

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**TOXOCARIASİS HASTALARINDA EOZİNOFİLİK KATYONİK
PROTEİN DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Mehmet Salih ARIKAN

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİMDALI
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Mustafa DEMİRCİ**

2007 - ISPARTA

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------------|
| İÇİNDEKİLER | i |
| TABLO LİSTESİ | iii |
| KISALTMALAR | iv |
| ÖNSÖZ | v |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. Toxocara..... | 3 |
| 2.1.1. Tarihçe | 3 |
| 2.1.2. Morfoloji | 4 |
| 2.1.2.1. Erişkin Form | 4 |
| 2.1.2.2. Yumurta..... | 5 |
| 2.1.2.3. Larva | 6 |
| 2.1.2.4. Yaşam Döngüsü | 6 |
| 2.1.3. Etiyoloji..... | 8 |
| 2.1.4. Epidemiyoloji..... | 8 |
| 2.1.5. Visseral Larva Migrans | 9 |
| 2.1.6. Oküler Larva Migrans | 11 |
| 2.1.7. İmmünite | 12 |
| 2.1.8. Tanı | 12 |
| 2.1.9. Ayırıcı Tanı | 14 |
| 2.1.10. Tedavi..... | 15 |
| 2.1.11. Prognoz | 16 |
| 2.1.12. Korunma..... | 16 |
| 2.2. Eozinofiller..... | 17 |
| 2.2.1. Eozinofil Granül Proteinleri | 19 |
| 2.2.2. Eozinofilik Katyonik Protein (ECP) | 19 |
| 2.2.3. Ecp'in Fonksiyonları | 21 |
| 2.2.4. ECP'nin Hastalıkların Tanı ve Takibindeki Yeri ve Önemi | 22 |
| 3. MATERYAL METOD | 25 |
| 4. BULGULAR | 30 |

| | |
|---------------------------|-----------|
| 5. TARTIŞMA | 36 |
| 7. ÖZET..... | 42 |
| 8. SUMMARY | 43 |
| 9. KAYNAKLAR | 45 |

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları

Tablo 2: Serum ECP düzeylerinin ortalamaları

Tablo 3: Hastaların şikayetleri ve ECP pozitiflik oranları

Tablo 4: ECP ile total IgE arasındaki ilişki

Tablo 5: ECP ile eozinofil düzeyi arasındaki ilişki

Tablo 6: ECP ile ESH arasındaki ilişki

Tablo 7: ECP ile CRP arasındaki ilişki

Tablo 8: ECP ile ALT arasındaki ilişki

Tablo 9: ECP ile AST arasındaki ilişki

KISALTMALAR

| | |
|---------------|---|
| ECP | : Eozinofilik Katyonik Protein |
| VLM | : Visseral Larva Migrans |
| OLM | : Oküler Larva Migrans |
| EDN | : Eozinofil Kaynaklı Nörotoksin |
| EPO | : Eozinofilik Peroksidaz |
| MBP | : Major Basic Protein |
| ESH | : Eritrosit Sedimentasyon Hızı |
| CRP | : C-Reaktif Protein |
| ALT | : Alanin Amino Transferaz |
| AST | : Aspartat Amino Transferaz |
| PMNL | : Polimorfonükleer Lökosit |
| GM-CSF | : Granülosit Makrofaj Koloni Stimulating Faktör |
| ELISA | : Enzim-Linked Immunosorbent Assay |
| ALTB | : Akut Larengotrakeo Bronşit |

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince çalışmalarına her zaman destek olan, eğitimime katkıda bulunan, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tüm asistanlarına ayırım gözetmeksizin kimi zaman hocalık ve kimi zaman ağabeylik yapan değerli tez danışman hocam Doç. Dr. Mustafa Demirci'ye teşekkür ederim.

Çalışma ortamımızı bir aile ortamı sıcaklığına getiren, mutlu ve huzurlu çalışmamızı sağlayan, asistanlık sürem içerisinde beni her zaman ve her konuda dinleyip sorunlarıma anlayış ve çözüm getiren, bilgi ve tecrübeleri ile doğru yolu gösteren, davranış ve kişiliğiyle herkese örnek olan, Anabilimdalı Başkanımız Sayın Doç.Dr. Buket Cicioğlu Arıdoğan'a teşekkür ederim.

Anabilimdalımız öğretim üyeleri Doç.Dr. Ali Kudret Adiloğlu, Yrd. Doç. Dr. Selçuk Kaya ve Yrd. Doç. Dr. Emel Sesli Çetin'e verdikleri emek ve eğitim için teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım değerli asistan ve teknisyen arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tez çalışmamda yardımını esirgemeyen değerli teknisyenlerimiz Bediha Oğuz ve Hakan Doğangönül'e teşekkür ederim.

Çalışmamızda kullandığımız toxocara antijenlerini sağlayan Prof. Dr. Metin Korkmaz'a teşekkür ederim.

Tez kaynaklarımı bulmamda destek olan Dr. Melih Vural'a teşekkür ederim.

Dr. Harun Süslü, Dr. Tufan Nayir, Dr. Hakan Türkoğlu ve Stj.Dr. Kıvanç Sakarya'ya tez çalışmamdaki yardımları için teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca destek ve ilgilerini esirgemeyen aileme ve Yaltkaya ailesine teşekkür ederim.

Ve; Asistanlık eğitimim boyunca benden desteğini esirgemeyen, zor zamanlarımda yanımda olan, en hüzünlü anlarımda sevinci Sayın Dr. Sevinç Yaltkaya'ya sonsuz teşekkür ederim.

1. GİRİŞ

İnsanlarda toxocariasis'e neden olan *Toxocara spp*; *Helmintlerin Nematodea* şubesinin *Rhabditea* sınıfının, *Ascaridida* takımının *Ascarididae* ailesinin içinde yer alır.

Toxocara canis köpeklerin, *Toxocara cati* ise kedilerin ince bağırsaklarında yaşayan parazitlerdir. Kedi ve köpek dışkıları ile dış ortama atılan, içinde larva oluşmuş infeksiyöz yumurtalar, insan tarafından ağızdan alındığında; bağırsakta serbest kalan larva bağırsak mukozasına invaze olarak kan dolaşımına geçer. Akciğer döngüsünü tamamlayamadığı için dokularda kalır fakat erişkin dönemine ulaşamaz (1-5). Çocuklarda daha şiddetli, erişkinlerde ise daha hafif semptomlarla seyreden parazitoz larvanın göç ettiği yere göre “*Visceral Larva Migrants*” veya “*Oküler Larva Migrants*” adlı hastalıklara neden olabilir (6-8).

Visceral Larva Migrants'ın etkeninin *Toxocara* türlerinin olduğu, yaklaşık 50 yıl önce Beaver ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (2,3). Çocuklar daha fazla olmak üzere bu parazitoz tüm insanlarda gözlenebilir. Günümüzde bu parazitoza ait bilgiler artmıştır. Çeşitli nematod larvaları ile oluşabilen hastalıkta en fazla etkenin, *Toxocara canis* larvaları olduğu bilinmektedir.

Çok çeşitli yerlerde yapılan çalışmalar göstermiştir ki toxocariasisli hastalarda çok çeşitli klinik semptomlar gözlenebilir. Yorgunluk, karın ağrısı, karaciğer büyüklüğü, uyku düzensizliği, artmış eozinofil sayısı, yüksek total IgE düzeyi ve çeşitli allerjik belirtiler gözlenen kişilerde *Toxocara* seropozitifliği saptanmıştır(9-16).

Tanı etkilenen dokuların histolojik değerlendirmesinde larvanın görülmesi ile kesinleşirse de genellikle bu mümkün olmamaktadır. Toxocariasis'li hastalarda tanıda genellikle hasta serumunda *Toxocara* spesifik-IgG antikorlarının varlığı enzim-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi kullanılarak araştırılmaktadır. Ancak asemptomatik hastalarda ve bir çok paraziter hastalıkta bu antijenin çapraz reaksiyon vermesi nedeniyle tanı kesinleştirilememektedir.

Eritrosit sedimentasyon hızında artış, total IgE yükselmesi, eozinofili, C-Reaktif protein ve karaciğer enzim düzeylerinde yükselme, gözlenebilen diğer laboratuvar bulgularıdır.

Toxocariasis tanısı koymada kullanılan serolojik testlerin çok özgül olmaması; eritrosit sedimentasyon hızında ve CRP düzeyinde artış, hipereozinofili, total IgE yüksekliği gibi laboratuvar bulgularının da başka hastalıklarda da gözlenebilmesinden dolayı tanıyı destekleyen ek testlere ihtiyaç vardır.

Eozinofilik katyonik protein eozinofillerin granüllerinde bulunan helmintoksik etkili bir proteindir. Toxocariasis dahil olmak üzere tüm helmintik infeksiyonlarda, eozinofil granüllerinden salındığı ve helmintoksik etkiye katkı sağladığı düşünülmektedir (17,18,68).

Bu çalışmaya; serumlarında toxocara antikorları pozitif, fasciola hepatica ve Echinococcus granulosus antikorları negatif saptanılan hastalar dahil edildi. Çalışmamızda; Toxocariasisli hastalardaki serum eozinofilik katyonik protein düzeylerinin saptanması; hastaya ait diğer laboratuvar bulguları ve şikayetleri ile mukayese edilmesi ve bu proteinin toxocariasis tanısını desteklemedeki rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Toxocara

Toxocara; köpek ve kedigillerin nematod parazitlerinden bir tanesidir. *Ascaris lumbricoides* ile aynı ailede bulunmaktadır. *Ascaris lumbricoides*'den morfolojik olarak farklılıkları bulunmaktadır. *Ascaris lumbricoides*'e göre daha küçük olması, yanda iki kanadının olması ve yemek borusunun arka kısmındaki mevcut genişlemeye göre ayrılır.

Toxocara canis ve *Toxocara cati*; *Toxocara* parazitinin bilinen türlerdir. Ayrıca *Toxascaris leonia* da bilinen çok yakın bir türdür. *Toxocara*'nın erişkini kedi ve köpeklerin ince bağırsağında yaşarken; larvaları ise yine aynı konakta dokular arasında yaşar. Çok karmaşık yaşam döngüsüne sahip olan bir parazittir (19,20).

2.1.1. Tarihçe

1782 yılında ilk defa Werner tarafından tanımlanan *Toxocara canis*, *Lumbricus canis* diye adlandırılmıştır (19,20). Sonrasında Rudolphi 1802'de *Ascaris marginata* ve 1911'de de Railliet *Belascaris marginata* olarak adlandırmışlardır (21).

1947 yılında Perlingiero ve Gyorgy çocuklarda ateş, karaciğer büyümesi, eozinofil artışı ve hiperglobulinemi ile seyreden yeni bir sendromdan bahsetmişlerdir. İki yıl sonra Zvelsen ve Apt bu hastalığın patolojik bulgularını ve klinik araştırmalarını yapmışlar. 1950 yılında Mercer ve arkadaşları karaciğer biopsi örneklerinin kesitlerinde gördükleri tipik lezyonlara dayanarak bu parazitozun patolojik ve klinik yönlerini tanımlamışlardır. Fakat yanlış izlenim sonucu *Ascaris Lumbricoides* larvaları sanmışlardır. *Toxocara canis*'in parazitik olarak tam incelenmesinden sonra *Toxocara canis*'in *Nematodea* sınıfında yer alabileceğini de Mercer ve arkadaşları 1950'de açıklamışlar, 1951 yılında da Behrer benzer bir olgu açıklamıştır. 1952 yılında Beaver üç hastasında bunlara benzer bir larva bulmuş ve bu durumun *Toxocara canis* larvaları ile olduğunu, bu hastalığın *İç Organlar Larva migransı* (*Visceral larva migrans*, *VLM*) olarak adlandırılabilceğini önermiştir.

1940 ve 1950'li yıllarda Avustralya'da *Ascarid* nematodlarının biyoloji ve davranışları üzerine araştırmalar yapan Sprent; *T. canis*'in köpektaki evrimini, konaklarını ve prenatal infeksiyonu tanımlamıştır. 1953 yılında ölen bir hastadan

yapılan otopside karaciğerin yanında akciğerde, kalp ve böbreklerde granülomlar gözlenmiş ve bunların sebebinin *Toxocara canis* olduğu açıklanmıştır. Milburne, Ernst ve arkadaşları 1953'de; Gault ve Webb 1957'de karaciğerde, *Toxocara* larvalarının varlığını iki hastada bildirmişler ve patolojik terminoloji ile uyumlu olarak bu sendromun isminin "*larval granülamatoz*" olmasını önermişler.

1950'de Wilder, gözde larval parazitler görmüş ve 1956'da bunların *Toxocara canis* larvaları olduğunu açıklamıştır. 1960 yılında Ashton, Londra'da retinal granüomla seyreden 4 vaka bildirmiştir. 1958'de Sprent *Toxocara canis* larvalarının canlıdaki yaşam siklusünü tam olarak açıklamıştır. Beautyman ve Woolf poliomyelitiden ölen bir çocuğun talamusunda kapsülle çevrilmiş bir askarid bulmuşlar ve Moore 1962 yılında bir çocuğun beyinde *Toxocara canis* larvalarını göstermiştir. Smith ve Beaver yaptıkları deneylerle *Toxocara canis* larvalarının insanda bir yıldan fazla canlı kalabileceğini göstermişlerdir (20,22,23).

2.1.2. Morfoloji

2.1.2.1. Erişkin Form

Toxocara kedigiller ve köpekgillerin ince bağırsaklarında yaşar. Diğer *Askaridler* gibi *Toxocara*'nında ön ucunda üç dudak bulunur. Bir tanesi dorsalde, diğer ikisi ise subventraldedir. Her iki cinsinde belirgin servikal ala'sı vardır. Her bir ala yaklaşık 2-4 mm uzunluğunda, 0.2 mm enindedir. 0.5 mm çapında olan tek ventrikülü yaklaşık 5 mm uzunluğunda olan yemek borusunun son kısmında bulunur (4,5).

