T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PREANALİTİK SÜREÇTE SICAKLIK VE ZAMANIN ANTİ-*Echinococcus granulosus* ANTİKOR TİTRELERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Burcu AĞACIKOĞULLARI
ORCID: 0000-0001-6404-9290

PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI
Tıbbi Parazitoloji Yüksek Lisans Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İZMİR
HAZİRAN 2022
TEZ KODU: DEU.HSI.MSc-2018970031

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PREANALİTİK SÜREÇTE SICAKLIK VE ZAMANIN ANTİ-*Echinococcus granulosus* ANTİKOR TİTRELERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Burcu AĞACIKOĞULLARI
ORCID: 0000-0001-6404-9290

PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI
Tıbbi Parazitoloji Yüksek Lisans Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı: Doç.Dr. Özlem MİMAN
ORCID: 0000-0003-3415-4959

İZMİR
HAZİRAN 2022

TEZ KABUL ONAYI

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalı Tıbbi Parazitoloji Programı Öğrencisi Burcu AĞACIKOĞULLARI tarafından hazırlanan "Preanalitik süreçte sıcaklık ve zamanın anti-*Echinococcus granulosus* antikor titreleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi" başlıklı tez çalışması 20/06/2022 Günü, 09:30 - 10:30 Saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/~~OY ÇOKLUĞU~~ ile YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Doç. Dr. Özlem MİMAN
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı
Tezi onaylıyorum
ORCID NO: 0000-0003-3415-4959
İmza

Üye: Prof. Dr. Tonay İNCEBOZ
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi
Parazitoloji Anabilim Dalı
ORCID ID: 0000-0001-6138-9185
Tezi Onaylıyorum

Üye: Prof. Dr. Zeynep Gülden SÖNMEZ TAMER
İzmir Demokrasi Üniversitesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
ORCID ID: 0000-0003-4342-2652
Tezi Onaylıyorum

Yedek: Prof. Dr. Songül BAYRAM DELİBAŞ
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi
Parazitoloji Anabilim Dalı
ORCID ID:0000-0001-5430-7217
Tezi Onaylıyorum

Yedek: Prof. Dr. Nogay GİRGİNKARDEŞLER
Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp
Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı
ORCID ID: 0000-0002-9680-4294
Tezi Onaylıyorum

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

ETİK BEYANI

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırlayıp sunduğum "Preanalitik süreçte sıcaklık ve zamanın anti-*Echinococcus granulosus* antikor titreleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi" başlıklı Yüksek Lisans tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Burcu AĞACIKOĞULLARI

13.05.2022

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca yanımda olduğunu hissettiren, bilgisi ve [illegible] ile yol gösteren, sonsuz sabır ve şefkat ile destek olan danışman hocam Doç. Dr. Özlem MİMAN'a;

Bölüm içerisinde özellikle laboratuvar uygulama sürecinde bölüm laboratuvarını ve tüm imkanlarını paylaşan, tezimin yöntem kısmında kendi çalışmalarını paylaşıp yol gösteren, her sorumu iyi niyetleri ile yanıtlayan Prof. Dr. Songül BAYRAM DELİBAŞ ve Prof. Dr. Soykan ÖZKOÇ'a;

Tezim için gereken örneklerin elde edilmesinde ve takibinde destek sağlayan Prof. Dr. Tarkan ÜNEK'e; onca işinin ve nöbetlerinin arasında örneklerin sorunsuz elime ulaşmasını sağlayan arkadaşım Dr. Berkay SAKAOĞLU'na;

Tezimin analiz sürecinde tüm bilgisi, anlayışı ve samimiyeti ile yardımcı olan Prof. Dr. Belgin ÜNAL ve Uzm. Dr. Derya ÇAĞLAYAN'a;

Güleryüzü, neşesi ve yol göstericiliği ile yoluma ışık tutan Prof. Dr. Tonay İNCEBOZ'a;

Lisansüstü eğitim almam konusunda beni teşvik eden, karakterini ve azmini örnek almaya çalıştığım akıl hocam Prof. Dr. Mehmet ERDURAN'a;

Yanımda olan tüm dostlarıma;

Son olarak hayatımın her evresinde yanımda dimdik duran, desteklerini benden hiç esirgemeyen, her daim yanımda olacaklarına inancım tam olan canım annem Fisun AĞACIKOĞULLARI ve canım babam Orhan Cemil AĞACIKOĞULLARI'na, tezim süresince sonsuz sabırla ağzında oyuncağı ile işimin bitmesini bekleyen kedim Minka'ya ve beni her zaman destekleyen kocaman aileme çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TABLOLAR DİZİNİ……...……....i
ŞEKİLLER DİZİNİ……..…ii
KISALTMALAR……..…….iii
ÖZET……..…….....iv
ABSTRACT……..……...…….…..vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ…….……1
1.1. Problemin Tanımı ve Önemi……...1
1.2. Araştırmanın Amacı…….……....1
1.3. Araştırmanın Hipotezi…….....2
1. GENEL BİLGİLER…..…….3
2.1. Epidemiyoloji……..3
2.2. Tarihçe……4
2.3. Sınıflandırma……...4
2.4. Yapı ve Morfoloji……5
2.4.1. Erişkin Form……5
2.4.2. Yumurta……6
2.4.3. Metasestod (Larval) Form/Hidatid Kist……6
2.5. Yaşam Döngüsü……...8
2.6. Hidatid Antijenler ve İmmünoloji……10
2.7. Klinik……10
2.8. Tanı……11
2.8.1. Radyolojik Tanı……...11
2.8.2. Serolojik Tanı……..12
2.8.3. Mikroskobik İnceleme……13
2.8.4. Moleküler Yöntemler……..13
2.9. Tedavi……14
2.10. Korunma ve Kontrol……14
2.11. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)……15
2.11.1. Indirekt ELISA……16
2.12. Tıbbi Laboratuvarlarda Test Süreçleri Ve Preanalitik Hatalar……17
3. GEREÇ VE YÖNTEM……..…….22

3.1. Araştırmanın Tipi……22
3.2.Araştırmanın Yeri ve Zamanı…….…..22
3.3.Araştırmanın Çalışma Grubu…….……..22
3.4. Çalışma Materyali……..22
3.5.Araştırmanın Değişkenleri…….……..23
3.6.Veri Toplama Araçları……23
3.6.1. Serum örneklerinin hazırlanması aşamasında kullanılan malzemeler……..23
3.6.2. Kan örneklerinin toplanması ve Serum örneklerinin elde edilmesi……...24
3.6.3. Serum örneklerinin çalışma için hazırlanması…….……...24
3.6.4. Serum örneklerinin ELISA test ile çalışılması…….…...……25
3.6.4.1. ELISA test çalışılırken Kullanılan malzeme Ekipman ve solüsyonlar…..……..25
3.6.4.2. Kullanılan solüsyon ve tampon çözeltilerin hazırlanması……..26
3.6.4.2.1. Antijen hazırlama……26
3.6.4.2.2. Antijen Solüsyonu……...26
3.6.4.2.3. Tampon çözeltiler…….……...26
3.6.4.3. Çalışma plaklarının hazırlanması (katı fazın antijen ile kaplanması)……...28
3.6.4.4. ELISA Çalışma Plak Dizaynı…….29
3.6.4.5. Yöntemin uygulanması……...30
3.6.4.6. Sonuçların Okunması ve Değerlendirilmesi……...32
3.7. Araştırmanın Planı ve Takvimi…….……32
3.8. Verilerin İstatistiksel Analizi……33
3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları…….33
3.10. Araştırma Etiği……..34
4. BULGULAR……..……...35
5. TARTIŞMA……..……38
6. SONUÇ……..……...42
KAYNAKLAR……...…….43
EKLER…….……...……50

TABLOLAR DİZİNİ

1. **Tablo 1:** ELISA yönteminde kullanılan enzimler, substratlar, durdurma solüsyonları ve okuma dalga boyları…….…….17
2. **Tablo 2:** Tıbbi laboratuvarlarda hata tipleri ve dağılımları…….……..18
3. **Tablo 3:** Laboratuvarda oluşabilecek hatalar ve kaynakları…...……..19
4. **Tablo 4:** Serum örneklerinin hazırlanmasında kullanılan malzemeler…….…….23
5. **Tablo 5 :** ELISA testi sırasında kullanılan ekipman ve solüsyonlar……..25
6. **Tablo 6:** Plak düzeni; negatif kontrol, cutt-off (ara kontrol), pozitif kontrol, örnek yerleşim ve dilüsyonları……...29
7. **Tablo 7:** Plak düzeni (uzayan 10.örnek için) negatif kontrol, cutt-off (ara kontrol), pozitif kontrol, örnek yerleşim ve dilüsyonları (Tablo 6'nın devamı)…….……...……..29
8. **Tablo 8:** İş Paketleri……...……....32
9. **Tablo 9:** Serum örneklerinin 0.gün serolojik sonuçları……..35
10. **Tablo 10:** Serum örneklerinin anti-*E.granulosus* IgG antikor titreleri……..……...36
11. **Tablo 11:** Sıcaklık ve zamana göre testlerin P değerleri……37

ŞEKİLLER DİZİNİ

1. **Şekil 1:** *E. granulosus*'un Erişkin Formu…….5
2. **Şekil 2:** *Echinococcus spp.* yumurtasının iç yapısı……..6
3. **Şekil 3:** Protoskoleks Tipleri……7
4. **Şekil 4:** *E. granulosus*'un metasestod formu……8
5. **Şekil 5:** *E.granulosus* yaşam döngüsü……...……..9
6. **Şekil 6:** WHO-IWGE tarafından standardize edilmiş hidatik Kist sınıflandırması…….12
7. **Şekil 7:** ELISA yöntemleri…….15
8. **Şekil 8:** Serum örneklerinin hazırlanmasında kullanılan malzemeler…….…….24
9. **Şekil 9:** Serum dilüsyonlarının derin kuyu PCR plağında hazırlanma şeması……..……..……...30
10. **Şekil 10:** İş Akış Şeması…….33

KISALTMALAR

Ab : Antikor

Ag : Antijen

BT : Bilgisayarlı Tomografi

CE : Cystic echinococcosis

DEAB : Diethanolamin Buffer

DEÜ (DEU) : Dokuz Eylül Üniversitesi (Dokuz Eylul University)

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

ERCP : Endoskopik Retrograd Kolanjiyopankreatografi

E.granulosus : *Echinococcus granulosus*

KE : Kistik Ekinokokkozis

µl : Mikrolitre

MR : Manyetik Rezonans

MRCP : Manyetik Rezonans Kolanjiyopankreatografi

M.Ö. : Milattan Önce

nm : Nanometre

PBS : Phosphate-Buffer Saline

PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyon

PNPP : 4-nitrophenyl phosphate

US : Ultrasound

WB : Working Buffer

WHO-IWGE: World Health Organisation – Informal Working Groups on Echinococcosis

Y.Y. : Yüzyıl

PREANALİTİK SÜREÇTE SICAKLIK VE ZAMANIN ANTİ-*Echinococcus granulosus* ANTİKOR TİTRELERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burcu AĞACIKOĞULLARI

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Parazitoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Kistik ekinokokkozis hastalığı, *Echinococcus granulosus* adı verilen sestod parazitin neden olduğu, halk sağlığını tehdit eden önemli bir hastalıktır. İnsanlar rastlantısal ara konaktır. Hastalığın tanısında kullanılan bir yöntem olan ELISA testinde hastalardan alınan kan örnekleri ile çalışılmaktadır.

Serum örneklerinin alınması ve sonrasında laboratuvara ulaştırılması sürecinde dış ortam koşullarından etkilenmesinin test sonuçları üzerinde nasıl etkileneceğine, bu etkileşimin test sonuçları üzerinde nasıl bir değişime yol açacağına dair net bir bilgi yoktur.

Bu çalışmada kistik ekinokokkozisli hastalardan alınan serum örneklerindeki anti-*Echinococcus granulosus* IgG antikor titrelerinin, pre-analitik süreçte rutinde rastlanabilecek/ rastlanan aksaklıklar üzerinden sıcaklık ve zamana bağlı değişiminin saptanması amaçlanmıştır. Bunun için; DEÜ Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi Polikliniği'ne rutin kontrol amacı ile başvuran/çağırılan; daha önceki testlerinde kistik ekinokokkozis yönünden IgG antikor pozitif, 18 yaş ve üstü yetişkin 10 gönüllü kişiden 5 ml kan alınmıştır. Serumları ayrıştırılan bu 10 örnek, dört ayrı fizik koşulda (oda sıcaklığı '+25˚C', buzdolabı '+4°C', derin dondurucu '-20°C', etüv '+37°C') bekletilmiş ve 7 ayrı zamanda (0.saat, 24-48-72. saat, 1-2-3. hafta) ELISA testi ile antikor titreleri çalışılmıştır. Serumları 0. saatte çalışılan 10 hastadan 2 tanesinin IgG antikor düzeyinin beklenenden az olması nedeniyle çalışmadan dışlanmıştır.

Kistik ekinokokkozis pozitif tanılı 8 hastadan, oda sıcaklığı (+25˚C), buzdolabı (+4°C), derin dondurucu (-20°C), etüv (+37°C) ortamlarında bekletilen serum örnekleri 0. Saat, 24-48-72. saat, 1-2-3. haftada ELISA ile çalışılmış, elde edilen anti-

E. granulosus IgG antikor titreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

E. granulosus enfekte hastalardan alınan kan örnekleri çalışılmak üzere 3 haftaya kadar laboratuvara ulaştırılması sırasında farklı ortam sıcaklıklarında bekletilmesi durumunda elde edilecek sonuçlarda istatiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Dolayısıyla bir sebeple talimat dışı koşullarda bekleyen/bekletilen serumların kullanımında sakınca olmayacağına dair bir veri elde edilmiştir. Numune sayısı artırıldığında ve analiz yöntemi çeşitlendirildiğinde daha geniş kapsamlı bilgiye ulaşılabileceği düşüncesine karar verilmiştir.

Anahtar kelimeler: ELISA, kistik ekinokokkozis, preanalitik, sıcaklık, zaman.

Tezin sayfa adedi: 91

Danışman: Doç. Dr. Özlem MİMAN

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF TEMPERATURE AND TIME ON ANTI-*Echinococcus granulosus* ANTIBODY TITERS IN THE PREANALYTICAL PROCESS

Master Thesis

Burcu AĞACIKOĞULLARI

DOKUZ EYLUL UNIVERSITY HEALTH SCIENCE INSTITUTE

Department of Parasitology

ABSTRACT

Cystic echinococcosis (CE) is an important disease caused by parasite called Echinoccus granulosus. Humans are accidental intermediate hosts. The ELISA test, which is a method used in the diagnosis of the disease, is studied with blood samples taken from patients.

There is no clear information on how the effect of environmental conditions during the collection of serum samples and their subsequent delivery to the laboratory will cause a change on the test results.

In this study, it was aimed to determine the temperature and the time-dependent changes of anti-E.granulosus IgG antibody titers in serum samples taken from patients with CE, based on routine/common distruption in the preanalytical process. For this; those who applied/were called to DEU Faculty Of Medicine Hospital General Surgery Outpatient Clinic for routine control; 5 ml of blood was taken from 10 adult volunteers aged 18 years and over, who were IgG antibody positive for CE in their previous tests. These 10 samples, whose serums were separated, were kept in four different physical conditions (-20 °C, +4 °C, +25 °C, +37 °C) and antibody titers were studied by ELISA test at seven different times (0. Hour, 24. Hour, 48. Hour, 72. Hour, 1. Week, 2. Week, 3. Week). Two out of 10 patients whose serums were studied at hour zero were excluded from the study because IgG antibody levels were lower than expected.

Serum samples from 8 patients with a positive diagnosis of CE, which were kept in room temperature (+25 °C), deep freezer (-20 °C), refrigirator (+4 °C) and incubator (+37 °C), were studied by ELISA at the 0. Hour, 24. Hour, 48. Hour, 72. Hour, 1. Week, 2. Week, 3. Week and no statistically significant difference was found between the obtained anti-E. granulosus IgG antibody titers.

It has been observed that there is no significant change in the results obtained if the blood samples taken from E. granulosus infected patients are kept at different ambient temperatures during transport to the laboratory for up to 3 weeks to be studied. Therefore, a data has been obtained that there will be no harm in the use of serums that are kept/waited under conditions out of instruction for some reason. It has been decided that more comprehensive information can be reached when the number of samples is increased and the analysis method is diversified.

Keywords: ELISA, cystic echinococcosis, preanalitycal, temperature, time
Page number: 91
Adviser: Assoc. Prof. Özlem MİMAN

1. GİRİŞ VE AMAÇ

1.2. Problemin Tanımı ve Önemi

Kistik ekinokkozis hastalığı, Echinococcus granulosus adı verilen sestod parazitin neden olduğu halk sağlığını tehdit eden önemli bir hastalıktır(1). Hidatid solucan, hiper şerit solucanı veya köpek tenyası olarak da adlandırılan *Echinococcus granulosus*'un yetişkin formu köpek, tilki gibi etobur hayvanlarda yaşarken, kistik ekinokokkozis hastalığına neden olan larval formu ise birçok otobur hayvanda yaşar. İnsanlar ise rastlantısal konaktır (2). Kistik ekinokokkozis (kist hidatid hastalığı) halen geniş bir kitleyi etkileyen ve bir enfeksiyon hastalığı olmasına rağmen cerrahi olarak tedavi edilen bir klinik durumdur. Literatürde birçok çalışmada ELISA testi ile kistik ekinokokkozis için seroprevalans çalışması yapıldığı izlenmektedir (3-4-5-6-7-8-9 seroloji çalışması).

Pek çok hastalığın tanısında kan örnekleri alınmakta ve çeşitli testler yapılarak buradan bir sonuca ulaşılmaya çalışılmaktadır. Örneklerin alınması ve sonrasında laboratuvara ulaştırılması sürecinde bazı istenmeyen durumlarla/ aksaklıklarla karşılaşılabilmektedir: Hastaya ait kan tüplerinin deskte/ masada unutulabilmesi, farklı sıcaklıklarda uzun süre bekletilebilmesi, laboratuvara taşıması sırasında oluşturulması gereken fizik koşullarda bazı problemler yaşanabilmesi gibi. Örnek alımı ve sonrasında muhafazasına/ transferine yönelik hazırlanmış yönergelerde örnekler için en uygun ortam, sıcaklık ve zaman tanımları yapılmış olsa da, olası yaşanacak ya da yaşanan sayılan problemlerin tetkik sonuçlarını ne derece etkileyebileceği sorusu aklı meşgul etmektedir. Fakat serum örneklerinin dış ortam koşullarından etkilenmesinin test sonuçları üzerinde nasıl etkileneceğine, bu etkileşimin test sonuçları üzerinde nasıl bir değişime yol açacağına dair net bir bilgi yoktur.

1.3. Araştırmanın Amacı

Bu çalışmada kistik ekinokokkozisli hastalardan alınan serum örneklerindeki anti-*Echinococcus granulosus* IgG antikor titrelerinin, pre-analitik süreçte rutinde rastlanabilecek/ rastlanan aksaklıklar üzerinden sıcaklık ve zamana bağlı değişiminin saptanması amaçlanmıştır.

Çalışma ile aşağıdaki sorulara yanıt aranacaktır:

- Serumun farklı sıcaklıklara maruziyeti ile test sonucu etkilenmekte midir/ değişiklik göstermekte midir?
- Serumun farklı bekleme sürelerine maruziyeti ile test sonucu etkilenmekte midir/ değişiklik göstermekte midir?
- Olası test sonucu değişiklikleri istatistiksel anlamlılık taşımakta mıdır?

