

Alveoler Ekinokokkozun Serolojik Tanısında EgHF, Em2 ve EmII/3-10 Antijenleri ile Hazırlanan ELISA Yöntemlerinin Tanısal Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Evaluation of the Diagnostic Value of the ELISA Tests Developed by Using EgHF, Em2 and EmII/3-10 Antigens in the Serological Diagnosis of Alveolar Echinococcosis

Bayram PEKTAŞ¹, Nazmiye ALTINTAŞ², Nezahat AKPOLAT³, Bruno GOTTSTEIN⁴

¹ Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir.

¹ Katip Çelebi University Faculty of Medicine, Atatürk Education and Research Hospital, Medical Microbiology Laboratory, İzmir, Turkey.

² Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Bilim Dalı, İzmir.

² Ege University Faculty of Medicine, Department of Medical Parasitology, İzmir, Turkey.

³ Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır.

³ Dicle University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Diyarbakir, Turkey.

⁴ Bern Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Enstitüsü, Bern, İsviçre.

⁴ University of Bern Faculty of Medicine, Institute of Parasitology, Bern, Switzerland.

Geliş Tarihi (Received): 16.12.2013 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 13.05.2014

ÖZET

Alveoler ekinokokkoz (AE), insanda *Echinococcus multilocularis* larvasının neden olduğu ölümcül paraziter hastalıklardan biri olup, özellikle kuzey yarımküredeki birçok ülkede önemli bir halk sağlığı sorunudur. Ülkemizdeki yaşam koşulları ve halkımızın alışkanlıklarıyla parazitin hayat döngüsü arasındaki etkileşim dikkate alındığında, hastalığın bugüne kadar, büyük çoğunluğu Doğu Anadolu bölgesinden bildirilen olgu serilerinden daha yaygın olduğu düşünülmektedir. AE'nin tanısında, dünyada başarıyla kullanılan özgüllüğü yüksek serolojik tanı yöntemlerinin ülkemizde uygulanmıyor olması, radyolojik olarak karaciğer lezyonları saptanan hastalarda hatalı malignensi tanılarına yol açmaktadır. Bu çalışmada, AE'nin serolojik tanısında, üç farklı antijen (EgHF, Em2, EmII/3-10) kullanılarak hazırlanan laboratuvar yapımı ELISA testlerinin tanısal etkinliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda, testlerin duyarlılık ve özgüllüğünü değerlendirmek amacıyla, Bern Üniversitesi Parazitoloji Enstitüsünden sağlanan, tamamı klinik ve parazitolojik ve/veya histopatolojik olarak doğrulanmış, 10 farklı helmint ile enfekte (*E.multilocularis*, *E.granulosus*, *Taenia solium*, *Wuchereria bancrofti*, *Strongyloides stercoralis*, *Ascaris lumbricoides*, *Toxocara canis*, *Trichinella spiralis*, *Fasciola hepatica*, *Schistosoma haematobium*) 10'ar hasta olmak üzere toplam 100 hastadan alınan serum örnekleri kullanılmıştır. Antijen olarak kullanılan

İletişim (Correspondence): Uzm. Dr. Bayram Pektaş, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Basın Sitesi, 35360 Yeşilyurt, İzmir, Türkiye.
Tel (Phone): +90 232 244 4444, E-posta (E-mail): pektas2000@yahoo.com

