No:

Kurum ve Protokol No:

1- Adresi ve Telefonu:

2- Sosyodemografik özellikler

Yaş:

Cinsiyet:

3- Olgunun (varsa) şikayetleri :

Karın ağrısı : ☐

Bulantı-Kusma : ☐

Karın ağrısı + Bulantı-Kusma : ☐

Öksürük : ☐

Öksürük + Kusma : ☐

Kaşıntı : ☐

Alerji : ☐

Diğer : ☐

4- Olguda (varsa) kistin bulunduğu organ/organlar :

Karaciğer : ☐

Akciğer : ☐

Beyin : ☐

Böbrek : ☐

Dalak : ☐

Kemik : ☐

Kas : ☐

Kalp : ☐

Diğer : ☐

5- Olgunun kist hidatik serolojik testlerinin sonuçları:

Tarih	ELISA IgG	Pozitif ☐ (1/)	Negatif : ☐
	IHA	Pozitif ☐ (1/)	Negatif : ☐
	Rekombinant Ag ile ELISA IgG	Pozitif ☐ (1/)	Negatif : ☐

6- İlaç tedavisi uygulanmış mı?: Evet ☐ () Hayır ☐

7- Olgunun varsa geçirdiği kist ekinokokz operasyon(ları) ve tarih(leri): operasyon öyküsü (nerede yapıldı, opere eden doktor vs.)

8- Varsa radyoloji raporları ve tarihleri:

9- Kist hidatiğin ultrasonografik sınıflandırması yapılmış mı? Evet ☐ () Hayır ☐

10- Varsa patoloji raporları ve tarihleri:

Ek 3: Etik kurul onay belgesi



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzurum Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR
Tel:0 232 390 4219 - 373 78 81 Fax: 0232 390 21 34
e-mail: aetik@mail.ege.edu.tr www.aek.med.ege.edu.tr



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kistik Ekinokokkozun Serolojik Tanısı İçin İndirekt Hemaglutinasyon (İHA) Kiti Üretimi				
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Metin KORKMAZ				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI	Parazitoloji				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı				
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-				
	DESTEKLEYİCİ	TÜBİTAK				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. kaynaklardan destek alanlar için)	-				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 ☐ FAZ 2 ☐ FAZ 3 ☐ FAZ 4 ☐ Gözlemsel İlaç Çalışması ☐ Tıbbi Cihaz Klinik Araştırması ☐ İn Vitro Tıbbi Tanı Cihazları ile Yapılan Performans Değerlendirme Çalışmaları ☐ İlaç Dışı Klinik Araştırma ☒ Diğer ise belirtiniz:				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐ ÇOK MERKEZLİ ☒ ULUSAL ☒ ULUSLARARASI ☐					
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	05.01.2015	-	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐		
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	14.01.2015	-	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐		
	OLGU RAPOR FORMU	-	-	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 15-1/49	Tarih: 14.01.2015				
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekeceği amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak Kurulumuzca incelenmiş, araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenilmediği koşullarda başvuru formunda adı geçen merkezlerde araştırmaya başlanmasının etik açıdan uygun bulunduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.					
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU						
ÇALIŞMA ESASI		İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği				
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. Ayşenur OKTAY				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyesi	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İliski (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ayşenur OKTAY Başkan	Radyodiyagnostik	EÜ. Tıp Fakültesi Radyoloji AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Aytül ÖNAL Başkan Yardımcısı	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Suna TOKSAVUL Üye	Protetik Diş Tedavisi	E.Ü. Diş Hek. Fakültesi Protetik Diş Tedavisi AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Sarenur GÖKBEN Üye	Çocuk Nörolojisi	EÜ. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	

Etik Kurul Başkanı'nın Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşenur OKTAY	İMZA	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge No: 22	Revizyon / Tarih: 28.09.2013/95	Sayfa: 1/2
---	------	----------------------------------	--------------	---------------------------------	------------



