

**TİCARİ VE KENDİ HAZIRLADIĞIMIZ *ECHINOCOCCUS* IgG ELISA İLE
KİST HİDATİKLİ HASTALARDA OPERASYON ÖNCESİ VE SONRASI
TOTAL IgG YANITLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

Hasan AYÇİÇEK¹ Yusuf PEKER² Mehmet YAŞAR² Mehmet TANYÜKSEL¹
Nail ERSÖZ² Ali AKDENİZ² Tarık ÜNSAL²

ÖZET

Bu çalışmada insan kistik ekinokokkozis'inin (CE) serodiagnozu amacıyla radyolojik ve klinik olarak kesin tanısı konulmuş CE'li 18, diğer helmintler (*Trichuris trichiura*, *Enterobius vermicularis*, *Toxocara canis* (visceral larva migrans), *Taenia saginata*, *Schistosoma haematobium* ve *Ascaris lumbricoides*) ile infekte toplam 60 ve kontrol grubu olarak sağlıklı 100 kişiden toplanan serumlarda, ticari *E.granulosus* ELISA ve koyun karaciğer kist sıvı antijeni ile hazırladığımız ELISA protokolü ile total IgG antikorları aranmıştır. Çalışmada esas olarak kendi hazırladığımız *E.granulosus* ELISA kitinin standardize edilerek rutin uygulamaya konulması hedeflenmiştir. Ameliyatı takip eden birinci ve üçüncü aylarda IgG değerlerinde yükselme görülmüşken, onikinci ve ondokuzuncu aylarda bu değerlerin operasyon öncesi değerlerinin de altına indiği belirlenmiştir.

Ticari ve kendi hazırladığımız ELISA kitlelerine ait sonuçların yapılan istatistiksel analizinde (Mann-Whitney U testi) anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$). Elde edilen sonuçlar, koyun karaciğer kist sıvısı kullanılarak standardize edilen ELISA kitinin rutin olarak CE'nin serodiagnozunda kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: Kistik ekinokokkozis, ELISA, koyun kist sıvı antijeni

**EVALUATION OF PRE-AND POSTOPERATIVE TOTAL IgG RESPONSES
IN PATIENTS WITH CYSTIC HYDATIDOSIS USING COMMERCIAL AND
IN-HOUSE *ECHINOCOCCOSIS* IgG ELISA****SUMMARY**

In this study for the serodiagnosis of human Cystic echinococcosis (CE) 18 sera from radiological-clinical diagnosed patients with CE, 60 patients infected with various helminths (*Trichuris trichiura*, *Enterobius vermicularis*, *Toxocara canis*, *Taenia saginata*, *Schistosoma haematobium*, and *Ascaris lumbricoides*), and 100 sera from healthy persons were investigated for existence of total IgG antibodies, by commercial and in-house *E.granulosus* ELISA kits from sheep. The aim of present study was to standardize in-house *E.granulosus* ELISA kit for routine laboratory tests. Pre-and postoperative IgG values evaluated with both tests. In 1st-3rd months following the operation increase in IgG values was observed whereas, the decrease was observed in 12th and 19th months, which were below the preoperative IgG values.

There was no significant difference (Mann-Whitney U test) between commercial and in-house ELISA kits ($p>0.05$). These data revealed that the in-house ELISA kit which were prepared by using sheep liver cyst fluid antigens could be used in serodiagnosis of CE.

Key words: Cystic echinococcosis, ELISA, sheep cyst fluid antigen

¹ GATA, Mikrobiyoloji ve Kl. Mik. A.D. Parazitoloji B.D., Etilik, Ankara

²GATA, Genel Cerrahi A.D. Etilik, Ankara

Geliş tarihi: 22.05.2000 Kabul edilmiş tarihi: 26.10.2000

Yazışma Adresi: Dr. Hasan AYÇİÇEK, GATA, Mikrobiyoloji ve Kl. Mik. A.D. Parazitoloji B.D., Etilik, Ankara

GİRİŞ

Hidatitozis, *E. granulosus*'un larvalarından ileri gelen dünyada yaygın olan önemli zoonozlardan biridir. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde sağlık ve iş gücü kaybı ile birlikte ekonomik sorunlarla güncelliğini korumaktadır. Hastalık etkeni *E. granulosus*'un olgunları köpek, kurt, çakal gibi karnivorların ince bağırsaklarında, larvası olan hidatik kist ise insan, koyun, keçi, sığır, domuz gibi memelilerin sıklıkla karaciğer ve akciğer olmak üzere çeşitli organ ve dokularında bulunmaktadır (1,2).