EgHF (*E.granulosus hydatid fluid antigen*) laboratuvarımızda kistik ekinokokkozlu koyun karaciğer kist sıvılarından hazırlanmış; Em2 (*E.multilocularis metacystode-purified laminated layer antigen*) ve EmII/3-10 (*E.multilocularis recombinant protoscolex tegument antigen*) ise Bern Üniversitesi Parazitoloji Enstitüsünden sağlanmıştır. Düz tabanlı ELISA plakları; çukur başına antijen konsantrasyonu EgHF, Em2 ve EmII/3-10 için sırasıyla 2.5 µg, 1 µg ve 0.18 µg olacak şekilde kaplanmış ve EgHF-ELISA, Em2-ELISA ve EmII/3-10-ELISA yöntemleri tüm serumlara uygulanmıştır. Her üç test için belirlenen eşik değerinin (negatif kontrollerin OD ortalaması+2 SD) üstünde reaksiyon veren örnekler pozitif kabul edilmiştir. Çalışmada, EgHF, Em2 ve EmII/3-10 antijenleri ile uygulanan ELISA yöntemlerinin duyarlılık değerleri sırasıyla %100, %90 ve %90; özgüllük değerleri ise sırasıyla %63, %91 ve %91 olarak hesaplanmıştır. Em2-ELISA ve EmII/3-10-ELISA ile saptanan pozitiflikler birlikte değerlendirildiğinde ise özgüllüğün %96'ya yükseldiği izlenmiştir. Bu verilere göre, AE'nin serolojik tanısı için üç farklı antijenin kullanıldığı ELISA testlerinin birlikte uygulanması halinde, yüksek duyarlılık (EgHF-ELISA ile %100) ve özgüllüğün (Em2-ELISA + EmII/3-10-ELISA ile %96) sağlanacağı görülmektedir. Sonuç olarak, AE açısından endemik olan ülkemizde, büyük ölçüde görüntüleme yöntemleriyle tanımlanan AE'nin erken ve doğru tanısında, Em2-ELISA ve EmII/3-10-ELISA gibi özgüllüğü yüksek serolojik yöntemlerin güvenle kullanılabileceği ve radyolojik verilere önemli katkıda bulunacağı kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Alveoler ekinokokkoz; serolojik tanı; ELISA.

ABSTRACT

Alveolar echinococcosis (AE), caused by larva stage of *Echinococcus multilocularis*, is one of the lethal parasitic diseases of man and a major public health problem in many countries in the northern hemisphere. When the living conditions and habits in Turkey were considered in terms of relation with the life cycle of the parasite, it was suggested that AE has been much more common than reported mainly from the Eastern Anatolia region of Turkey. Since in vitro serologic diagnosis tests with high specificity for AE have not been used in our country, most of the cases with liver lesions were misdiagnosed by radiological investigations as malignancies. The aim of this study was to evaluate the diagnostic value of the in-house ELISA methods developed by using three different antigens (EgHF, Em2, EmII/3-10) in the serological diagnosis of AE. The study samples included a total of 100 sera provided by Bern University Parasitology Institute where samples were obtained from patients with helminthiasis and all were confirmed by clinical, parasitological and/or histopathological means. Ten samples from each of the cases infected by *E.multilocularis*, *E.granulosus*, *Taenia solium*, *Wuchereria bancrofti*, *Strongyloides stercoralis*, *Ascaris lumbricoides*, *Toxocara canis*, *Trichinella spiralis*, *Fasciola hepatica* and *Schistosoma haematobium* were studied. In the study, EgHF (*E.granulosus hydatid fluid*) antigens were prepared in our laboratory from the liver cyst fluids of sheeps with cystic echinococcosis, however Em2 (*E.multilocularis metacystode-purified laminated layer*) and EmII/3-10 (*E.multilocularis recombinant protoscolex tegument*) antigens were provided by Bern University Parasitology Institute. Flat bottom ELISA plates were covered with EgHF, Em2 and EmII/3-10 antigens in the concentrations of 2.5 µg, 1 µg and 0.18 µg per well, respectively, and all sera were tested by EgHF-ELISA, Em2-ELISA and EmII/3-10-ELISA methods. For each tests, the samples which were reactive above the cut-off value (mean OD of negative controls+2 SD) were accepted as positive. The sensitivity of the ELISA tests performed with EgHF, Em2 and EmII/3-10 antigens were estimated as 100%, 90% and 90%, respectively, whereas the specificity were 63%, 91% and 91%, respectively. When Em2-ELISA and EmII/3-10-ELISA tests were evaluated together, the specificity increased to 96%. Our data indicated that the highest sensitivity (100% with EgHF-ELISA) and specificity (96% with Em2-ELISA + EmII/3-10-ELISA) for the serodiagnosis of AE can be achieved by the combined use of the ELISA tests with three different antigens. It was concluded that the early and accurate diagnosis of AE in our country which is endemic for that disease, could be supported by the use of highly specific serological tests such as Em2-ELISA ve EmII/3-10-ELISA contributing radiological data.

Key words: Alveolar echinococcosis; serological diagnosis; ELISA.