1.4. Araştırmanın Hipotezi

- Kistik ekinokokkozisli hastalardan alınan serum örneklerindeki anti-*E.granulosus* IgG antikor titreleri sıcaklık ve zamana bağlı anlamlı değişim göstermemektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.2. Epidemiyoloji

Kozmopolit bir parazit olan *E.granulosus* oldukça ciddi halk sağlığı sorunlarına neden olur. (10)

İnsanlar ve hayvanların dahil olduğu ara konaklarda en yüksek prevalans çiftlik hayvanlarının yetiştiriciliğinin yapıldığı yerlerdir (özellikle koyun yetiştiriciliği). İnsana enfeksiyonun bulaşının en temel nedeni hijyen kurallarına uyulmamasıdır. Diğer nedenleri ise coğrafik koşullar ve parazitin genotipik özellikleridir. (11)

E.granulosus'un Akdeniz havzası, Rusya ve Çin'de prevalansı yüksektir. Kıta yayılımı açısından Afrika, Avusturalya ve Güney Amerika'da prevalans oldukça yüksek iken Antarktika'da ise görülmemektedir. İzlanda, Yeni Zelanda, Tazmanya, Folkland Adaları ve Güney Kıbrıs'ta ise etkili kontrol programları sayesinde adalarda elimine edilebilmiştir (12,13).

Gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde kırsal alanda bulunan çiftliklerde köpeklerin, kaçak kesimi sonucu koyun ve diğer ruminantların bunlarla beslenmesi alışkanlığı bulunmaktadır. Bu durumlarda tekrarlanan köpek enfeksiyonları parazitin yayılmasına ve sestod yumurtalarının saçılmasına neden olmaktadır. (14)

Yumurtaların sahip olduğu kabuk sayesinde fiziksel ve çevresel etmenlere karşı oldukça dayanıklı olduğu ve enfektivitelerini uzun süre koruyabildikleri bilinmektedir. +4°C ve +15°C sıcaklık aralığında 1 yıl kadar enfektif kaldığı bildirilmiştir. Bunlara karşın yumurtalar kuraklık ve yüksek ısıya karşı ise fazla direnç gösteremezler. (15,16)

Türkiye'de 2001-2005 yılları arasında yapılan prevalans çalışmasında erişilen toplam hasta sayısı ve saptanan prevalanslar sırasıyla Marmara Bölgesi'nde 2534, 4.83; Ege Bölgesi'nde 2114, 3.55; Akdeniz Bölgesi'nde 2578, 5.25; İç Anadolu Bölgesi'nde 5404, 5.47; Karadeniz Bölgesi'nde 428, 0.8; Doğu Anadolu Bölgesi'nde 844, 3.1; Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde 887, 2.7 olarak belirlenmiştir (17).

Yapılan çalışmalara göre Türkiye'deki son konak köpeklerde *E.granulosus*' un yaygınlık oranları Ankara'da %0,94, Bursa'da %36, İzmir'de %5,5, Kayseri'de %24, Kars'ta %40,5, Konya'da %28,3, Adana'da %24,72, Elazığ'da %3,33, Sivas'ta %28, Muş'ta %9, Antakya'da %8,86, İstanbul'da %0,8 olarak belirlenmiştir. (14, 18-20)

2.3. Tarihçe

Kist hidatid ya da kistik ekinokokozis (KE), oldukça eski zamanlardan beri bilinen parazitik zoonoz bir hastalıktır. Hastalığa dair ilk gözlemler M.Ö. 16. Yüzyıl'da (YY) Eber Papirusu'nda ve M.Ö. 4. YY'da Hipokrat'ın, M.S. 1. YY'da Aretaeus ve M.S. 2. YY'da Galen gibi araştırmacıların içi sıvı dolu keseleri fark etmelerine dayanmaktadır. (21). Tıp literatüründe ilk KE vakası Bremser tarafından 1821'de bildirilmiştir. (22). Türkiye'de ise parazitin hem larval hem de erişkin formu 1939 yılında Kamile AYGÜN tarafından olgu niteliğinde yayınlanmıştır. Hastalığın kliniği ise ancak 1900'lerin başında anlaşılmıştır. (23)

2.4. Sınıflandırma

Echinococcus genusu içinde birçok tür ve alt tür olduğu ileri sürülmektedir. Bugün taksonomik olarak doğrulanabilen 4 *Echinococcus* türü mevcuttur. Bunlar; *E.granulosus, E.multilocularis, E.oligarthus* ve *E.vogeli'*dir. (15, 24-27)

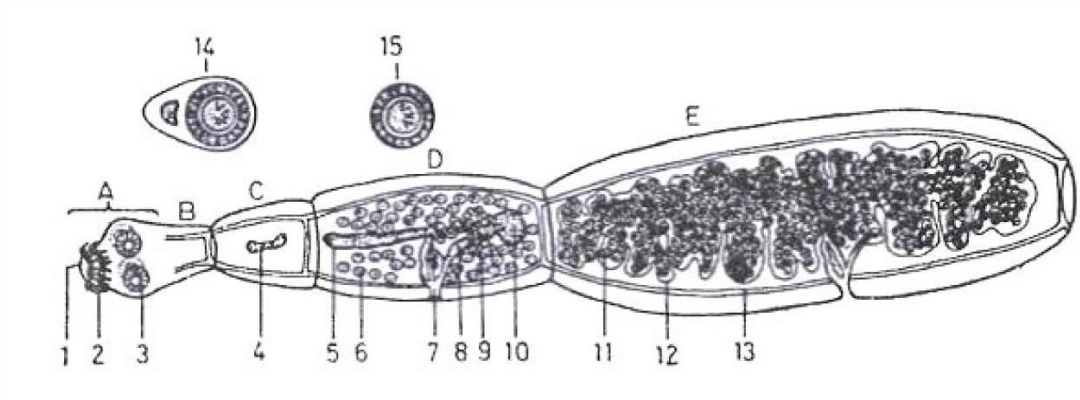
Alem: Animalia
Şube: Platyhelminthes
Sınıf: Cestoda
Alt Sınıf: Eucestoda
Takım: Cyclophyllidae
Aile: Taeniidae
Cins: Echinococcus
Türler: *Echinococcus granulosus*
Echinococcus multilocularis
Echinococcus oligarthus
Echinococcus vogeli

2.5. Yapı ve Morfoloji

E.granulosus türünün erişkin formu, larval formu ve yumurta formu bulunmaktadır.

2.5.1. Erişkin Form

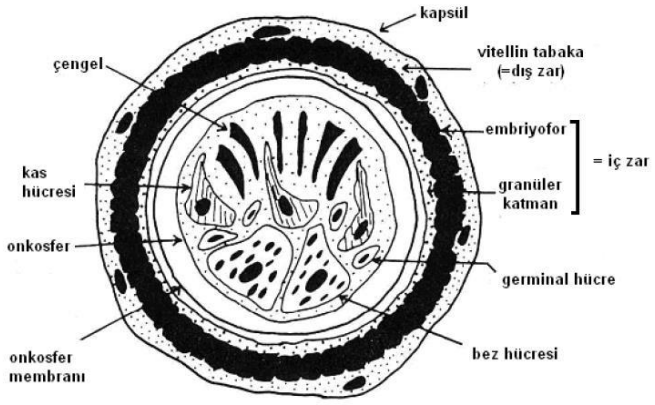
E. granulosus'un erişkin formu skoleks (baş), boyun ve strobilia'dan (gövde) oluşmaktadır. 2 mm boyunda ve 0.6 mm enindedir. Baş kısmında dört kaslı çekmen, bir rostellum ve rostellumda iki sıra halinde dizilmiş çengeller bulunmaktadır (28). Gövdedeki halka sayısı 2 ile 7 halka arasında değişmektedir. Gövde kısmındaki birinci halka genç halka, ikinci halka olgun halka ve üçüncü halka gebe halka olarak adlandırılmaktadır (29) (Şekil 1). Üçüncü halka olan gebe halkanın dişi ve erkek üreme yapılarını içeren iki genital organı bulunmaktadır. Dişi yapılar ovaryum ve arkasında vitellus kesesidir. Erkek üreme sistemi parçalarından biri olan testisler ise genital deliğin hemen ön ve arka kısmında yer almaktadır. Genital delik yerleşimi, türlere göre farklılık göstermekte olup, halkanın ortasına yakın konumda dışarı açılmaktadır. Dallanmış uterus 200 ila 800 civarında yumurta içermektedir. (28)



Şekil 1: *E. granulosus*'un Erişkin Formu. **A:** Skolex, **B:** Boyun, **C:** Genç Halka, **D:** Olgun Halka, **E:** Gebe Halka, **1:** Rostellum, **2:** Çengeller, **3:** Çekmenler, **4:** Genital Taslak, **5:** Uterus, **6:** Testisler, **7:** Genital Delik, **8:** Vagina, **9:** Yumurtalık, **10:** Vitellus Kesesi, **11:** Uterustaki Yumurtalar, **12:** Uterus, **13:** Çıkartı Kanalı, **14-15:** Yumurtalar (29)

2.5.2. Yumurta

E. granulosus yumurtaları yuvarlak yapıdadır ve 28-36 mikrometre çapındadır. Üç çift çengelli embriyo (onkosfer) taşımaktadır. Yumurtalar kalın çeperli ve koyu kahverengidir. Embriyoyu dış ortamdan glikoprotein yapıdaki embriyofer tabaka korumaktadır (28).
E. granulosus yumurtaları morfolojik olarak diğer *Echinococcus* ve *Taenia* türlerinin yumurtalarından neredeyse farksızdır (29) (Şekil 2).



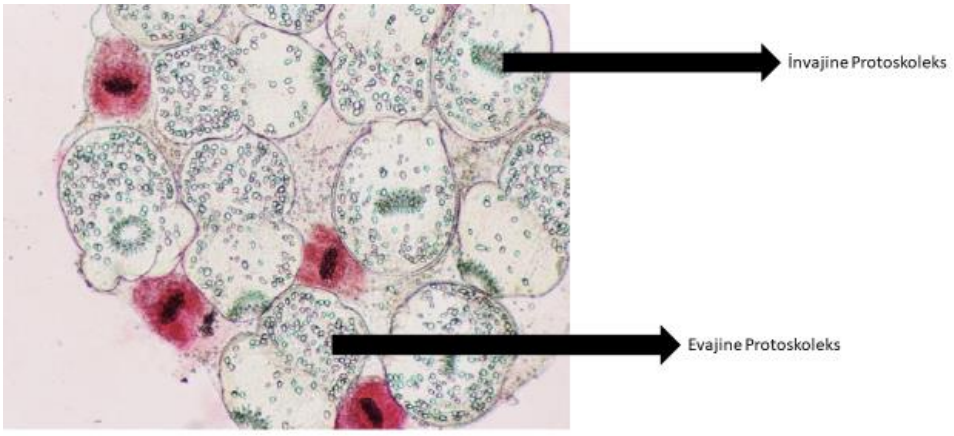
Şekil 2: *Echinococcus spp.* yumurtasının iç yapısı (Şenlik & Diker, 2004)

2.5.3. Metasestod (Larval) Form/Hidatid Kist

*E. granulosus'*un larval formu metasestod ya da hidatid kist olarak adlandırılır. Uniloküler yapıda ve içi sıvı dolu kese şeklindedir. Uniloküler olmakla birlikte içinde çok sayıda kız kistler (multiveziküler yapı) oluşabilmektedir. Hidatid kist içten dışa germinal membran, laminar membran ve bunları çevreleyen bir perikistten (fibröz membran) oluşmaktadır. Germinal ve laminar membran parazit kökenlidir, perikist ise konak savunma mekanizmasının bir ürünüdür (30). Kist etrafını çevreleyen inflamatuar fibröz özellikli bu tabaka konak doku reaksiyonu olup, yalancı kapsül gibi bir izlenim vermektedir. Çevre doku reaksiyonu olarak gözlenen fibrozis ve kronik inflamatuar yanıt, daha çok alveolar ekinokokkoziste görmeye alışılan, burada ise tanıyı güçleştiren nekroz ve laminasyon gösteren membran yapılarına sahip olabilir (31).

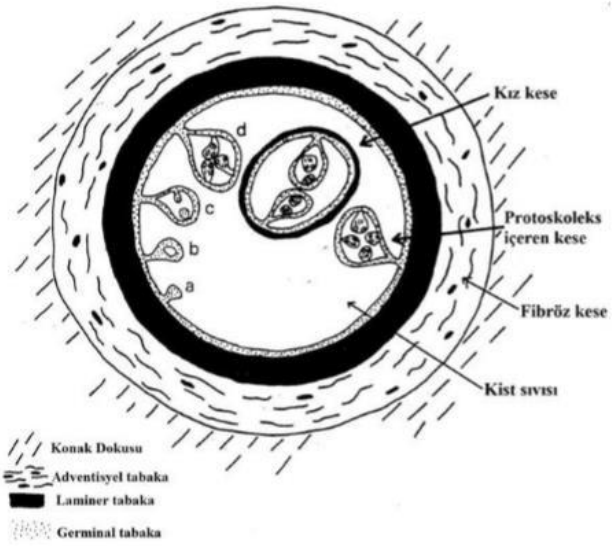
Laminar membran, konak canlıda gelişen immun yanıtına karşı kisti korumaktadır, fakat antikorların geçişine engel olamamaktadır. Germinal membranın yapısal olarak parazitin erişkin formunun tegümenti ile benzer özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Dıştaki laminar membranın, kist sıvısının, çimlenme kapsüllerinin ve protoskolekslerin germinatif membrandan köken aldığı belirtilmiştir. Çimlenme kapsülünün germinatif membranından tomurcuklanma ile oluşan protoskoleksler, kapsülün yırtılması sonucu kist sıvısı içine dökülmekte ve "hidatid kum'' görünümü oluşturmaktadır (32, 33). (Şekil 3)

Protoskolekslerin; çekmen, rostellum ve çengellerinin bulunduğu ön bölümü kist içerisinde invagine durumdadır (29). Protoskoleks üreten kistler fertil kist, üretmeyenler ise steril kist olarak tanımlanmıştır (30). Protoskoleksler; hidatid kist dediğimiz bu metasestodun içinde, germinatif membrandan doğan 0,14-0,16 mm boyunda, 0,12-0,12 mm eninde oval yapılardır. Erişkin şekillerin skoleksinden ayırt etmek için onlara bu isim verilmiştir. Sıvı içinde olağan sürecinde ön ucu içeri doğru dönük yani invajine görünümde, ama kist sıvısından uzaklaştırıldığında içe çökük olan tepe uç aynı bir içe bastırılmış eldiven parmağının gerçek pozisyonuna dönmesinde olduğu gibi bir dışarıya doğru bir hareketle yukarı uzanır yani evajine hale gelir. (Şekil 3) Protoskolekslerin her iki yanında on beşer tane önden arkaya uzanan boşaltım borusu ve bunların açıldığı alev hücresi denen boşaltım gözeleri vardır. Alev hücrelerinin aktif olup olmamasına göre protoskoleksin canlı olup olmadığı belirlenebilir (34).



Şekil 3: Protoskoleks Tipleri; sıvı içinde ön ucu içe çökük olan invajine, sıvıdan çıkınca ön ucu amibimsi şekilde dışarı uzanan evajine protoskoleksler

Üç katmandan oluşan hidatik kistin içi berrak, temiz ve antijenik yapıda kist sıvısı ile doludur (32). Kist sıvısı, metasestodun gelişimi için gerekli maddelerin yanı sıra germinal membrandan salınan proteinleri ve serum albumin, lipoproteinler, hemoglobin ve immunoglobulin gibi konağa ait proteinleri de içermektedir. Kistin yırtılması sonucu içeriğinin serbestleşmesi, antijenik özelliği nedeniyle anafilaktik reaksiyonlara yol açabilmektedir. (35, 36).

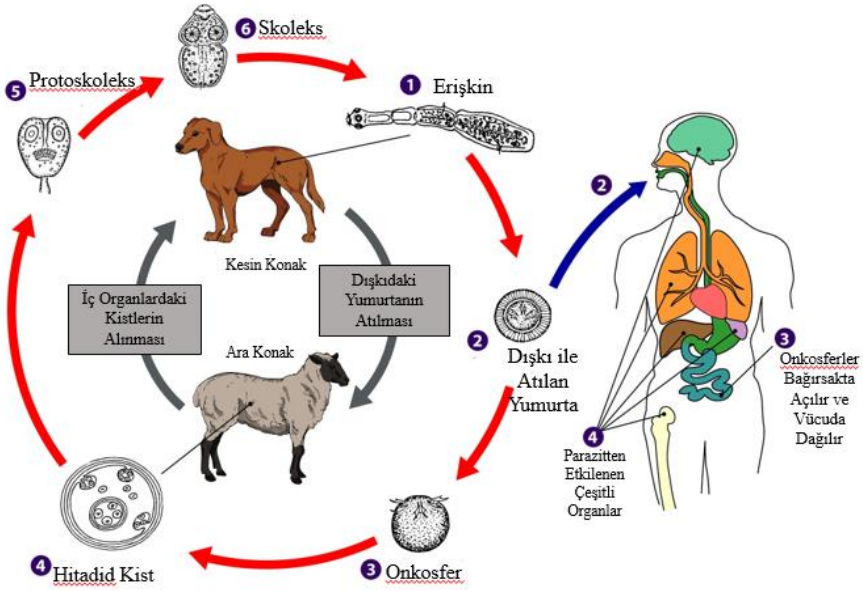


Şekil 4: *E. granulosus*'un metasestod formu (29)

2.6. Yaşam Döngüsü

Echinococcus cinsinin yaşam döngüsü etobur ve otobur omurgalı hayvanlar arasında devam etmektedir. İnsan ise bu döngüde rastlantısal konaktır. *Echinococcus* türleri yaşam döngülerini tamamlayabilmeleri için iki memeli konağa ihtiyaç duymaktadır (37). Parazitin kesin konakları karnivorlar, protoskoleks içeren kistli organları yemeleri sonucu enfekte olmaktadırlar. Larval yapının içindeki protoskoleksler kesin konak olan köpek, kurt vb. etoburların ince bağırsağına ulaştığında bağırsak lümenine tutunarak 4-5 hafta içinde parazitin yumurta üreten erişkin formuna dönüşmektedir. Sonrasında yumurta üretimi başlamakta, kesin konak dışkısıyla serbest şekilde veya dışarı atılan gebe halkalar ile yumurtalar çevreye yayılmaktadır (21). Çevre koşullarına çok dayanıklı olan yumurtalar, bir yıla kadar görece düşük sıcaklıklarda (4-15 °C) enfektif kalabilmektedir. Donmaya karşı da dayanıklı olan yumurtalar, aşırı sıcaklık ve kuruluğa karşı hassas olup, birkaç gün içerisinde

ölmektedir. Enfektif yumurtaların ağız yoluyla ara konak olan otobur hayvanlar ve/veya rastlantısal konak olan insan tarafından alınmasıyla döngü devam etmektedir. Ağızdan alınan yumurtalardan, mide ve ince bağırsaktaki enzimlerin etkisiyle keratinize embriyofor açılır ve onkosfer açığa çıkmaktadır. Safra salgılarının etkisiyle aktive olan onkosfer, çengelleri ile ince bağırsak villuslarına tutunmakta ve bağırsak duvarını aşmaktadır. Venül veya lenf damarına erişim sağladığında ise pasif yolla hematojen taşınıp çoğunlukla ilk süzüldüğü yer olan karaciğere; buradan kurtulabildiğindeyse ikinci sıklıkla akciğere, daha az sıklıkla olmak üzere böbrek, dalak, kas ve beyin gibi diğer doku ve organlara yerleşmektedir. Onkosferin organlara ulaşması ile metasestod evresi yani larva (hidatid kist) şekillenmeye başlamaktadır (29). (Şekil 4)



Şekil 5: E.granulosus yaşam döngüsü (CDCden uyarlanmıştır) (38)

2.7. Hidatid Antijenler ve İmmünoloji

E.granulosus, yaşam döngüsünün farklı evrelerinde antijenik değişiklikler göstermektedir. Metasestod larva antijenleri ile çokça çalışmaya rastlanmaktadır. Parazite spesifik antijenler içinde başat rolü "Antijen 5" ve "Antijen B" almaktadır. Antijen 5; "Arc 5" olarak da adlandırılmakta, kist sıvısı, çimlenme zarı, protoskolekslerden kaynaklanmakta olan ısıya duyarlı, lipoprotein yapıda bir antijendir. Antijen B ise yine lipoprotein yapıda ancak ısıya dayanıklı olup kütikül, çimlenme kapsülleri ile protoskolekslerde bulunur. (52,53).