Türkiye'de kist hidatiğin yaygınlığı devam etmekte, daha önce yaygın bulunduğu belirtilen Kıbrıs, İzlanda ve Avustralya gibi ülkelerde ise başarılı kontrol programları ile hastalığın önüne geçilebilmektedir (3).

Son yıllarda bilgisayarlı tomografi, magnetik rezonans ve ultrasound görüntüleme yöntemleri ile hastalığın tanısına yönelik girişimlerin önemine dikkat çekilmekte ise de ön tanının desteklenmesi, sonuçların doğrulanması, komplike olguların içinden çıkılması ve operasyon sonrası nükslerin takibi için serolojik tanı yöntemlerinin uygulanması gerekmektedir. Bazı kişilerde kistin büyüklüğüne, lokalizasyonuna, yapısına, canlılığına ve kişinin immün sistem aktivitesine bağlı olarak antikor oluşmadığı, bu nedenle negatif serolojik test sonuçlarına bakılarak hidatitoz tanısından uzaklaşılmasının uygun olmayacağı vurgulanmaktadır (4,5). Hidatitozun laboratuvar tanısına yönelik uygulanan serolojik testlerde, uygun antijenik yapıların ayrıştırılıp saflaştırılması ile özgüllük ve duyarlılıklarının artırılması hedeflenmektedir. Bu amaçla son yıllarda yoğun çabalar sarfedilmiştir (6-12).

Çalışmada kist hidatikli hastaların operasyon öncesi ve sonrası total-IgG yanıtlarının takip edilmesinin yanısıra ülkemizdeki *E. granulosus*'la infekte koyun kist sıvısı antijenleri ile hazırladığımız ELISA kitinin, ticari ELISA kiti ile karşılaştırılıp standardize edildikten sonra rutin uygulamaya kazandırılması amaçlanmıştır.

GEREK VE YÖNTEM

Gülhane Askeri Tıp Akademisi (G.A.T.A.)

Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda 1996-1999 yılları arasında karaciğer kist hidatik tanısı ile laparoskopik ve perkütan kist hidatik tedavisi uygulanan 18 olgu, postoperatif dönemde ultrasonografi (US), Bilgisayarlı Tomografi (BT) ve serolojik testler (İndirekt-ELISA) ile bir yıl süreyle izlenmiştir.

Olguların preoperatif değerlendirmeleri;

1-Anamnez ve fiziksel muayene bulguları

2-Radyolojik tetkikler: Akciğer grafisi, US, BT

3-Laboratuvar tetkikleri: Tam kan sayımı, karaciğer fonksiyon testleri, serolojik testler (ticari ve kendi hazırladığımız *E. granulosus* IgG ELISA) şeklinde yapılmıştır.

Olgular, yapılan preoperatif çalışmalar ile laparoskopik tedavi veya perkütan tedavi için ayrı ayrı değerlendirilip endikasyon klinik konseyin görüşüne dayandırılmıştır. Tüm olgulara preoperatif 10. gün 10 mg/kg/gün dozunda oral albendazol tedavisi başlanılmış ve bu tedavi postoperatif 35. güne kadar devam etmiştir.

Perkütan tedavi grubunda tüm tanı, girişim, izleme ve kontrollerde, laparoskopik tedavi grubunda ise tanı, izleme ve kontrollerinde US (Acuson IOXP), floroskopi (Siemens Angiotron Digitron II) ve BT (Siemens Somatom DR) görüntüleme tekniklerinden biri veya kombinasyonları kullanılmıştır.

Çapraz reaksiyonları değerlendirmek amacıyla *T. trichiura*, *E. vermicularis*, *T. canis* (visceral larva migrans), *T. saginata*, *S. haematobium* ve *A. lumbricoides*'li hastalara ait serumlar kullanılmıştır. Toxocarosis (VLM) ve shistosomosis referans serumları Bern Üniversitesi Parazitoloji Enstitüsü'nden temin edilmiştir.