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

KARAR BİLGİLERİ		Karar Nu : 15- 1/49				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Bölü	Kurumu	Cinsiyeti	İlişkili (*)	Kabılm (**)	İmza
Prof. Dr. Abdullah SAYINER Üye	Göğüs Hastalıkları	EÜ. Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Alman</i>
Prof. Dr. Bülent SEMERCİ Üye	Üroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Üroloji AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Süheyla ALTUĞ ÖZSOY Üye	Halk Sağlığı Hemşireliği	EÜ. Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>[Signature]</i>
Doç. Dr. Murat PEHLİVAN Üye	Biyo fizik	E.Ü. Tıp Fakültesi Biyo fizik AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>[Signature]</i>
Doç. Dr. Çağatay ÜSTÜN Üye	Tıp Tarihi ve Etik	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Etik AD.	E	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	TOPLANTIYA KATILMADI
Doç. Dr. Şafak TANER Üye	Halk Sağlığı	E. Ü. Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>[Signature]</i>
Doç. Dr. Ayşe EROL Üye	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>[Signature]</i>
Yard. Doç. Dr. Gülsün AYGÖRMEZ UĞURLUBAY Üye	Cezai Hukuku	Gediz Üniversitesi Hukuk Fakültesi	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	TOPLANTIYA KATILMADI
Uzm. Ecz. Ebru BEDİR Üye	Eczacı	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>[Signature]</i>
Uzm. Dr. Özlem EKER Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Serbest	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	TOPLANTIYA KATILMADI
Fatma BÜYÜKAKKUŞ Üye	Ziraat Mühendisi	Emekli	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	TOPLANTIYA KATILMADI

* Araştırma ile ilişkili
** Toplantıda Bulunma

ASLI GİBİDİR
EÜTF Klinik Araştırmalar
Etik Kurulu Başkanı

Etik Kurul Başkanı'nın Unvanı/Adı/Soyadı:	İMZA <i>[Signature]</i>	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
			22	28.09.2011/05	2/2



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı
Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı : 99166796-050.06.04
Konu : Kararlar 19-5.2T/71

Sayın, Doçent Doktor Derya DİRİM ERDOĞAN
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı

Kurulumuza başvurusunu yaptığınız "**Kistik Ekinokokkoz Tanısında Doğal ve Rekombinant Antijenlerin Karşılaştırılması**" konulu araştırmanıza ilişkin Kurulumuz kararı ekte sunulmaktadır.

Ayrıca ilgili mevzuat gereği araştırmaya başlama bildiriminin, bir yıllık süreyi aşması durumunda Yıllık Bildirimlerin, Ciddi Advers Olay Bildirimlerinin, bitirme tarihinin ve Sonuç Raporunun Kurulumuza sunulması ve her türlü yazışmanın araştırma tam adı/kodu, karar tarih ve sayısı bildirilerek (Etik Kurul Bilgilendirme Formu ekinde) yapılması gerekmektedir.

Başvuru dosyasının araştırmanın yürütüleceği kuruma iletilerek **kurum iznini gösterir belgenin** alınmasından sonra çalışmaya başlanması ve süreç içinde bu belgenin Kurulumuza iletilmesi gerekmektedir.

Varsa **Biyolojik Materyal Transfer Formu'nun** imzaları tamamlanarak Kurulumuza iletilmesi gerekmektedir. 10.04.2016 tarih ve 29680 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan Tıbbi Laboratuvarlar Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmeliğin 34. maddesinde "**yurtdışına tetkik amaçlı numune gönderme yetkisi sadece ruhsatlı tıbbi laboratuvarlara aittir**" ifadesi yer almakta olup bu madde Klinik Araştırmalar için de yürürlüğe girmiştir. Gönderilen insan kaynaklı biyolojik materyal klinik araştırma için gönderilse bile **ruhsatlı bir tıbbi laboratuvar aracılığı ile** <http://numunetransfer.saglik.gov.tr> adresindeki numune transfer yazılımı kullanılarak gönderilmesi konusuna dikkat edilmelidir.

Yazımızın bir örneğinin varsa diğer araştırma merkezlerine ve destekleyiciye iletilmesi hususunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

e-imzalıdır

Prof. Dr. Aliye MANDIRACIOĞLU
Kurul Başkanı

Ek: İlgili Etik Kurul Kararı (1 Adet aslı gibidir
örneği elden gönderilecektir)

Ege Üniversitesi Rektörlüğü Gençlik Cad. No:12 35040 Bornova/İzmir
Telefon No: +90 (232) 311 21 10 Faks No: +90 (232) 339 90 90
E-Posta: İnternet Adresi: www.ege.edu.tr

Bilgi için: Hasibe TERZİLER
Unvan: Bilgisayar İşletmeni
Telefon No: 2134

Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununa göre Güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır.