T. canis; erişkin erkeğinin uzunluğu 4-10 cm'dir (maximum 13cm). Kuyruk kısmında ala ve gubernakulum bulunmaz; kanatsız iki spiküle sahiptir; arka uçta parmak şeklinde bir yapı vardır. Erkek parazit, bunlara ek olarak, yaklaşık 20 preanal papillaya sahiptir. *T. canis*; dişisi 6-18 cm dir (maximum 20 cm). Üreme organları çifttir; vulva ön uçtan vücudun 1/5-1/6'sı kadar bir uzaklıktadır.

Erişkin *T. canis*, köpek yavrularının yaşamlarının ilk 6 ayında onların ince bağırsaklarında bulunur. Bağırsaktaki parazit sayısının bir tane ile birkaç yüz arasında olabildiği ve buna göre de infekte bir köpeğin her gün dışkısı ile çevreye binlerce, belki de milyonlarca yumurta bıraktığı bildirilmiştir (4,5,6,21).

T. cati kedi ve kedigillerin bir parazitidir. Servikal ala *Toxocara canis*'den daha geniş olup, öne doğru inceler, arka uca doğru ise yuvarlaklaşıp, aniden sonlanır. Ala'nın bu özelliği parazitin ön ucuna armudumsu bir görünüm verir. Yemek borusunun son kısmındaki ventrikülün boyu eninden fazladır. Erkek *T. cati*'nin kuyruk papillaları ayırıcı tanıda yardımcıdır. Erkek *T. cati* 6 cm, dişi ise 12 cm uzunluğa erişebilir. Erkeğin arka ucu kaşık gibi çukurlaşmıştır. Dişide vulva ön uçtan 1/4 vücut uzunluğu uzaklıktadır. Yumurta yuvarlağa yakın şekildedir; kabuğu oldukça incedir ve yüzeyinde ince tanecikler vardır; büyüklüğü 75µm x 65µm'dir.

Toxascaris leonina hem köpekgillerin hemde kedigillerin bir parazitidir. Ala *T. canis*'inkine benzer. Bu türün yemek borusunun son kısmında belirgin bir genişleme yoktur. Ayrıca, vücudu dorsale doğru kıvrılırken *Toxocara canis* ve *cati* türlerinde bu kıvrılma ventrale doğrudur. Erkek *T. leonina* 2-7 cm dir; gubernakulumu yoktur, spikülleri kanatsızdır; arka ucu konik olarak sonlanır. Dişi *T. leonina* 6-10 cm uzunluğundadır, arka ucu sivri olarak sonlanır. Hafif oval şekilde olan yumurtaların kabuğu kalın olup, yüzeyi düzdür. Kabuğun iç kısmında saç örgüsüne benzer görünümde olan bir tabaka vardır. Büyüklüğü 75-85µm'dir(4,5,6,21).

Erişkin *T. canis*, *T. cati* ve *T. leonina* birbirleriyle karışabilmektedir. Erişkin *Toxocara* türlerinde tür ayırımında yardımcı olan belirgin servikal kanatlar ve erkeklerde tipik perianal papillalar bulunmaktadır (24,25).

2.1.2.2. Yumurta

Yumurtalar yuvarlağa yakın görünümündedir. Boyutları *Ascaris* türlerinin yumurtaları ile aynı büyüklüktedir (75-80 µm). Koyu kahverengi olup, yumurtaların yüzeylerindeki küçük çukurluklar kolayca tanınmalarını sağlamaktadır. Yumurta yumurtlandığında içinde embriyo gelişmemiştir. Embriyo oluşumu uygun ısı, nem ve oksijen varlığında toprakta gerçekleşir. Dişi parazit günde yaklaşık 200 bin kadar yumurta yumurtlar. İnfekte bir köpeğin dışkımasının bir gramında 10 000-15 000 yumurta olduğu bildirilmiştir (4).

Yumurtaların kedi-köpek dışkısı ile dışarı atıldığında, embriyon gelişmediği için enfektif olmadıkları ve gelişebilmeleri için 3-4 haftanın gerekli olduğu

saptanmıştır. Embriyonizasyon oranını ısı ve nemin etkileyebileceği, 15-35 °C ve % 85 nem oranı olduğunda 2-5 haftada yumurtaların enfektif hale gelebileceği bildirilmektedir. Yumurtalar güneş ışığından korunurlarsa toprakta aylarca canlı kalabilir ve yağmur suları ile farklı bölgelere taşınabilirler (26).

2.1.2.3. Larva

Yumurtadan çıkan larva yaklaşık 290-350 µm uzunluğunda, 14-20 µm çapındadır. Bu larva histopatolojik kesitlerde yanlarda ala, çift boşaltım kanalı ve kiriş benzeri bağırsağın bulunuşuyla tanınır. Benzer kesitlerde görülebilen *T. cati* larvası ile *T. canis* larvasının boyları aynıdır ve çapları da 12-16 µm'dir. Yine aynı ortamlarda bulunabilen *A. Lumbricoides* larvası ise araştırmacılara göre 3. dönem larvası olduğundan hem daha uzun (550-650 µm), hem de daha geniştir (24-26µm)(4,5,27).

Dışkı ile atılan yumurtada larvanın yaklaşık 12 günde ilk gömleğini, son konak köpek akciğerinde 2. gömleğini, sindirim sistemine döndükten sonra da 3 ve 4. gömleğini değiştirdiği bildirilmiştir. Birinci evre larvada vücut duvarları, sinir sistemi, salgısal kanallar ve sindirim sisteminin geliştiği; ikinci evrede sadece salgısal kanallarda minör değişikliklerin oluştuğu; 3. evrede sindirim sisteminin iyice belirginleşmeye ve seksüel farklılıkların gelişmeye başladığı; 4. evrede dudak yapıları ve cinsiyetin tamamen geliştiği bildirilmiştir (4,27).

2.1.2.4. Yaşam Döngüsü

Toxocara'nın yaşam döngüsü Sprent tarafından ana hatlarıyla açıklanmıştır. Sonraki yıllarda ise daha ayrıntılı bilgiler elde edilmiştir. (4,20,21).

Dış ortamda uygun şartlarda beklemiş ve içerisinde embriyon gelişmiş enfektif yumurtaların, kedi ve köpekler tarafından sindirim yoluyla alınması ile infeksiyon başlar. Yumurtadan dışarı çıkan larvalar mukozaya penetre olurlar, buradan lenf ve kan damarları yoluyla çeşitli dokulara ulaşırlar. Larvalar öncelikle karaciğere sonrasında dolaşım sistemi ile kalp ve akciğerlere ve diğer organlara göç ederler. Larvalar akciğerlerden bronş yoluyla trakea-farenks bölgelerinden geçtikten sonra yutularak bağırsak boşluğuna geçerler. Larvanın göçü sırasında üç kez kütikül

değişimi olur ve sonuçta ince bağırsaklarda erişkin parazitler gelişmiş olur. Bu süre yaklaşık 3 haftadır (21,27).

İnfektif *Toxocara* yumurtaları insanlar veya diğer canlılar tarafından alındığı zaman yumurta bu canlıların bağırsağında açılır; serbest kalan larva dolaşım yoluyla karaciğere ve sonrasında da diğer doku ve organlara gider, fakat tekrar bağırsağa gidip olgunlaşamaz ve yerleştiği dokuda değişime uğramadan kalır. Eğer bu canlılar köpek veya kediler tarafından yenildiği zaman parazitlerin yaşam döngüleri tamamlanmış olur. Parazitin yaşam döngüsünü tamamlaması açısından kullanılan bu konaklara paratenik konak denilir (28).

T. canis için paratenik konaklar fare, toprak solucanı, kene, piliç, koyun ve domuzdur. *T. cati* için ise; fare, toprak solucanı, kene ve kuşlardır (4).

Hamile köpeklerde eğer *T. canis* larvaları transplasental yol ile yavruya geçerse prenatal *toxocariasis* oluşur. Transplasental geçiş için en erken 42. hamilelik günü gereklidir. Prenatal *toxocariasis*li köpek embriyosu doğuma kadar larvaları karaciğerinde barındırır, sonrasında ise akciğerlere ve oradanda ince bağırsaklara gelerek olgunlaşır. Yavru köpekler doğum sonrası 4. haftadan itibaren dışkılarıyla parazit yumurtalarını atmaya başlarlar (4).

T. cati de ise transplasental geçiş bulunmamaktadır.

Köpek ve kedilerin infeksiyon etkenini çeşitli yollarla alabileceği bildirilmektedir:

1. Enfektif yumurtanın sindirim yoluyla alınması,
2. Paratenik konak dokularında bulunan larvaların sindirim yoluyla alınması,
3. Transplasental göç,
4. Larvaların süt aracılığı ile emziren dişi köpekten yavrularına geçmesi,
5. Yavru köpeklerin dışkı veya kusmuklarıyla atılan olgunlaşmamış erişkinlerin veya geç evre larvaların sindirim yoluyla alınması (2-27).

Üçüncü bir parazit *Toxoascaris leonia*, köpek ve kedilerde bulunmasına karşılık insanda infeksiyon etkeni olduğu hemen hemen hiç gösterilmemiştir (25).

2.1.3. Etiyoloji

Toxocariasis'in en önemli etkenlerinden biri olarak bir köpek solucanı olan *T.canis* gösterilmekte, *T.cati*'nin ise daha az sıklıkta neden olabileceği belirtilmektedir (29,30,31).

Visseral larva migransa neden olabilecek birçok zoonotik helmint hastalıkları olmasına karşılık en sık köpek ve kedi ascaridleri olan *T.canis* ve *T.cati*'den söz edilmesinin birçok etkene bağlı olduğu düşünülmektedir.

Bu etkenler;

- Evcil hayvan besleme alışkanlığı,
- *Toxocara* türlerinin köpek ve kedigillerde yüksek oranlarda bulunması,
- Sahipsiz köpek ve kedi sayısının çokluğu,
- İnfektif *Toxocara* yumurtalarının dış ortam koşullarına oldukça dirençli olması ve uzun süre yaşayabilmesi,
- Çocukların toprak ile oynama alışkanlıkları olarak gruplandırılabilir.

Bu koşulların insanların *Toxocara* türleri ile enfekte olmalarını kolaylaştırdığı düşünülmektedir (28,30,32).

Beaver 1969 yılında yaptığı çalışmada, toxocariasisin ikinci-evre larvaları içeren enfektif yumurtaların sindirim yoluyla alınmasıyla geliştiğini tanımlamıştır (3). Paratenik konakların etleri çiğ yada az pişmiş yenirse enkapsüle olmuş larvaların sindirim yoluyla alınarak nadiren de olsa bulaşabileceği, az pişmiş piliç etinin yenmesi ile geliştiği düşünülen bir *toxocariasis* olgusu bulunduğu bildirilmiştir (33). İnsan vücudunda yaşam döngülerini tamamlayamayan *Toxocara* larvalarının immatür kaldığı ve yaşam döngülerini tamamlayamayarak *visseral* veya *oküler larva migrans* sendromuna neden oldukları bildirilmektedir (4).

2.1.4. Epidemiyoloji

Toxocariasis; kötü hijyenik koşullarda, kedi ve köpeklerin bol olduğu, sıcak ve ılıman bölgelerde daha sık gözlenilebilen bir hastalıktır. İnsanlara

bulaşması, içerisinde larva oluşmuş yumurtaların yiyecek ve içeceklere bulaşması ve bu yiyeceklerin yenilmesi ile olur (1,4,5,6,7,27).

Toxocariasis ile ilgili yapılan çalışmaların çoğunluğu genelde immünopatoloji ağırlıklıdır. Hastalığın tanısını koymadaki zorluklardan dolayı insidans ile ilgili çok fazla çalışma yapılmamıştır. Yapılmış mevcut çalışmalarda genellikle çocuklar üzerindedir (34-38). Hastalık prevalansı hakkında kesin ve net bilgiler olmamasına rağmen yinede değişik bölgelerde yapılan çalışmalarda belirgin seroprevalans farklılıkları gözlenilmektedir (4).

Amerika Birleşik Devletleri'nde *toxocariasis* tanısının serolojik olarak doğrulanması amacıyla Hastalık Kontrol Merkezine her yıl ortalama 2.600-3.500 serum örneği gönderilmektedir. Bu örnekler; ES (Ekskretuar-Sekretuar) antijeni kullanılan ELISA yöntemiyle yaklaşık %25-33 oranında pozitif bulunmaktadır. Gelişmekte olan tropikal ülkelerdeki çocuklarda ise %50-80 seropozitiflik görüldüğünü bildirilmektedir (44).

Dünyanın bazı ülkelerinde yapılmış seroprevalans araştırma sonuçları şöyledir; Malezyada %10.9, Kenya'da %7.5, Hollanda'da %7.1, Fransa'da %4.8-15, İrlanda'da %31, Brezilya'da %9.8 ve İspanya'da % 6.5 oranında pozitiflik saptanmıştır (4-11-14-16-28).

Ülkemizde toxocariasis seroprevalansı ile ilgili yapılmış çok fazla çalışma yoktur. Yapılmış kısıtlı sayıda çalışmalarda ise çeşitli yakınmaları olan çocuklarda ELISA yöntemiyle taramalar yapıldığı gibi, park ve bahçelerden alınan toprak örneklerinde *Toxocara* yumurtalarının varlığı araştırılmıştır (15,39,40). Veteriner kontrolünden geçmiş kedi ve köpek sayısının azlığından dolayı toxocariasisin yaygın olma ihtimali düşünülmektedir. 1996 yılında İstanbul'un kırsal ve kentsel yerleşim bölgelerinde yaşayan çocuklarda gerçekleştirilen seroepidemiolojik bir araştırmada, kırsal bölgelerde %47.2, kentsel bölgelerde ise %11.9 oranında seropozitiflik saptandığı bildirilmiştir (39).