Herhangi bir sistemik şikayeti olmayan, sağlıklı durumdaki G.A.T.A. Astsubay Hazırlama Okulu birinci sınıf öğrencilerinden kontrol grubu oluşturulmuştur. Öğrencilerin dışkılarının parazitolojik incelemelerinde çapraz reaksiyona sebep olabilecek helmint türlerine rastlanmamıştır.

Antijen Hazırlanması:

Koyun karaciğerinden elde edilen kist hidatik sıvısı 10.000 g'de 30 dakika santrifüj edilerek protoskoleksler çöktürülmüş ve toplanan süpernatant

0.45 µm'lik membran filtreden geçirildikten sonra 4°C'de distile suya karşı 36 saat süreyle diyaliz edilmiştir.

Uygulanan Serolojik Testler:

a. Ticari *E.granulosus* ELISA IgG Testi: Kit içerisindeki (*Echinococcosis* Parasitic Line, EIA IgG, Cypress Diagnostics, Belçika) protokole göre 1/64 oranında sulandırılan serum örneklerinden ve yüksek pozitif, düşük pozitif, negatif kontrollerden çukurlara 100' er µl konularak 10 dakika oda sıcaklığında inkube edilmiştir. Yıkama işlemi takiben 100 er µl konjugat konulmuş ve beş dakika inkubasyondan sonra tekrar yıkanmış ve 50' şer µl substrat A ve substrat B solusyonundan konulmuştur. Karanlık ortamda 10 dakika süreyle inkubasyondan sonra stop solusyonu konularak 450 nm'de okutulmuştur.

c. Hazırladığımız ELISA *E.granulosus* IgG Testi: Dr.Clement Bordier (İsviçre) tarafından gönderilen *E.granulosus* yönünden pozitif ve negatif serum örnekleri kontrol serum olarak kullanılmıştır. Chekerboard titrasyonu ile uygun anti-jen oranı 0.88 µg/ml, konjugat dilüsyonu ise 1:3000 olarak belirlenmiştir. ELISA plakları (Biohit, Katalog no: 781041, Finlandiya) kuyucuklarına 0.88 µg/ml olacak şekilde sulandırılan, 100 µl koyun kist sıvısı konulmuş ve bir gece +4°C'de coating işlemi uygulanmıştır. %0.5 Tween 20'li Phosphate Buffer Saline (PBS) ile beşkez yıkandıktan sonra %2 Bovine Serum Albumin (BSA) ile bloklama işlemi yapılmıştır. Yıkama işlemi takiben çukurlara 1:100 oranında sulandırılmış serum örnekleri konulmuştur. 37°C'de bir saat inkubasyonu takiben çukurlar yıkanmış, daha sonra 1:3000 oranında sulandırılmış alkale fosfataz işaretli anti-human IgG (Sigma Katalog no: A 3150) konularak tekrar 37°C'de bir saat inkubasyona bırakılmıştır. Yıkama işleminden sonra çukurlara 100 µl (Sigma, Katalog no: P 9187) dNpp substrat (Sigma katalog no: N-1891) konularak oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra çukurlara 2.5 M NaOH stop solusyonundan 100'er µl konulduktan sonra ELISA okuyucusunda 450 nm'de okutulmuştur.

BULGULAR

Karaciğer kist hidatiği nedeniyle laparoskopik ve perkütan tedavi uygulanan 12'si erkek, altısı bayan toplam 18 olgu operasyon öncesinde ve sonrasında birinci, üçüncü, altıncı, 12. ve 19. aylarda US, BT ve serolojik testlerle izlenmiştir.

Kendi hazırladığımız ELISA'da eşik değerini (cut-off) belirlemek amacıyla sistemik bir şikayeti olmayan sağlıklı 100 kişinin serumları test edilmiştir. Bu kişilere ait serumların 450 nm'deki absorbans değerlerinin aritmetik ortalaması 0.423, standart sapması (SD)=0.101 olarak saptanmıştır. Eşik değeri, negatif serumlara ait absorbans değerlerinin aritmetik ortalamasına 3 SD eklenerek, 0.726 olarak belirlenmiştir.