GİRİŞ

Echinococcus multilocularis'in neden olduğu alveoler ekinokokkoz (AE)'un tanısı, temel olarak paraziter lezyonların görüntüleme yöntemleriyle tanımlanmasına ve özgül serum antikorlarının serolojik olarak saptanmasına dayanmaktadır¹. Karaciğerinde tümör benzeri lezyon saptanan hastaların, operasyon öncesi yalnızca radyolojik ve biyokimyasal tetkiklerle değerlendirilmesi, AE'li hastaların hepatoma, hepatoselüler karsinoma, hemanjiyom veya karaciğerde kitle ön tanılarıyla yanlış değerlendirilmelerine neden olabilmektedir². AE'nin tanısında, dünyada başarıyla kullanılan özgüllüğü yüksek serolojik tanı yöntemlerinin ülkemizde uygulanmıyor olması, karaciğer lezyonlarının çoğunlukla malignite lehine yorumlanmasına yol açmaktadır. Nitekim, ülkemizde yapılan birçok retrospektif çalışmada, histopatolojik olarak tanı konmuş AE olgularının klinik ön tanıları incelendiğinde, çok azında AE düşünüldüğü ve sonradan kanıtlanmış birçok olguya malign tümör ön tanısı ile yaklaşıldığı görülmektedir³⁻¹⁰. Dolayısıyla hızlı ve doğru tanı, gerek tedaviye erken başlanması ve tedavinin başarısı, gerekse karaciğerde oluşacak hasarların önlenmesi açısından son derece önemlidir.

Özgül tanı aşamasındaki eksiklikler, benzer radyolojik bulgulara sahip hastaların olası tanıları arasında AE'nin hesaba katılmadığını ve AE tanısı almış hastaların buzdığının yalnızca üst kısmını oluşturduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle, hastaların AE yönünden erken dönemde doğru olarak tanımlanması için, duyarlılık ve özgüllüğü yüksek olan serolojik yöntemlerle değerlendirilmeleri gerekmektedir. Serolojik testler, AE'nin tanısında, *E.granulosus*'un neden olduğu kistik ekinokokkoz (KE)'a kıyasla daha güvenilir olmaktadır. KE tanısında kullanılan Ag5 ve AgB antijenlerinin, diğer parazitlerin benzer molekülleriyle ortak epitoplara sahip olmasından ve KE hastalarının büyük oranının tüm majör *E.granulosus* antijenlerine karşı seronegatif olmasından dolayı, KE'nin serolojik tanısı AE'deki kadar özgül ve duyarlı olmamaktadır¹¹. AE tanısında kullanılan testlerin duyarlılığı %82-97 arasında olup, saflaştırılmış ve/veya rekombinant özgül antijenler kullanıldığında özgüllüğü oldukça yüksek (%94-100) düzeylere ulaşmaktadır^{12,13}.

Bu çalışmada, helmint enfeksiyonu olan hastaların serum örneklerinde üç farklı ekinokok antijenin (EgHF, Em2, Em11/3-10) kullanıldığı laboratuvar yapımı ELISA testlerinin, tek başına ya da birlikte değerlendirildiklerinde tanısal etkinliklerinin incelenmesi ve çapraz reaksiyonların araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Serum Örnekleri

Çalışmamızda, Bern Üniversitesi Parazitoloji Enstitüsünden sağlanan, klinik-parazitolojik ve/veya histopatolojik olarak tanısı doğrulanmış farklı helmint enfeksiyonları olan 100 hasta serumu kullanıldı. Serum örnekleri, her birinden 10'ar adet olmak üzere; *E.granulosus*, *E.multilocularis*, *Taenia solium*, *Wuchereria bancrofti*, *Strongyloides stercoralis*, *Ascaris lumbricoides*, *Toxocara canis*, *Trichinella spiralis*, *Fasciola hepatica* ve *Schistosoma haematobium* ile enfekte hastalardan alındı.

Antijenler

Çalışmada kullanılan EgHF (*E.granulosus hydatid fluid antigen*) antijeni laboratuvarımızda hazırlandı; Em2 (*E.multilocularis metacestode-purified laminated layer antigen*) ve EmII/3-10 (*E.multilocularis recombinant protoscolex tegument antigen*) ise Bern Üniversitesi Parazitoloji Enstitüsünden sağlandı. EgHF antijeninin hazırlanmasında; mezbahadan alınan KE'li koyun karaciğeri laboratuvarımıza getirilerek kist sıvısı fertil kistlerden enjektörle steril şartlarda aspire edildi. Daha sonra tüplere bölünerek protoskolekslerin ve diğer partiküllerin çökmesi için 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip, üstteki sıvı kullanılmak üzere ayrıldı.