KE serolojik tanısında antijen kaynağı olarak genellikle kullanıldığımız ham kist sıvısı çokça protein ve karbonhidrat bileşeni içermektedir. Yöntemde şekillenen spesifik antikor yanıtının mekanizması günümüzde de tam olarak anlaşılamamıştır. İmmunolojik yanıt antijen etkinliğine, parazit suşuna, konak türüne, konağın bağışıklık sisteminin durumuna, larvanın yerleştiği organa, kist fertilitesine, kist canlılığına ve kist duvarının bütünlüğüne gibi çok farklı etkenlere bağlı olduğu bildirilmektedir. Bağışıklık yanıtının değerlendirilmesinde neredeyse tüm antikor gruplarının (IgG, IgM, IgA ve IgE) belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılagelmiş, tüm immunglobulin sınıflarında artış saptanmıştır (39, 40, 75). Akut enfeksiyonda IgM antikorları görülmekte ve operasyonla kist çıkarıldıktan bir yıl sonra normal seviyelere düşmektedir. Spesifik IgG antikorları ise kronik enfeksiyonu işaret etmekte; kistler çıkarıldıktan sonraysa uzun yıllar mevcudiyetini sürdürmektedir (40). Hastalığa verilen konak immün yanıtı oldukça değişken olup, bazı araştırmalarda olguların %10'unun seronegatif olduğu bildirilmektedir (39).

2.8. Klinik

İnsan tarafından alınan *E. granulosus* yumurtaları KE'ye neden olur. Yumurtaların genel tutulumları karaciğer ve akciğerdir ancak tüm doku ve organlara tutunup hastalığa neden olabilmektedir. (1, 44). Özellikle karaciğer en sık tutulan organdır. Karaciğerin sağ lobunun soldan daha büyük ve kan akış oranının daha yüksek olması nedeniyle KE yüksek oranda karaciğerin sağ lobuna yerleşmektedir. (1).

Parazit vücuda girdikten sonraki ilk tutulum gösterdiği yerde inflamatuvar cevap hemen oluşur. Oluşan cevap ya yok etme ya da primer enfeksiyon geliştirme şeklinde gerçekleşir.

Parazit embriyosunun etrafında fibroz doku gelişir ve yuvarlak düzgün görünümlü bir kiste neden olur. Genelde yıl boyu yaklaşık 1 cm kadar büyüdüğünden hastalığın farkedilmesi oldukça zaman alabilir. (1, 28, 44)

Eğer hastalık semptomatik seyrederse en sık tutulan organ karaciğer olduğundan hastalarda karın ağrısı ve karaciğer büyümesi (hepatomegali) ile sık karşılaşılır. Hastalıkta karşılaşılan en sık komplikasyon intrahepatik safra yollarına açılmadır (rüptürdür). Rüptür gelişen hastalarda sağ üst kadranda ağrı, ateş, tıkanma (obstrüktif) sarılığı, akut kolanjit, pankreatit ve karaciğer absesi gibi daha ciddi klinik tablolar görülebilir. Komplikasyonlar komşu doku ve organlara açılma ile gelişirse semptomlar belirginleşir. (40)

2.8. Tanı

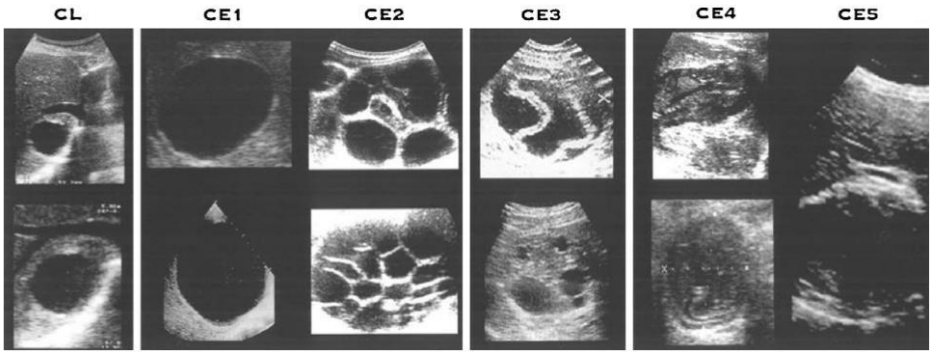
Hastalığın tanısında görüntüleme yöntemleri ve serolojik testler kullanılır. Klinik olarak şüphe edilen vakalarda radyolojik görüntüleme yöntemleri, özellikle US ve BT yaygın olarak kullanılır ve yüksek doğruluk oranlarına sahiptir. BT kist yerleşimini, tipolojisini, içeriğini ve etrafındaki yapılarla ilişkisini daha net olarak ortaya koymaktadır (1). Ancak kistin safra yollarına açılması sonrası muhteviyatın safra kanallarında yarattığı değişiklikleri değerlendirmek için MR, MRCP, ERCP, Hepatobiliyer sintigrafi kullanılabilir (40). Serolojik testler daha çok hidatid kisti basit kist, tümör, abse gibi hepatik kitle görünümlü diğer lezyonlardan ayırmak için kullanılmaktadır. DSÖ de serolojik testlerin kullanımını önermektedir. Yine post-op hasta takibi ve olası nüks durumlarının doğrulanması amacıyla da seroloji kullanılmaktadır. (41)

2.8.1. Radyolojik Tanı

Kist hidatiğin tanısında radyolojik görüntüleme yöntemleri önemli bir yer tutmaktadır. Karaciğer sintigrafisi tanıyı %85-90 oranında doğrular. US tanıda değerlidir ve karaciğer kist hidatiğinde % 90 oranında tanı koydurucudur. Bilgisayarlı tomografik tanı ultrasonografiye eş değerdedir. Ancak kistin lokalizasyonu, derinliği ve hacminin daha iyi değerlendirilmesine neden olmaktadır (42)

E.granulosus'un etken olduğu kistlerin farklı US görünümleri temel alınarak birçok bilim adamı tarafından, sınıflandırma şemaları önerilmiştir. Önerilen tüm sınıflandırmalar dikkate alınarak 2001 yılında Dünya Sağlık Örgütü'nün Ekinokokkozis çalışma grubu (WHO-IWGE), karaciğer hidatid kisti için hastalığın aktivitesini temel alan ve tüm dünyada kabul gören bir sınıflama yayınlamıştır (42) (Şekil 6).

Bu sınıflandırmaya göre;
CL - erken evre (uniloküler kist – anekoik), sıvı dolu
CE1 Tip1 - Pür kistik (sferik-oval-kalın duvarlı), sıvı dolu
CE3 Tip2 – Membran ayrışması olan (Nilüferçiçeği), sıvı dolu
CE2 Tip3 - Septalı / multipl kız kist içeren, sıvı dolu
CE4 Tip4 – Heterojen patern (hipoekoik/ hiperekoik/ dejeneratif içerikli)
CE5 Tip5 – Tümüyle kalsifik duvarlı



Şekil 6: WHO-IWGE tarafından standardize edilmiş hidatik kist sınıflandırması (43)

2.8.2. Serolojik Tanı

Serolojik testler, her zaman saptanabilir immün yanıt gösterilememesine rağmen radyolojik tanıyı doğrulamada ve tedavi sonrası hastaların takibinde kullanılmaktadır. Parazit kaynaklı proteinlerden oluşan hidatik kist sıvısındaki, antijenler kullanılarak geliştirilen, ELISA, IHA, IFAT ve lateks aglütinasyon yöntemleri laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılan yöntemler olmak ile birlikte altın standart olarak WB kullanılır (44). Bu testlerin serumdaki antikorları saptama duyarlılığı, karaciğer kistleri için %85-98, akciğer kistleri için %50-60

ve çoklu organ tutulumu olan kistler için %90-100'dür. IgG-ELISA testi birçok ülkede hali hazırda kullanılmakta olup, tüm serolojik testler arasında en iyi seçenektir (45). Çoğu rutin laboratuvar test sistemi ve ticari olarak satılan kitlerde ham ya da yarı saflaştırılmış *E.granulosus* antijenleri kullanmaktadır. En sık kullanılan iki hidatid kist sıvısı antijeni; ısıya dayanıksız "Antijen 5" ve ısıya dayanıklı "Antijen B" dir. Fakat her iki antijenin de *Taenia* cinsi sestodlarda da bulunması çapraz reaksiyona sebep olarak özgüllüğü düşüren önemli bir faktördür. Testlerin özgüllüğünü kısıtlayan diğer faktörlerse malignensiler, karaciğer sirozu ve anti-P1 antikorlarına bağlı çapraz reaksiyonlar olarak sıralanabilmektedir (45). Testlerin yüksek duyarlılık oranlarına rağmen her zaman antikor tespit edilememesi, beyin ve göz gibi organlarda yerleşim gösteren kistler ile kalsifiye olmuş kistlere karşı, genellikle çok düşük ya da hiç immün yanıt oluşmamasından kaynaklanmaktadır.(23)

2.9.3. Mikroskobik İnceleme

Aspire edilmiş hidatik kist sıvısında karakteristik protoskolekslerin görülmesine dayanmaktadır. Vital boyama ile protoskolekslerin canlılıkları hakkında bilgi verilebilmektedir (34). Sadece cerrahi müdahale, terapötik ponksiyon (PAIR) veya tanısal ponksiyon sonucu materyal elde edilebildiği için tanısal amaçla yaygın kullanımı sınırlıdır.

2.9.4. Moleküler Yöntemler

Moleküler yöntemler, tanıdan ziyade elde edilmiş kist materyalinde tür ve suş düzeyinde ayrım yapılabilmesini sağlamakta olup, bu amaçla kullanılan birçok yöntem bulunmaktadır:
Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Restriksiyon Fragman Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP)
Polimeraz Zincir Reaksiyonu - Restriksiyon Fragman Uzunluğu Polimorfizmi
Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik Deoksiribonükleik Asit – Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Polimeraz Zincir Reaksiyonu - Tek Sarmal Konformasyon Polimorfizmi
DNA Dizi Analizi Yöntemi
Bu tür ileri analizler hastalığın tanısal süreçlerinden çok, Echinococcus türleri arasındaki genetik çeşitliliği belirlemek ve genotip tayini amaçları ile kullanılmaktadırlar.

2.10. Tedavi

KE tedavisinde günümüzde de en etkin yöntem cerahidir. Cerrahide temel amaç; canlı parazitlerin tamamen uzaklaştırılması, muhteviyatın sterilizasyonu, germinatif membranın çıkarılması ve karaciğer fonksiyonlarının korunmasıdır. Cerrahide laparaskopik, radikal veya konservatif yöntemler kullanılabilmektedir (40). Cerrahinin riskli olduğu yer ve zamanlarda kemoterapi ve PAIR yaklaşımları seçilmektedir. Perkütan tedavi (PAIR); görüntüleme yöntemleriyle morfolojisi "uygun" saptanan hastalarda (Gharbi Tip1, Tip2 ve bazı Tip3'lerde) etkin ve güvenilir bir yöntemdir. Çoklu kisti olanlarda, hamilelerde, inoperabl olanlarda ve cerrahi tedaviyi kabul etmeyen hastalarda da önerilmektedir. Son olarak kist duvarının kalsifiye olduğu durumlarda ise tedavisiz izlem yolu olan "bekle ve gör" yaklaşımı seçilmektedir. Burada hasta periyodik aralıklarla takip edilmektedir.

2.10 Korunma ve Kontrol

KE'den korunma sağlamak için, parazitin yaşam döngüsünde yer alan konaklar ile ilişkisinin engellenmesi en temel adımdır. Parazitin kesin konağı olan köpeklere yönelik alınabilecek tedbirler şu şekilde olabilir; enfekte olmasını önlemek amacıyla; köpeklerin antiparazitik tedavilerinin (3 ayda bir) düzenli olarak sürdürülmesi ve tedavinin akabinde 3-5 gün boyunca dışkılarının imha edilmesi, sokak köpeği sayısının kontrol altına alınması ve kayıt altına alınan köpeklerin aşı durumunun takip edilmesi, besi hayvanlarının kesim işleminin sadece mezbahalarda ve veteriner hekim kontrolü altında yapılması, varolan kistli organların uygun yöntemler ile yok edilmesi gerekmektedir. Bunun yanı sıra, hastalık ile ilgili halkın bilinçlendirilmesi ve özellikle çocuklara hijyen kurallarının önemi aktarılmalıdır (1)

2.11. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

ELISA antijen antikor reaksiyonlarını göstermek için enzimlerin kullanıldığı bir serolojik tanı yöntemidir. Katı materyal üzerinde oluşturulan Ag-Ab kompleksine enzim ile işaretli konjugenin eklenmesi ve ardından substratın konmasıyla pozitif örneklerde renk oluşumunun gözlenmesi esasına dayanmaktadır. Örnekteki Ag veya Ab miktarı, enzim-substrat reaksiyonu sonucunda oluşan rengin şiddetini belirlemektedir. Şu özellikleri sebebi ile parazit hastalıklarının tanısında oldukça yaygın kullanılmaktadır: Kolay uygulanır;

yüksek duyarlılığa sahiptir; reaktifler uzun süre saklanabilir; çok sayıda örnek kısa sürede çalışılabilir; sonuçlar spektrofotometrik olarak objektif değerlendirilir (44).

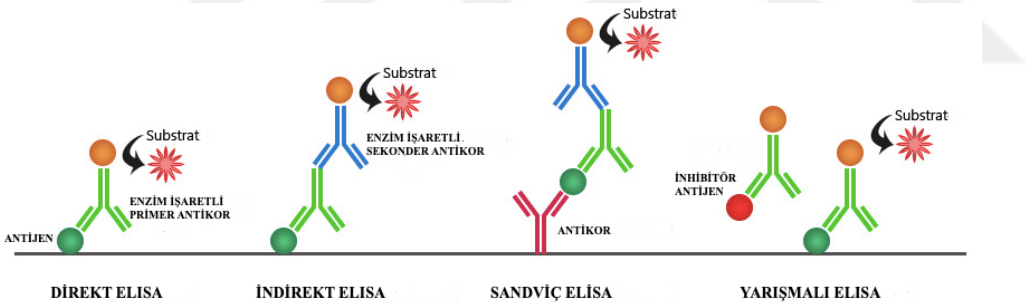
ELISA uygulama sistemleri farklılık gösterse de esas olan 3 ana basamak bulunmaktadır (46):

- Katı faza reaktif (antijen veya antikor) bağlanır (genelde kullanılan katı faz 96 çukurlu düz tabanlı polistren plaklardır)
- Yıkanır (katı faza bağlanan maddenin üstüne eklenen diğer reaktiflerin bağlanmayan kısımlarını uzaklaştırmak için)
- Renk oluşumu ile sonuç elde edilir.

ELISA sistemleri 3 temel yönteme dayanmaktadır (Şekil 7):

i. Direkt ELISA
ii. İndirekt ELISA
iii. Sandviç ELISA

Yarışmalı veya İnhibisyon ELISA sisteminin geliştirilmesinde bu 3 temel yöntem kullanılmaktadır.



Şekil 7: ELISA yöntemleri

2.11.1. Indirekt ELISA

Parazitolojide tanı amaçlı yapılan serolojik testlerin başında indirekt ELISA yöntemi gelir. Özgül antijenin katı faza aracısız bağlanması ve araştırılan antikorun eklenmesi ile direkt sisteme benzer.3 İndirekt ELISA yönteminde ise 2 farklı antikor kullanılır: Birincisi primer antikor olarak adlandırılır ve katı faza sabitlenen antijenlere spesifiktir. İkincisi sekonder antikordur ve enzim işaretli olup primer antikora bağlanır.

Bu yöntemde saptanmak istenen molekül, serum veya herhangi bir çözelti içerisindeki antikorlardır. Böyle antikorlar immünoglobulin türüne karşı üretilir ve anti-tür konjuge

olarak adlandırılır. Böylece farklı türlerde antikor aranması kolaylaşır. Ticari olarak çok sayıda tip anti-tür konjuge vardır (anti-IgM, anti-IgG_1, anti-IgG_2 vb.) (46).

Yöntem kısaca şöyledir:

1. Antijen belirli bir inkübasyon sürecinde pasif adsorbsiyon ile katı faza (96 kuyucuklu mikroplak) bağlanır. Tampon çözelti ile plaktaki bağlanmamış bölgeler doyurularak bloke edilir.
2. Daha sonra ortama test edilmek istenen örnek (varlığı araştırılan ve enzimle işaretli olmayan antikor) eklenir ve bu örnek içerisinde bulunan primer antikorların yüzeyde bulunan antijenler ile bağlanması sağlanır.
3. İnkübasyon ve yıkama sonrası araştırılan antikoru hedefleyen (Primer antikora spesifik) enzim ile işaretlenmiş sekonder antikor (enzim işaretli anti-human antikoru = Konjuge) kuyucuklara eklenir.
4. İnkübasyon ve yıkama sonrası kullanılan enzimin substratı ortama eklenerek reaksiyona bağlı renk oluşumu gözlenir ve uygun dalga boyunda spektrofotometrik olarak okunur (ELISA yönteminde kullanılan enzimler, substratlar, durdurma solüsyonları ve okuma dalga boylarını içeren bilgiler aşağıda Tablo 1'de sunulmuştur).

Sekonder antikorun kullanılması İndirekt ELISA'yı Direkt ELISA'dan daha duyarlı hale getirir. Bilinen bir Ag ve tek bir konjuge kullanılarak çok sayıda örnekte Ab varlığı araştırılabilinir. Sistemdeki tek problem bazı serumlarda non-spesifik bağlanma olabilmesidir. Bu nedenle test güvenliğinin sağlanması için yöntemde çok sayıda kontrol serumunun kullanılması önerilmektedir (46).