Buna göre gerek ticari gerekse kendi hazırladığımız *E.granulosus* ELISA IgG kiti ile kontrol ve deney grubunda elde edilen verilerin Mann-Whitney U testi ile yapılan istatistiksel analizinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0.05).

Tablo 1. Parazitöz hastalara ait serum örneklerinin ELISA sonuçları

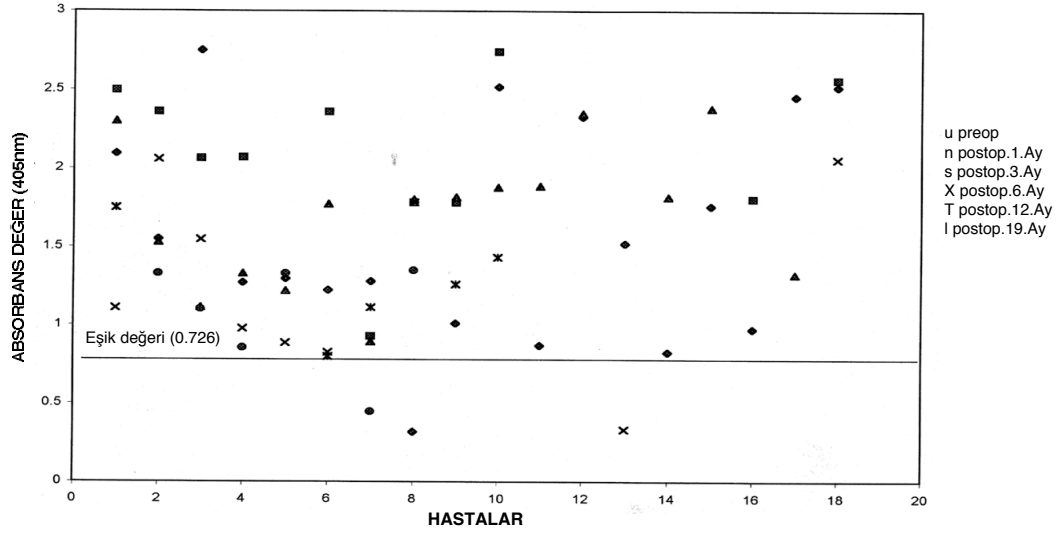
Parazitöz	Ticari <i>E.granulosus</i> ELISA		Hazırlanan <i>E.granulosus</i> ELISA	
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
Trichuriasis	2	8	2	8
Enterobiosis	-	10	-	10
Schistosomiasis	5	5	5	5
Toxocariasis	6	4	6	4
Taneiasis	7	3	8	2
Ascariasis	2	8	2	8
Toplam	22	38	23	37

Tablo 1'de sunulduğu üzere, çapraz reaksiyonları değerlendirmek amacıyla parazitöz hastalara ait serum örnekleri de her iki test ile çalışılmış ve alınan sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir (p>0.05). Her iki testte taeniosis, schistosomiasis ve toxocarosis'li serumlar ile yüksek oranda çapraz reaksiyonlar tespit edilmiştir.