ELISA Yöntemi

Düz tabanlı ELISA plakları; EgHF, Em2 ve EmII/3-10 antijenleriyle, çukur başına protein konsantrasyonu sırasıyla 2.5 µg, 1 µg ve 0.18 µg olacak şekilde kaplama solüsyonu ile 1/100 oranında sulandırılarak, her çukurda 100 µl olacak şekilde kaplandı. Plakların üzeri, buharlaşma ile olacak kayıpları önlemek için parafilmle örtüldü ve 4°C'de 16 saat bekletildi.

Bir gün önce antijenle kaplanmış plaklar test günü içeriği dökülerek üç kez yıkama tampon solüsyonuyla yıkandı. Çukur başına 100 µl olacak şekilde %0.5 sığır hemoglobini solüsyonu eklendi ve 30 dakika 37°C'de inkübe edildi. Pozitif ve negatif kontrol serumlarıyla test edilecek serum örnekleri, %0.5 sığır hemoglobini içeren serum ve konjuge sulandırım tamponu ile 1/100 oranında sulandırıldı; bloke edilmiş (blocking) plaklara 100 µl aktarıldı. Plaklar 37°C'de 30 dakika bekletildi ve sonra tüm çukurlar 200 µl yıkama tampon solüsyonuyla 3 kez yıkandı. Konjuge; serum ve konjuge tampon solüsyonuyla 1/5000 oranında sulandırılarak her bir çukura 100 µl eklenerek 37°C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Plaklar 200 µl yıkama tampon solüsyonuyla 3 kez yıkandıktan sonra, taze olarak hazırlanan substrat solüsyonu, test plağının her çukuruna 100 µl olacak şekilde ilave edildi. 37°C'de 15 dakika inkübasyondan sonra her çukura 100 µl 3 N NaOH ilave edilerek reaksiyon durduruldu ve plaklar, ELISA okuyucusu (İsviçre'deki çalışmalarda Dynatech MR7000 ile; Türkiye'deki çalışmalarda Titertek Multiskan Plus MK II ile) ile 405 nm'de okutuldu.

Testte kullanılacak eşik (cut-off) değerinin hesaplanması için negatif kontrol serumlarının optik dansite (OD) ortalamasına 2 standart deviasyon (SD) eklendi. EgHF-ELISA, Em2-ELISA ve EmII/3-10-ELISA yöntemleri tüm serumlara uygulandı ve her üç test için belirlenmiş eşik değerinin üstünde reaksiyon gösteren serum örnekleri pozitif kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamızda, AE'nin serolojik tanısında kullanılmak üzere test edilen üç ayrı antijenin duyarlılık ve özgüllük oranlarını hesaplamak ve çapraz reaksiyonları değerlendirmek için 10 farklı helmint ile enfekte 10'ar hasta serumu kullanılmıştır (Tablo I). Klinik-parazitolojik ve/veya histopatolojik olarak helmint enfeksiyonu kanıtlanmış olgularda, EgHF-ELISA, Em2-ELISA ve EmII/3-10-ELISA yöntemleri için hesaplanan duyarlılık ve özgüllük değerleri Tablo II'de görülmektedir.

Tablo I. Farklı Helmintlerle Enfekte Olan Hastaların Serum Örneklerinde, EgHF, Em2 ve EmII/3-10 ELISA Testleri ile, Ayrı Ayrı ve Birlikte Saptanan Pozitif Sonuçların Dağılımı

Etken (Örnek sayısı)	Pozitif saptanan örnek sayısı				
	EgHF	Em2	EmII/3-10	Em2 + EmII/3-10	EgHF + Em2 + EmII/3-10
<i>E.multilocularis</i> (10)	10	9	9	9	9
<i>E.granulosus</i> (10)	10	5	1	1	1
<i>T.solium</i> (10)	4	0	1	0	0
<i>W.bancrofti</i> (10)	7	0	1	0	0
<i>S.stercoralis</i> (10)	6	0	2	0	0
<i>A.lumbricoides</i> (10)	3	0	0	0	0
<i>T.canis</i> (10)	1	0	1	0	0
<i>T.spiralis</i> (10)	0	0	0	0	0
<i>F.hepatica</i> (10)	0	0	0	0	0
<i>S.haematobium</i> (10)	2	3	2	2	1