Tablo 1: ELISA yönteminde kullanılan enzimler, substratlar, durdurma solüsyonları ve okuma dalga boyları (* ile işaretli enzim, substrat, renk ve dalga boyu çalışmamızda kullandığımız malzeme ve yöntemlerdir)(46)

ENZİM	SUBSTRAT	RENK	OKUMA (nm)	DURDURMA
HRP	OPD	Turuncu/ kahverengi	492	1.25 M Sülfirik Asit
	TMB	Sarı	450	HCl, SDS
	ABTS	Yeşil	414	Durdurulamaz
	5-AS	Kahverengi	450	Durdurulamaz
	Diamino Benzidin	Kahverengi	N/A	Durdurulamaz
AP(*)	PNPP	Sarı/yeşil	405	Durdurulamaz/NaOH
				Sodyum karbonat (2M)
ß-galaktozidaz	ONPG	Sarı	420	Sodyum karbonat (2M)
Üreaz	Üre-bromokrezol	Mor	588	Mertiolat (%1)

2.12. Tıbbi Laboratuvarlarda Test Süreçleri Ve Preanalitik Hatalar

Laboratuvar hataları, hekimin test isteminden başlayarak, sonuçların raporlanmasına kadar geçen süre içerisinde herhangi bir basamakta ortaya çıkan hatalardır (47, 58). İstenen tetkiklerin doğru, güvenilir ve zamanlı olması için preanalitik, analitik ve postanalitik evreler olarak bölümlenen toplam test sürecinin hiçbir aşamasında hata olmamalıdır (48, 57). Analiz öncesi evre (preanalitik evre) hasta güvenliğinin laboratuvara ait bölümünün en önemli bileşeni olarak kabul edilmektedir (49). Preanalitik evre testin klinisyen tarafından seçilmesi ile başlayarak, numune alınacak kişinin hazırlanması, numunenin alınma biçimi, kimliklendirilmesi/etiketlenmesi/barkodlanması, laboratuvara ulaştırılıncaya kadar muhafazası ve talimatlara uygun transferi, laboratuvara ulaştıktan sonra analiz yapılacak duruma hazır hale getirilmesi (laboratuvarda bekleme, saklama ve ön işlemler) sürecini kapsamaktadır (50, 49). Analitik evre, numunelerin analiz edilmesi ile test sonuçlarının

onaylanması arasındaki süreçtir (51). Postanalitik yani analiz sonrası süreç ise, analiz edilen testin sonuçlarının hasta için kullanıldığı süreci kapsamaktadır (52). Süreç tanımlarında da görüldüğü gibi bir testin seçilmesinden, sonucun hastaya ve klinisyene ulaşmasına kadar geçen bütün adımlar titizlikle incelenmelidir. Gerekli görüldüğü durumlarda ise süreçlerle ilgili yeni düzenlemeler ve iyileştirme çalışmaları yapılmalıdır (53).

Tıbbi laboratuvar hataları, test sürecinin tüm aşamalarında ortaya çıkabilir. Hatalı olan, geç sonuçlanan ya da sonuçlandırılamadığı için raporlanmamış olan tetkik sonuçları için diğer birimler tarafından yapılan genel yaklaşım; bütüncül olarak laboratuvarın yanlış çalıştığıdır. Ancak toplam laboratuvar hataları arasında laboratuvarda numunenin çalışılması sırasında (analiz süreci) oluşan yanlışlıklara bağlı hatalar sadece %30-35'lik bir bölümü oluşturmaktadır. Postanalitik hatalar ise analiz sürecinin %5-10'luk dilimini kapsar. Toplam laboratuvar hataları arasında en büyük yüzdeyi ise %60-70 ile analiz öncesi dönemde (preanalitik) yapılan yanlış uygulamalara bağlı olan hatalar oluşturmaktadır. Analiz sonrası süreç hataları ise en düşük yüzde ile (%5-10) karşımıza çıkmaktadır (54) (Tablo 2).

Tablo 2: Tıbbi laboratuvarlarda hata tipleri ve dağılımları

Tıbbi Laboratuvarlarda Hata Tipleri ve Toplam Laboratuvar Hataları içinde görülme sıklıkları	
Preanalitik Hatalar	%60-70
Analitik Hatalar	%30-35
Postanalitik Hatalar	%5-10

Preanalitik sürece birçok laboratuvar dışı birim de katıldığından, bu sürecin standardize edilmesi diğer süreçlere nazaran biraz daha zordur. ISO 15189-2012 Tıbbi laboratuvarlar kalite ve yeterlilik için özel şartlar standardı tüm laboratuvar süreçlerine yönelik hataların kaydını ve düzeltici-iyileştirici önlemler alınmasını gerekli kılmaktadır (55).

Hataların azaltılabilmesi için, önce bu evrelerdeki hata kaynaklarının bilinmesi gerekir. Laboratuvar sonucunu etkileyebilecek analiz öncesi başlıca hatalar şöyle sıralanabilmektedir (Tablo 3):

Tablo 3: Laboratuvarda oluşabilecek hatalar ve kaynakları (56)

HATA KAYNAKLARI	
AŞAMA	**HATA**
Testlerin İstenmesi Aşamasında Olabilecek Hatalar	• Tekrarlayan test istekleri • Test isteği yapan kişinin belirsiz olması • İstenilmiş olan testin yapılmıyor olması • İstenilen testin kullanım amacı ile uyumsuz olması
Hasta Örneğinin Alınacağı Numune Kapları İle İlgili Hatalar	• Hasta örneğinin alınmamış olması (eksik tüp) • Hasta örneğinin laboratuvarda kaybolması • Yanlış numune tipi • Uygun olmayan numune kabı ya da tüpü seçilmiş olması • Yanlış antikoagulan madde içeren tüpe kan alma • Analiz için yetersiz numune alma • Tüpü eksik ya da fazla doldurma hatası (kan ve antikoagulan maddenin uygun olmayan oranda karışımı
Hasta Örneğinin Alınması Sırasında Oluşabilecek Hata Nedenleri	• Başarısız kan alma tekniği • Kan alma sırasında doku zedelenmesi oluşması • Hastanın istenilen tetkikine uygun/doğru zamanda kan alınmamış olması • Numunenin doğru alınmaması
Hasta Örneğinin Kimliklendirilmesi (Tüplerin Barkodlanması) Sırasında Oluşabilecek Olan Hatalar	• Tüp üzerinde isim ya da kimlik bilgisi olmaması • Yanlış numune etiketi • Tüp üzerinde yanlış isim • Yanlış kan tipi etiketi • Tarih ve saat bilgisinin tüp üzerinde olmaması • Okunaksız ya da silinmiş etiketler • Test isteği ve etiketleme arasında uyumsuzluk
Örnek Transportu Sırasında Oluşabilecek Preanalitik Hatalar	• Numune taşıma sırasında ortam sıcaklığının, istenilen testler için optimal koşulları sağlamaması • Transport sırasında gecikme olması • Kan tüplerinin transportu sırasında aşırı çalkalanma nedeni ile hemoliz oluşması • Transport sırasında numune kaybolması, numunelerin farklı laboratuvarlara teslim edilmesi • Transport sırasında numune kabından/tüpünden sızıntı olması
Laboratuvara ulaştıktan sonra oluşabilecek Preanalitik hatalar (STED)	• Laboratuvara ulaşan numunenin analiz aşamasından önce bekleme, saklama ve ön işlem koşullarının uygun olmaması (bunları düzenleyen talimatların dikkate alınmaması, dikkatsizlikler) • Numunenin laboratuvarda kaybolması
Numunenin fiziksel özellikleri nedeni ile iptal edilmesi	• Test çalışılmadan hemolizli numunenin laboratuvarda red edilmesi ve yeni numune istenmesi, • Test çalışıldıktan sonra hemoliz olduğu görülen numunede bazı testlerin iptal edilmesi ve yeni numune istenmesi, • Dilüsyonlu olduğu anlaşılan numunenin red edilmesi, • Kateterden alınan numunelerde heparin etkisi görülmesi nedeni ile sonuç verilememesi.

Laboratuvar bilgi sistemleri (LBS) ve dolayısıyla hastane bilgi yönetim sistemine (HBYS) tanımlı olan numune red neden ve sayıları, analiz öncesi hataların en azından bir bölümünün sıklığını saptayabilmek ve önlem alabilmek adına güvenilir veri toplamanın bir yolu olarak işaret edilmektedir (58-60).
Kısaca analiz öncesi evrede sayılan bileşenlerin herhangi birinde gelişecek hatalı uygulama, numune reddine veya hatalı test sonucuna yol açacaktır. Numune reddi ya da olası elde edilebilecek yanlış test sonuçları, hasta güvenliğini olumsuz etkileyebilecek, sonuç alma süresini uzatabilecek, işgücü ve ekonomik kayba sebep olabilecektir. Koşulların uygunluk denetim ve gözetimi oldukça önemlidir.

Literatürde birçok çalışmada, saklama/transfer koşullarının çeşitli biyokimyasal bileşenlerin kararlılığını nasıl etkilediği konusu incelendiği gözlenmiştir(61-63). Bunun yanında serumdaki immunglobulin kararlılığının ve optimal serum saklama koşullarının üzerine çok az sayıda çalışma ve yönerge bulunmaktadır (64-66). Ancak olanların da neredeyse tümü, C Dard ve arkadaşlarının da çalışmasında (67) olduğu gibi -20° C'de uzun süreli (burada altı yıl) serum depolamanın immünoglobulinlerinin stabilitesi üzerindeki etkisinin değerlendirildiği çalışmalardır (ilgili çalışmada değişiklik rapor edilmemiştir). Rastlanılan sadece bir tez çalışmasında, analiz sonrası değil de analiz öncesi süreçte, anti-*Toxoplasma gondii* IgG antikorlarının 5 farklı numune üzerinden 3 ortamda 72 saate kadarki kararlılığı incelenmiş ve orada da ulaşılan değişik test sonuçlarının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı paylaşılmıştır (68).

Literatürde sıklıkla yer alan, hastalığa yönelik seroprevalans çalışmalarında yaygın davranış, kan örneklerinin alındıktan hemen sonra serumlarının ayrıldığı ve -20°C'de bekletildikten sonra çalışıldığı yönündedir (69, 70). Bazı seroprevalans çalışmalarında ise (Retmanasari, 2017 – 71-) kan örneklerinin transportunun termik çanta (8-10°C) ile sağlandığı, ardından buzdolabında (+4°C) gece boyunca bekletilip sonra ayrılan serum örneklerinin eppendorf tüplere aktarılarak derin dondurucuda (-20°C) saklandığı rapor edilmektedir. Rutin tanısal uygulamalar için ise ülkemizde farklı kurumlara ait test rehberlerinde (72-74) hastalığın tanısına yönelik hazırlanan test prosedürlerinde, numuneye ait transfer ve saklama koşullarının bazı ayrılıklar taşıdığı izlenmiştir. Transfer sıcaklıkları ve depolama sıcaklık ve sürelerinde farklılıklar göze çarpmaktadır. Kimi hastane transportu oda sıcaklığında ve

saklamayı 4°C olarak belirtirken (73), kimi laboratuvar taşımayı 2-8°C önermekte (74), kimi hastane saklamayı -20°C (72) önermektedir.

Burada, serum örneklerinin alınması ve sonrasında laboratuvara ulaştırılması sürecinde dış ortam koşullarından etkilenmesinin test sonuçları üzerinde nasıl etkileneceğine, bu etkileşimin test sonuçları üzerinde nasıl bir değişime yol açacağını incelemek amacıyla bir çalışma planlanmıştır. Bu çalışmada kistik ekinokokkozisli hastalardan alınan serum örneklerindeki anti-*Echinococcus granulosus* IgG antikor titrelerinin, pre-analitik süreçte rutinde rastlanabilecek/ rastlanan aksaklıklar üzerinden sıcaklık ve zamana bağlı değişiminin saptanması amaçlanmıştır. Anlamlı düzeyde etkilenmediği yönündeki bir sonuca ulaşmak ise serum örneklerinin uygun koşullarda muhafaza/transfer edilmediği gerekçesi ile hastalardan tekrar kan alınmasının önüne geçilecek bazı mekanizmaların araştırılması/ oluşturulması yönünde bir kapı aralamış olacaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Tipi:

"Preanalitik süreçte sıcaklık ve zamanın Anti-*Echinococcus granulosus* antikor titreleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi" başlıklı çalışmamız, serumdaki hastalık antikor seviyelerinin zamana ve değişik ortam koşullarına bağlı değişikliklerinin izleneceği metodolojik bir çalışmadır.

3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı:

Çalışmamız, Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'nun 09/11/2020 Tarihli 2020/27-43 Sayılı Karar No'lu onayını (EK-3) takiben başlatılmıştır. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda Temmuz 2020 - Haziran 2021 arasında gerçekleştirilmiştir. Örnekler Dokuz Eylül Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı tarafından karaciğer yerleşimli KE tanısı ile opere edilmiş ve takip edilen hastalardan Ocak 2021- Mart 2021 arasında elde edilmiştir.

3.3.Araştırmanın Çalışma Grubu

Çalışmaya DEÜ Hastanesi Genel Cerrahi A.D. Polikliniği'de daha önceden radyolojik ve serolojik olarak KE tanısı almış, opere edilmiş, tanısı patolojik olarak doğrulanmış ve takipte olan; rutin kontrol amacı ile polikliniğe çağrılan hastalar dahil edilmiştir. Grubu oluşturacak bireylerin cinsiyet farketmeksizin 18 yaş üstü yetişkin birey olmaları ve önceki testlerinde seropozitif (anti-*E.granulosus* IgG Ab pozitif) olarak değerlendirilmiş olmaları beklenmiştir. Düşük seropozitiflik ve seronegatiflik dışlanma kriteri olarak kabul edilmiştir. Gönüllü katılımcılara çalışma ile ilgili detaylı bilgi verilip Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu imzalatılmıştır (EK-1: BGOF).

3.4. Çalışma Materyali

Araştırmada kullanılan çalışma materyali olarak serum kullanılmıştır. Kullanılan serumlar, Dokuz Eylül Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nca KE tanısı ile opere edilmiş ve

takip edilen, anti-*E.granulosus* IgG antikor pozitif olan hastalardan rutin sırasında anabilim dalı hemşirelerince 5 ml kan alınarak elde edilmiştir.
Örnekler, hastalara çalışma hakkında detay verilip, bilgilendirilmiş gönüllü olur formu imzalatılarak Ocak 2021-Mart 2021 tarihleri arasında toplanmıştır.

3.5. Araştırmanın Değişkenleri

Titrasyon değerleri araştırmanın bağımlı değişkenidir.
Farklı sıcaklık değerleri ve bekleme süreleri araştırmanın bağımsız değişkenleridir.

3.6. Veri Toplama Araçları

3.6.1. Serum örneklerinin hazırlanması aşamasında kullanılan malzemeler

Serum örneklerinin hazırlanması aşamasında kullanılan malzemeler Tablo 4 ‘de sunulmuştur.

Tablo 4: Serum örneklerinin hazırlanmasında kullanılan malzemeler

ADI	KULLANIM AMACI
Biyokimya kan tüpleri (Sarı kapaklı- jelli) (5 ml)	İlk kan alımı
Santrifüj cihazı (HettichZentrifugen Mikro 22)	Serum ayırma
Biyokimya kan tüpleri (Kırmızı kapaklı)	Ayrışan serumların ilk depolandığı tüp
Eppendorf plastik tüp (0,5 ml)	Her bir ortama ayrı serum alikotlama
pH metre	DEAB, PBS/PBS-Twen20 yapımında pH ölçümü
Mikropipet (Thermo FinnPipette) (tekli ve çoklu)	Düşük düzeyde sıvı aktarımları için (özellikle dar alanlarda)
Mikropipet ucu	Test sırasında mikro kuyucuklara aktarım için
İnkübatör (Memmert; LabLine) (biri +25°C ve diğeri +37°C’de ortam sunmak üzere 2 adet)	Serum örneklerinin ısıtılarak saklanması saklandığı belirli sıcaklıktaki
+4°C soğutucu	Serum örneklerinin soğutularak saklanması
-20°C soğutucu	Serum örneklerinin dondurularak saklanması
Disposable lateks eldiven	Enfeksiyon riskinin önlenmesi
Termometre	Sıcaklık ölçümü
Vortex (Velp Scientifica Zx³)	En az bir bileşeni sıvı olan karışımların homojenizasyonunda



Şekil 8: Serum örneklerinin hazırlanmasında kullanılan malzemeler

3.6.2. Kan örneklerinin toplanması ve Serum örneklerinin elde edilmesi

Hastalardan, Dokuz Eylül Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Polikliniği'nde görevli hemşireler tarafından; sarı kapaklı jelli tüplere 5 ml kan alındı. Hastalardan alınan bu kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serum ayrışması sağlandı. Her bir kan örneğinden ortalama 2 – 2,5 ml serum elde edildi. Ayrıştırılan bu serum örnekleri hasta ad ve soyadının yazılı olduğu önceden hazırlanan jelsiz kırmızı biyokimya tüplerine aktarıldı.

3.6.3. Serum örneklerinin çalışma için hazırlanması

Her bir çalışma serumu, 0. saat için bir, diğer her bir çalışma saati için (1.gün, 2.gün, 3.gün, 1.hafta, 2.hafta, 3.hafta) ise dört tane olmak üzere, çalışılacak dört farklı ortam koşulunda (-20 °C, +4 °C, +25 °C ve +37 °C) saklanmak üzere toplamda 25'er adet 0.5 ml hacimli eppendorf tüplere 40 µl olacak şekilde alikotlandı.

Her bir serum örneği için:

0. saat için 1 eppendorf → 40 µl (kan alındığı gün test edilmiştir)

Diğer her bir (6) çalışma zamanı için 4 eppendorf:

-20 °C, +4 °C, +25 °C ve +37 °C'de saklanmak üzere 1'er eppendorf → her birinde 40 µl

Örnekler çalışılmak üzere toplamda 250 eppendorf olarak alikotlanmıştır .

3.6.4. Serum örneklerinin ELISA test ile çalışılması

3.6.4.1.ELISA test çalışılırken Kullanılan malzeme ekipman ve solusyonlar:

Kullanılan malzeme, ekipman, Solüsyon ve çözeltiler Tablo 5'de sunulmuştur.

Tablo 5 : ELISA testi sırasında kullanılan ekipman ve solüsyonlar

96 kuyucuklu düz tabanlı ELISA mikroplate	Testin yapılacağı mikro kuyucuklar içeren plak
Spektrofotometri cihazı (D.A.S. s.r.l. Plate Reader)	Test sonucunu veren, mikroplakları ışık dalga boyuna göre ölçerek sayıya döken cihaz
Working buffer	Bloklama
PBS (phosphate-buffered saline) tampon	Tampon Solusyon (Antijen Serum Konjuge Sulandırma Ve Basamaklar Arası Plak Yıkama)
PBS-Tween20	Yıkama
DEAB (Diethanolamine Buffer)	Tampon Solusyon (Substrat Sulandırma)
Konjuge (Sigma-Aldrich, Anti-Human IgG (γ-chain specific) Alkaline Phosphatase antibody produced in goat, affinity isolated antibody	Antikorlara Yapışır Substratın Bağlanacağı Zemin Oluşturur
Substrat (Sigma-Aldrich, 4-nitrophenyl phosphate, pNPP)	Renk Açığa Çıkarıcı (Konjuge Tamamlayıcı)
Hassas tartı	Katı bileşenlerin miktarının belirlenmesi

3.6.4.2.Kullanılan solüsyon ve tampon çözeltilerin hazırlanması

3.6.4.2.1. Antijen hazırlama

Çalışmada, daha önceden hazırlanmış rutin tanıda da kullanılan koyun ham kist sıvısı antijeni kullanılmıştır (önceden hazırlanmış, porsiyonlara ayrılmış ve -20 °C'de saklanmakta olan).

Antijen hazırlığına ait bilgi notu: Antijen hazırlığı için kesimhanelerdeki kist saptanan koyunlardan elde edilen karaciğer, soğutucu termos içerisinde laboratuvara getirilir. Enfekte karaciğerin kist içeren kısmı kesilir ve kist içeriği aspire edilir. Steril falkonlara porsiyonlanıp -20°C'de kullanılana kadar saklanır.

3.6.4.2.2. Antijen Solüsyonu

96 kuyucuklu düz tabanlı 1 plak için;

10 mL PBS + 100 µl koyun ham kist sıvısı antijeni karıştırılır.