2.1.5. Visseral Larva Migrans

Toxocariasis; köpek ve kedigillerden insanlara bulaşan parazitozdur ve Visseral larva migrans ile eş anlamda kullanılmaktadır. Köpek askaridi olan *T. canis*

ve kedi askaridi olan *T. cati* larvalarına bağı olarak gelişir. Visseral larva migrans etkenleri arasında başta *Toxocara* türlerinin larvaları olmak üzere, diğer nematod larvaları, sestod ve trematod larvaları bulunmaktadır (3,4).

Visseral larva migrans, kesin konağı insan olmayan nematod larvalarına bağı olarak gelişen, genellikle çocuklarda görülen ateş, hipereozinofili, karaciğer büyüklüğü, büyüme geriliği, öksürük ve hipergamaglobulinemi ile karakterize bir sendromdur (1-8).

Hastalık embriyon içeren *Toxocara* yumurtalarının insanlar tarafından oral yolla alınması ile başlar. Yumurtalar mideyi geçip duodenuma giderler ve orada açılırlar. Yumurtaların içlerinden çıkan larvalar bağırsak mukozasına penetre olurlar, daha sonra portal dolaşım yoluyla karaciğere, oradan vasküler kanallar yoluyla akciğerlere, oradan da sistemik dolaşıma geçerler. Sistemik dolaşımdaki seyirleri esnasında larvaların çapları büyür, damar yüzeyini delerek etraf dokuya göç ederler. Dokulara göç sırasında bile halen çapları büyümeye devam eder. Larvaların en sık yerleştikleri organ karaciğer olmasına rağmen vücutta yerleşmedikleri organ yoktur.

Visseral larva migrans sendromunun şiddeti; dokulara yerleşen larva sayısı, yerleşilen doku ve infeksiyon süresi ile orantılı olarak seyreder. Larvalar kalp kası veya beyine göç ederlerse ölüme neden olabilirler. Yapılan fare deneyleri sonucunda infeksiyon başlatılmasının 7-12. günlerinde beyin sapı ve beyinciklerde larva saptanılmıştır. Larvalar buradan omuriliğe ve çevre dokulara göç etmiştir (41). Visseral larva migrans'da oluşan patolojik görünüm larvaların konakta oluşturduğu mekanik zararla direkt ilişkilidir. Larvalar konakta granülom benzeri lezyonlar oluşumuna neden olurlar. Erken dönemde nötrofil ve eozinofili olurken geç dönemde baskın olan hücre grubu makrofajlardır. Etkilenen dokularda multipl eozinofilik apseler ve allerjik tip eozinofilik granülomlar oluşur (42).

Toxocara larvaları akciğerlerde sıklıkla yerleşebilmesine rağmen solunum sıkıntısı nadir gözlenilir. Akciğere yerleşimde akut bronşiolit, astım veya pnömoni benzeri tabloya neden olabilirler. Yapılan bazı araştırma sonuçlarına göre astımlı çocuklardaki kan anti-toxocara antikor titreleri astımsız çocuklara göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur (16).

Bir tane bile larvanın beyindeki epileptik alanlara göçü epilepsiye neden olabilir. Bu yüzden nedeni bilinmeyen epilepsi vakalarında akla mutlaka Visseral larva migrans gelmelidir. Larvalar beyne göç ederlerse ciddi nörolojik bozukluklara neden olabilirler. Eozinofilik granülomlarla birlikte beyin infarktları da görünür. Tüm *Toxocara* hastalarının %15-20'sinde merkezi sinir sistem bulguları görülebilir. Belirtiler ise ataksi, koma, hemiparazi, Guillian-Barre sendromudur (32).

Ağır toxocariasis infeksiyonu en sık toprak yeme alışkanlığı olan ve yavru kedi, köpeklerle ilişkisi olan çocuklarda sık ve yaygındır. Erkek çocuklarda kız çocuklara göre 2 kat daha fazla görülür (36).

Hastalık genelde iyi seyirlidir ve iki yıl içinde kendiliğinden iyileşme görülür. Fakat larvalar beyine veya kalp kasına göç ederlerse ölüme neden olabilir. Ölümle sonuçlanan ensefalit ve myokardit olguları bildirilmiştir (6-13).

2.1.6. Oküler Larva Migrans

Göz tutulumu 4 yaşından büyük çocuklarda ve nadiren erişkinlerde gözlenir (36). Oküler larva migrans genelde Visseral larva migrans'ın hafif infeksiyonundan yıllar sonra görülebilir. *Toxocara* larvalarının gözde yerleşmesi sonucu granülomlar meydana gelir (20-39). Retina dejenerasyon alanının çevresi lezyon kalıntılarının çökmesi ile sınırlanır. Lezyonlar retina üzerinde artar ve retina neoplazması görünümündedir. Göze damarlarla tek bir larva bile gelse *Toxocara* endoftalmiti görülür (44).

Hastaların göz içi basınçları artar. Görme bozuklukları, ağrı, fotofobi başlıca klinik bulgulardır. Ayrıca üveit, papillit, keratit, optik nörit ve vitröz apse gelişebilir (20,39,44,45,46). Gözde 3 ayrı klinik tablo gözlenilebilir. Bunlar; Kronik endoftalmit, Lokalize granülom ve Periferik granülom'dur.

Eğer lezyonlar merkezde ise görme azalır veya kaybolur. Retina hasarı ile birlikte şaşılık da görülebilir. İlerleyen vakalar körlükle sonuçlanır ve retinanın çıkarılması gerekebilir. Oküler larva migrans gözün kötü huylu tümörü olan retinoblastomadan ve diğer keroiditlerden ayrılmalıdır (32).

2.1.7. İmmünite

Toxocara larvaları vücutta hem humoral hem de hücresele immün sistemi uyarırlar. Hastalık sırasında IgM düzeyi artarken sonraki dönemde IgG düzeyi yükselir. Ayrıca tüm paraziter hastalıklarda olduğu gibi total IgE antikor düzeyi ve beraberinde periferik eozinofil düzeyinde artış olur (4,9,11,42).

Klinik belirtilerin oluşumu infeksiyonun şiddetine bağlıdır. Parazit sayısı düşükse az immün uyarı ve dolayısıyla az antikor oluşur ve larva serbestçe göç edebilir. Yüksek şiddette bir infeksiyonda immün cevap güçlüdür; larva karaciğer ve akciğere hapsedilir. Parazitin konak immünitesinden kaçabilmesi için etkili savunma mekanizmaları vardır. Larvaya karşı oluşan konak cevabında önce nötrofil daha sonrada makrofajların baskın olduğu fagositoz olayı başlar. Dokuya göç eden larvaya karşı kompleman ve eozinofiller saldırıya geçerler. Parazite bağlanan antikorlar komplemanı klasik yolla aktive ederken diğer taraftan parazitin kendisi komplemanı alternatif yoldan aktive eder. Bu olaylar yaşanırken konağa ait epitel hücreleri çevresinde kollagen içeren kapsül oluşur. Kapsül içeriğinde bir miktarda lipit materyali bulunur. Th2 hücrelerinin ürettiği IL-4 immünglobulinleri uyarır. Olaya karışan IL-5 ise eozinofil proliferasyonuna katkıda bulunur. Eozinofiller parazite karşı savaşırken bazofillerden de yardım alabilirler. Bazofiller eozinofiliopoetik ve eozinofil kemotaktik faktörler salgırlar. Ayrıca interferon gama'da IgG ve makrofajları uyararak daha yeterli bir immün cevap oluşmasını sağlar (4-5-42-47).

2.1.8. Tanı

Toxocariasis tanısını destekleyen bazı klinik belirtiler ve laboratuvar bulguları mevcuttur. Klinik bulgular arasında; ateş, karın ağrısı, öksürük, halsizlik-yorgunluk, allerjik deri bulguları bulunur. Eozinofili, lökositoz, hipergamaglobulinemi, eritrosit sedimenasyon hızında artış, C-Reaktif protein düzeyinde artış, karaciğer enzim düzeylerinde yükselme ve akciğer grafisinde infiltrasyon görülmesi saptanılabilen laboratuvar bulgularıdır. Fakat bunların hiçbiri toxocariasis için özgül değildir.

Toxocara infeksiyonunun kesin tanısının biyopsi ile konulabileceği, buna karşılık enfekte dokularda *Toxocara* larvalarının bulunması ve tanınmasının zor olması nedeniyle biyopsinin pratik olmadığı düşünülmektedir. Etkenin insanlarda

erişkin şekle geçememesi nedeniyle dışkıda *Toxocara* yumurtalarının araştırılması ile tanı konulamamış, bu nedenle *Toxocara* infeksiyonlarının tanısı için deri ve serolojik testler önerilmiş ve geliştirilmeye çalışılmıştır. Oküler larva migrans'ın kesin histopatolojik tanısı ise ancak gözün çıkarılmasından sonra konulabilmektedir (3).

Kullanılan serolojik testler; antijen olarak erişkin ekstraktları kullanılarak yapılan hemaglutinasyon, bentonit flokülasyon, kompleman fiksasyon, *in vitro* larval presipitasyon, agarda presipitasyon ve fluoresan antikör tekniği (IFAT) gibi serolojik testlerdir. Fakat sensitivite ve diğer ascarid parazitler ile çapraz reaksiyon vermeleri nedeniyle spesifiteleri düşük bulunmuş ve tanı için yeterli görülmemiştir (25-48).

Toxocariasisin serolojik tanısında IFAT testinin ilk kez Bisse ve Woodroff tarafından uygulandığı, bu araştırmacıların antijen olarak larvanın tümünü kullandıkları bildirilmiştir. Larvaların sağlanması, depolanması ve farklı zamanlarda veya kaynaklardan elde edilen antijen kalitesindeki farklılıklar gibi problemler nedeniyle, bu tür bir testin yürütülmesinin laboratuvarlar için pratik olmadığı düşünülmekte, testlerin tüplerde yürütülmek zorunda olmasının da en önemli zorluklardan birisi olduğu belirtilmektedir.

Günümüzde toxocariasisin serolojik tanısında en fazla, ES antijenlere karşı oluşmuş antikörlerin Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi ile araştırılması kullanılmaktadır. ELISA yönteminin insanda *Toxocara* infeksiyonlarının serolojik tanısında oldukça sensitif ve spesifik olduğu bir çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada toxocariasisin serolojik tanısında IHA, bentonit flokülasyon, ELISA ve agarda çift diffüzyon olmak üzere 4 serolojik tekniği değerlendirilmiş ELISA yönteminin sensitivitesinin %78.3, spesifitesinin %92 olduğunu bildirmiş ve toxocariasis tanısında larval antijenlerden hazırlanan ELISA yöntemi önerilmiştir (53).

Serolojik testlerde kullanılan antijenin niteliği çok önemlidir. Yapılan araştırmalar embriyonlu yumurta antijeni ve larvalarının çıkartı ve salgı antijenlerinin erişkin *Toxocara* antijenlerine göre; ELISA deneyinde daha özgül ve duyarlı sonuçlar verdiği saptanmıştır (4-9-12-14-15-49-50).

Larvaların kültür ortamında biriken çıkartı ve salgılarının yüksek antijenik yapıya sahip maddeler olduğu saptanmıştır. Bu antijenlerin, en yoğun olarak infektif

larvaların yemek borularından ve oral mukozalarından salındığı tespit edilmiştir. Larvaların bağırsak mukozaları ise böyle bir özelliğe sahip değildir. Larvalardan elde edilen çıkartı ve salgı antijenleri kolay elde edilebilir ayrıca absorpsiyon ve erime basamağına gereksinim duymaz, bu nedenlerden dolayı kullanılan diğer *T. canis* antijenlerine oranla daha avantajlıdır.

Toxocara antijenlerine karşı antikor cevabı 4 gün ile 4 hafta içerisinde oluşmakta, ölçülebilir düzeye gelmekte ve yıllarca serumda kalabilmektedir. Bir çok paraziter hastalıkta bu antijenle çapraz reaksiyon verilmesi sonucu tanı güçlüğü oluşabilir. *Ascaris*, *Strongyloides*, *Fasciola* ve *Flarialar* bu parazitler arasındadır. Ayrıca AB kan grubu antijenleri de çapraz reaksiyonlara, dolayısıyla yanlış pozitif sonuçlara yol açabileceği bildirilmiştir (52).

T. canis larvalarına ait ES antijenleri kullanılarak Western blotting ve ELISA yöntemleri karşılaştırıldığında her iki yöntemin birbirleriyle uyumlu olduğu, Western blotting yönteminin diğer helmint hastalıklarıyla enfekte insan serumlarında çapraz reaksiyona bağlı problemleri eleyebildiği saptanmıştır (54).

Oküler larva migrans olgularının tanısında, rutin göz taramaları önemlidir. Larva nadiren gözün ön çemberinin mikroskopik olarak incelenmesi esnasında gözlenilebilir. Hastalığın gözün malign tümörlerinden ve retinablastomdan ayırt edilmesi gerekmektedir. Bunun içinde serumda ve göz sıvılarında ELISA ve IFA ile antikor araştırılmalıdır. Oküler infeksiyonlarda serum ELISA düzeylerinin düşük veya negatif olabileceği, eğer hastadan intraokuler sıvı alınarak test yapılırsa güçlü bir şekilde pozitif çıkabileceği ve tanıya oldukça yardımcı olabileceği bildirilmektedir.

Toxocara larvaları insan vücudunda olgunlaşamazlar, bundan dolayı insan dışkısında bu parazitin yumurtasının aranması anlamlı değildir.

2.1.9. Ayırıcı Tanı

Toxocariasis'in; aynı klinik belirtiler, hatta benzer şekilde invazyon yapan parazitik hastalıklardan ayırıcı tanısının yapılması gerektiği belirtilmektedir. Bunların arasında başlıca *Ascariasis*, *Fascioliasis* ve *Strongyloidiasis*'in sayılabileceği, ayrıca *Ancylostomiasis*, *Filariasis* ve *Schistosomiasis* de

düşünülmesinin gerektiği bildirilmektedir. Kronik eozinofilik lösemi, Hodgkin hastalığı, Familial eozinofili ve ilaçlara bağlı eozinofili gibi yüksek eozinofili görülebilen hastalıklardan da ayırıcı tanısı yapılması önerilmektedir (55).