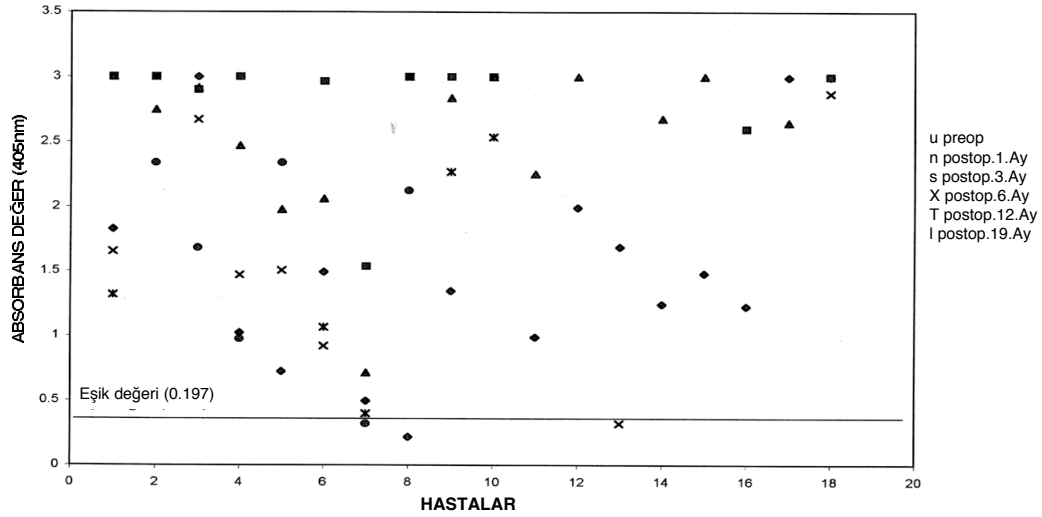
Hastaların operasyon öncesi ve sonrası her iki teste ait ELISA sonuçlarının uyumlu olduğu belirlenmiştir. Operasyon öncesine ait sonuçlar

değerlendirildiğinde her iki testte de yalnız bir hastada seronegatiflik belirlenirken, 17 hastada seropozitiflik tespit edilmiştir. Operasyon öncesi seronegatif olarak belirlenen söz konusu hastada cerrahi müdahaleyi takiben serokonversiyon belirlenmiştir. Bütün olguların operasyondan sonraki

ilk ayında IgG seviyeleri değerlendirildiğinde; absorbsans değerlerinde yükselme tespit edilmiş, ancak sonraki aylarda yükselmiş olan absorbsans değerlerinin düştüğü hatta operasyon öncesi değerlerinin de altına indiği belirlenmiştir (Şekil 1, 2).



Şekil 1. Kist hidatikli hastalara ait serumların in-house *Echinococcus* IgG ELISA sonuçları



Şekil 2. Kist hidatikli hastalara ait serumların ticari *Echinococcus* IgG ELISA sonuçları

TARTIŞMA VE SONUÇ

Echinococcosis'in immünolojik tanısında çeşitli hayvan kökenli hidatik kist sıvılarının anti-jenik profilleri karşılaştırıldığında koyun hidatik sıvı antijenlerinin en az çapraz reaktif determinantlara sahip antijen olduğu tespit edilmiştir (13, 14). Kanwar ve ark., koyun, keçi, domuz ve insan kökenli hidatik kist sıvılarında molekül ağırlıkları 8-116 kDa arasında değişen en az 15 adet protein fraksiyonu bulunduğunu, hidati-doşlu hastalarda koyun kist hidatik sıvı fraksiyonlarından en az 12'sine karşı antikor yanıtı geliştiğini belirtmişlerdir (15).

Günümüzde hidatidozun serolojik tanısına yönelik olarak yapılan çalışmalarda spesifikliğı yüksek kist hidatikli koyun karaciğer kist sıvısı antijenleri elde edilerek serolojik testlerin duyarlılık ve özgüllükleri artırılmaya çalışılmaktadır (6-8). Gerek kistik, gerekse alveolar *Echinococcosis*'li vakalar üzerinde uygulanan serolojik testlerde ELISA'nın maliyetinin ucuzluğu, çabuk ve kolay uygulanabilirliğı, duyarlılık-özgüllük oranlarının yüksekliğı ile diğer testler arasında öne çıktığı bildirilmekte, sonuçların güvenilirliğinin Western blotting tekniğı ile daha da artırılabilceğı vurgulanmaktadır (16-26).

Raveja ve ark. insan hidatidozunda ELISA testinin önemini vurgulayarak, insan kist sıvısı antijeni ile uygulanan ELISA testleri ile alınan sonuçların gerçeğı yansıtmadığını bu nedenle ELISA testinde kist hidatikli koyun karaciğer kist sıvısı antijenlerinin kullanılması gerektiğini bildirmişlerdir (27).