3.6.4.2.3. Tampon çözeltiler

i. WB (Workıng Buffer) (Bloklama Ajanı-Solusyonu)

a) Stok BBS hazırlama

H_3BO_3	: 1,1 g
NaOH	: 0,1 g
NaCl	: 0,145 g
Distile su	: 50 mL

b) Saline Azide hazırlama (%1'lik)

NaCl	: 5 g
NaN_3	: 0,05 g
Distile su	: 500 mL

500 mL hazırlanıp 450 mL kullanılacak

c) Son aşama

%1'lik Saline Azide : 450 mL

Stok BBS : 50 mL

Tween 20 : 0,25 mL

Bovine Serum Albumin (BSA) : 2,5 Ml

ii. PBS (Phosphate-Buffered Saline) Tampon

NaCl : 8,5 g

NaH_2PO_4 x $2H_2O$: 0,22 g

K_2HPO_4 : 1,2 g

Distile su : 1 L

pH 7'den büyük olacak şekilde (≈ 7,4) NaOH ile titre edildi.

iii. PBS-TWEEN20

NaCl : 8,5 g

NaH_2PO_4 x $2H_2O$: 0,22 g

K_2HPO_4 : 1,2 g

Distile su : 1 L

pH 7'den büyük olacak şekilde (≈ 7,4) NaOH ile titre edildi.

Üzerine 500 µl Tween 20 eklendi.

iv. DEAB (Diethanolamin Buffer)

Diethanolamine : 97 g

Sodyum azide : 0,2 g

Cl_2Mg x $6H_2O$: 0,1 g

Distile su : 800 ml

pH 9,8 olacak şekilde titre edildi. Tamponlama HCl ile yapılır. Sonrasında çözelti, distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

v. Konjuge

Konjuge solüsyonu PBS ile hazırlanır.
1 adet 96'lık mikroplak için kullanılacak solüsyon 10 ml PBS içine 1,2 µl konjuge karıştırılarak hazırlanır.

vi. Substrat

Substrat solüsyonu DEAB ile hazırlanır.
1 adet 96'lık mikroplate için kullanılan solüsyon 10 ml DEAB içine 0,01 g substrat karıştırılarak hazırlanır.

3.6.4.3.Çalışma Plaklarının Hazırlanması (Katı fazın Antijen ile Kaplanması)

ELISA testi için 96 kuyucuklu düz tabanlı mikroplaklar kullanıldı. Plaklar her test uygulamasından bir gün önce antijen ile kaplandı. Taze hazırlanan antijen solüsyonundan her bir kuyucuğa 100 µl olacak şekilde pay edildi. Sadece negatif kontrol grubunun olduğu sütundaki birbirini takip eden son iki kuyucuğa plate kontrolü olması amacıyla antijen eklenmedi; boş bırakıldı (blank=kör kuyucuklar). Plaklar parafinle kapatıldı ve +4°C'de 1 gece bekletildi.
Ertesi gün test uygulamasına başlarken bir önceki gün kaplanan bu antijenler dökülerek plaktan uzaklaştırıldı. Olası bağlanmamış alanların bloke edilmesi için, her bir kuyucuk 200 µl working buffer ile kaplandı, oda sıcaklığında minimum 30 dakika bekletildi; sonrasında blokaj ajanı buffer dökülerek uzaklaştırıldı.

3.6.4.4.ELISA Çalışma Plak Dizaynı

Her bir plakta ilk sütun negatif kontrol, ikinci sütun cut-off (ara kontrol), üçüncü sütun pozitif kontrol grubu olarak kullanıldı. Plakta dördüncü sütundan itibaren on ikinci son sütuna kadar örnekler olacak şekilde kurulum yapıldı. Plak üzerinde her bir dilüsyon için çift çukur ayrıldı. 1/80, 1/160, 1/320 ve 1/640 şeklinde serum dilüsyonları için çalışma alanı oluşturuldu. Plak çalışma düzenleri Tablo 6 ve Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 6: Plak düzeni; negatif kontrol, cutt-off (ara kontrol), pozitif kontrol, örnek yerleşim ve dilüsyonları

Negatif kontrol	Cutt-off (ara kontrol)	Pozitif kontrol	1. Hasta	2. hasta	3. hasta	4. hasta	5. hasta	6. hasta	7. hasta	8. hasta	9. hasta
1/80	1/80	1/80	1/80	1/80	1/80	1/80	1/80	1/80	1/80	1/80	1/80
1/80	1/80	1/80	1/80	1/80	1/80	1/80	1/80	1/80	1/80	1/80	1/80
1/160	1/160	1/160	1/160	1/160	1/160	1/160	1/160	1/160	1/160	1/160	1/160
1/160	1/160	1/160	1/160	1/160	1/160	1/160	1/160	1/160	1/160	1/160	1/160
1/320	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320
1/320	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320	1/320
Blank	1/640	1/640	1/640	1/640	1/640	1/640	1/640	1/640	1/640	1/640	1/640
Blank	1/640	1/640	1/640	1/640	1/640	1/640	1/640	1/640	1/640	1/640	1/640

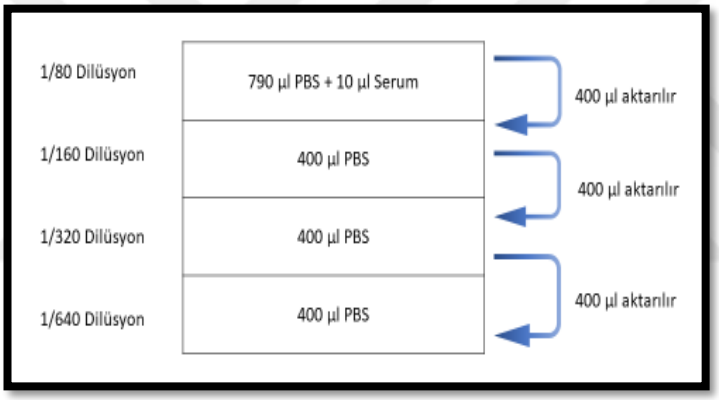
Tablo 7: Plak düzeni (uzayan 10.örnek için) negatif kontrol, cutt-off (ara kontrol), pozitif kontrol, örnek yerleşim ve dilüsyonları

Negatif kontrol	Cutt-off (ara kontrol)	Pozitif kontrol	10. hasta
1/80	1/80	1/80	1/80
1/80	1/80	1/80	1/80
1/160	1/160	1/160	1/160
1/160	1/160	1/160	1/160
1/320	1/320	1/320	1/320
1/320	1/320	1/320	1/320
Blank	1/640	1/640	1/640
Blank	1/640	1/640	1/640

3.6.4.5.Yöntemin uygulanması

Çalışma serumları ve 3 ayrı kontrol serum (pozitif, negatif ve ara kontrol) sulandırımları antijen kaplanmış mikroplak dışında bir 96 well derin kuyu PCR plağında hazırlandı. PCR plağında hazırlandıktan sonra antijen ile kaplanmış mikroplağa aktarıldı. Çalışma serumlarının dilüsyonlarını hazırlamak için PBS kullanıldı.

- 1/80 oranındaki dilüsyon için;
    - 10 µl hasta serumu + 790 µl PBS tüpte karıştırıldı.
- 1/160 oranındaki dilüsyon için;
    - Bir önceki dilüsyon tüpünden (1/80) 400 µl karışım alındı ve içinde 400 µl PBS bulunan tüpe aktarıldı ve karıştırıldı.
- 1/320 oranındaki dilüsyon için;
    - Bir önceki dilüsyondan (1/160) 400 µl karışım alındı ve içinde 400 µl PBS bulunan tüpe aktarıldı ve karıştırıldı.
- 1/640 oranındaki dilüsyon için;
    - Bir önceki dilüsyondan (1/320) 400 µl karışım alındı ve içinde 400 µl PBS bulunan tüpe aktarıldı ve karıştırıldı (Şekil 9).



Şekil 9: Serum dilüsyonlarının derin kuyu PCR plağında hazırlanma şeması

Serum dilüsyonları derin kuyu PCR plağında bu şekilde hazırlandıktan sonra antijenle kaplanmış mikropaklara aktarım yapıldı. WB ile bloklama yapılmış antijenli plaklar silkelenip kurutuldu. Serum sulandırımları 100'er µl olacak şekilde son sulandırımdan başlamak üzere Tablo 3 ve Tablo 4'teki deki kuruluma sadık kalınarak mikroplağa aktarıldı. Başlangıçta da belirtildiği üzere test içi kalite kontrolü sağlanması amacıyla her dilüsyon çift çukur olarak çalışıldı. Çalışmanın diğer aşamalarına geçildi.

- Kontroller ve örnekler plaklara yayıldıktan sonra 37 °C'de etüvde 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonunda mikroplaklar silkelenerek serum sulandırımları döküldü ve 200 µl PBS-Twen20 ile 2 defa; bir defa da PBS ile artefaktların atılması amacıyla 5'er dakika yıkandı.
- Kağıt havlu üzerinde silkelenerek kurutulmuş mikroplağa, sulandırılmış konjugeden her bir çukura 100 µl eklendi. Konjuge eklenen plaklar 37 °C'de etüvde bir saat inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonunda mikroplaklar silkelenerek dökülüp, çukurlar yine 200µl PBS-Twen20 ile iki kez; bir defa da PBS ile artefaktların atılması amacıyla 5'er dakika yıkandı.
- Mikroplak çukurlarının her birine konjugeye uygun olan ve taze hazırlanmış substrattan 100 µl eklendi. Plaklar oda sıcaklığında karanlık bir ortama alınıp 15-60 dakika arası beklendi (Enzim tarafından hidrolize edilerek renk açığa çıkana kadar). Çalışılan home-made ELISA yöntemi olduğu için stop solüsyonu (durdurma ajanı) kullanılmamıştır. Pozitif kontrolün, beklenen absorbans değeri üzerine çıkmış olması çalışmanın nihai noktası kabul edilmektedir. Bu değere ulaşım 15-60 dakika arasında değişen sürelerde olup, göz ve spektrofotometrik ölçüm ile takip edilmektedir. Pozitif kontrolün istenen değere ulaşması sonrasında değerlendirmeye geçilmektedir.
- Plaklar spektrofotometri cihazında 405 nm dalga boyunda okutularak absorbans değerleri kaydedildi.

Not 1: Ölçüm sırasında 2. Gün 0 °C sıcaklık ölçümü sırasında spektrofotometrik cihaz arızası yaşanmıştır. Ölçüm işlemi farklı bir laboratuvarda gecikerek yapılmıştır. Bu durum absorbans değerlerinin beklenenin dışında aşırı yükselmesine sebep olmuştur (durdurma solüsyonu kullanılmadığından). Bu durum bulguların yorumlanmasında dikkate alınmıştır.
Not 2: 3. Hafta 25 °C sıcaklık analizlerinde spektrofotometrik ölçüm sonrası ilgili kuyularda saptanan sıfır değer, araştırmacıya bağlı manuel hata/atlama/pipetaj hatası göze çarpmıştır. Bulguların yorumlanmasında dikkate alınmıştır.

Not 3: Çalışmamızda kullandığımız enzim çeşidi, substrat çeşidi, durdurma solüsyonu çeşidi ve okuma dalga boyu 'GENEL BİLGİLER' bölümünde bulunan 'ELISA' başlığı altındaki Tablo'da belirtilmiştir.

3.6.4.6.Sonuçların Okunması ve Değerlendirilmesi

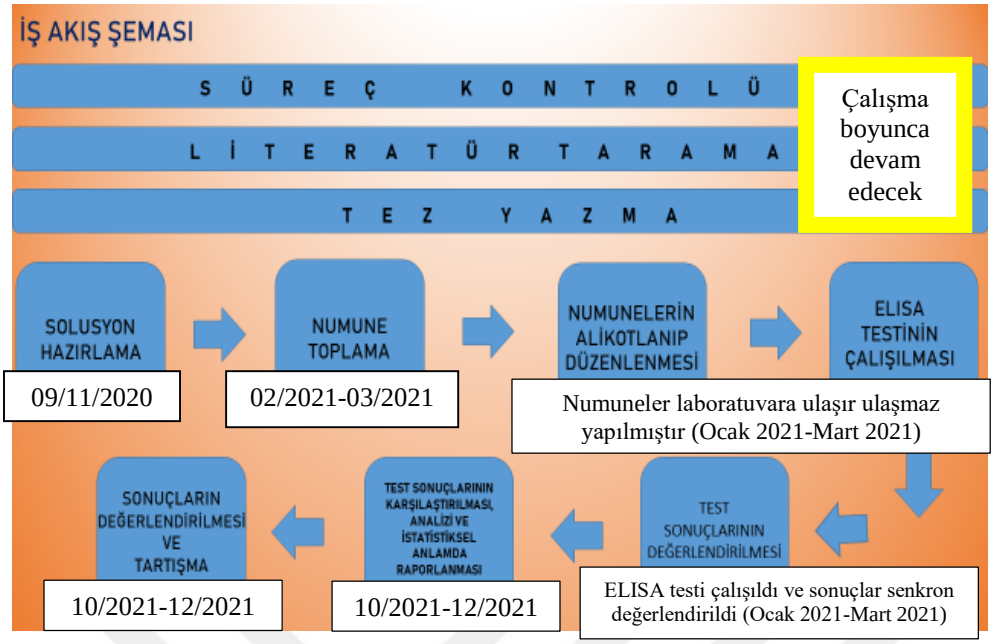
Absorbans değerleri olarak alınan sonuçların değerlendirilmesinde cut-off önem taşımaktadır.
Cut-off değerini elde edebilmek için negatif kontrol baz alınmıştır (44). Standart sapma ise blank çukurlar absorbans ortalamasıdır. Cut-off değeri üstü pozitif kabul edilmektedir.

Cut-Off Değeri = Negatif Kontrollerin Ortalaması + 2 Standart Sapma

3.7.Araştırmanın Planı ve Takvimi

Tablo 8: İş Paketleri

İş Paketi No	**İş Paketi Adı/Tanımı**	**Kimler Tarafından Yapılacağı**	**Aylar**											
			1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
1	Çalışma Tasarımı	Özlem, Burcu	X											
2	Literatür Tarama	Özlem, Burcu	X	X	X	X								
3	Etik Kurul İzninin Alınması	Özlem, Burcu			X	X								
3	Tez Önerisi Hazırlama ve Enstitüye Sunma	Özlem, Burcu			X	X								
4	Serum Toplama ve Alikotlama	Tarkan, Burcu					X	X	X					
5	ELISA Testinin Çalışılması	Özlem, Burcu					X	X	X					
6	Sonuçların Değerlendirilmesi ve Raporlama	Derya, Özlem, Burcu								X	X	X	X	X



Şekil 10: İş Akış Şeması

3.8.Verilerin İstatistiksel Analizi

Analizler SPSS 22.0 (IBM Corporation, Armonk, New York, United States) programı ile yapılmış, iki yönlü p değeri<0.05 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Farklı koşullardaki titrasyon düzeylerinin karşılaştırılması non-parametrik testlerden Wilcoxon Signed Ranks Testi ile yapılmıştır.

3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları

Çalışmanın sınırlılıkları, bütçe desteği olmaması nedeni ile çalışmaya dahil edilen hasta sayısının 10 ile sınırlandırılmış olması ve olağanüstü pandemi koşullarına rastlamış olmasıdır. Pandemi nedeni ile kapanan poliklinikler ve elektif hastanın da hastaneye çağrılma/gelmede çekince göstermesi gibi sebeplerle örnek sayısına ulaşmak da bir hayli zor olmuş ve planlanan zamanlar mücbir sebeple aşılmıştır. Daha geniş örnek sayısı ve ortam koşullarının da çeşitlendirilmesi ile daha kapsamlı araştırma verilerine ulaşılması mümkündür.

3.10. Araştırma Etiği

"Preanalitik süreçte sıcaklık ve zamanın Anti-*Echinococcus granulosus* antikor titreleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi" başlıklı çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulunun 09.11.2020 Tarihli, 2020/27-43 No'lu kararı ile etik açıdan onay alınmıştır. (EK-1: Etik Kurul Raporu)

4. BULGULAR

Çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'na KE tanısı almış olup rutin kontrol amacıyla çağrılan 10 gönüllüden alınan 5'er ml kan örneği ile yürütülmüştür. Tüm örneklerin 0. gün ELISA testleri çalışılarak anti-*Echinococcus granulosus* IgG değerleri belirlenmiştir. Örneklerin test edildiği 0. gün değerleri tabloda paylaşılmış ve bu değerler "referans değer" olarak kabul edilmiştir. (TABLO 9). Buna göre anti-*E.granulosus* IgG değeri 1/320'nin altında kalan örnekler dışlama kriterleri doğrultusunda çalışmadan dışlanmıştır. Çalışmada kalan 8 örnek için dört farklı ortam koşulunda; altı farklı zaman diliminde (1. gün, 2. gün, 3. gün, 1. hafta, 2. hafta ve 3. hafta) ELISA testi tekrar edilmiş ve elde edilen sonuçlar tabloda paylaşılmıştır (TABLO 10). Çalışma örneklerinin anti-*E.granulosus* IgG titreleri Wilcoxon Signed Ranks Testi ile karşılaştırılmıştır. Analizler SPSS 22.0 (IBM Corporation, Armonk, New York, United States) programı ile yapılmış, iki yönlü p değeri<0.05 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir (Analiz sonuçları EK-2'de verilmiştir). Antikor titrelerinin karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır (p>0.05).

Tablo 9: Serum örneklerinin 0.gün serolojik sonuçları (referans değeri olarak kullanılmıştır)

HASTALAR	**0. Gün Anti-E.Granulosus IgG Antijen Sonucu**
SERUM ÖRNEĞİ 1	1/640
SERUM ÖRNEĞİ 2	1/640
SERUM ÖRNEĞİ 3	1/640
SERUM ÖRNEĞİ 4	1/640
SERUM ÖRNEĞİ 5	1/320
SERUM ÖRNEĞİ 6	1/640
SERUM ÖRNEĞİ 7	1/320
SERUM ÖRNEĞİ 8	1/320

Tablo 10: Serum örneklerinin anti-*E.granulosus* IgG antikor titreleri (1.gün, 2.gün, 3.gün, 1.hafta, 2.hafta, 3.hafta)

ÖRNEKLER	ZAMAN	-20 °C	0 °C	+25 °C	+37 °C
SERUM ÖRNEĞİ 1	1 GÜN	1/320	1/320	1/320	1/160
	2 GÜN	1/320	1/320	1/320	1/320
	3 GÜN	1/640	1/320	1/320	1/320
	1 HAFTA	1/640	1/640	1/640	1/640
	2 HAFTA	1/640	1/640	1/640	1/640
	3 HAFTA	1/640	1/640	1/320	1/320
SERUM ÖRNEĞİ 2	1 GÜN	1/320	1/640	1/320	1/160
	2 GÜN	1/320	1/320	1/320	1/320
	3 GÜN	1/320	1/320	1/320	1/320
	1 HAFTA	1/640	1/640	1/640	1/640
	2 HAFTA	1/640	1/640	1/640	1/640
	3 HAFTA	1/640	1/640	1/320	1/320
SERUM ÖRNEĞİ 3	1 GÜN	1/640	1/640	1/640	1/640
	2 GÜN	1/640	1/640	1/640	1/640
	3 GÜN	1/640	1/640	1/640	1/640
	1 HAFTA	1/640	1/640	1/640	1/640
	2 HAFTA	1/640	1/640	1/640	1/640
	3 HAFTA	1/640	1/640	0(**)	1/640
SERUM ÖRNEĞİ 4	1 GÜN	1/320	1/320	1/320	1/320
	2 GÜN	1/320	1/160	1/160	1/320
	3 GÜN	1/160	1/160	1/160	1/320
	1 HAFTA	1/160	1/160	1/80	1/320
	2 HAFTA	1/160	1/160	1/160	1/160
	3 HAFTA	1/160	1/80	0(**)	1/80
SERUM ÖRNEĞİ 5	1 GÜN	1/320	1/320	1/320	1/320
	2 GÜN	1/320	1/160	1/160	1/320
	3 GÜN	1/160	1/160	1/160	1/320
	1 HAFTA	1/160	1/160	1/80	1/160
	2 HAFTA	1/160	1/160	1/160	1/160
	3 HAFTA	1/160	1/80	0(**)	1/80
SERUM ÖRNEĞİ 6	1 GÜN	1/640	1/640	1/640	1/640
	2 GÜN	1/640	1/320	1/640	1/640
	3 GÜN	1/640	1/640	1/640	1/640
	1 HAFTA	1/640	1/640	1/640	1/640
	2 HAFTA	1/640	1/640	1/640	1/640
	3 HAFTA	1/640	1/640	0(**)	1/640
SERUM ÖRNEĞİ 7	1 GÜN	1/640	1/640	1/320	1/320
	2 GÜN	1/320	1/160	1/640	1/320
	3 GÜN	1/320	1/640	1/640	1/640
	1 HAFTA	1/320	1/160	1/320	1/320
	2 HAFTA	1/160	1/160	1/320	1/320
	3 HAFTA	1/160	1/80	0(**)	1/80
SERUM ÖRNEĞİ 8	1 GÜN	1/320	1/320	1/320	1/320
	2 GÜN	1/320	1/160	1/640	1/320
	3 GÜN	1/320	1/320	1/320	1/640
	1 HAFTA	1/320	1/160	1/160	1/160
	2 HAFTA	1/320	1/160	1/320	1/160
	3 HAFTA	1/320	1/80	0(**)	1/80

Çalışma sonunda elde edilen anti-*E.granulosus* antikor titreleri değerlendirilirken, yöntemde de belirtildiği üzere 2.gün 0°C sıcaklık ölçümü sırasında yaşanan spektrofotometrik ölçüm cihazı arızası (*) ve 3.hafta 25 °C'de sıcaklık analizlerinde yaşanan serum aktarma hatası (pipetaj hatası) nedeni ile hatalı kaydedilen değerler (**) Tablo 11'de işaretli gösterilmiştir. Durum, istatistiksel analiz sürecine engel teşkil etmemiştir. İstatistiksel analiz yorumlamasında ise durum dikkate alınmıştır.