2.1.10. Tedavi

Henüz toxocariasisde kesin ve kanıtlanmış bir tedavi mümkün değildir. Fakat hastaların çoğu kendiliğinden iyileşebildiğinden destek tedavisi daha ön plandadır. Akciğer ve kalp tutulumu olan kötü seyirli hastalarda kortikosteroidlerin kullanımı önerilmesine rağmen olumlu etkilerine ait herhangi bir bulgu saptanamamıştır. Oküler larva migransta ise henüz spesifik bir tedavi yoktur.

Toxocariasis'de parazitin erişkin hali vücutta gözlenmez. Ortaya çıkan semptomlar larva göçlerine bağlıdır. Bu yüzden uygulanacak tedavi direkt olarak larvaya yönelik olmalıdır. Benzidimazoller ve dietilkarbamazin tedavi için kullanılabilinecek ilaçlardır (4-5-7-19-56).

Mebendazol için önerilen doz üç hafta boyunca günde 20mg/kg'dır. Dietilkarbamazin ile karşılaştırıldığında; klinik bozukluklar, eozinofil sayısı, spesifik anti-toxo IgE seviyelerini düşürdüğü saptanılmıştır (4-5-19-56).

Thiabendazol ile yapılan fare çalışmalarında larva sayısını azalttığı tespit edilmiştir. Larvaların dokulara göç etmelerini önlediği bulunmuştur, fakat etkili olabilmesi için uzun süre kullanılması gerekmektedir. Günde tek doz, oral yolla 50mg/kg, 7-28 gün kullanılabilir. Tedavi steroidlerle desteklenmelidir (22-57).

Dietilkarbamazin de farelerde öldürücülüğü kanıtlanmış bir ilaçtır. İnsanlarda semptomları geriletir, eozinofil ve antikor seviyelerini düşürür. toxocariasis ek olarak *Askariasis* varsa bu ilacın kullanılmaması önerilir. Çünkü erişkin Askariasisin bağırsaklardan göçünün başlamasına ve bağırsakta yırtılmaya neden olabilir (36).

Hem thiabendazole 25 mg/kg günde ikiye bölünerek semptomlar geçinceye veya belirgin yan etkiler gözleninceye kadar verildiğinde, hem de Dietilkarbamazin 2 mg/kg günde üç doza bölünerek 30 gün süre ile verildiğinde etkili olabileceği bildirilmektedir (55). 1000 mg/gün 10-14 gün boyunca mebendazol ve 1500 mg/gün

10-14 gün boyunca thiabendazol kullandığı hastalarında, her iki ilacın da hastaların sağaltımında etkili olduğu saptanmıştır.

Beaver, çocukların dokularında bulunan larval *Toxocara* infeksiyonlarının kanıtlanmış özgün tedavisi olmamasına karşılık, erişkin solucanların oldukça sık kullanılan ve ucuz olan antihelmintikler ile köpek veya kedi bağırsaklarından atılabilmesi nedeniyle şanslı olduğumuzu düşünmektedir (30).

2.1.11. Prognoz

Toxocariasis'de meydana gelen infeksiyon genellikle az sayıda larva ile oluşur ve buna bağlı olarak da prognozun iyi olduğu düşünülmektedir. Semptom ortaya çıkan hastalarda bile hastalığın genellikle iyi huylu olduğu ve sekel bırakmadan iyileştiği belirtilmektedir. Larvanın göz, beyin veya kalp gibi yaşamsal organlara göçünün ciddi komplikasyonlara ve hatta ölümlere neden olabileceği, bazı çocuklarda görme kaybı, epilepsi ve geçici hemiparezi görülebileceği bildirilmiştir(32).

Toxocara'ya karşı insanlarda humoral ve hücrel bağışık yanıt meydana gelmektedir. Yapılan hayvan deneylerinde oral infeksiyondan 4-7 gün sonra antikor yanıtı saptanmıştır. Antikor oluşumunun infeksiyon başlangıcından 3-4 hafta sonra görülebildiği ve infeksiyonun yaklaşık ikinci ayında zirve yaptığı bildirilmiştir. Alınan larva sayısı antikor yanıtının süresini ve miktarını etkilemektedir. Yeterli sayıya ulaşan duyarlılanmış T-lenfositlerinin konakta eozinofilik granülom oluşturduğu, hücrel bağışık yanıtın larvayı öldürememesi nedeniyle larvaların uzun yıllar canlı kalabileceği belirtilmiştir. T ve B lenfositlerin reinfeksiyonu önleyebildiğine ilişkin kanıt bulunamamıştır (58).

2.1.12. Korunma

Yapılmış çalışmalar göstermiştir ki toxocariasisde ve tüm diğer parazitler hastalıklarda en ucuz ve en etkili mücadele parazitler hastalıklardan korunmadır. Toxocariasis'den basit fakat oldukça etkili önlemlerle kolaylıkla korunulabileceği, çevrenin *Toxocara* yumurtaları ile kirlenmesinin ve çocukların bu yumurtaları yutmalarının önlenmesi gerektiği belirtilmektedir. Özellikle yavru kedi ve köpekler olmak üzere tüm kedi ve köpeklerin düzenli bir şekilde *Toxocara* ve diğer parazitler

açısından kontrol ve tedavi edilmesi, başıboş ve sahihsiz hayvanların kontrol altına alınması, picanın önlenmesi önerilmektedir (30-32). Eğer kedi ve köpekler çocuklardan uzak tutulamayacak ise bunların düzenli bir şekilde antiparaziter ilaçlar ile parazitlerden arındırılması gerektiği bildirilmektedir (5).

Yapılan bir araştırmada *Toxocara* spp. yumurtalarının dağılımı; kent, kent çevresi ve köy alanlarında araştırılmış ve toprakta yaşayan solucanların ve toprağın yapısının önemi açığa çıkarılmaya çalışılmıştır. Amaç bu patojenlerin kontrol altında tutulabilmesine yönelik gerekli önlemleri alabilmek için neler yapılması gerektiğini saptamaktır. *Toxocara* spp. yumurtalarının kent içinde köylere oranla daha fazla olduğu ve kent içinde en fazla merkezde bulunduğu saptanılmıştır. Şehirde %24, şehir çevresinde %16 ve köylük alanlarda %21 oranında, bir gölün plajında ise %2 oranında nematod yumurtaları saptanılmıştır. Araştırmacılara göre şehrin merkezinde *Toxocara* spp. yumurtalarının daha fazla olmasının şaşırtıcı bir bulgu değildir, apartmanların ve evlerin birbirine yakın olması evcil hayvanlar için gerekli alanı daraltmakta ve bu nedenle bu alanlarda köpek dışkısının yoğunlaşabileceğini düşünülmektedir. Toprağın güneş etkisiyle kurummasının ve yağmur sularının yumurtaları toprağın alt katmanlarına doğru sürüklemesinin toprağın kendi kendini temizlemesi için temel faktörlerden olduğu, ancak toprak üstünde bırakılan dışkının kısa süre içinde toprak solucanları tarafından toprağın daha alt katmanlarına doğru taşındığı belirtilmektedir. Araştırmacılara göre toprak solucanları sıklıkla zoonotik infeksiyonlar için rezervuar olan birçok küçük memelinin ana yiyecek kaynaklarıdır. Toprağın bileşimi ile pozitif örnekler arasında doğrudan bir ilişki saptanamamış, saksı topraklarının iyi bir infeksiyon kaynağı olmadığı bildirilmiştir(30-59).

2.2. Eozinofiller

1789 yılında Paul Ehrlich tarafından tanımlanan Eozinofil hücreleri, nötrofil ve bazofiller gibi kemik iliğindeki kök hücreden (Stem Cell) köken alan PMNL'lerdir. Lökositlerin yaklaşık %5'ini oluşturan eozinofiller, sitoplazmik granüllerinin eozin gibi asidik boyalara afinitelerine bağlı olarak diğer lökositlerden ayrılırlar. Yine morfolojisini oluşturan bazı major proteinler, kendine ait ürünler ve içinde bulunduğu hastalıklar bakımından bariz biçimde farklıdır (60).

Eozinofillerin üretimi ve dağılımı: Kemik iliğinde oluşan ve olgunlaşan eozinofiller, yaklaşık 3-8 saatlik yarı ömre sahip olarak dolaşacakları kana salınırlar. Eozinofiller; respiratuar, gastrointestinal sistem gibi dış ortamla etkileşimde bulunan mukozal epitelyal dokularda yerleşmek üzere kanı terkederler. GM-CSF (Granülosit makrofaj koloni stimulating faktör) matür eozinofillerin ömrünü uzatır ve apoptozislerini engeller (61).

Hayvan çalışmaları eozinofilopoezin kontrolünün, T-lenfosit bağımlı olduğunu ve eozinofillerin gelişmesi ile olgunlaşmasında sitokinlerin aktif rol oynadığını göstermiştir. GM-CSF ve IL-3 erken eozinofilik myeloid proküsörlerin gelişimini sağlarken, IL-5 eozinofillerin terminal diferansiyasyonunu ve maturasyonunu sağlar. IL-5 T helper lenfositlerin bir alt grubu olan Th-2 hücreleri tarafından salgılanır ve bazı immünolojik ve allerjik reaksiyonlarla beraber, artmış total IgE ve eozinofiliye sebep olurlar. IL-5 ayrıca eozinofiller ve mast hücreleri tarafından da salgılanır (61).

Eozinofiller motil hücrelerdir. Diğer lökositlerde olduğu gibi, eozinofillerin inflamasyonlu bölgeye girişi, vasküler endotel ile hücrel etkileşimleri; spesifik adezyon molekülleri ve kemoatraktan maddelerin kombinasyonu ile yönetilir (60-2).

Eozinofiller morfolojik olarak, 12-17 nm çapında, nötrofilden büyükçe ancak nötrofilden farklı olarak genellikle çift loblu çekirdeği olan hücrelerdir. Eozinofillerin en kayda değer morfolojik özelliği geniş, ayırt edici stoplazmik granüller içermesidir. Bu spesifik granüller içinde bir veya daha fazla kristaloid kor mevcuttur. Bu kristal kor sadece eozinofillerin spesifik granüllerinde bulunur. Hem kor, hem de bu granülleri çevreleyen matriks bir dizi katyonik, pozitif yüklü protein içerir ve eozinle boyanma için temel oluşturur

Eozinofiller dört tip granül ihtiva ederler;

1-Primer granüller: Matür eozinofillerde daha az sayıda olan, eozinofilik promyelositlerde ise karakteristik olarak bulunan, yuvarlak, uniform, elektron dens granüllerdir. Peroksidaz, aril sülfataz, asit fosfataz, lipofosfolipaz ve Charcot Leyden kristallerini içerirler.

2-Sekonder veya spesifik granüller: Elektron-dens bir kor ve elektrolusent matriksten oluşurlar. Dört farklı katyonik protein ihtiva ederler. Bunlar; Major Basic

protein (MBP), Eozinofilik Katyonik protein (ECP), Eozinofil Peroksidaz (EPO), Eozinofil Kaynaklı Nörotoksin (EDN)'dir.

3-Küçük granüller: Asit fosfataz ve Arif sülfataz içeriği dışında az şeyin bilindiği granüllerdir.

4-Lipid damlacıkları: Şekil olarak kaba globüler olan ve önemsizden, geniş sitoplazmik granüllere kadar farklı büyüklükte olan yapılardır (62-63-64).

2.2.1. Eozinofil Granül Proteinleri

Major Basic Protein (MBP): Eozinofil spesifik granülün elektron-dens kristaloïd korunun yaklaşık tamamını oluşturmaktadır. MBP, 117 aminoasitlik tek polipeptid zincirinden meydana gelmektedir. Arjininden zengindir. Yaklaşık 14.000 D'luk moleküler ağırlığa sahiptir ve izoelektrik noktası (pI) 10.9 olarak ölçülmüştür. MBP, hem helmintleri hem de protozoonları içeren değişik parazitleri tahrip eden, bakteri ve memeli hücrelerini öldürebilen, bazofil ve mast hücrelerinden histamin salınımını stimüle edebilen ve plateletlerle, nötrofilleri aktive edebilen potent bir toksindir.

Eozinofil Peroksidaz (EPO): EPO; granüllerin kristaloïd içeren matriksine lokalize olmuştur. Hafif ve ağır zincirden oluşur. Hafif ve ağır EPO subunitlerinin sırasıyla, izoelektrik noktaları 10.8 ve 10.7, molekül ağırlıkları 12.700 ve 53.000 D.'dur. Bir katyonik protein olarak EPO, parazitleri ve memeli hücrelerini öldürebilir.

Eozinofil Kaynaklı Nörotoksin (EDN): Eozinofil granül matriksinde bulunur. Moleküler ağırlığı 17.500 D olup, 134 aminoasitten oluşmuştur. Ribonükleaz süper ailesinin bir üyesidir. Deney hayvanlarının beyinine enjekte edildiğinde nörotoksik reaksiyona neden olduğundan bu şekilde isimlendirilmiştir. EDN tavşanlara enjekte edildiğinde "Gordon fenomeni'ne neden olur. Diğer granüllerin tersine, parazitler ve memeli hücrelerine çok zayıf toksiktir (65).

2.2.2. Eozinofilik Katyonik Protein (ECP)

1974 yılında Olsson ve Venge tarafından orijinal olarak saflaştırılmış olan ECP, eozinofil matriksinde lokalizedir. Depo formu 160 aminoasitlik preprotein

şeklinde olan ECP, 18.000 D'luk molekül ağırlığına sahip 133 aminoasitlik tek polipeptid zincirinden oluşmuştur (30). Her mol proteinde 2,5 mol çinko ihtiva eder. Bazik bir protein olan ECP'in izoelektrik noktası 11'in üzerinde bulunmuştur. ECP'in molekül ağırlığı glikolizasyon derecesine bağlı olarak 22.000 D.'a kadar artabilir.