Helmint infeksiyonlarının immünodiagnozuna yönelik serolojik testlerde çapraz reaksiyonlarasıkça rastlanmaktadır. Koyun karaciğer kist sıvısı antijeni ile uyguladığımız indirekt-ELISA'da özellikle taeniosis, toxocarosis ve schistosomosis'li hasta serumlarıyla yüksek oranda çapraz reaksiyonlar alınmıştır. Onchocercosis, cystiscercosis, toxocarosis ve strongyloidosis infeksiyonlarında immunoblotting tekniğinde 68 ile 58 kDa bantlarıyla çapraz reaksiyona rastlanıldığı ancak 30 kDa bantlarıyla hiçbirinde çapraz reaksiyon ortaya çıkmadığı bildirilmektedir (28,29). El-On ve ark., total kist sıvısı antijeni ile uyguladıkları

ELISA ile schistosomosis ve ancylostomosis'li hastalara ait serumlar ile çapraz reaksiyonlar tespit etmişlerdir (29). Yine Zarzosa ve ark. CE'nin ELISA ile serodiagnozunda ortaya çıkan çapraz reaksiyonların en fazla *T.saginata* ve *T.solium* ile infekte hastalarda olduğunu bildirmektedir (18). Yazar ve Altıntaş CE'nin serolojik tanısında ELISA ile IHA ve IFA'ya göre daha düşük oranda çapraz reaksiyonlar elde edilebileceğini bildirmektedir (30). Hidatidoşli vakalarda operasyon sonrası serum IgG antikor yanıtlarının izlendiğı bir çalışmada, Wen ve ark., kistik ve alveolar *Echinococcosis*'li hastalardaki IgG antikor yanıtında, IgG₁ ve IgG₄ alt gruplarının ELISA'da en duyarlı sonuç verdiğini, başarılı tedavi sonucunda bir yıl içinde özellikle IgG₄ düzeyinin negatif seviyeye indiğini, bunun yanında spesifik IgG, antikorlarının tekrar görülmesinin güçlü rekürrens kanıtı olduğunu bildirmektedirler (31). Aynı araştırmacılar, echinococcosis'in takibinde ve serodiagnozunda total IgG, IgG₁ ve IgG₄ antikorlarının kombine olarak değerlendirilmesinin önemini vurgulamaktadırlar (31). Yine Shambesh ve ark., IgG₄ yanıtının klinik olarak ortaya konulmuş CE'li hastalarda önemli bir diagnostik parametre olduğunu vurgulamaktadırlar (32).

Türkiye'de insanlarda hidatidoz konusunda gerek ticari, gerekse özgün olarak hazırlanan test kitleri ile yapılan çalışmalar sınırlıdır (14,24, 33-36).

Alkan ve Özcel, Adana ilinin kırsal bir bölgesini pilot bölge seçerek hidatidoza yönelik yaptıkları seroepidemiolojik çalışmada, hidatikli kist sıvısı ve skoleks antijenleri ile ELISA, IHA ve IFA testlerini uygulamışlardır (24). Çalışmada ELISA testi ile 684 serum örneğinden 10'unu pozitif olarak tespit etmişlerdir. Bu testler arasında ELISA'nın kullanılan maddeler ve iş gücü tasarrufu avantajları ile en uygun test olduğunu bildirmişler, ancak duyarlılık ve özgüllük oranlarını arttırmak için spesifik antijen fraksiyonlarının elde edilmesi ve sonuçların doğrulanması için ileri metodların uygulanması gerektiğini vurgulamışlardır (24).

Sonuç olarak kist hidatikli hastaların operas-

yon öncesi IgG seviyelerinin operasyondan sonraki ilk aylarda yükselme göstermesine rağmen bir yıl sonra ilk seviyesinin de altına inmesi, oral albendazol tedavisi ve operasyon kombinasyonunun başarılı sonuç verdiğine işaret etmektedir. Dikkati çeken husus operasyondan sonraki ilk aylarda absorban değerlerinin artmasıdır ki, bu da infeksiyöz özelliği olmayan ancak kuvvetli antijenik yanıtı yol açabilecek kist sıvısının operasyon sırasında az da olsa sızdırılması ile açıklanabilir. Gerek

ticari gerekse kendi hazırladığımız *Echinococcus* ELISA IgG testleri ile alınan birebir uyumlu sonuçlar, kendi hazırladığımız *E. granulosus* IgG ELISA kitinin rutin uygulamaya konulabileceğini göstermektedir. Ancak testin duyarlılık ve özgüllüğü arttırmak için *E. granulosus*'a ait spesifik antijen fraksiyonlarının elde edilmesi ve özellikle pozitif sonuçları doğrulayacak metodların uygulanması gerektiği unutulmamalıdır.