EGE ÜNİVERSİTESİ
TIBBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
 Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR
 Tel : 0 232 390 2134 e-mail: tibbetik@yahoo.com
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kistik Ekinokokkoz Tanısında Doğal ve Rekombinant Antijenlerin Karşılaştırılması
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doçent Doktor Derya DİRİM ERDOĞAN
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI	-
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı
	DESTEKLEYİCİ	-
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. kaynaklardan destek alanlar için)	-
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi
	ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU	-
	BİLGİLENDİRME FORMU	-
	VERİ İZLEME FORMU/ ANKET	☐
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒
	DİĞER	☐

KARAR BİLGİLERİ	Karar Nu: 19-5.2T/71	Tarih: 29.05.2019
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak Kurulumuzca incelenmiş, araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenilmediği koşullarda araştırmaya başlanmasının etik açıdan uygun bulunduğuna toplanıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.	

EGE ÜNİVERSİTESİ TIBBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ÇALIŞMA ESASI	Ege Üniversitesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurul Yönergesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Aliye MANDIRACIOĞLU

Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlgili (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Aliye MANDIRACIOĞLU Başkan	Halk Sağlığı AD	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Şafak DAĞHAN Başkan Yardımcısı	Halk Sağlığı Hemşireliği AD.	Ege Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Sadık AKŞİT Üye	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları AD	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	

ASLI GİRİŞİME
EDİTİLMİŞ HALİDE
ETİK KURULU REJİSTERİ

Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Aliye MANDIRACIOĞLU		Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Sayfa 1/2
---	--	----------------------------------	--------------



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR
Tel: 0 232 390 2134 e-mail: tibbiletik@yahoo.com.
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kistik Ekinokokkoz Tanısında Doğal ve Rekombinant Antijenlerin Karşılaştırılması
ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-

KARAR BİLGİLERİ		Karar Nu: 29.05.2019				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlgili (*)	Kabılm (**)	İmza
Prof. Dr. Ayhan DÖNMEZ Üye	İç Hastalıkları	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Murat ULUKUŞ Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Ceyda KABAROĞLU Üye	Klinik Biyokimya BD.	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, Klinik Biyokimya BD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Özen Önen SERTÖZ Raportör Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Günay YETİK ANACAK Üye	Farmakoloji	Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. H. Oya TÜRKOĞLU ÇAKAL Üye	Periodontoloji	Ege Üniversitesi Diş Hek. Fakültesi Periodontoloji AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Recel MESERİ Üye	Beslenme ve Diyetetik AD	Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Tahir ATİK Üye	Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları AD Çocuk Genetik BD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	

- * Araştırma ile İlgili
** Toplantıda Bulunma



Etik Kurul Başkanı'nın Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Aliye MANDIRACIOĞLU		Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu 22	Rev. Tarihi / No.su: 28.09.2011/05	Sayfa 2/2
--	--	----------------------------------	------------------	---------------------------------------	--------------



EGE ÜNİVERSİTESİ
TIBBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
 Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR
 Tel : 0 232 390 2134 e-mail: tibbietik@yahoo.com
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kistik Ekinokokkoz Tanısında Doğal ve Rekombinant Antijenlerin Karşılaştırılması
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doçent Doktor Derya DİRİM ERDOĞAN
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI	-
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı
	DESTEKLEYİCİ	-
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. kaynaklardan destek alanlar için)	-
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi
	ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU	-
	BİLGİLENDİRME FORMU	-
	VERİ İZLEME FORMU/ ANKET	☐
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒
KARAR BİLGİLERİ	DİĞER	☐
	Karar Nu: 19-S.2T/71	Tarih: 29.05.2019
Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak Kurulumuzca incelenmiş, araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenmediği koşullarda araştırmaya bağlanmasının etik açıdan uygun bulunduğuna toplanmış katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.		
EGE ÜNİVERSİTESİ TIBBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU		
ÇALIŞMA ESASI		Ege Üniversitesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurul Yönergesi, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. Aliye MANDIRACIOĞLU

Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlgili (*)	Kabul (**)	İmza
Prof. Dr. Aliye MANDIRACIOĞLU Başkan	Halk Sağlığı AD	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Şafak DAĞHAN Başkan Yardımcısı	Halk Sağlığı Hemşireliği AD.	Ege Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Sadık AKŞİT Üye	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları AD	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	

ASLI GİRİDİR
 EĞİTİM VE ARAŞTIRMA
 ETİK KURULU REKORDU

Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Aliye MANDIRACIOĞLU		Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Sayfa
			1/2



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR
Tel: 0 232 390 2134 e-mail: tibbietik@yahoo.com.
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kistik Ekinokokkoz Tanısında Doğal ve Rekombinant Antijenlerin Karşılaştırılması
ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-

KARAR BİLGİLERİ		Karar Nu: 29.05.2019				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyesi	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlgili (*)	Kabul (**)	İmza
Prof. Dr. Ayhan DÖNMEZ Üye	İç Hastalıkları	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Murat ULUKUŞ Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Ceyda KABAROĞLU Üye	Klinik Biyokimya BD.	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD. Klinik Biyokimya BD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Özen Önen SERTÖZ Raportör Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Günay YETİK ANACAK Üye	Farmakoloji	Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. H. Oya TÜRKOĞLU ÇAKAL Üye	Periodontoloji	Ege Üniversitesi Diş Hek. Fakültesi Periodontoloji AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Recai MESERİ Üye	Beslenme ve Diyetetik AD	Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Tahir ATİK Üye	Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları AD Çocuk Genetik BD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	

- * Araştırma ile ilgili
** Toplantıda bulunma



Etik Kurul Başkanı'nın Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Aliye MANDIRACIOĞLU		Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu 22	Rev. Tarihi / No.su: 28.09.2011/05	Sayfa 2/2
--	--	----------------------------------	------------------	---------------------------------------	--------------

Teşekkür

Doktora tez çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, hoşgörü ve içtenliğiyle yanımda olan ve her türlü yardımı sunan tez danışmanım ve değerli hocam Sayın Doç. Dr. Derya Dirim ERDOĞAN' a

Doktora eğitimim süresince her konuda koşulsuz destek veren, bilgi ve deneyimleriyle gelişimime katkı sağlayan, akademik hayatımda yeri doldurulamayacak değerli hocam Sayın Prof. Dr. Metin KORKMAZ' a

Tez çalışmalarımın çeşitli aşamalarında sonsuz destek sağlayan ve istatistiksel hesaplamalar konusunda yardımcı olan Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Sayın Prof. Dr. Cumhuri GÜNDÜZ' e

Yetişmemde emeği geçen başta Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Ahmet ÜNER olmak üzere tüm öğretim üyelerine,

Tezimin başlangıcından son aşamasına kadar değerli bilgi ve deneyimleriyle katkıda bulunan Tez İzleme Komitesi üyeleri değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Ülgen Zeki OK ve Prof. Dr. M. Ziya ALKAN' a,

Bu süreçte desteklerini esirgemeyen, her daim yanımda olan başta Araş. Gör. Eylem AKDUR ÖZTÜRK, Dr. Aylin BABAOĞLU ve Biyolog Cansu NAÇAR olmak üzere tüm arkadaş ve dostlarıma,

Sevgisi ve desteklerini hiç esirgemeyen, her anımda fedakarca yanımda olan canım annem Hatice İRVASA ve sevgili eşim Özgür BİLGİÇ başta olmak üzere tüm aileme,

Varlığıyla dünyamı değiştiren ve güzelleştiren, tez çalışmam boyunca küçücük yüreği ile bana destek olmaya çalışan oyun arkadaşım, biricik oğlum Ulus BİLGİÇ' e, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İzmir, 4.07.2019

Fatma İRVASA BİLGİÇ

Özgeçmiş

4 Kasım 1988 yılında Kütahya’da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimini Kütahya’da tamamladıktan sonra 2006 yılında Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesinde öğrenimine başladım ve 2011 yılında mezun oldum. Aynı yıl girdiğim Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı’nda 2 yıl araştırma görevlisi olarak görev yaptım. 2013 yılında görevinden ayrılıp İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda araştırma görevlisi olarak işe başladım. Doktora eğitimi almak için Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı’na görevlendirildim. Şu an hala Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı’nda araştırma görevlisi olarak görev yapmaktayım.

E-mail: irvasafatma@ymail.com