ECP'in, parsiyel end-terminal aminoasit zinciri EDN ve pankreatik ribonükleazla homoloji gösterir. Aminoasit zinciri, EDN ile %66, pankreatik ribonükleazla %31 identiktir. Böylece ECP, diğer üyelerini EDN, pankreatik ribonükleaz ve anjiogeninin oluşturduğu ribonükleaz geni süper ailesinin bir üyesidir. ECP geni insan 14. Kromozomunda q24-q31 bölgesinde lokalizedir.

ECP'ye karşı geliştirilen monoklonal antikorlar molekülün depolanmış ve sekrete edilmiş formları arasında farklılık göstermiştir. EG1 antikoruna ECP'in hem depolanmış, hem de sekrete edilmiş formlarını tanıırken, EG2 antikoruna sadece sekrete edilmiş ECP'i tanıır. Böylece, EG2 aktive edilmiş eozinofillerden salınan ECP'i göstermekte kullanılmaktadır.

Birçok inflamatuvar olayın gelişmesinde eozinofil granüositlerin ve onun spesifik granül proteini olan ECP'in rolü artan ilgiyle araştırılmıştır. 1977 yılında ECP ölçümü için orijinal Radioimmünassay (RIA)'in bulunması ile eozinofiller ve ECP'in birçok inflamatuvar hastalıkla bağlantısı tanımlanmıştır. Allerjik inflamasyonlarda, özellikle bronşial astımda eozinofillerin majör rolünün olduğu ve akciğer dokusunda görülen bir çok harabiyete sebep olduğu gösterilmiştir (78). Bu da, diğer bir çok inflamasyonla seyreden hastalıklarda eozinofilleri ve onun spesifik granül proteinlerinin araştırılmasını sağlamıştır. ECP'in ölçülmesi, hastalık aktivitesinin gösterilmesinde değerli bir parametredir. Çünkü ECP, serum yanında bronkoalveolar lavaj (BAL), nazal sekresyon, sinovial sıvı gibi vücut sıvılarında ölçülebilir. Böylece sirkulasyonda ve lokal olarak inflamasyon alanında eozinofil aktivasyonunu yansıtmaktadır (66-67). Kan ve doku eozinofil sayısı ile ECP düzeyleri arasında her zaman bağıntı gözlenmemektedir (79-80). Eozinofiller inflame dokularda sitolize uğradıkları için, rutin patolojik incelemelerde eozinofiller gözlenmemekte, ama eozinofillerin varlığını destekleyecek eozinofilik granüler proteinlere rastlanmaktadır (78). Serum ECP düzeyleri de toplam eozinofil sayısı ile bağlantı göstermemekle birlikte, eozinofillerin aktif formunu temsil eden hipodens eozinofil sayısı ile güçlü bağıntı gösterdiği saptanmıştır (81).

2.2.3. Ecp'in Fonksiyonları

1-Helminotoksosite: ECP, parazitler için potent bir toksindir. ECP'nin helmintoksik etki mekanizması; kompleman sistemi aracılığıyla parazit hücre membranında porlar açarak osmotik lizise bağlı olarak hücrenin parçalanmasına bağlanmaktadır (68). ECP'in, *Shistosomoa Mansoni*'nin shistosomulası için toksisitesinin, karşılaştırmalı bir çalışmada MBP'den 8-10 kat daha fazla olduğu tesbit edilmiştir (17,81). Yapılan başka bir çalışmada ise schistosomiasis ve filariasisli hastalarda artmış ECP düzeyleri saptanılmıştır (82).

2-Koagulasyon ve fibrinolizis üzerine etkisi: Bazik bir proteinden beklenildiği üzere ECP heparine bağlanır ve onun antikoagulan aktivitesini nötralize eder. ECP Faktör XII'in aktivitesini artırmak suretiyle doza bağımlı olarak, plazma koagulasyon zamanını kısaltır. Yüksek konsantrasyonlarda ECP, pıhtılaşma zamanını uzatır. Kallikrein aktivitesinde ECP tarafından artırılır. Bu etkileri Faktör XII eksikliğinde görülmez. Faktör XII ECP'in hedef faktörüdür. ECP, ürokinaza bağlı plazminojen aktivasyonunda artışa sebep olarak, fibrinolizisi değiştirir. Zıt olarak, streptokinaza bağlı plazminojen aktivasyonu ECP tarafından bozulur; bu etki streptokinaz ile ECP arasında presipitat oluşmasına bağlıdır. Plazminojen aktivasyonunun artışı ECP ve plazminojen arasında bir kompleks oluşmasıyla bağlantılı değildir.

3- Nörotoksosite: ECP potent bir nörotoksindir. Tavşan ve kobay beynine enjekte edildiklerinde nörotoksik reaksiyon oluştururlar.

4- Lenfosit proliferasyonuna etkisi: ECP, lenfosit proliferasyonunu doza bağımlı olarak inhibe eder.

5-Sitotoksosite: ECP invitro ortamda, memeli hücreleri için potent bir toksindir. Hücre membranındaki non-iyon selektif porları indükler ve kolloid-osmotik proses ile hücreyi hasara uğratar. Sitotoksik aktivitesinin regülasyonunda iki potansiyel mekanizma öne sürülmüştür. Birincisi invivo olarak gösterilememesine rağmen asit natürde olan heparinin ECP'e bağlanarak aktivitesini nötralize etmesidir. İkincisi ve önemlisi ECP'in α 2-makroglobuline bağlanmasıdır. Bağlanma nonkovalent olup, invivo olarak gösterilmiştir ve serumda ECP aktivasyonunun nötralizasyonunda önemli bir mekanizma olarak kabul edilmektedir

6- Fibrosis: Fibroblastlardan glikozaminoglukan salgılanmasını stimüle ederek doku tamir sürecinde rol oynar. Bu şekilde fibrotik süreçte eozinofillerinde etkili olduğu anlaşılmıştır (79-81).

2.2.4. ECP'nin Hastalıkların Tanı ve Takibindeki Yeri ve Önemi

ECP ölçümü ilk olarak 1977 yılında Radioimmünassay (RIA) yöntemiyle yapılmaya başlanılmıştır (30). Bununla birlikte ECP'nin birçok inflamatuvar hastalıkla bağlantısı tanımlanmıştır. ECP düzeyi inflamasyon alanındaki eozinofil aktivasyonunu yansıtmaktadır. Buna bağlı olarakta hastalık aktivitesi hakkında değerli bilgiler verir (66,67).

Aktive olmuş eozinofillerin granüllerlerin içeriği salgılanır. Salgılanan bu granül proteinleri parazitleri ve bazı memeli hücrelerini öldürüp astım ve diğer inflamatuvar hastalıklara neden olabilen doku hasarına neden olurlar. Eozinofil granüllerinden salınan proteinler arasında ECP aktif inflamasyon hastalıklarının izlenmesinde en yararlı olanıdır. Eozinofil aktivasyonu ile birlikte olan çeşitli inflamatuvar hastalıklar arasında; bronşial astım, atopik dermatit, rinit, allerjik göz hastalıkları, allerjik orta kulak efüzyonları, parazitik ve bakteriyel enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar ve kronik yorgunluk sendromu sayılabilir (84).

Bronşial astım da ECP'nin hastalık aktivitesini gösterdiği ispatlanmıştır (67). Hastalığın akut alevlenmelerinde serumdaki düzeyinin artması astım ataklarının takibinde kullanılan önemli bir parametredir (81). ECP düzeyi ve klinik astım semptomları arasında ferdi ve grup çalışmaları arasında yüksek derecede anlamlı ilişkiler bulunmuştur (85,86). Atopik serum örneklerinde, non atopik olanlara göre daha yüksek ECP düzeyleri tespit edilir. Mevsime bağımlı astımlı hastalarda, ECP düzeylerine bakılarak hastalığın yıl içi aktivitesi izlenebilir (87).

Orta dereceli astımlı hastalarda, ECP düzeyleri ve bronşial hiperaktivite arasında anlamlı korelasyon bulunmuştur (88). IgE'ye bağımlı ve IgE'ye bağımlı olmayan atopik hastalıklarda ECP konsantrasyonunun arttığı gösterilmiştir.

Astım bronşiyale'li olgularda serum eozinofil katyonik proteinin klasik tanı ve izleme yöntemleri ile ilişkisini belirlemek amacı ile yapılan başka bir çalışmada da; Serum ECP düzeyinin eozinofil aktivasyonunu yansıtan inflamatuvar hava yolu

obstrüksiyonunun spesifik bir belirteci olduğu ve serum ECP' sinin kronik astımın tedavi ve izlemesinde yönlendirici olabileceği sonucuna varılmıştır (72).

Yapılmış başka bir çalışmada benzer şu sonuç bulunmuştur; Serum ECP düzeyleri, atopik astımlı hastaların hava yollarındaki inflamatuvar değişiklikleri gösteren önemli bir belirteçtir. Serum ECP, atopik astımlı hastalarda, antiinflamatuvar tedavi etkinliğinin saptanmasında, hastalık aktivitesinin izlenmesinde, diğer testlerle birlikte objektif bir parametre olarak kullanılabilir(89).

Her tip oküler allerjide eozinofiller konjonktivada mevcuttur ve mediatörleri konjonktival eksüda ve lakrimal sekresyonda bulunabilir. Eozinofiller oküler allerjik reaksiyonların geç fazında (maksimum pik 6-24 saatte) ve Transtas nodüllerinde bulunurlar. Gözyaşları eozinofilik katyonik protein seviyesinin vernal konjonktivitin şiddetiyle korrelasyon göstermesi oküler allerjide bu hücrelerin primer rolüne işaret eder (90).

Atopik dermatit ve ürtikerde; Serum eozinofilik katyonik protein düzeylerini araştıran çalışma sonuçları göstermiştir ki hasta gruplarında serum ECP düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Atopik dermatit ve ürtikerli hastalarda, serum total IgE düzeyi, periferal eozinofil sayısı ve ECP düzeylerinin, spesifik IgE ve prik test sonuçlarına oranla, klinikle daha korele olduğu ve bu grup hastalıklarda ön planda tercih edilmesi gereken yöntemler olduğu yapılmış çalışmaların sonucudur (75).

Serum ECP konsantrasyonları; atopik dermatit ve ürtiker gibi durumlarda hastalığın ağırlık derecesi hakkında da bilgi verebilir. ECP'nin nöronal toksitesi nedeniyle kaşıntı artar. Bazı alışma gruplarında serum ECP konsantrasyonlarının atopik dermatit aktivitesini gösterdiği tespit edilmiştir (75).

ECP'nin serum düzeyleri viral infeksiyonlarda da artabilir. Akut Larengotrakeo bronşit üst solunum yollarının önemli bir viral infeksiyonudur ve serum ECP ve total IgE düzeyleri bu hastalıklarda da artabilir. Bununla ilgili yapılmış çalışmalardan elde edilen sonuçlar göstermiştir ki, bu parametrelerin infeksiyonun akut fazında yükseldiği ve tedavi ile normale döndüğünü ortaya konulmuş ve bu nedenle hastalık tanı ve takibi amacıyla değerlendirmeye alınabileceği gerektiği vurgulanmıştır (83).

Helmint infeksiyonlarında da helmintleri parçalayarak yok edebilme özelliklerinden dolayıda serum düzeyleri artar ve infeksiyonun tanısında ve tedavi takibinde kullanılabilirler. ECP'in, *Shistosomoa Mansoni*'nin shistosomulası için toksisitesinin, karşılaştırmalı bir çalışmada MBP'den 8-10 kat daha fazla olduğu tesbit edilmiştir. Schistosomiasis ve Filariasisli hastalarda artmış ECP düzeyleri saptanılmıştır (82). Toxocariasis ve Fasciolosis hastalarında yapılmış çalışmalar neticesinde ECP düzeylerinin arttığı ve helmintoksik etkiye katkı sağladığı sonucuna varılmıştır (17,68).

3. MATERYAL METOD

Hastalar: Ocak 2004 ve Mayıs 2007 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarında serum anti-toxocara antikorunu pozitif saptanan hastalar araştırmaya dahil edildi. Farklı polikliniklere değişik şikayetlerle başvuran hastaların serumlarında ES-ELISA yöntemiyle anti-toxocara antikorunu arandı ve pozitiflik saptanan 86 hasta çalışma kapsamına alındı.

Toxocariasis'li hastaların hepsinin hastaneye başvurma nedenleri, yaşları, cinsiyetleri, eritrosit sedimentasyon hızları, eozinofil sayıları, total IgE, CRP, ALT ve AST düzeyleri not alınarak; serum ECP düzeyi için hastalar aç iken örnek alındı.

Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) Yöntemi;

Çalışmalarımızda ELISA testinde kullanılacak tampon ve solüsyonlar tarafımızdan hazırlanmıştır.

a) Gerekli Araç Gereç, Tampon ve Solüsyonlar

Fosfat tampon solüsyonu (PBS):

| | |
|----------------------------------|---------------------------|
| K ₂ HPO ₄ | 2.40 gr |
| NaH ₂ PO ₄ | 0.44 gr |
| NaCl | 17 gr |
| Distile su | 2000 ml'e tamamlanmıştır. |

1 M NaOH veya HCl ile pH 7.2'e ayarlanmıştır.

Sulandırma ve yıkama tampon solüsyonu (PBS-T):

| | |
|--------------|---------|
| PBS (pH 7.2) | 1000 ml |
| Tween 20 | 1 ml |

Bloking solüsyonu:

| | |
|-----------------------------|--------|
| Bovine serum albumine (BSA) | 2 gr |
| PBS | 100 ml |

Substrat solüsyonu (Diethanolamine Buffer):

| | |
|---------------------------------------|---------------------------|
| Diethanolamine | 17 ml. |
| NaN ₃ | 0.2 gr |
| MgCl ₂ (6H ₂ O) | 0.1 gr. |
| Distile su | 1 litreye tamamlanmıştır. |

1 M NaOH ile pH 9.8'e ayarlanmıştır.

Antijen kaplama solüsyonu:

| | |
|-------------------|---------|
| NaCO ₃ | 10.6 gr |
| Distile su | 1000 ml |

1 M NaOH ile pH 9.8'e ayarlanmıştır.

Konjuge:

Alkalen fosfataz işaretli anti-insan IgG konjuge (Sigma, A-3187 Anti-Human IgG (γ -chain specific) Alkaline phosphatase conjugate), 1:10.000 oranında PBS-T ile sulandırılarak kullanılmıştır.