KAYNAKLAR

1. Güralp N. Helminoloji. A Ü Vet Fak Yay No 368, İkinci baskı, 1981.
2. Morris DL, Richards KS. Hydatid Disease. Butterworth-Heinemann. Liancre House, Jordan Hill, Oxford, 1992.
3. Eckert J, Gemmel MA, Matyas Z, Soulsby EJH Guidelines for surveillance, Prevention and Control of Echinococcosis. WHO Pub VPH/81.28, 1984.
4. Coltorti EA, Fernandez EA, Guarnera E, Lago J, Iriarte J. Field evaluation of enzyme immunoassay for detection of asymptomatic patients in a hydatid control program. Am J Trop Med Hyg 1988; 38 (3): 603-607.
5. Varela-Diaz VM, Coltorti EA, de Zavelatta O, Perez-Caviglia, H, Zabert EL, Guarnera EA. Immunodiagnosis of human hydatid disease: Applications and contributions to a control program in Argentina. Am J Trop Med Hyg 1983; 32 (5): 1079-1087.
6. Altıntaş N, Joshi DD, Lightowler MW, Pawlowski ZS. Differential serodiagnosis for cystic and alveolar echinococcosis using fractions of *Echinococcus granulosus* cyst fluid (antigen B) and *E. multilocularis* protoscolex (EM 18). Am J Trop Med Hyg 1999; 60 (2): 188-192.
7. Bitkowska F, Golab F, Plonka W, Dzbanski TH. Use of Western blot method for diagnosis of hydatidosis in Poland. Med Dows Mikrobiol 1997; 49 (3-4): 215-223.
8. Poretti D, Gottstein B. Differential immunodiagnosis between cystic hydatid disease and other cross-reactive pathologies. Am J Trop Med Hyg 1999; 60 (2): 193-198.
9. Paul M, Stefaniak J. Detection of specific *Echinococcus granulosus* antigen B in liver cyst biopsies from human patients. Acta Trop 1997; 64 (1-2): 65-77.
10. Ioppolo S, Notargiacomo S, Profumo F. Immunological responses to antigen B from *Echinococcus granulosus* cyst fluid in hydatid patients. Parasite Immunol 1996; 18 (11): 571-578.
11. Sbihi Y, Janssen D, Osuna A. Serologic recognition of hydatid cyst antigens using different purification methods. Diag Microbiol Infect Dis 1996; 24 (4): 205-211.
12. Sarımehtemetoğlu HO, Kubar A, Tanyüksel M, Gün H. Koyun karaciğer kist sıvısından 8kDa'luk antijenin purifikasyonu. T Parazit Derg 1998; 22 (2): 137-141.
13. Leggatt GR, Yong W, McManus DP. Serological evaluation of the 12 kDa subunit of antigen B in *E. granulosus* cyst fluid by immunoblot analysis. Trans R Soc Trop Med Hyg 1992; 86(2): 189-192.
14. Genç S. İnsan hidatidozu tanısında pasif hemagglütinasyon ve Weinberg reaksiyonlarının değeri. Mikrobiyol Bül, 1976;10: 215-231.
15. Kanwar JR, Kushik SP. Specific antibodies in serum of patients with hydatidosis recognised by immunoblotting. J Med Microbiol 1992; 36: 46-51.
16. Arienti HM, Guignard SI, Rinaldi DE, Elbarcha OC. Comparison of 2 serologic methods for the diagnosis of hydatidosis. Bol Oficina Sanit Panam 1996;121 (3): 221-227.