Tablo II. EgHF, Em2 ve EmII/3-10 Antijenlerinin Kullanıldığı ELISA Testlerinin Ayrı Ayrı ve Birlikte Değerlendirildiğinde Hesaplanan Özgüllük ve Duyarlılık Değerleri

Yöntem	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
EgHF-ELISA	100	63
Em2-ELISA	90	91
EmII/3-10-ELISA	90	91
Em2 + EmII/3-10-ELISA	90	96
EgHF + Em2 + EmII/3-10-ELISA	90	97

İki yöntemin (Em2-ELISA + EmII/3-10-ELISA) sonuçlarının birlikte pozitif olduğu olgu sayısı değerlendirildiğinde, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %90 ve %96 olarak saptanmış; üç yöntemin (EgHF-ELISA + Em2-ELISA + EmII/3-10-ELISA) sonuçlarının birlikte pozitif olduğu olgular dikkate alındığında ise duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %90 ve %97 olarak hesaplanmıştır (Tablo II).

TARTIŞMA

Alveoler ekinokokkoz (AE) olguları, doğru tanımlanamadıkları için erken tedavi edilememekte, bunun sonucu olarak morbidite ve mortalite oranları yükselmekte ve ekonomik kayıplar ortaya çıkmaktadır^{14,15}. Her ne kadar hastalığın, kuzey yarımküre (Kuzey Amerika, Avrasya ve Akdeniz bölgesi) ülkelerinde sınırlı olduğu belirtiliyorsa da, son zamanlarda elde edilen veriler *E.multilocularis*'in düşünüldüğünden daha yaygın olduğunu ortaya koymakta ve ülkemiz yüksek endemik bölgeler arasında gösterilmektedir¹⁶. AE

olgularının pik yaptığı yaş grubu KE'ye göre anlamlı düzeyde yüksek olup (45-75 yaş), bu aralık ülkemiz için 31-46 yaş olarak verilmektedir^{10,15}. Hastalığın cinsiyet dağılımı yönünden ise önemli bir fark göstermediği ifade edilmektedir^{10,15}.

Hastalığın gerek semptomatik gerekse asemptomatik döneminde, görüntüleme yöntemleriyle kitle lezyonu saptanan hastalarda etiyolojinin belirlenmesi veya tipik lezyonu olmayan hastalarda ayırıcı tanının yapılması, serum antikorlarının saptanmasına yönelik serolojik testlerle mümkün olmaktadır². AE'nin serolojik tanısında önceleri, *E.granulosus* ile *E.multilocularis* arasında görülen çapraz reaksiyondan dolayı ham (*crude*) *E.granulosus* kist sıvısı antijenleri ve *E.multilocularis* metasestod doku ekstratları kullanılmıştır. Ham antijenlerle yapılan serolojik testlerin özgüllüğü, birçok paraziter hastalıkta çapraz reaksiyon göstermesi nedeniyle düşüktür. Gottstein ve arkadaşlarının¹² 1985 yılında *E.multilocularis*'e özgül Em2 antijenini saflaştırması; Müller ve arkadaşlarının¹⁷ ise 1989 yılında rekombinant EmII/3-10 antijenini üretmesi ve bu antijenlerin serolojik yöntemlerde *E.multilocularis* enfeksiyonuna karşı yüksek özgüllüğünün gösterilmesiyle AE'nin serolojik tanısı ile ilgili özgüllük problemleri aşılmıştır¹⁸. Almanya'da yapılan çalışmalarda, 2560 kişinin taranması sonunda bir aktif AE olgusu ile serolojik olarak pozitif 47 olgu tanımlanmış; 30 ay boyunca serolojik ve ultrasonografik olarak takip edilen 36 seropozitif olguda, serolojik sonuçlarda minör değişiklikler dışında başka bir değişiklik gözlenmemiştir^{19,20}. Araştırmacılar, aktif AE lezyonu olmamasına rağmen seropozitifliğin devam etmesinin; ultrasonografik olarak henüz saptanmayan AE'nin erken belirtisi, *E.multilocularis*'e karşı immünite veya özgül olmayan serolojik reaksiyonla ilişkilendirilebileceğini ve seropozitif olan veya endemik bölgelerde yaşayan kişilerin 2-3 yıllık aralarla takip edilmesinin yeterli olacağını ifade etmişlerdir²⁰.