Substrat:

4-Nitrophenyl phosphate disodium tuzu (Merck, 1.06850) substrat solüsyonu ile % 0.001 olacak şekilde, kullanılmadan hemen önce taze olarak hazırlanmıştır.

ELISA Plakları:

Çalışma esnasında farklı protein bağlama kapasitelerine sahip TPP (Katalog no:96396 Lot no:20019073) polistren 96 çukurlu, dibi düz ELISA plakları kullanılmıştır.

ELISA Okuyucusu:

Sonuçların değerlendirilmesinde Organon Teknika ELISA Reader 530 kullanılmıştır.

b) ELISA İçin Antijen Kaplı Plakların Hazırlanması

Toxocara larvalarından hazırlanan antijenler Prof. Dr. Metin Korkmaz (Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı) tarafından sağlanmıştır.

ELISA plakları; 100 µl 0.1 M carbonate buffer ile 95 µg/ml olacak şekilde sulandırılmış ES antijen ile kaplanmış, plaklar 4 °C'de bir gece bekletildikten sonra PBS-T ile 3 kez 5'er dakika yıkanmış ve hemen kullanılmayan plaklar, kullanılıncaya kadar 4 °C'de saklanmıştır. Plakların saklanma süresi 3 haftayı geçmemiştir.

c) Yöntemin Uygulanması

Tüm testler sırasında plakların ilk iki sütunu pozitif ve negatif kontroller için ayrılmıştır. Pozitif ve negatif kontrol serumları tarafımızdan önceden çalışılan serumlardan seçilmiştir. Yöntemin ilk aşamasında, daha önce antijen ile kaplanmış ELISA plaklarındaki çukurlarda olabilecek antijenle temas etmemiş noktaları kaplamak amacıyla, her çukura 100 µl PBS ile hazırlanan %2 lik BSA bloking solüsyonu konmuş ve iki saat oda ısısında bırakılarak bloking işlemi yapılmıştır. Bu süre sonunda çukurlardaki solüsyon dökülerek, her çukura 150 µl PBS-T konularak 5 kez 5'er dakika yıkanmıştır.

Bloking işlemi tamamlandıktan sonra pozitif ve negatif kontrol serumlar, test edilecek serum örnekleri 1:100 oranında PBS-T ile sulandırılmış ve her test örneği için 2 çukur olmak üzere her çukura 100 µl olacak şekilde konulmuştur. Serum sulandırmaları bulunan plak 37 C'de 60 dakika inkübasyon için bekletilmiş ve bu sürenin bitiminde çukurlardaki serum sulandırmaları dökülerek çukurlar PBS-T ile 5 kez 5'er dakika yıkanmıştır.

Yıkama işleminden sonra çukurlara daha önce 1:10.000 sulandırmada çalıştığı belirlenen konjuge, PBS-T ile sulandırmı yapıldıktan sonra her çukura 100 µl olacak şekilde konmuş ve plaklar yine 37°C'de 60 dakika bekletilmiştir. Bu süre sonunda çukurlardaki konjuge dökülüp, plaklar 5 kez PBS ile 5'er dakika yıkanmıştır.

Yıkama işleminden sonra çukurlara, taze olarak hazırlanan substrattan 100 µl ilave edilerek, plaklar 30 dakika karanlıkta, oda ısısında bekletilmiş ve bu süre sonunda çukurlardaki renk değişimi değerlendirilmiştir.

d) Sonuçların Okunması ve Değerlendirilmesi:

ELISA sonuçları Elx 50 Auto Strep Washer (Biotek instruments) spektrofotometre ile 405 nm dalga boyunda okunmuştur. Çalışmaya alınan kişilerin serumlarında antikor düzeyleri, testte optik dansite (OD) değerleri okunarak değerlendirilmiştir. Negatif kontrollerin OD değerlerinin aritmetik ortalaması ve standard deviasyonu (SD) hesaplanarak;

Negatif OD ortalama +2SD = eşik değeri (*cutoff*)

üstündeki değerler pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Total IgE ve CRP düzeyleri nefelometrik olarak (Dade Behring) 'Behring Nephelometer Analyzer 100' cihazlarında çalışıldı. Serum ALT ve AST düzeyleri ABBOTT Aeroset (Japon) otoanalizörde Abbott marka kit kullanarak spektrofotometrik olarak ölçüldü. Eritrosit sedimentasyon hızı ise Therma marka cihaz ile yarım saatlik ölçüm sonucu saptandı. Kan sayımı ise Beckman Coulter LH 700 hematoloji analizörü ile gerçekleştirildi.

Eozinofilik Katyonik Protein Düzeyi Ölçüm Prensi: Serum ECP düzeyinin invitro ölçümü için, hastalardan aç iken 2 ml venöz kan alındı. Kan örnekleri oda ısısında tam olarak 60 dakika pıhtılaşmaya terk edildi. Daha sonra 1200 x g de 10 dakika santrifüj edildi, ayrılan serumlar yeni birer test tüpüne aktarılarak derin dondurucuda -20 °C' de saklandı. Serumlar çalışılmaya başlanmadan önce oda ısısında çözündürüldü.

ECP düzeylerinin ölçümü Unicap 100 cihazı ile çalışıldı. Unicap ECP insan serumunda ECP'nin kantitatif ölçülmesinde kullanılan in vitro test sistemidir. Unicap 100 cihazında ECP ölçümü için florenzimimmunoassay yöntemi kullanılmaktadır. Cap içerisine kovalet bağ ile bağlı olan (selülozik köpüğe emdirilmiş) anti-ECP, hasta serumunda yer alan ECP ile bağlanarak reaksiyona girer. Reaksiyon süreci 30 dakikadır. Sonraki aşama yıkama basamağıdır. Otuz dakikalık ön inkübasyon sürecinden sonra bağlanmayan ECP'ler yıkama yolu ile

uzaklaştırılırlar. Yıkama işlemini takiben konjugat ilavesi ile kompleks oluşturma aşamasına geçilir. İnkübasyon süreci 30 dakikadır. Konjugatın yıkanması basamağında bağlanmamış enzim-ECP yıkanarak uzaklaştırılır. Geride kalan bağlanmış kompleks, reaksiyonu geliştirici ajanların (developing agent) ilavesi ile reaksiyona devam eder. İnkübasyon süreci yaklaşık 10 dakikadır. Stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durdurulduktan sonra selülozik köpükten süzdürülen miktarın floresan miktarının ölçülmesi yöntemi ile kantitatif sonuç verilir. Tüm işlemler bittiğinde (toplam 2.5 saat) sonuçlar otomatik olarak basılır. Seyreltilmemiş bir örnek için ölçüm aralığı 2-200 ug/l'dir. Örnek seyreltilerek bu aralık genişletilebilir. 2-13.3 ug/L arası değerler normal serum düzeyi olarak değerlendirilirken, 13.3 ug/L üzerindeki düzeyler ise yükselmiş olarak kabul edilmektedir.

İstatiksel analiz; verilerin değerlendirilmesinde, SPSS for Windows 15.0 istatistik paket programı kullanıldı. Karşılaştırmalarda Tanımlayıcı istatistikler ve Ki-Kare testleri kullanıldı. $P < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Toxocariasis tanılı 86 hasta yaş, cinsiyet, şikayet, eritrosit sedimentasyon hızları, serum eozinofilik katyonik protein, serum total IgE, Eozinofil, CRP ve Karaciğer enzim düzeyleri açısından değerlendirildi.

Çalışma grubunu oluşturan 86 hastanın 45 (%52,3)'i kadın, 41 (%47,7)'i erkek idi. En büyük hasta 84 yaşında, en küçük hasta ise 16 yaşında idi. Yaş ortalaması 47.7, standart sapma 17,1 olarak saptandı. Kadınların yaş ortalaması 46,2 iken erkeklerin yaş ortalaması 40,4 bulundu. İki grup arasında yaş ortalamaları arasındaki fark anlamlı değildir($p>0.05$).

Tablo 1: Hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları

| CİNSİYET | SAYI | YAŞ ORTALAMASI |
|-----------------|-------------|-----------------------|
| Kadın | 45 | 46,2 |
| Erkek | 41 | 40,4 |
| Toplam | 86 | 47.7 |

Toxocara antikoru pozitif saptanılan 86 hastanın ECP düzeyleri incelendiğinde 66 hastanın (%76,7) ECP değeri yüksek seviyede bulunmuşken, 20 hasta (%23,3) ise normal serum ECP konsantrasyonuna sahiptir. ECP'nin normal serum konsantrasyonu 2-13.3 ug/L'dir. Hastalarımızın serum ECP düzeyleri 2,1 ile 200 ug/L arasında saptanılmıştır. Ortalama ECP düzeyi 36,292 ug/L ve standart sapması 34.3ug/L'dir. ECP değerleri yüksek saptanılan hastaların serum ECP düzeylerinin ortalaması 53,5 ug/L iken normal sınırlarda bulunan kişilerin ortalaması 10,5 olarak saptanılmıştır. Bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Hastaların yaşları ile ECP düzeyleri kıyaslandığı zaman; ECP düzeyi yüksek olanların yaş ortalaması 48.23 bulunurken, ECP düzeyi normal sınırlarda olan hastaların yaş ortalaması 46.1 olarak bulunmuştur. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamamıştır ($p>0.05$).

Serum ECP düzeyleri yüksek saptanılan 66 hastanın 33'ü kadın (%50), 33'ü erkekdi (%50). Yüksek ECP düzeyine sahip bayanların ECP ortalamaları 34.98 ug/L iken erkeklerin ortalaması 32.02 ug/L bulundu. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamadı ($p>0.05$). ECP düzeyi normal sınırlarda olan kişilerin 12'si kadın (%60), 8'i erkekdi (%40). Kadınların ECP ortalamaları 10.42 iken erkeklerin 10.63 olarak hesaplandı. Bu iki grup arasındada istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamadı ($p>0.05$).

Tablo 2: Serum ECP düzeylerinin ortalamaları

| | ECP DÜZEYİ YÜKSEK OLANLAR | | ECP DÜZEYİ NORMAL OLANLAR | |
|-----------------------|--------------------------------------|--------------|--------------------------------------|--------------|
| Hasta sayısı | 66 | | 20 | |
| ECP ortalaması | 53,5 ug/L | | 10,5 ug/L | |
| | Kadın | Erkek | Kadın | Erkek |
| Hasta sayısı | 33 | 33 | 12 | 8 |
| ECP ortalaması | 34.98 ug/L | 32.02 ug/L | 10.42 ug/L | 10.63 ug/L |

Hastaların 14 (%16,3)'ünde herhangi bir şikayet mevcut değildi. Yapılan rutin taramalar esnasında eozinofili, sedimentasyon hızında artış veya total IgE yüksekliği saptanılmış ve nedeni araştırılınca tanı almışlardı. 28 (%32,6) hasta karın ağrısı, 18 (%20,9) hasta alerjik deri bulguları, 8 (%9,3) hasta ateş, 8 (%9,3) hasta nefes darlığı, 6 (%6,9) hasta halsizlik ve 4 (%4,7) hasta GİS şikayetleri nedeniyle hastaneye başvurmuşlardı.

Tablo 3: Hastaların şikayetleri ve ECP pozitiflik oranları

| Şikayet | Hasta sayısı | ECP düzeyi normal olan grup | ECP düzeyi yüksek olan grup |
|--------------------------------|--------------|-----------------------------|-----------------------------|
| (-) | 14 (%16,3) | 4 (%28.6) | 10 (%71.4) |
| Karın ağrısı | 28 (%32.6) | 8 (%28.6) | 20 (%71.4) |
| Allerjik deri bulguları | 18 (%20.9) | 4 (%22.2) | 14 (%77.8) |
| Ateş | 8 (%9.3) | 2 (%25) | 6 (%75) |
| Nefes darlığı | 8 (%9.3) | - | 8 (%100) |
| GİS şikayetleri | 4 (%6.9) | 1 (%25) | 3 (%75) |
| Halsizlik | 6 (%4.7) | 1 (%16,7) | 5 (%83,3) |

Hastalar şikayetlerine göre ECP düzeyleri açısından Mann Whitney U istatistik testi kullanılarak kıyaslandıklarında şu sonuçlar bulundu;

-Nefes darlığı şikayeti olan hastalar; şikayeti olmayan hastalar, karın ağrısı, ateş, halsizlik, GİS şikayetleri ve allerjik deri bulguları olan hastalarla ECP düzeyleri açısından mukayese edildiğinde aralarında ECP düzeyleri açısından anlamlı fark bulundu ($p<0.05$).

-Nefes darlığı haricinde diğer şikayeti olan hastalar ve şikayeti olmayan hastaların ECP düzeyleri kendi aralarında karşılaştırıldığında; aralarında ECP düzeyleri açısından anlamlı fark saptanamamıştır ($p>0.05$).

86 hastanın total IgE düzeyleri incelendiği zaman total IgE düzeyi en düşük saptanılan hastanın değeri 39 IU/ml en yüksek olan hastanın ise 605 IU/ml olarak saptandı. Total IgE'nin normal serum konsantrasyonu 0-120 IU/ml arasında normal 120 IU/ml üzerinde ise yüksek kabul edilir. Hastaların IgE ortalamaları 246.8 standart sapması 124.135 IU/ml idi. 76 (%88.4) hastamızın serum total IgE düzeyi yüksek bulunmuşken 10 (%11.4) hastada ise normal sınırlarda total IgE düzeyi saptanılmıştır.