İstatistiksel analiz sonrası elde edilen p değerleri Tablo 11'te verilmiştir. Yukarıda sayılan sebepten ötürü 2. gün 0 °C ve 3. hafta 25 °C'deki p değerleri dikkate alınmamıştır. Buna göre, dört farklı ortam koşulunda 3 haftaya kadar saklanan, 6 farklı zaman diliminde ölçümleri alınan serum örneklerinin anti- *E.granulosus* IgG titreleri karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 11: Sıcaklık ve zamana göre testlerin P değerleri (Referans değeri olarak 0. Gün baz alınmıştır)

	-20 °C	**0 °C**	**25 °C**	**37 °C**
1. Gün	0,317	0,564	0,083	0,102
2. Gün	0,083	**0,011(*)**	0,317	0,083
3. Gün	0,102	0,157	0,157	0,655
1. Hafta	0,180	0,059	0,109	0,083
2. Hafta	0,102	0,059	0,180	0,102
3. Hafta	0,102	0,059	**-(**)**	0,026

5. TARTIŞMA

Preanalitik aşama, günümüzde toplam test sürecinin en çok hataya açık bölümü olarak kabul edilmektedir. Preanalitik hatalar laboratuvar testlerinin sonuçlarının kalitesi üzerinde oldukça etkilidir. Bu sebepten laboratuvar çalışanlarının ve bilim insanlarının karşılaştığı en büyük zorluklardan olduğu düşünülmektedir. Ne yazık ki preanalitik aşamadaki faaliyetler, örneklerin yönetimi ve raporlama politikaları dünya çapında tam olarak standardize edilmemiştir (75).

Preanalitik hatalar, test süreci komple değerlendirildiğinde olası bütün hataların halen daha % 60-70'ini kapsamaktadır. Bu hatalar genel olarak beş büyük başlıkta incelenmektedir:

1. Hastanın hazırlanması
2. Örnek alınması
3. Örneklerin laboratuvara ulaştırılması
4. Analiz için örneğin hazırlanması
5. Örnek depolanması
    - Süre
    - Sıcaklık
    - Dondurma-çözdürme (76)

Son yıllarda hasta güvenliğinin önemi ve önlenebilir hatalarınazaltılması oldukça önemli bir hale gelmiştir. Hasta güvenliği, test talebi, örneklerin alınması, örneklerin saklanması, örneklerin test edilmesi ve raporlanması için tam kontrol sağlayan çok yönlü bir yaklaşım gerekmektedir. Bu nedenle geleneksel laboratuvar yaklaşımının dışında düşünmenin ve hatalara karşı daha savunmasız olan preanalitik süreçlerin iyileştirilmesini hedeflemenin zamanı gelmiştir (77).

Buradan yola çıkarak pre-analitik süreçte sıcaklık ve zaman değişkenlerinin numuneler üzerine etkisinin ne olacağı sorusu akıllara gelmektedir. Bu çalışmada sıcaklık ve zamanın pre-analitik süreçte Anti-*Echinococcus granulosus* antikor titreleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Preanalitik süreçte meydana gelebilecek hatalardan olan örnek depolama; özellikle de serum örneklerinin farklı sıcaklık koşullarında unutulması/hatalı bekletilmesi test edilmiştir (77).

Laboratuvarlarda bozunmayı önlemek için taze serum veya plazma kullanılmalıdır. Ancak, daha önce hastalardan alınan birincil numunelerin yeniden kullanılması aşağıdaki durumlarda gerekli olabilir:

i. Analiz prosedürlerindeki gecikme
ii. Daha önce elde edilen bir değeri onaylamak veya kontrol etmek için,
iii. Eksik analitlerin yeni miktarlarını eklemek için (76)

Preanalitik evrede numune saklama koşulları açısından kurumların farklı yönerge ve uygulamaları bulunmaktadır.

Çalışma protokolü Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:15 (18)'te belirtilen şekilde tasarlanmış ve Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Test Yönergesi'nde belirtilen basamaklara uygun şekilde düzenlenmiştir.

Erciyes Üniversitesi Sağlık Uygulama Ve Araştırma Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Test Rehberi, Hacettepe Üniversitesi Merkez Laboratuvar Test Rehberi ve İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Test Rehberi'ne göre ELISA çalışması için transfer koşulu oda sıcaklığıdır.

Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Bulaşıcı hastalıklar tanı rehberine göre örneklerin 1 saat içinde çalışılması durumunda oda sıcaklığında (+25 °C) bekletilmesi önerilmektedir.

Yaptığımız çalışmada oda sıcaklığında (+25 °C) bekletilen KE serum örneklerinin sadece transfer süresi boyunca değil (1-3 saat), 3 haftaya kadar oda sıcaklığında kalmış olup, sonrasında da ELISA yöntemi ile çalışılmasıyla elde edilen test sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Bu çalışmayla standartlarda önerilen 1 saatlik kısıtın çok daha uzun süre oda sıcaklığında kalan KE serum örnekleri için bir sıkıntı yaratmayacağı konusunda veri elde edilmiştir.

Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Bulaşıcı hastalıklar tanı rehberi'ne göre bekleme/laboratuvara veya başka bir merkeze ulaştırılma süresi 24-48 saate kadar ise +4 °C sıcaklıkta muhafaza edilmelidir.

Mustafa Kemal Üniversitesi Numune Kabul, Koruma, Taşıma Ve İmha Prosedürü'ne göre numuneler için özel koşul yoksa 0 - (+4) °C'de bekletilmelidir.

Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Parazitoloji Laboratuvarı Örnek Saklama Yönergesi ve Erciyes Üniversitesi Sağlık Uygulama Ve Araştırma Merkezi Tıbbi

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Test Rehberi'ne göre ELISA çalışması için örnek 2-8 °C sıcaklıkta 7 gün boyunca saklanabilir.
Çalışmamızda +4 °C'de bekletilen örnekler kurumların 7 gün olarak belirlediği süre boyunca ve takip eden 2 hafta boyunca dengeli sonuç verme eğiliminde olmuştur. Süreç 3 haftaya uzatıldığında yapılan test sonuçlarında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.

Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Parazitoloji Laboratuvarı Örnek Saklama Yönergesi ve Erciyes Üniversitesi Sağlık Uygulama Ve Araştırma Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Test Rehberi'ne göre ELISA çalışması için uzun süreler bekletilecek örnekler -20 °C sıcaklıkta muhafaza edilmelidir.
Yapılan birçok seroprevalans çalışmasında serolojik test yöntemi ne olursa olsun serumlar bekletilecek ise -20 °C'de saklandığı belirtilmiştir (64, 66, 70)
Yaptığımız çalışmada -20 °C'de bekletilen örnekler 3 haftalık bekletme süreci sonrasında her bir test sonucu 0. gün alınan test sonuçlarıyla uyumlu sonuç vermiş farklı değerler arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır.
Bir başka tez örneğinde ise *Toxoplasma gondii* paraziti ile çalışılmış ve +37 °C sıcaklıkta 0-24-48-72 saat bekletilmiş serum örneklerinde sonuçlarda anlamlı farklılık görülmediği belirtilmiştir. Yine aynı tez çalışmasında serum örnekleri aynı sürede farklı sıcaklıklarda oda koşulları (20/25°C) , kargo paketi (+4/+8 °C), buzdolabı (+4°C), derin dondurucu (-16/-20°C) bekletilmiş, sonuçlar analiz edildiğinde anlamlı farklılık bulunamamıştır (67).
Bizim çalışmamızda da +37 °C'de bekletilen ve test edilen serum örneklerinin sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir.
Çalışma hacimleri büyük olan bazı laboratuvarın yönergesinde (78, 79, 80) 2-8 °C'de 24 saat (5 güne kadar uzatılabilmektedir), daha uzun süre bekleneceği zamanlarda ise -20 °C saklama koşulu belirtilmektedir.
Çalışmamızda +4 °C'de ve -20 °C'de bekletilen serum örneklerinin test sonuçları değerlendirildiğinde sonuçlar arası farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir.
Bu çalışmada preanalitik evrede meydana gelebilecek bekletme/transfer koşullarına dair hataların 3 haftaya kadar serum antikor titreleri üzerine istatistiksel manada anlamlı bir seviyede etki göstermediğine dair veri elde edilmiştir.

Hal böyleyken daha fazla örnekle çalışmanın zenginleştirilmesi ile, belki de numune tekrarına gerek kalmaksızın sonuç verilebilmesinin önü açılabilecektir. Böylece kurumun ve hastanın hem zaman hem de maliyet açısından kazanç sağlayabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ

Bu çalışmada kistik ekinokokkozisli hastalardan alınan serum örneklerindeki anti-*E.granulosus* antikor titrelerinin, pre-analitik süreçte rutinde rastlanabilecek aksaklıklar üzerinden sıcaklık ve zamana bağlı değişimini incelenmiştir. Önceki testlerinde seropozitif (anti-*E.granulosus* Ab pozitif) olarak değerlendirilmiş 18 yaş üstü 10 (on) kişiden alınan serum örneklerini farklı ortam sıcaklıklarında 3 hafta kadar saklayarak rutin tanıda kullandığımız ELISA testi ile saptanan anti-*E.granulosus* antikor titrelerinde anlamlı bir farkın bulunmadığı gözlenmiştir.

Serolojik testlerin uygulama aşamalarından preanalitik evrede pek çok aksaklıkla karşılaşılabilmektedir: Kan tüplerinin laboratuvara gecikerek gönderilmesi, ayrıştırılan serumların faklı ortam sıcaklıklarında önerilenin dışında sürelerde bekletilmesi, bazen transfer sürelerinde gelişebilecek uzamalar gibi.

Bu çalışmada, preanalitik evrede özellikle numune alım sonrasında yanlışlıkla da olsa oluşabilecek bazı ortam sıcaklığı değişimlerinin ya da saklanma koşullarındaki olası bazı hatalı farklı yaklaşımların 3 haftaya kadar süre içerisinde numunedeki anti-*E.granulosus* antikor titrelerini klinik anlamda anlamlı bir seviyede etkilemediğine dair veri elde edilmiştir.

Sonuç olarak daha fazla örnekle çalışmanın zenginleştirilmesi ile, belki de numune tekrarına gerek kalmaksızın sonuç verilebilmesinin önü açılabilecektir. Bunlar hem hasta hem kurum açısından zaman ve maliyet adına kazanç sağlayabilecek durumlardır. Araştırmacılar, daha fazla sayıda hasta ve örnek üzerinde birden fazla yöntemin de değerlendirilecek olması ile daha geniş verilere ulaşılabileceğini düşünmektedirler.

KAYNAKLAR

1. Miman Ö, Saygı G. Temel Tıbbi Parazitoloji: Sestodlar. İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevleri; 2018.
2. Erganiş S, Kistik Ekinokokkozis Ön Tanılı Hastalarda Anti-*Echinococcus* granulosus Antikorlarının Farklı Serolojik Yöntemlerle Araştırılması [Tıpta Uzmanlık Tezi]. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2020.
3. Delibaş SB, Özkoç S, Şahin S, Aksoy Ü, Akısü Ç. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarı'na Kistik Ekinokokkozis Şüphesiyle Başvuran Hastaların Değerlendirilmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 2006; 30: 279-81.
4. Eilbigi MM, Hisar KM. Afganistana'da Bir Devlet Hastanesinde Tedavi Olan Kist Hidatik Hastalarıyla Aynı Yaşam Alanını Paylaşan Bireylerde Radyolojik ve Serolojik Tarama Sonuçları. Türkiye Parazitoloji Dergisi. 2020; 44(3): 149-52.
5. Kaya H. Sivasta Mezbahanelere Yakın Yerleşim Yerlerinde İnsan Kistik Echinococcosis Seroprevelansı ve Risk Faktörlerinin Araştırılması [Yüksek Lisans Tezi]. Sivas: Sivas Cumhuriyet Üniversitesi; 2020.
6. Ertabaklar H, Yıldız İ, Malatyalı E, Tileklioğlu E, Çalışkan SÖ, Ertuğ S. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarı'na 2005-2017 Yılları Arasında Kistik Ekinokokkozis Şüphesiyle Başvuran Olguların Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi. 2019; 43: 118-22.
7. Aydın M, Adıyaman G, Doğruman Al F, Kuştimur S, Özkan S. Kist Hidatik Şüpheli Hastalarda Anti-Echinococcus IgG Seropozitifliğinin ELISA Yöntemiyle Belirlenmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 2012; 36(2): 61-64.
8. Karadağ A, Yanık K, Ünal N, Odabaşı H, Hökelek M. Kistik Ekinokokkozis Şüphesi İle 2005-2011 Yılları Arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına Gönderilen Örneklerin Değerlendirilmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi. 2013; 37(1), 28-31.
9. Acıöz M, Çeliksöz A, Özçelik S, Değerli S, Öztop AY, Malatyalı E. Muş Yöresinde Köpeklerde PCR Yöntemiyle Kesim Hayvanlarında Kesim Takibiyle ve İnsanlarda

ELISA Yöntemiyle Kist Hidatik Sıklığının Araştırılması. Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University. 2018; 3(1): 24-35.

10. Budke CM, Deplazes P, Torgerson PR. Global Socioeconomic Impact of Cystic Echinococcosis. Emerging Infectious Diseases. 2006; 12(2): 296-303.
11. Romig T. Epidemiology of Echinococcosis. Langenbeck's Archives of Surgery. 2003; 388: 209-17.
12. Eckert J, Deplazes P. Biological, Epidemiological and Clinical Aspects of Echinococcosis a Zoonosis of Increasing Concern. Clinical Microbiology Reviews. 2004; 17(1): 107-35.
13. Higuita NIA, Brunetti E, McCloskey C. Cystic Echinococcosis. Journal of Clinical Microbiology. 2016; 54(3): 518-23.
14. Akyol ÇV. Echinococ Türlerinin Epidemiyolojisi. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A, Editörler. Echinococcosis. İzmir: Hidatoloji Derneği; 2004. 259-83.
15. Thompson RCA. Biology and Systematics of Echinococcus. Thompson RCA, Lymbery AJ, Editörler. Echinococcus and Hydatid Disease. Wallingford: CAB International; 1995. 1-50.
16. Merdivenci A. Türkiye'deki Hidatik Kist Hastalığı: Patogenez. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları. 1976.
17. Boğa B. Aydın Yöresindeki Köpeklerde *Echinococcus granulosus* Yaygınlığının Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Belirlenmesi [Yüksek Lisans Tezi]. Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi; 2012.
18. Taşan E. Elazığ Kırsal Yöre Köpeklerinde Helmintlerin Yayılışı ve İnsan Sağlığı Yönünden Önemi. Doğa Bilim Dergisi. 1984; 8: 160-67.
19. Acıöz M. Muş Yöresinde Köpeklerde PCR Yöntemiyle, Kesim Hayvanlarında Kesim Takipleriyle ve İnsanlarda ELISA Yöntemiyle Echinococcosis Sıklığının Araştırılması [Doktora Tezi]. Sivas: Cumhuriyet Üniversitesi; 2008.
20. Öter K, Bilgin, Z Tınar, Tüzer, E. Tapeworm infections in stray dogs and cats in İstanbul, Turkey. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 2011; *17*, 595-9.
21. McManus DP, Zhang W, Li J, & Bartley PB (). Echinococcosis. The lancet. 2003; 362(9392), 1295-1304.
22. Merdivenci A, Aydınlıoğlu K. Hidatidoz (Hidatik Kist Hastalığı). İst. Üniv Tıp Fak. Yay. 1982; s, 92-98.

23. Altintas, N. (). Past to present: echinococcosis in Turkey. Acta tropica. 2003; *85*(2), 105-112.
24. Eckert J, Gemmell MA, Matyas Z, Soulsby EJ, & World Health Organization. 1984 Guidelines for surveillance, prevention and control of echinococcosis/ hydatidosis (No. VPH/81.28). World Health Organization.
25. Tigin Y, Burgu A, & Doganay A. Hayvanlarda echinococ türleri (Echinococcus sp.). Insanlarda ve Hayvanlarda Kist Hidatik (Echinococcosis) 1991; 129-155. T Parazitol Dern Yay No: 10, İzmir.
26. Üner A. Ekinokokların sistematiği ve biyolojisi. Unat ve ark. Eds. İnsanlarda ve hayvanlarda kist hidatik (Echinococcosis). Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:10. İzmir, 1991. p. 13-28.
27. Rausch R. L, D'Alessandro A, & Ohbayashi M. The taxonomic status of Echinococcus cruzi Brumpt and Joyeux, 1924 (Cestoda: Taeniidae) from an agouti (Rodentia: Dasyproctidae) in Brazil. The Journal of Parasitology. 1984; 295-302.
28. Özbilgin A, Kilimcioğlu AA. Kistik Echinococcosis. Özcel MA, Editör. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. İzmir: Meta Basıms; 2007. 541-66.
29. Şenlik B, Diker İA. Echinococ'ların Taksonomisi ve Morfolojisi. Altıntaş N, Tınar R, Çoker A, Editörler. Echinococcosis. İzmir: Hidatoloji Derneği Yayınları; 2004.
30. Aziz A, Zhang W, Li J, Loukas A, McManus D P, & Mulvenna J. Proteomic characterisation of Echinococcus granulosus hydatid cyst fluid from sheep, cattle and humans. Journal of proteomics, 2011; *74*(9), 1560-1572.
31. Miman Ö. Kistik Ekinokokkozis Olgularının İrdelenmesi Ve Histopatolojil İncelemede Nekrozun Tanısal Önemi [Doktora Tezi]. Malatya: İnönü Üniversitesi; 2007.
32. Grubor NM, Jovanova-Nesic KD, & Shoenfeld Y. (). Liver cystic echinococcosis and human host immune and autoimmune follow-up: A review. World journal of hepatology, 2017; 9(30), 1176.
33. Hidalgo C, García MP, Stoore C, Ramírez JP, Monteiro KM, Hellman U ve ark. Proteomics analysis of Echinococcus granulosus protoscolex stage. Veterinary parasitology, 2016; 218, 43-45.