Gottstein ve arkadaşları²¹, 140 aktif hepatik AE hastasının serum örneklerini, EgHF, Em2 ve EmII/3-10 antijenlerini kullandıkları ELISA yöntemiyle taramışlar ve en yüksek duyarlılığı EgHF-ELISA (%97.1) ile saptarken, Em2-ELISA ve EmII/3-10-ELISA'nın duyarlılıklarını daha düşük (sırasıyla %89.3 ve %86.4) bulmuşlardır. Bu antijenlere karşı çeşitli paraziter hastalıkların (KE, fascioliasis, schistosomiasis, cysticercosis, taeniasis, nematod enfeksiyonlu hastalar) çapraz reaksiyonları değerlendirildiğinde; Em2 antijenine karşı hiç çapraz reaksiyon gözlenmezken, EmII/3-10 antijenine karşı sistiserkozlu hasta serumlarında %15 oranında, EgHF antijenine karşı ise tüm hasta serumlarında yüksek oranda çapraz reaksiyon saptanmıştır. Buna göre araştırmacılar, EgHF, Em2 ve EmII/3-10 ELISA yöntemlerinin özgüllüklerini sırasıyla %61.4, %100 ve %98.4 olarak bildirmişlerdir²¹. Bizim çalışmamızda ise, EgHF, Em2, EmII/3-10 antijenleriyle uygulanan ELISA yöntemlerinin duyarlılıkları sırasıyla %100, %90 ve %90 olarak hesaplanmış, Gottstein ve arkadaşlarının²¹ duyarlılık değerleriyle uyumlu bulunmuştur. Saptanan özgüllük değerleri ise sırasıyla; %63, %91 ve %91 olup, KE'li 5 (%50) ve şistozomiyazisli 3 (%30) hasta Em2-ELISA ile pozitif olarak değerlendirilmiştir. EmII/3-10-ELISA ile KE'li 1 (%10), sistiserkozlu 1 (%10), şistozomiyazisli 2 (%20), filaryazisli 1 (%10), toksokariyazisli 1 (%10) ve strongiloidozlu 2 (%20) hasta serumu çapraz reaksiyon vermiştir (Tablo I). Em2-ELISA ve EmII/3-10-ELISA ile saptanan pozitiflikler birlikte değerlendirildiğinde, KE'li 1 (%10), şistozomiyazisli 2 (%20) hastada çapraz reaksiyon gözlenmiş ve özgüllüğün %96 olduğu