Tablo 4: ECP ile total IgE düzeyleri arasındaki ilişki

| | | Total IgE | | Toplam |
|--------|--------|-----------|--------|--------|
| | | yüksek | normal | yüksek |
| ECP | normal | 16 | 4 | 20 |
| | yüksek | 60 | 6 | 66 |
| Toplam | | 76 | 10 | 86 |

Serum ECP ve total IgE düzeyleri normal sınırlarda olanlar ve yüksek olanlar olarak gruplandırıldı. Gruplar arası yükseklik oranları ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Serum ECP düzeyi yüksek olan hastalarla IgE düzeyi yüksek olan hastalar arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Hastaların eozinofil sayıları; ölçülen en düşük serum eozinofil düzeyi %0.1 en yüksek olan hastanın ise %70.8 olarak saptandı. Ortalama değer %6.149 standart sapması %8.6 olarak hesaplandı. Eozinofillerin normal serum düzeyi %0-6'dir. %6'nın üzerinde ise yüksek kabul edilir. 36 (%41.9) hastamızın eozinofil yüzdesi yüksek bulunmuşken 50 (%58.1) hastada ise normal sınırlarda eozinofil düzeyi saptanılmıştır.

Tablo 5: ECP ile eozinofil düzeyleri arasındaki ilişki

| | | Eozinofil Düzeyi | | Toplam |
|--------|--------|------------------|--------|--------|
| | | yüksek | normal | yüksek |
| ECP | normal | 8 | 12 | 20 |
| | yüksek | 28 | 38 | 66 |
| Toplam | | 36 | 50 | 86 |

Serum ECP ve eozinofil düzeyleri normal sınırlarda olanlar ve yüksek olanlar olarak gruplandırıldı. Gruplar arası yükseklik oranları ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Serum ECP düzeyi yüksek olan hastalarla eozinofil düzeyi yüksek olan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

Hastaların eritrosit sedimentasyon hızları; ESH en düşük saptanılan hastanın değeri 2 mm/saat en yüksek olan hastanın ise 80 mm/saat olarak saptandı. Ortalama hız 25.4 standart sapma 20.376 olarak hesaplandı. ESH'nin normal aralığı 0-20mm/saat'dir. 20 mm/saatin üzerinde ise yüksek kabul edilir. 40 (%46.5) hastanın

ESH yüksek bulunmuşken 46 (%53.5) hastada ise normal sınırlarda ESH saptanılmıştır.

Tablo 6: ECP ile ESH düzeyleri arasındaki ilişki

| | | ESH | | Toplam |
|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | yüksek | normal | yüksek |
| ECP | normal | 3 | 17 | 20 |
| | yüksek | 37 | 29 | 66 |
| Toplam | | 40 | 46 | 86 |

Serum ECP ve ESH düzeyleri normal sınırlarda olanlar ve yüksek olanlar olarak gruplandırıldı. Gruplar arası yükseklik oranları ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Serum ECP düzeyi yüksek olan hastalarla ESH düzeyi yüksek olan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ($p<0.05$).

Hastaların CRP düzeyleri; ölçülen en düşük serum CRP düzeyi 0.1 en yüksek olan hastanın ise 102 mg/litre olarak saptanıldı. Ortalama değer 19.01 standart sapması 23.55 mg/litre olarak hesaplandı. CRP'nin normal serum düzeyi 0-3 mg/litre'dir. 3 mg/litre'nin üzerinde ise yüksek kabul edilir. 50 (%58.1) hastamızın CRP düzeyleri yüksek bulunmuşken 36 (%41.9) hastada ise normal sınırlarda CRP düzeyi saptanılmıştır.

Tablo 7: ECP ile CRP arasındaki ilişki

| | | CRP | | Total |
|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | yüksek | normal | Yüksek |
| ECP | normal | 6 | 14 | 20 |
| | yüksek | 44 | 22 | 66 |
| Toplam | | 50 | 36 | 86 |

Serum ECP ve CRP düzeyleri normal sınırlarda olanlar ve yüksek olanlar olarak gruplandırıldı. Gruplar arası yükseklik oranları ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Serum ECP düzeyi yüksek olan hastalarla CRP düzeyi yüksek olan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ($p<0.05$).

Hastaların ALT düzeyleri; ölçülen en düşük serum ALT düzeyi 12 en yüksek olan hastanın ise 130 u/L olarak saptanıldı. Ortalama değer 38.58 standart sapması 24.94 olarak hesaplandı. ALT'nin normal serum düzeyi 10-35 u/L'dir. 35 u/L'nin üzerinde ise yüksek kabul edilir. 34 (%39.5) hastamızın ALT düzeyleri

yüksek bulunmuşken 52 (%60.5) hastada ise normal sınırlarda ALT düzeyi saptanılmıştır.

Tablo 8: ECP ile ALT düzeyleri arasındaki ilişki

| | | ALT | | Toplam |
|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | yüksek | normal | yüksek |
| ECP | normal | 8 | 12 | 20 |
| | yüksek | 26 | 40 | 66 |
| Toplam | | 34 | 52 | 86 |

Serum ECP ve ALT düzeyleri normal sınırlarda olanlar ve yüksek olanlar olarak gruplandırıldı. Gruplar arası yükseklik oranları ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Serum ECP düzeyi yüksek olan hastalarla ALT düzeyi yüksek olan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

Hastaların AST düzeyleri; ölçülen en düşük serum AST düzeyi 8 en yüksek olan hastanın ise 146 u/L olarak saptanıldı. Ortalama değer 43.79 standart sapması 29.58 olarak hesaplandı. AST'nin normal serum düzeyi 10-35 u/L'dir. 35 u/L'nin üzerinde ise yüksek kabul edilir. 28 (%32.6) hastamızın AST düzeyleri yüksek bulunmuşken 58 (%67.4) hastada ise normal sınırlarda AST düzeyi saptanılmıştır.

Tablo 9: ECP ile AST düzeyleri arasındaki ilişki

| | | AST | | Toplam |
|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | yüksek | normal | yüksek |
| ECP | normal | 7 | 13 | 20 |
| | yüksek | 21 | 45 | 66 |
| Toplam | | 28 | 58 | 86 |

Serum ECP ve AST düzeyleri normal sınırlarda olanlar ve yüksek olanlar olarak gruplandırıldı. Gruplar arası yükseklik oranları ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Serum ECP düzeyi yüksek olan hastalarla AST düzeyi yüksek olan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA

Toxocariasis'in kedi ve köpeklerin bulunduğu ve *Toxocara* yumurtalarının canlı kalabildiği yerlerde yaygın olabileceği düşünülmüştür (22). Ülkemizde ve tüm dünyada başıboş, aşısız kedi ve köpeklerin sayısının çokluğu düşünülecek olursa *toxocariasis*in oldukça yaygın bir paraziter hastalık olması beklendiğini düşünmek gerekebilir. *Toxocara* yumurtaları ile infekte olmuş toprak ile temas; kedi ve köpeklerle olan direkt temasa göre kontaminasyon riski açısından daha tehlikeli bir durumdur. Bunun nedeni; *Toxocara* yumurtalarının infektivite olgunluğuna ulaşabilmesi için gerekli zamanı toprakta geçirmelerine bağlanmaktadır (63). Ayrıca çocukların oyun parklarında geçirdikleri zamanın erişkinlerden çok daha fazla olduğunu ve pika alışkanlığı göz önünde bulundurursak çocuklar açısından riskin daha fazla olduğu söylenebilir. Park ve bahçeler gibi çocukların oyun alanlarında *Toxocara spp.* yumurtalarının yaygınlığını göstermeye yönelik çalışmalar neticesinde, çocuk parklarında *Toxocara spp.* yumurtalarının Ankara'da %30.6, Konya'da %41.6 ve Van'da %25.9 oranında yaygın olduğu belirlenmiştir (15-69).

Ülkemizde şimdiye kadar yapılan araştırmalar gözden geçirildiğinde, henüz insanlarda *toxocariasis*in araştırılmasına yönelik yeterli çalışmalara rastlanmamış olması nedeniyle hastalığın ülkemizde yaygın olduğu düşünülmekle beraber, infeksiyonun ne sıklıkta olduğu henüz bilinmemektedir. Büyükbaba ve arkadaşları 1996'da, İstanbul'da yaşayan çocuklarda gerçekleştirilen seroepidemiolojik araştırmada, kırsal bölgelerde %47.2, kentsel bölgelerde ise %11.9 seropozitiflik saptamışlardır (39). Türkiye'de farklı bölgelerde yapılan değişik çalışmalar neticesinde *T.canis*'in %4.1-59.4, *T.cati*'nin ise %27.6-47.2 arasında yaygınlık gösterdiği bildirilmiştir (15).

İnsanlarda *T. canis* infeksiyonlarının insidans ve prevalansı henüz tam anlamı ile bilinmemekte, seroepidemiolojik çalışmalar seçilen popülasyona bağlı olarak belirgin farklılıklar göstermektedir. Jones ve arkadaşları 1980'de; Hermann ve arkadaşları 1985'de ve Schantz 1989 yıllarında yaptıkları çalışmalarda Amerika Birleşik Devletlerinde %6.4-54 arasında seropozitiflik görüldüğünü bildirmişlerdir. Van Knapen 1983'de Hollanda'da %7.1, Lokman Hakim ve arkadaşları 1997'de Malezya'da %10.9-35.5, Kenny 1995'de Kenya'da %7.5, Caucanas ve arkadaşları

1988'de Fransa'da %4.8-15, Holland ve arkadaşları tarafından ise İrlanda'da 1995'de 2129 okul çocuğunda yapılan bir araştırmada %31 seropozitiflik saptanmıştır. Schantz geliştirmekte olan tropikal ülkelerdeki çocuklarda %50-80 oranında seropozitiflik görüldüğünü bildirmektedir. (4,11,14,16,28).

Kedi ve köpekler üzerinde yapılmış çalışma sonuçlarına göre hayvanlarda parazit kolonizasyon oranları çok yüksek bulunmuştur. Ülkemizde köpeklerde *T.canis* aranmasına yönelik çalışmaların sonuçları; oranların %14-50 arasında değiştiğini ve *T.canis*'in en yaygın bulunan nematodlardan biri olduğunu göstermektedir (34-39).

Toxocariasis tanısında *Toxocara* spesifik-IgG antikorlarının varlığı enzim-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi kullanılarak araştırılır. Ancak asemptomatik hastalarda ve kronik hastalardada pozitif yanıt vermesi nedeniyle akut hastalığın tanısını kesinleştirememektedir Schantz ve Glickman 1978'de, Özcel ve Altıntaş da 1979'da yaptıkları çalışmalarda VLM'in serolojik tanısında *T.canis* ve *A.lumbricoides* erişkin şekillerinin antijen olarak kullanılması ile yapılan serolojik testlerde çapraz reaksiyonların fazla görüldüğü ve testlerin yeterli duyarlılıkta olmadıklarını yayınlamışlardır (70-71). Eritrosit sedimentasyon hızında artış, total IgE yükselmesi, eozinofili, C-reaktif protein ve karaciğer enzim düzeylerinde yükselme gözlenebilen diğer laboratuvar bulgularıdır. Tanıda kullanılan testlerin çok özgül olmamasından dolayı tanıda ek testlere ihtiyaç vardır.

Biz çalışmamızda; hastaların ECP düzeylerini ölçüp, hastaya ait kişisel bilgiler, şikayetler ve diğer laboratuvar bulguları ile karşılaştırıp tanıdaki yeri ve önemini tespit etmeye çalıştık.

ECP eozinofil granüllerinden salınan ve helmintoksik etkisi olduğu düşünülen bir proteindir. Toxocariasis'de seviyesinin arttığı ve helmintoksik etkiye katkı sağladığı düşünülmektedir (17,18.). Magnaval ve ark. Yaptıkları çalışmada ECP'in geçirilmiş ve geçirilmekte olan toxocariasisi birbirinden ayırmada kullanılabilecek bir protein olduğunu düşünmüşlerdir (17). Yine Magnaval ve ark. 2006 yılında yaptıkları çalışmada öksürük ve rinit şikayeti olanlarda daha yüksek olmak üzere, toxocariasisli hastalarda yükselmiş ECP seviyeleri tespit etmişlerdir (18). 1977 yılında ECP ölçümünün, orijinal Radioimmünassay (RIA) yöntemiyle

yapılmaya başlanması ile eozinofiller ve ECP'in bir çok inflamatuvar hastalıkla bağlantısı tanımlanmıştır. Allerjik inflamasyonlarda, özellikle bronşial astımda eozinofillerin majör rolünün olduğu ve akciğer dokusunda görülen bir çok harabiyete sebep olduğu gösterilmiştir (78). Bu da, diğer bir çok inflamasyonla seyreden hastalıklarda eozinofilleri ve onun spesifik granül proteinlerinin araştırılmasını sağlamıştır. ECP'in ölçülmesi, hastalık aktivitesinin gösterilmesinde değerli bir parametredir.

Çalışma grubumuzdaki serum anti-toxocara antikoru pozitif saptanılan hastalarımızdan %76.7 sinin ECP düzeyleri yüksek saptanılmıştır. Toxocariasis'de artmış ECP düzeyi helmintoksik etkisinden dolayı beklenen bir bulgudur (17).

Bu çalışmada; toxocariasisli hastalardaki ECP değerleri ile kişinin cinsiyeti ve yaşı arasında herhangi bir anlamlı ilişki saptanmadı. Literatürlerde toxocariasisli hastalardaki yüksek ECP düzeylerinin yaş ve cinsiyetle arasında olabilecek bağlantıyı araştıran herhangi bir bilgiye rastlanamamıştır.

Toxocariasis'de hastalığın şiddeti dokulara göç eden larva sayısı ile orantılı olarak değişir. Dokulara yerleşen larva sayısı arttıkça hastalığın şiddeti ve buna bağlı olarakda kişinin şikayetleri artmaktadır. Toxocariasis hastalarında çok farklı semptomlar gözlenebilir. Karın ağrısı, allerjik deri bulguları, halsizlik-yorgunluk, solunum sıkıntısı, GİS sistem şikayetleri, ateş ve epilepsi benzeri tablo en fazla rastlanılan semptomlardır (1-4,7,8,17,18).