17. Takahashi H. Clinical significance of serological diagnosis with ELISA and Western blotting in alveolar echinococcosis of liver. *Hokkaido Igaku Zassahi* 1996; 71 (S): 611-621.
18. Zarzosa MP, Orduna DA, Guitierrez P et al. Evaluation of six serological tests in diagnosis and postoperative control of pulmonary hydatid disease patients. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 1999; 35 (4): 255-262.
19. Kaur M, Mahajan RC, Malla N. Diagnostic accuracy of rapid enzyme linked immunosorbent assay for the diagnosis of human hydatidosis. *Indian J Med Res* 1999;110 (7): 18-21.
20. Badelli F, Papili R, Francisci D, Tassi C, Stagni G, Pauluzzi S. Postoperative surveillance of human hydatidosis: evaluation of immunodiagnostic tests. *Pathology* 1992; 24 (2): 75-79.
21. Kagiko MM, Gathuma JM, Lindqvist KJ. Serological diagnosis of hydatid disease by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) using partially purified hydatid cyst fluid antigens. *Int J Zoon* 1986;13 (4): 241-245.
22. Gonazales RMC, Carmona PMP, Perez GC, Blanco RMT, Beltran DM. ELISA IgG as screening test for the research of true prevalence of human hydatidosis in Badajoz, Spain *Eur J Epidemiol* 1988; 4 (4): 439-444.
23. Force L, Torres JM, Carillo A, Busca J. Evaluation of eight serological tests in diagnosis of human echinococcosis and follow-up. *Clin Infect Dis*, 1992;15 (3) 474-480.
24. Alkan MZ, Özcel MA. Kist Hidatik'te sero-epidemiolojik arařtırmalar. *T Parazitol Derg* 1994;18 (3): 302-307.
25. Farag H, Bout D, Capron A. Specific immunodiagnosis of human hydatidosis by the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Biomedicine* 1975; 23 (7) 276-278.
26. Iocona A, Pini C, Vicari G. Enzyme-linked immunosorbent assay in the serodiagnosis of Hydatid disease. *Am J Trop Med Hyg* 1971; 29 (1): 95-102.
27. Raveja UK, Basak S, Thusoo TK. Immunodiagnosis of human hydatid disease. *Commun Dis*, 1997; 29 (4): 313-319.
28. Planchart S, Botto C, Alarcon NB. Evaluation of the double diffusion, enzyme immunoassay and immunoblotting techniques, for the diagnosis of human hydatid disease in tropical areas. *Rev Ins Med Trop Sao Paulo* 1994; 36 (3): 205-210.
29. El-On J, Khaleel E, Malsha Y. *Echinococcus granulosus*: a seroepidemiological survey in northern Israel using an enzyme-linked immunosorbent assay. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1997; 91 (5): 529-532.
30. Yazar S, Altıntaş N. Cystic echinococcosis (CE)'in serolojik tanısında karşılaşılan çapraz reaksiyonların araştırılması. *T Parazitol Derg* 1999; 23 (2): 129-132.
31. Wen H, Bresson HS, Vuitton DA. Analysis of immunoglobulin G subclass in the serum antibody responses of alveolar echinococcosis patients after surgical treatment and chemotherapy as an aid to assessing the outcome. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1995; 89 (6):692-697.
32. Sambesh MK, Craig PS, Wen H, Rogan MT, Paolillo E. IgG1 and IgG4 serum antibody responses in asymptomatic and clinically expressed cystic echinococcosis patients. *Acta Trop* 1997; 1; 64 (1-2): 53-63.
33. Köksal F, Serin MS, Kekeç Y, Sadr YE. İnsan ve hayvan kökenli kist hidatik sıvılarının SDS-PAGE metoduyla analizi ve westernblot metodunun klinik önemi. *T Parazitol Derg* 1995; 19 (2): 221-229.
34. Yalçıntaş I, Çolakođlu S. Kist hidatik teşhisinde indirekt hemaglutinasyon testinin değeri. *Çukurova Üniv Tıp Fak Derg* 1973; 3: 152-155.
35. Yazıcıoğlu A, Dinçer H. Kist hidatik ve Weinberg reaksiyonu. *Mikrobiyol Bült*, 1971; 5: 273-281.
36. Koç N, Kılıç H, Sözüer E, Taheri DJ. Kist hidatik tanılı olgularda indirekt hemaglutinasyon yönteminin önemi ve seropozitiflik oranı. *T Parazitol Derg* 1996; 20 (1): 57-60.