bulunmuştur (Tablo II). Hem Gottstein ve arkadaşlarının²¹ çalışması, hem de bizim çalışmamızın sonuçları, Em2-ELISA ve EmII/3-10-ELISA'nın AE'nin serolojik tanısında oldukça yüksek özgüllüğe sahip olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda, EgHF-ELISA'nın en yüksek duyarlılık (%100) ve en düşük özgüllüğe (%63), Em2-ELISA ve EmII/3-10-ELISA'nın ise en yüksek özgüllüğe (%91) sahip olduğu belirlenmiştir. Bu verilerin ışığı altında AE'nin serolojik tanısı için üç farklı antijenin kullanıldığı ELISA yöntemlerinin birlikte uygulanması halinde, gerek duyarlılık gerekse özgüllüğün yükseleceği açıkça görülmektedir. Ayrıca, her ne kadar yaygınlığı hakkında gerçek verilere sahip olmasak da, yapılacak taramalarda tahmin edilenin çok üstünde yaygın bulunacağını düşündüğümüz, önemli bir sağlık sorunu ve yaşamı tehdit edici ciddi tablolar oluşturan AE'nin erken ve kesin tanısında, Em2-ELISA ve EmII/3-10-ELISA gibi özgüllüğü yüksek serolojik yöntemlerin uygulanmasının radyolojik verilere son derece yardımcı olacağı açıktır. Ek olarak, asemptomatik olguların erken evrede belirlenerek, hem mortalite hem de hastalık maliyetini düşürmek için, özellikle yüksek risk altındaki popülasyonlarda serolojik yöntemlere dayalı kitle tarama programlarının, ülkemizin sağlık politikasında yer alması gerektiği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Korkmaz M. Toxocariasis ve alveoler echinococcosis. *Klinik Derg* 2003; 16(1): 184-5.
2. Eckert J, Conraths FJ, Tackmann K. Echinococcosis: an emerging or re-emerging zoonosis? *Int J Parasitol* 2000; 30(12-13): 1283-94.
3. Çiftçioğlu MA. Erzurum yöresinde ekinokokkozis sorunu (289 olgu). *Türkiye Ektopatoloji Derg* 1995; 1(3-4): 87-93.
4. Dursun A, Dizbay Sak S, Üstün H ve ark. Ankara bölgesinde ekinokokkozis sorunu (1484 olgu). *Türkiye Ektopatoloji Derg* 1995; 1(3-4): 81-6.
5. Canda ŞM, Canda T. Türkiye ekinokokkozis haritası ve kaynakçası. *Türkiye Ektopatoloji Derg* 1995; 1(3-4): 59-69.
6. Kurt A, Palancı A. *Echinococcus alveolaris* (29 new cases). *Türkiye Ektopatoloji Derg* 1995; 1(3-4): 136-9.
7. Öztekin İ. Ekinokokkus alveolaris parazitliği (13 olgu). *Türkiye Ektopatoloji Derg* 1995; 1(3-4): 140-3.
8. Altıntaş N. Past to present: echinococcosis in Turkey. *Acta Tropica* 2003; 85(2): 105-12.
9. Altıntaş N, Pektaş B, Gottstein B, Akpolat N, Karababa AO. Investigation of alveolar echinococcosis in human under high risk infection in Turkey. 21st International Congress of Hydatidology, 16-21 August 2004, Nairobi, Kenya. Kongre Kitabı, s: 173, P03-10.
10. Altıntaş N, Yazar S, Yolaşmaz A ve ark. Türkiye'de 1980-1998 yılları arasında saptanan alveolar echinococcosis olguları. *Türkiye Parazitoloji Derg* 1999; 23(2): 133-6.
11. Ito A, Ma L, Schantz PM, et al. Differential serodiagnosis for cystic and alveolar echinococcosis using antigen fractions of *Echinococcus granulosus* cyst fluid (antigen B) and *E. multilocularis* protoscolex (EM18). *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60(2): 188-92.
12. Gottstein B. Purification and characterization of a specific antigen from *Echinococcus multilocularis*. *Parasite Immunol* 1985; 7(3): 201-12.
13. Temiz A, Özaydın M, Müderriszade M, Yıldız M, Hakverdi S. Diyarbakır yöresinde ekinokokkozis sorunu (158 olgu). *Türkiye Ektopatoloji Derg* 1995; 1(3-4): 104-9.
14. Yazar S, Altıntaş N. İnsanda alveolar echinococcosis (AE)'in tedavisi. *Türkiye Parazitoloji Derg* 1999; 23(3): 262-6.

15. Pawlowski ZS, Eckert J, Vuitton DA, et al. Echinococcosis in humans: clinical aspects, diagnosis and treatment, pp: 47-58. In: Eckert J, Gemmell MA, Meslin F-X, Pawlowski ZS (eds), WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: A Public Health Problem of Global Concern. 2001, World Health Organization/World Organization for Animal Health, Paris.
16. Eckert J, Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. Clin Microbiol Rev 2004; 17(1): 107-35.
17. Müller N, Gottstein B, Vogel M, Flury K, Seebeck T. Application of a recombinant *Echinococcus multilocularis* antigen in an enzyme-linked immunosorbent assay for immunodiagnosis of human alveolar echinococcosis. Mol Biochem Parasitol 1989; 36(2): 151-9.
18. Schweiger A, Grimm F, Tanner I, et al. Serological diagnosis of echinococcosis: the diagnostic potential of native antigens. Infection 2012; 40(2): 139-52.
19. Romig T, Kratzer W, Kimmig P, et al. An epidemiologic survey of human alveolar echinococcosis in southwestern Germany. Römerstein Study Group. Am J Trop Med Hyg 1999; 61(4): 566-73.
20. Jensen B, Reuter S, Kratzer W, et al. Long-term seropositivity against *Echinococcus multilocularis* in an epidemiological follow-up study in southwestern Germany (Römerstein). Infection 2001; 29(6): 310-4.
21. Gottstein B, Jacquier P, Bresson-Hadni S, Eckert J. Improved primary immunodiagnosis of alveolar echinococcosis in humans by an enzyme-linked immunosorbent assay using the Em2plus antigen. J Clin Microbiol 1993; 31(2): 373-6.