34. Miman Ö, Aycan MÖ, Aydın C, Atambay M. Hidatik Kistte Canlılık Tayininde İdeal Boyanma Kalitesi İçin Kullanılan Eozinin Konsantrasyonu Ne Olmalı? Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi. 2010; 67 (1): 21-26.
35. Mohammed AA, Allen JT, & Rogan MT. Echinococcus granulosus cyst fluid enhances epithelial-mesenchymal transition. Parasite Immunology, 2018; 40(6), e12533.
36. Siles-Lucas, M, Sánchez-Ovejero C, González-Sánchez M, González E, Falcón-Pérez J M, Boufana B ve ark. Isolation and characterization of exosomes derived from fertile sheep hydatid cysts. Veterinary parasitology, 2017; 236, 22-33.
37. Eckert J, Gemmell MA, Meslin FX, Pawlowski ZS, & World Health Organization. WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. Paris, France: World Organisation for Animal Health. 2001
38. https://www.cdc.gov/parasites/echinococcosis/biology.html Global Health, Division of Parasitic Diseases and Malaria. Erişim tarihi: 09/11/2020.
39. Örsten S. İnsan Kaynaklı Kistik Ekinokokkozisin Moleküler Epidemiyolojisi [Doktora Tezi]. Ankara: Hacettepe Üniversitesi; 2017.
40. Erzurumlu K, Polat C, Dicle K, Kılıç E, Güngör B, Hökelek M. Is calcified hydatid cyst absolutely dead? Journal of Experimental and Clinical Medicine 2010; 27: 87-90
41. Korkmaz M, Şakru N, Demirci M, Kuman A,Ok ÜZ. Ekinokokkozis Şüpheli Olgularda Fasciola hepatica Enfeksiyonu. Turkiye Parazitol Derg. 2011; 35: 77-80
42. Sever A, Elmas A. Echinococcosisde görüntüleme yöntemleri. Altıntaş N, Tınar R Çoker A (Editörler). Echinococcosis'de. İzmir: Hidatoloji Derneği; 2004. 203-18.
43. Pawlowski ZS, Eckert J, Vuitton DA, Ammann RW, Kern P, Craig PS, et al. Echinococcosis in humans: clinical aspects, diagnosis and treatment. Eckert J, Gemmell MA, Meslin F.-X, Pawlowski ZS, Editors. WHO/OIE manual on Echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. Paris: World organisation for animal health. 2001; 20-72.
44. Özcel MA, Altıntaş N. Parazit hastalıklarında tanı. Türkiye parazitoloji derneği yayın no: 15. İzmir. 1997.
45. Yazar S. Cystic Echinococcosis (CE)'in tanısında SDS-PAGE ve Western Blot yönteminin diğer serolojik tanı yöntemleri ile karşılaştırılması [Doktoro Tezi]. İzmir: Ege Üniversitesi; 1998

46. Zeyrek FY, Erdoğan DD. Parazitolojide Laboratuvar. Korkmaz M, Ok ÜZ (Editörler). Türkiye Parazitoloji Derneği. İzmir. 2011. 219-246.
47. Tanrıöver MD, Serteser M, Ünsal İ, & Akalın HE. Tanı Hataları. Acıbadem Üniversitesi Yayınları. İstanbul. 2016
48. Demirağcı YG. Laboratuvar Sonuç Verme Sürelerinin Değerlendirilmesi. Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2018; 5(3), 54-58.
49. Çeken N, Avcı E, Duran H. Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında Preanalitik Hataların Sigmametrik Değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 2018; 48(2), 141-146.
50. Ercan Ş. Reddedilen Numune Sıklığının Altı Sigma Kullanılarak Değerlendirilmesi. Türk Klinik Biyokimya Derg, 2016; 14(1), 32-39.
51. Özkan E, Arzu ÜN. Sağlıkta Akreditasyon Standartları Laboratuvar Göstergelerinde Preanalitik, Analitik Ve Postanalitik Süreçlerin Analizi SAS Hastane Seti. Sağlıkta Kalite ve Akreditasyon Dergisi, 2017; 3(1), 27-35.
52. Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Sağlıkta Kalite Ve Akreditasyon Daire Başkanlığı. SKS Hastane Seti Versiyon 5/ Revizyon 00. Baskı: 1 Ankara Temmuz 2015.
53. Atay A, Demir L, Çuhadar S, Sağlam G, Ünal H, Aksun S vd. Clinical Biochemistry Laboratory Rejection Rates Due To Various Types Of Preanalytical Error. Biochemica Medica. 2014; 24(3): 376-82.
54. ISO 15189-2012 Tıbbi Laboratuvarlar Kalite ve Yeterlilik İçin Özel Şartlar Standardı
55. Dasgupta A, Sepulveda JL. Tıbbi Laboratuvarda Doğru Sonuç: hataların Tespiti ve Düzeltilmesi İçin Rehber. Ankara. Palme Yayıncılık. 2015
56. Satılmış ÖK, Macit Y, Serteser M, Ünsal İ. Tıbbi Laboratuvarda Preanalitik Hatalar-Örnek Alımı. Sağ. Perf. Kal. Derg. 2015; (9): 19-26.
57. Ekinci, A. Laboratuvarımızın Preanalitik Numune Red Analizi ve Eğitimin Etkisi. Van Tıp Dergisi, 2019; 26(1), 79-84.
58. Veranyurt Ü, Akalaın B, Veranyurt O. An Applıcatıon For The Preanalytıc Process Of Clınıcal Mıcrobıology Laboratory: Comparıson Of Qualıty Indıcators. Bostan S, Sur H, Editörler. 4. International Health Sciences and Management Conference; 2019, İstanbul: e-Proceeding. 4. Uluslararası Sağlık Bilimleri ve Yönetimi Kongresi e-Bildiri Kitabı; 2019. 5-9.

59. Zorbozan, N., Akarken, İ., & Atikeler, G. F. Unnecessary free PSA test requests and assessment of the effectiveness of preventive activities. Pamukkale Tıp Dergisi. 2019; 12(3), 395-400.
60. Gao YC, Yuan ZB, Yang YD, & Lu HK. Effect of freeze–thaw cycles on serum measurements of AFP, CEA, CA125 and CA19-9. Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation. 2007; 67(7), 741-747.
61. Kale VP, Patel SG, Gunjal PS, Wakchaure SU, Sundar RS, Ranvir RK, & Jain MR. Effect of repeated freezing and thawing on 18 clinical chemistry analytes in rat serum. Journal of the American Association for Laboratory Animal Science. 2012; *51*(4), 475-478.
62. Donelly J, & Kelly HA. Approaching the NHMRC goal for second-dose measles-mumps-rubella vaccine uptake. The Medical Journal of Australia. 1995; 162(11), 613-613.
63. Pappin A, Grissom M, Mackay W, Huang Y, & Yomtovian R. Stability of cytomegalovirus antibodies in plasma during prolonged storage of blood components. Clinical Diagnostic Laboratory Immunology. 1995; *2*(1), 25-29.
64. Rosa-Fraile M, Sampedro A, Rodríguez-Granger J, Camacho E, & Manrique E. Suitability of frozen serum stored in gel separator primary sampling tubes for serological testing. Clinical and Vaccine Immunology. 2004; *11*(1), 219-221.
65. Johnson M, Marschallinger J, Altendorfer B, Rockenstein E, Holztrattner M, Garnweidner-Raith J ve ark. The leukotriene receptor antagonist montelukast reduces alpha-synuclein load and restores memory in an animal model of dementia with lewy bodies. Neurotherapeutics. 2020; 17(3), 1061-1074.
66. Dard C, Bailly S, Drouet T, Fricker-Hidalgo H, Brenier-Pinchart MP, Pelloux H. Long-term sera storage does not significantly modify the interpretation of toxoplasmosis serologies. J Microbial Methods. 2017; 134: 38-45.
67. Çoban E. Serum Örneklerinde Anti Toxoplasma gondii Antikor Titrelerinin Sıcaklık ve Zamana Bağlı Değişimi [Yüksek Lisans Tezi]. 2019. Kilimcioğlu AA. Manisa. Celal Bayar Üniversitesi.
68. Wuestenberg J, Gruener B, Oeztuerk S, Mason RA, Haenle MM, Graeter T ve ark. Diagnostics in cystic echinococcosis: serology versus ultrasonography. Turk J Gastroenterol. 2014; 25(4), 398-404.

69. Argentieri MC, Pilla D, Vanzati A, Lonardi S, Facchetti F, Doglioni C ve ark. Antibodies are forever: a study using 12–26-year-old expired antibodies. Histopathology. 2013; 63(6), 869-876.
70. Retmanasari A, Widartono BS, Wijayanti MA, Artama WT. Prevalance and Risk Factors for Toxoplasmosis in the Middle Java, Indonesia. Ecohealth 2017;14: 162-170.
71. Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Parazitoloji Laboratuvarı Örnek Saklama Yönergesi (Hastane Sisteminden Erişim). Erişim tarihi: 02/08/2019
72. https://ankaraeah.saglik.gov.tr/Eklenti/282178/0/test-rehberi-guncel-son-01042022pdf.pdf (Güncel versiyon) Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi. Erişim tarihi: 18/01/2020.
73. https://www.acibademlabmed.com.tr/tr/Test-Listesi#8668203/Echinococcus-Antikoru-IgG Özel Acıbadem LabMed Laboratuvarı. Erişim tarihi: 18/01/2020.
74. Reyhan G. Tek ve Çoğul Tutulumlu Akciğer Kist Hidatik Olgularında Morbiditeyi Etkileyen Faktörler [Uzmanlık tezi]. Edirne: T.C. Trakya Üniversitesi; 2010
75. Lippi G, Chance JJ, Church S, Dazzi P, Fontana R, Giavarina D, et al. Preanalytical quality improvement: from dream to reality. Clin Chem Lab Med. 2011; 49:1113–26
76. Lippi G, Guidi GC, Mattiuzzi C, Plebani M. Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing. Clin Chem Lab Med 2006; 44:358–65
77. Giménez Marín A, Molina Mendoza P, Ruiz Arredondo JJ, Acosta González F, López Pérez M, Jiménez Cueva M, Cueto Santamaría T, Olmedo Sanchez R, López Somosierras M, Rivas Ruiz F, Perez Hidalgo M. Application of failure mode and effects analysis of the pre-analytical phase in a clinical laboratory. *Rev del Lab Clin*. 2010;3(4): 161–170.
78. https://www.biolabltd.com.tr Biolab Laboratuvarlar Grubu. Erişim Tarihi: 25/07/2019
79. https://www.ahenklab.com.tr Ahenk Laboratuvarı. Erişim Tarihi: 25/07/2019
80. https://medilab.com.tr MediLab Laboratuvar&Görüntüleme. Erişim TarihiÇ 25/07/2019

EKLER

EK-1: BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (BGOF)

Preanalitik süreçte sıcaklık ve zamanın Anti-*Echinococcus granulosus* antikor titreleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU(BGOF)

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.

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

Bu çalışmada Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Genel Cerrahi Polikliniği'nde takipli kistik ekinokokkozisli hastalardan alınan kan örneklerindeki anti-*Echinococcus granulosus* IgG antikor miktarlarının test yapılana kadar (analiz öncesi) geçen süreçte farklı sıcaklık ve zamana bağlı (oda sıcaklığı, buzdolabı, derin dondurucuda saklama gibi) değişimlerinin saptanması amaçlanmıştır. Rutin prosedüre göre verilen test sonuçlarını dolayısıyla sizi etkileyebilecek bir süreç değildir. Sadece kendi prosedürlerimizi geliştirme sürecimize katkısı olacak bir çalışmadır.

KATILMA KOŞULLARI NELERDİR?

Bu çalışmaya dahil edilebilmeniz için cinsiyet farketmeksizin 18 yaş üstü olmanız, polikliniğimizde "Kistik Ekinokokkozis (kist hidatid) hastası" tanısı ile takipli olmanız ve okur-yazar olmanız gerekmektedir.

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAK?

Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Genel Cerrahi Polikliniği'nde kistik ekinokokkozis hastalığı nedeniyle takipli ve yukarıda açıklanan katılma koşullarını sağlayan rutin kontrolüne gelmiş hastalardan, rutin tetkiklerine ek olarak 5 ml kan alınacak ve zaman kaybetmeden DEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD laboratuvarına gönderilecektir. Alınmış olan kan ayrıştırılacak, elde edilen seruma kistik ekinokkozis için duyarlı ve özgün bir tanı aracı olan ELISA testi uygulanacaktır. Uygulama 4 farklı fiziki saklama koşullarında saklanacak serum örnekleri üzerinde planlanan 7 farklı zamanda tekrarlanacak; fizik koşulların test sonuçları üzerindeki değişiklikleri kaydedilecektir. Bu çalışma sadece test prosedüründe kendimizi geliştirmeye yardımcı olacak yöntemsel (metodolojik) bir çalışma niteliğindedir. Doktorunuz tarafından sürdürülmekte olan hastalık tedavi-takip sürecinizle ilgili size hiçbir etkisi olmayacaktır.

KATILIMCI SAYISI NEDİR?

Araştırmada kullanılacak on örnek 10 ayrı kişiden sağlanacaktır.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?

Burada, serum örneklerinin çevre koşullarından etkilenmesinin test sonuçları üzerinde nasıl bir değişime yol açacağına dair bir çalışma yapılmak istenmektedir. Anlamlı düzeyde değişim olmadığı yönündeki bir sonuca ulaşmak ise serum örneklerinin mevcut talimat koşullarında muhafaza/transfer edilmediği gerekçesi ile hastalardan tekrar kan alınmasının önüne geçilecek bazı mekanizmaların araştırılması/ oluşturulması yönünde bir kapı aralamış olacaktır.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?

Sizlerden alınacak 5 ml kan örneği, kan alma prosedürlerine uygun olarak gerçekleştirilecekitr. Her rutin kan verme sırasında olası karşılaşılabilecek tansiyon düşmesine bağlı baş dönmesine yönelik olarak kan alma koltuk donanımları buna göre hazırlanmış durumdadır. Başkaca bir olumsuzluk beklenmemektedir.

Çalışmada seçilmiş olan yöntem; kistik ekinokokkozis güncel tanısal süreçlerinde halen birçok hastane ve laboratuvarlarda rutinde uygulanan rutin bir yöntemdir (Hastanemiz merkez laboratuvarında ve polikliniklerinde kistik ekinokokkozis tanısında eş zamanlı kullanılan 2 yöntemden biridir; çeyrek asırdan fazla bir süredir bu yöntem kullanılmaktadır). Yani bir sebeple başvurduğunuz bir poliklinikte bu parazite ait tanı konmak istendiğinde yine bu yapacağımız basit örnek alma işlemi size uygulanacaktır. Son derece güvenli ve rahat uygulanabilen bu yöntem ile ilgili uygulamada olası bir olumsuzluk beklenmemektedir.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN KİMİ ARAMALIYIM?

Çalışma süresi boyunca sorumlu araştırıcıyı bilgilendirmek, araştırma hakkında ek bilgiler almak, çalışma ile ilgili ya da diğer tüm rahatsızlıklarınız için Doç.Dr.Özlem MİMAN'a ulaşabilirsiniz (İletişim: 0232 412 45 47).

ÇALIŞMA KAPSAMINDA GİDERLER KARŞILANACAK MIDIR?

Araştırma kapsamında kullanılacak olan örnek alma için size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa herhangi bir masraf çıkartılmayacaktır.

ÇALIŞMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDIR?

Çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'nde yapılacaktır ve destekleyen başka bir kurum ya da kuruluş bulunmamaktadır.

ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR?

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiç bir ödeme yapılmayacaktır.

ÇALIŞMAYA KATILMAYI KABUL ETMEM VEYA ARAŞTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR?

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır. Çalışmadan çekilmeniz ya da araştırıcı tarafından çıkarılmanız durumunda sizinle ilgili veriler bilimsel amaçla kullanılmayacaktır.

KATILMAMA İLİŞKİN BİLGİLER KONUSUNDA GİZLİLİK SAĞLANABİLECEK MİDİR?

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir, ancak bu bilgiler gizli tutulacaktır, yazılı BGOF'un imzalanması ile söz konusu erişime izin vermiş olacaksınız. Bilgiler kamuoyuna açıklanmayacak; araştırma sonuçlarının yayınlanması halinde dahi kimliğiniz gizli kalacak, araştırma konusuyla ilgili sizi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edilmiş olursa da zamanında bilgilendirileceksiniz.

ÇALIŞMAYA KATILMA ONAYI:

"Preanalitik süreçte sıcaklık ve zamanın Anti-*Echinococcus granulosus* antikor titreleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi" konulu çalışma

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren 1,5 sayfalık metni okudum ve aşağıda adı belirtilen ekip üyesinden sözlü olarak da

dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum. 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. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi de biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

Gönüllünün imzası: Adı ve Soyadı	
Araştırma ekibinde yer alan birinin imzası: Adı ve Soyadı	
Gerektiği durumlarda Tanık imzası: Adı ve Soyadı	
TARİH	

EK-2: İSTATİSTİKSEL ANALİZ SONUÇLARI

```
NPAR TESTS
  /WILCOXON=Sıfır Sıfır Sıfır Sıfır WITH BirG_Yirmi BirG_Dört BirG_Yirmibes
BirG_Otuz (PAIRED)
  /MISSING ANALYSIS.
```

NPar Tests

Notes

Output Created		25-NOV-2021 13:51:15
Comments		
Input	Data	C:\Users\drder\Desktop\Kisthidatik2.sav
	Active Dataset	DataSet2
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	8
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPAR TESTS /WILCOXON=Sıfır Sıfır Sıfır Sıfır WITH BirG_Yirmi BirG_Dört BirG_Yirmibes BirG_Otuz (PAIRED) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00,02
	Elapsed Time	00:00:00,01
	Number of Cases Allowed[a]	78643

a. Based on availability of workspace memory.

Wilcoxon Signed Ranks Test

Ranks

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
BirG_Yirmi - Sıfır	Negative Ranks	3[a]	2,50	7,50
	Positive Ranks	1[b]	2,50	2,50
	Ties	4[c]		
	Total	8		
BirG_Dört - Sıfır	Negative Ranks	2[d]	2,00	4,00
	Positive Ranks	1[e]	2,00	2,00
	Ties	5[f]		
	Total	8		
BirG_Yirmibes - Sıfır	Negative Ranks	3[g]	2,00	6,00
	Positive Ranks	0[h]	,00	,00
	Ties	5[i]		
	Total	8		
BirG_Otuz - Sıfır	Negative Ranks	3[j]	2,00	6,00
	Positive Ranks	0[k]	,00	,00
	Ties	5[l]		
	Total	8		

a. BirG_Yirmi < Sıfır

b. BirG_Yirmi > Sıfır

c. BirG_Yirmi = Sıfır

d. BirG_Dört < Sıfır

e. BirG_Dört > Sıfır

f. BirG_Dört = Sıfır

g. BirG_Yirmibes < Sıfır

h. BirG_Yirmibes > Sıfır

i. BirG_Yirmibes = Sıfır

j. BirG_Otuz < Sıfır

k. BirG_Otuz > Sıfır

l. BirG_Otuz = Sıfır

Test Statistics[a]

	BirG_Yirmi - Sıfır	BirG_Dört - Sıfır	BirG_Yirmibes - Sıfır	BirG_Otuz - Sıfır
Z	-1,000[b]	-,577[b]	-1,732[b]	-1,633[b]
Asymp. Sig. (2-tailed)	,317	,564	,083	,102

a. Wilcoxon Signed Ranks Test

b. Based on positive ranks.

```
NPAR TESTS
  /WILCOXON=Sıfır Sıfır Sıfır Sıfır WITH İkiG_Yirmi İkiG_Dört İkiG_Yirmibes
İkiG_Otuz (PAIRED)
  /MISSING ANALYSIS.
```

NPar Tests

Notes

Output Created		25-NOV-2021 13:52:47
Comments		
Input	Data	C:\Users\drder\Desktop\Kisthidatik2.sav
	Active Dataset	DataSet2
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	8
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPAR TESTS /WILCOXON=Sıfır Sıfır Sıfır Sıfır WITH İkiG_Yirmi İkiG_Dört İkiG_Yirmibes İkiG_Otuz (PAIRED) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00,00
	Elapsed Time	00:00:00,01
	Number of Cases Allowed[a]	78643

a. Based on availability of workspace memory.

Wilcoxon Signed Ranks Test

Ranks

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
İkiG_Yirmi - Sıfır	Negative Ranks	3[a]	2,00	6,00
	Positive Ranks	0[b]	,00	,00
	Ties	5[c]		
	Total	8		
İkiG_Dört - Sıfır	Negative Ranks	7[d]	4,00	28,00
	Positive Ranks	0[e]	,00	,00
	Ties	1[f]		
	Total	8		
İkiG_Yirmibes - Sıfır	Negative Ranks	4[g]	3,75	15,00
	Positive Ranks	2[h]	3,00	6,00
	Ties	2[i]		
	Total	8		
İkiG_Otuz - Sıfır	Negative Ranks	3[j]	2,00	6,00
	Positive Ranks	0[k]	,00	,00
	Ties	5[l]		
	Total	8		

a. İkiG_Yirmi < Sıfır

b. İkiG_Yirmi > Sıfır

c. İkiG_Yirmi = Sıfır

d. İkiG_Dört < Sıfır

e. İkiG_Dört > Sıfır

f. İkiG_Dört = Sıfır

g. İkiG_Yirmibes < Sıfır

h. İkiG_Yirmibes > Sıfır

i. İkiG_Yirmibes = Sıfır

j. İkiG_Otuz < Sıfır

k. İkiG_Otuz > Sıfır

l. İkiG_Otuz = Sıfır

Test Statistics[a]

	İkiG_Yirmi - Sıfır	İkiG_Dört - Sıfır	İkiG_Yirmibes - Sıfır	İkiG_Otuz - Sıfır
Z	-1,732[b]	-2,530[b]	-1,000[b]	-1,732[b]
Asymp. Sig. (2-tailed)	,083	,011	,317	,083

a. Wilcoxon Signed Ranks Test

b. Based on positive ranks.

```
NPAR TESTS
  /WILCOXON=Sıfır Sıfır Sıfır Sıfır WITH UcG_Yirmi UcG_Dört UcG_Yirmibes
UcG_Otuz (PAIRED)
  /MISSING ANALYSIS.
```

NPar Tests

Notes

Output Created		25-NOV-2021 13:55:08
Comments		
Input	Data	C:\Users\drder\Desktop\Kisthidatik2.sav
	Active Dataset	DataSet2
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	8
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPAR TESTS /WILCOXON=Sıfır Sıfır Sıfır Sıfır WITH UcG_Yirmi UcG_Dört UcG_Yirmibes UcG_Otuz (PAIRED) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00,00
	Elapsed Time	00:00:00,01
	Number of Cases Allowed[a]	78643

a. Based on availability of workspace memory.

Wilcoxon Signed Ranks Test

Ranks

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
UcG_Yirmi - Sıfır	Negative Ranks	3[a]	2,00	6,00
	Positive Ranks	0[b]	,00	,00
	Ties	5[c]		
	Total	8		
UcG_Dört - Sıfır	Negative Ranks	4[d]	3,13	12,50
	Positive Ranks	1[e]	2,50	2,50
	Ties	3[f]		
	Total	8		
UcG_Yirmibes - Sıfır	Negative Ranks	4[g]	3,13	12,50
	Positive Ranks	1[h]	2,50	2,50
	Ties	3[i]		
	Total	8		
UcG_Otuz - Sıfır	Negative Ranks	3[j]	3,00	9,00
	Positive Ranks	2[k]	3,00	6,00
	Ties	3[l]		
	Total	8		

a. UcG_Yirmi < Sıfır

b. UcG_Yirmi > Sıfır

c. UcG_Yirmi = Sıfır

d. UcG_Dört < Sıfır

e. UcG_Dört > Sıfır

f. UcG_Dört = Sıfır

g. UcG_Yirmibes < Sıfır

h. UcG_Yirmibes > Sıfır

i. UcG_Yirmibes = Sıfır

j. UcG_Otuz < Sıfır

k. UcG_Otuz > Sıfır

l. UcG_Otuz = Sıfır

Test Statistics[a]

	UcG_Yirmi - Sıfır	UcG_Dört - Sıfır	UcG_Yirmi bes - Sıfır	UcG_Otuz - Sıfır
Z	-1,633[b]	-1,414[b]	-1,414[b]	-,447[b]
Asymp. Sig. (2-tailed)	,102	,157	,157	,655

a. Wilcoxon Signed Ranks Test

b. Based on positive ranks.

```
NPAR TESTS
  /WILCOXON=Sıfır Sıfır Sıfır Sıfır WITH BirHafta_Yirmi BirHafta_Dört
BirHafta_Yirmibes BirHafta_Otuz (PAIRED)
  /MISSING ANALYSIS.
```

NPar Tests

Notes

Output Created		25-NOV-2021 13:56:10
Comments		
Input	Data	C:\Users\drder\Desktop\Kisthidatik2.sav
	Active Dataset	DataSet2
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	8
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPAR TESTS /WILCOXON=Sıfır Sıfır Sıfır Sıfır WITH BirHafta_Yirmi BirHafta_Dört BirHafta_Yirmibes BirHafta_Otuz (PAIRED) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00,00
	Elapsed Time	00:00:00,01
	Number of Cases Allowed[a]	78643

a. Based on availability of workspace memory.

Wilcoxon Signed Ranks Test

Ranks

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
BirHafta_Yirmi - Sıfır	Negative Ranks	2[a]	1,50	3,00
	Positive Ranks	0[b]	,00	,00
	Ties	6[c]		
	Total	8		
BirHafta_Dört - Sıfır	Negative Ranks	4[d]	2,50	10,00
	Positive Ranks	0[e]	,00	,00
	Ties	4[f]		
	Total	8		
BirHafta_Yirmibes - Sıfır	Negative Ranks	3[g]	2,00	6,00
	Positive Ranks	0[h]	,00	,00
	Ties	5[i]		
	Total	8		
BirHafta_Otuz - Sıfır	Negative Ranks	3[j]	2,00	6,00
	Positive Ranks	0[k]	,00	,00
	Ties	5[l]		
	Total	8		

a. BirHafta_Yirmi < Sıfır

b. BirHafta_Yirmi > Sıfır

c. BirHafta_Yirmi = Sıfır

d. BirHafta_Dört < Sıfır

e. BirHafta_Dört > Sıfır

f. BirHafta_Dört = Sıfır

g. BirHafta_Yirmibes < Sıfır

h. BirHafta_Yirmibes > Sıfır

i. BirHafta_Yirmibes = Sıfır

j. BirHafta_Otuz < Sıfır

k. BirHafta_Otuz > Sıfır

l. BirHafta_Otuz = Sıfır

Test Statistics[a]

	BirHafta_Yirmi - Sıfır	BirHafta_Dört - Sıfır	BirHafta_Yirmibes - Sıfır	BirHafta_Otuz - Sıfır
Z	-1,342[b]	-1,890[b]	-1,604[b]	-1,732[b]
Asymp. Sig. (2-tailed)	,180	,059	,109	,083

a. Wilcoxon Signed Ranks Test

b. Based on positive ranks.

```
NPAR TESTS
  /WILCOXON=Sıfır Sıfır Sıfır Sıfır WITH İkiHafta_Yirmi İkiHafta_Dört
İkiHafta_Yirmibes İkiHafta_Otuz (PAIRED)
  /MISSING ANALYSIS.
```

NPar Tests

Notes

Output Created		25-NOV-2021 13:57:08
Comments		
Input	Data	C:\Users\drder\Desktop\Kisthidatik2.sav
	Active Dataset	DataSet2
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	8
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPAR TESTS /WILCOXON=Sıfır Sıfır Sıfır Sıfır WITH İkiHafta_Yirmi İkiHafta_Dört İkiHafta_Yirmibes İkiHafta_Otuz (PAIRED) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00,02
	Elapsed Time	00:00:00,01
	Number of Cases Allowed[a]	78643

a. Based on availability of workspace memory.

Wilcoxon Signed Ranks Test

Ranks

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
İkiHafta_Yirmi - Sıfır	Negative Ranks	3[a]	2,00	6,00
	Positive Ranks	0[b]	,00	,00
	Ties	5[c]		
	Total	8		
İkiHafta_Dört - Sıfır	Negative Ranks	4[d]	2,50	10,00
	Positive Ranks	0[e]	,00	,00
	Ties	4[f]		
	Total	8		
İkiHafta_Yirmibes - Sıfır	Negative Ranks	2[g]	1,50	3,00
	Positive Ranks	0[h]	,00	,00
	Ties	6[i]		
	Total	8		
İkiHafta_Otuz - Sıfır	Negative Ranks	3[j]	2,00	6,00
	Positive Ranks	0[k]	,00	,00
	Ties	5[l]		
	Total	8		

a. İkiHafta_Yirmi < Sıfır

b. İkiHafta_Yirmi > Sıfır

c. İkiHafta_Yirmi = Sıfır

d. İkiHafta_Dört < Sıfır

e. İkiHafta_Dört > Sıfır

f. İkiHafta_Dört = Sıfır

g. İkiHafta_Yirmibes < Sıfır

h. İkiHafta_Yirmibes > Sıfır

i. İkiHafta_Yirmibes = Sıfır

j. İkiHafta_Otuz < Sıfır

k. İkiHafta_Otuz > Sıfır

l. İkiHafta_Otuz = Sıfır

Test Statistics[a]

	İkiHafta_Yirmi - Sıfır	İkiHafta_Dört - Sıfır	İkiHafta_Yirmibes - Sıfır	İkiHafta_Otuz - Sıfır
Z	-1,633[b]	-1,890[b]	-1,342[b]	-1,633[b]
Asymp. Sig. (2-tailed)	,102	,059	,180	,102

a. Wilcoxon Signed Ranks Test

b. Based on positive ranks.

```
NPAR TESTS
  /WILCOXON=Sıfır Sıfır Sıfır WITH UcHafta_Yirmi UcHafta_Dört Uchafta_Otuz
(PAIRED)
  /MISSING ANALYSIS.
```

NPar Tests

Notes

Output Created		25-NOV-2021 13:57:36
Comments		
Input	Data	C:\Users\drder\Desktop\Kisthidatik2.sav
	Active Dataset	DataSet2
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	8
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPAR TESTS /WILCOXON=Sıfır Sıfır Sıfır WITH UcHafta_Yirmi UcHafta_Dört Uchafta_Otuz (PAIRED) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00,00
	Elapsed Time	00:00:00,01
	Number of Cases Allowed[a]	87381

a. Based on availability of workspace memory.

Wilcoxon Signed Ranks Test

Ranks

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
UcHafta_Yirmi - Sıfır	Negative Ranks	3[a]	2,00	6,00
	Positive Ranks	0[b]	,00	,00
	Ties	5[c]		
	Total	8		
UcHafta_Dört - Sıfır	Negative Ranks	4[d]	2,50	10,00
	Positive Ranks	0[e]	,00	,00
	Ties	4[f]		
	Total	8		
Uchafta_Otuz - Sıfır	Negative Ranks	6[g]	3,50	21,00
	Positive Ranks	0[h]	,00	,00
	Ties	2[i]		
	Total	8		

a. UcHafta_Yirmi < Sıfır

b. UcHafta_Yirmi > Sıfır

c. UcHafta_Yirmi = Sıfır

d. UcHafta_Dört < Sıfır

e. UcHafta_Dört > Sıfır

f. UcHafta_Dört = Sıfır

g. Uchafta_Otuz < Sıfır

h. Uchafta_Otuz > Sıfır

i. Uchafta_Otuz = Sıfır

Test Statistics[a]

	UcHafta_Yirmi - Sıfır	UcHafta_Dört - Sıfır	Uchafta_Otuz - Sıfır
Z	-1,633[b]	-1,890[b]	-2,232[b]
Asymp. Sig. (2-tailed)	,102	,059	,026

a. Wilcoxon Signed Ranks Test

b. Based on positive ranks.

EK-3: ETİK KURUL ONAYI

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

Sayın Doç.Dr. Özlem Miman

Araştırmanıza ilişkin Kurulumuz kararı aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

ETİK KOMİSYONUN ADI	**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**
AÇIK ADRES	**Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2. Kat İnciraltı-İZMİR**
TELEFON	**0 232 412 22 54-0 232 412 22 58**
FAKS	**0 232 412 22 43**
E-POSTA	**etikkurul@deu.edu.tr**

BAŞVURU BİLGİLERİ	DOSYA NO:	5816-GOA	
	ARAŞTIRMA	UZMANLIK TEZİ ☐ MÜNFERİT ARAŞTIRMA ☐ ÖÇM ☐ YÜKSEKLİSANS ☒ DOKTORA ☐	
	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	**Preanalitik süreçte sıcaklık ve zamanın Anti-Echinococcus granulosus antikor titreleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi**	
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU		
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI ve UZMANLIK ALANI	Doç.Dr. Özlem Miman Tıbbi Parazitoloji A.D.	
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ☒

	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA İLE İLGİLİ LİTERATÜR	Mevcut		Türkçe ☐ İngilizce ☒ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐

Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

KARAR BİLGİLERİ	**Karar No:2020/27-43**	**Tarih:09.11.2020**
	Doç.Dr. Özlem Miman'ın sorumlusu olduğu **"Preanalitik süreçte sıcaklık ve zamanın Anti-Echinococcus granulosus antikor titreleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi"** isimli klinik araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, etik açıdan çalışmanın gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu

ETİK KURUL ÜYELERİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişkili mi?		İmza
Prof.Dr.Sadık Kıvanç METİN (Başkan)	Kalp ve Damar Cerrahisi	DEU Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr. Sermin ÖZKAL (Başkan Yardımcısı)	Tıbbi Patoloji	DEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji A.D	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Serkan YENER	Endokrinoloji	DEU Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Pınar TUNCEL	Tıbbi Biyokimya	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Seher Özyürek	Muskuloskeletal Fizyoterapi - Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	DEU Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksek Okulu	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Nil Hocaoğlu AKSAY	Tıbbi Farmakoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Murat BEKTAŞ	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği	DEU Hemşirelik Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Tufan ÇANKAYA	Tıbbi Genetik	Tıbbi Genetik Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Ayfer DAYI	Davranış Fizyolojisi	DEU Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Korcan DEMİR	Pediatrik Endokrinoloji	DEU Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Mahmut Cem ERGON	Tıbbi Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Öğr.Gör.Dr.Kıvanç YÜKSEL	Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Bilişim A.D	Erkek	E ☐	H ☒	
Av.Esra FIRTINA	Avukat	DEU Rektörlüğü Hukuk Müşavirliği	Kadın	E ☐	H ☒	
Mehmet Erhan ÖZKUL	Sağlık mensubu olmayan üye	D.E.U Tıp Fakültesi İdari Mali İşler	Erkek	E ☐	H ☒	

EK-4: ÖZGEÇMİŞ



BURCU AĞACIKOĞULLARI

Kişisel Bilgiler

İletişim Bilgileri

İletişim Adresi

Telefon

E-posta

İnternet Sayfası

Öğrenim Bilgileri

07 Ağustos 2018 - Şu Anda (3 yıl 10 ay)
Yüksek Lisans, Tezli Program, DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, TIBBİ PARAZİTOLOJİ (YL) (TEZLİ)
Ağırlıklı Genel Not Ortalaması: 3.25 / 4.0

18 Eylül 2017 - 22 Şubat 2022 (4 yıl 6 ay)
Ön Lisans, Açıköğretim, ANADOLU ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE
AÇIKÖĞRETİM FAKÜLTESİ, SAĞLIK KURUMLARI İŞLETMECİLİĞİ PR. (AÇIKÖĞRETİM)
Ağırlıklı Genel Not Ortalaması: 0.72 / 4.0

01 Eylül 2010 - 20 Temmuz 2016 (5 yıl 11 ay)
Lisans, İkinci Öğretim, EGE ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE
FEN FAKÜLTESİ, BİYOLOJİ PR. (İÖ)
Diploma Numarası: 2015/04/02080
Ağırlıklı Genel Not Ortalaması: 2.41 / 4.0

01 Eylül 2008 - 17 Ağustos 2010 (2 yıl)
Lisans, İkinci Öğretim, MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE
FEN-EDEBİYAT FAKÜLTESİ, BİYOLOJİ PR. (İÖ)
Ağırlıklı Genel Not Ortalaması: 1.69 / 4.0

Yabancı Dil Bilgileri

İNGİLİZCE (Okuma: İyi, Yazma: İyi, Konuşma: İyi)

Bilimsel Teknolojik Faaliyet Alanları

Bilimsel Teknolojik Faaliyet Alanı Bilgileri

Sağlık Bilimleri -- Tıp -- Temel Tıp Bilimleri -- Parazitoloji

Sosyal ve Beşeri Bilimler -- Eğitim -- Fen Bilimleri Eğitimi -- Biyoloji Eğitimi

Temel Bilimler -- Yaşam Bilimleri -- Hayvan Biyolojisi -- Hayvan Doku Kültürü

Temel Bilimler -- Yaşam Bilimleri -- Hayvan Biyolojisi -- Hayvanların Anatomisi

Temel Bilimler — Yaşam Bilimleri — Çevre Biyolojisi — Hayvan Çeşitliliği

Temel Bilimler — Yaşam Bilimleri — Hayvan Biyolojisi — Sistematik Zooloji

Anahtar Kelimeler

Biyoloji
Zooloji
Parazitoloji
Deri Yara İyileşmesi
Diyabetik Yara İyileşmesi
Yara Örtü Malzemeleri
Yara
Yara Örtüsü
Yara İyileşmesi
Yara İyileştirici Aktivite
Yara İyileştirici Etki
Deney Hayvanları
Hücre Kültürü Teknikleri
ELİZA
Tıbbi Cihazlar
Tıbbi Cihaz Tasarımı
Doku Kültürü
Laboratuvar Analizleri
Klinik ve Laboratuvar Çalışmaları

Ar-Ge Yetkinlik

Bildiriler

Ö. MİMAN, B. AĞACIKOĞULLARI & C. ERGÜDEN GÜRBÜZ, Türkiye orjinli Toxoplasma gondii ve Toksoplasmosis Araştırmalarındaki Tematik Değişim: Bibliyometrik değerlendirme, Poster Sunumu, 21. Parazitoloji Kongresi, 28 Eylül 2019, 03 Ekim 2019.

TÜBİTAK Burs ve Destekleri

Panellistlik/İzleyicilik/Raportörlük Sayısı

Hakemlik/Panelistlik/Dış Danışmanlık Sayısı ARDEB/BİDEB 0 TEYDEB 0 Toplam 0

Oluşturma Zamanı: 13 Mayıs 2022 00:02:17

İzleyicilik/Danışmanlık Sayısı	ARDEB/BİDEB: 0	TEYDEB: 0	Toplam 0
Raportörlük Sayısı	ARDEB/BİDEB: 0	TEYDEB: 0	Toplam 0