Çalışma grubumuzdaki hastalar farklı şikayetlerle hastanemize başvurmuşlardı. Şikayeti olmayan ve rutin kontroller sırasında tanı konulan hastalar da vardı. Şikayeti olan hastalar arasında en fazla hastaneye başvurma nedeni karın ağrısıyken; allerjik deri bulguları, nefes darlığı, ateş, halsizlik ve son olarakta GİS şikayetleri sırasıyla hastaların başvurma nedenleriydi. Ortaya çıkan belirtileri; hem göç eden larvaya, hem de uyarısı sonucu ortaya çıkan eozinofilik granümatöz konak yanıtına bağlamak mümkündür.

Şikayetler ile ECP düzeyleri arasındaki ilişki incelendiğinde; nefes darlığı olan hastaların hepsinin ECP düzeyleri yüksek oranda artmış olarak bulunmuştur. Karın ağrısı, allerjik deri bulguları, ateş, halsizlik ve GİS şikayetleri bulunan hastalardan; ECP düzeyleri yüksek saptanılanların oranı %71-%80 arasında

değişmekteydi. Ayrıca herhangi bir şikayeti olmayan toxocariasisli hastalarında %71'inin ECP düzeyleri artmış saptandı. Nefes darlığı şikayeti olan hastalarda, diğer hastalara göre daha belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı ECP artışı saptanılmıştı. Nefes darlığı hariç, diğer şikayetleri olan hastaların ECP artışları kendi aralarında kıyaslanacak olursa aralarında anlamlı fark saptanamamıştır.

Magnaval ve arkadaşları yaptıkları araştırmada toxocariasisli hastalardan solunum sıkıntısı ve riniti olan hastaların ECP düzeylerinde başka şikayetleri olan hastalara göre daha fazla artış saptamışlardır (18). 1999 yılında İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesinde astımlı hastalarda yapılan bir çalışma sonucunda serum ECP düzeyinin hava yolları inflamasyonun özgün bir belirteci olarak değerlendirilebileceği bildirilmiştir (72). Yine 2003 yılında atopik astımlı hastalarda yapılan başka bir çalışmada ECP'nin bronş epitelinde destrüksiyon ve deskuamasyona neden olarak hava yolu yüzey epitelinde hasara yol açtığı ve sonuçta bronş obstrüksiyonu geliştiği sonucuna ulaşılmıştır (73). Yapılmış benzer çalışmaların sonuçları atopik hastalarda artmış ECP düzeylerinin bronş obstrüksiyonunu tetiklediğini göstermektedir (67-78). Başka bir araştırmanın sonuçlarına göre de; astımlı çocuklardaki kan anti-toxocara antikor titreleri astımsız çocuklara göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur (16)

Yapılmış olan bu çalışmaların sonuçlarına dayanarak; çalışma grubumuzdaki nefes darlığı şikayeti ile yüksek ECP düzeyleri arasındaki pozitif korelasyon için; artmış ECP'nin bronşlarda inflamasyon oluşturup, buna sekonder olarak da bronş obstrüksiyonu sonucu hastalarda nefes darlığına neden olduğu düşünülebilir.

Helminth infeksiyonları ile eozinofili arasında uzun yıllardır bilinen bir ilişki mevcuttur. Toxocariasis'li hastalarda kanda veya dokularda eozinofili meydana gelmektedir. Eozinofil sayısı normal bile olsa toxocariasis tanısından uzaklaşmamak gereklidir. Çeşitli yıllarda yapılan araştırmalarda toxocariasisli hastalardaki eozinofili oranları şöyle bulunmuştur; Jones ve ark. (1980) %47, Huminer ve ark. (1992) %44.4, Bass ve ark. (1987) %56.2 ve Malafiej ve ark. (2001) %9.2'dir (56). Bizim çalışma grubumuzdaki hastalarda da, eozinofili tespit edilen hasta oranı %41,9 olarak belirlenmiş, bu oran diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

Eozinofilisi olan ve olmayan hastalarımızın, ECP düzeyleri arasında anlamlı fark saptanamadı. Eozinofil düzeyi normal olduğu halde ECP düzeyi artan hastalarımız çoğunlukta idi. Yapılmış bazı çalışmalarda da ECP artışı ile eozinofili arasında korelasyon saptanamamıştır (68,79,80). Visseral larva migrans'da etkilenen dokularda multipl eozinofilik apseler ve allerjik tip eozinofilik granülomlar oluşur(42).

Toxocariasis'de meydana gelen eozinofil artışı periferik veya lokal olabilir (68). Dokularda lokal eozinofili olan durumlarda, eozinofiller inflame dokularda sitolize uğradıkları için, rutin patolojik incelemelerde gözlenememekte, ama eozinofillerin varlığını destekleyecek eozinofilik granüler proteinlere rastlanmaktadır (74-78). Çalışma grubumuzda eozinofilisi olmadığı halde yüksek ECP düzeyi bulunan hastaların ECP'lerinin kaynağının; toxocariasisdeki lokal eozinofilik apselerden ve allerjik tip eozinofilik granülomlardan kaynaklandığını söylemek mümkündür.

IgE'nin serum düzeyi; paraziter hastalıklar, atopik hastalıklar ve bazı immün yetmezlik durumlarında artar. Paraziter hastalıklarda yüksek total IgE serum düzeyinin nedeni tam olarak açıklanamamakla birlikte, T helper'ların spesifik antikor oluşumunda rol aldığı bilinmektedir. Parazitlerin içerdikleri ve salgıladıkları birçok potent allerjenin, serum IgE yapımını stimüle ettirdikleri, ancak parazite spesifik IgE değerinin, total IgE'nin %5-10 kadarı olduğu bulunmuştur (77). Daha önceden yapılmış birçok çalışmada toxocariasisli hastaların total IgE düzeylerinin artmış olduğu saptanılmıştır (11,17). Çalışma hastalarımızın %88.4'ünde total IgE düzeyleri yüksek bulunmuştur. Bu hastaların %80'inde, aynı zamanda ECP artışı mevcuttur. ECP ile total IgE artışı arasında pozitif korelasyon saptanılmıştır. Yapılmış benzer çalışmalarda da ECP artışına total IgE artışının eşlik ettiği saptanılmıştır (17-75-76).

Eritrosit sedimentasyon hızı; eritrositlerin çökelme hızıdır. Sedimentasyon hızını etkileyen birçok neden vardır. C-reaktif protein (CRP) sitokinlerin etkisiyle karaciğerde üretilen non-spesifik bir akut faz reaktanıdır. İnsan vücudunda meydana gelen inflamatuvar olaylarda eritrosit sedimentasyon hızları ve CRP düzeyleri artar. Çalışma hastalarımızın, serum ECP düzeylerinde artış ile sedimentasyon hızlarının ve CRP düzeylerinin artması arasında pozitif korelasyon saptadık. Toxocariasis'de

dokulara larva göçü meydana gelir. Dokulara yerleşen larvalar granülom oluşumuna neden olarak inflamasyon sürecini başlatırlar (41-42). Hastalarımızdaki ESH ve CRP artışının nedenini, toxocara ile enfekte dokulardaki inflamasyona bağlamak mümkündür.

Karaciğer enzimleri karaciğer fonksiyonlarının göstergesidir. Karaciğer harabiyeti durumunda karaciğer enzimlerinin düzeyi yükselir. Visseral larva migrans'da oluşan patolojik görünüm larvaların konakta oluşturduğu mekanik zararlarla direkt ilişkilidir. Larvaların en sık yerleştikleri organ karaciğerdir. Larvalar yerleştikleri organda granülom benzeri lezyonlar oluşumuna neden olurlar. Toxocariasis varlığında; larvalar karaciğere göç ederlerse karaciğer hasarına bağlı olarak, fonksiyonlarında bozulma meydana gelebilir. Karaciğerde oluşabilecek lokal eozinofili ve yüksek ECP düzeylerinin de hepatosit hasarına yol açabileceği ve buna bağlı fonksiyonunu bozabileceğine dair görüşler de mevcuttur (41,42,68). Bazı hastalarımızda enzim düzeyleri yükselmişken bazılarında ise herhangi değişiklik saptanamamıştır. Bizim çalışmamızda ECP düzeyi ile karaciğer enzim düzeyleri aynı anda artan hasta sayısı; enzim düzeyi normal olanlara oranla daha fazla olmasına rağmen aralarında anlamlı istatistiksel bir ilişki saptayamadık. Karaciğer fonksiyonları bozulmuş olan hastalarımızın fonksiyon bozukluklarının nedenini, larvaların karaciğere göçüne bağlı olarak oluşan karaciğer hasarına ve lokal eozinofil artışı sonucu ortaya çıkan ECP'nin meydana getirdiği hepatosit hasarına bağlamak mümkündür.

Sonuç olarak; serum ECP düzeyinin toxocariasis hastalarında yüksek oranda arttığı gözlenilmiştir. ECP'nin yüksek oranlarda bulunmasının insan vücudunda hava yolu yüzey epitelinde hasara yol açarak bronş obstrüksiyonu, buna bağlı olarak nefes darlığı ve karaciğerdeki lokal eozinofili sonucu ortaya çıkan ECP'nin yaptığı hepatosit hasarına bağlı olarak karaciğer fonksiyon bozukluğu gibi durumlara neden olabileceği gözönünde bulundurularak; toxocariasis hastalarının tanısında yardımcı tanı kriteri olarak kullanılabilineceğini söylemek mümkündür.

7. ÖZET

Köpek ve kedigillerin parazitleri olan *T. canis* ve *T. cati* larvaları insanlarda toxocariasis hastalığına neden olurlar. Bu parazitler için uygun bir konak olmayan insan, parazitin infektif yumurtalarını ağızdan alarak enfeksiyona yakalanır. Larva başta karaciğer olmak üzere çok çeşitli doku ve organlara yerleşebilir fakat hiçbir zaman olgunlaşamaz. Parazit insanda erişkin şekline ulaşamaması nedeniyle bu hastalığın tanısı dışkıda yumurta aranması ile konulamaz. Kesin tanı ancak doku biopsilerinin incelenmesi ile konulabilmektedir. Ancak zor ve zahmetli bir işlem olduğu için rutinde pek kullanılmaz. Tanıda serumda özgül antikorların varlığı araştırılır. Eritrosit sedimentasyon hızında artış, total IgE yükselmesi, eozinofili, C-reaktif protein ve karaciğer enzim düzeylerinde yükselme tanıda yardımcı diğer laboratuvar bulgularıdır. Toxocariasis tanısı koymada kullanılan serolojik testlerin çok özgül olmaması veya aktif hastalığı geçirilmiş hastalıktan ayırma güçlüğü nedeniyle tanıyı destekleyen ek testlere ihtiyaç vardır. Eozinofilik katyonik protein eozinofillerin granüllerinde bulunan helmintoksik etkili bir proteindir. Bu çalışmada; toxocariasisli hastalardaki eozinofilik katyonik protein düzeyleri ölçülerek; hastaya ait diğer laboratuvar bulguları ve şikayetleri ile mukayese edilip; bu proteinin toxocariasis tanısını desteklemedeki rolü araştırıldı.

Serumunda ES-ELISA yöntemiyle *toxocara* antikorları saptanan 86 hastanın ECP, eozinofil, CRP, Eritrosit sedimentasyon hızları, total IgE, ALT ve AST düzeyleri ölçüldü, ayrıca hastaların şikayetleri, cinsiyetleri ve yaşlarında not edilerek; bu bulgular ECP düzeyleri ile ayrı ayrı karşılaştırıldı.

86 hastanın 66'sında ECP düzeyi yüksek bulundu. Nefes darlığı şikayeti olan hastaların hepsinde ECP düzeyinin yüksek oluşu ECP'nin hava yollarında inflamasyon yapabilme etkisine bağlandı. Nefes darlığı dışında şikayetleri olan hastaların ECP düzeyleri karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark saptanamadı. Total IgE, CRP ve eritrosit sedimentasyon hızları ile ECP düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı. Eozinofil ve karaciğer enzim düzeyleri ile ECP düzeyleri arasında anlamlı korelasyon tespit edilemedi. Bu durum lokal eozinofili ve toxocariasis de oluşabilen eozinofilik granülomlara bağlandı.

Yaptığımız araştırma sonucunda; ECP'nin toxocariasisli hastalarda diğer laboratuvar bulgularına yardımcı tanı kriteri olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşıldı.

Anahtar kelimeler: Toxocariasis, Eozinofilik katyonik protein, ELISA

8. SUMMARY

The larvae of *T. canis* and *T. cati* which are dogs and cats parasites cause a disease named toxocariasis in human. Human being is not a suitable host for those parasites and humans get this infection by taking their infective eggs. The larvae may settle in various tissues and organs, especially in the liver, but they never can become mature. As the parasites cannot turn into mature form in the human body, the diagnosis of this disease cannot be made by investigating parasite eggs in gaita samples. Certain diagnosis can only be made by investigating the tissue biopsy materials. However, this is a difficult and troublesome process thus preventing its routine application. Presence of specific antibodies in serum is examined for diagnosis. Other laboratory findings such as, an increase in the erythrocyte sedimentation rate, rise of total IgE, C-reactive protein, and liver enzyme levels in the serum, eosinophilia are also used to support the diagnosis. As the serological tests used in the diagnosis do not have a high specificity and there is a difficulty to separate the active disease from passed disease, additional tests are necessary to support the diagnosis. Eosinophilic cationic protein is a helminthotoxic protein which is present in the granules of eosinophilic cells. In our study, we investigated the role of this protein in supporting the diagnosis of toxocariasis by measuring the eosinophilic cationic protein levels in sera and by comparing the results with other laboratory findings and complaints of the patients.

86 patients whose sera were detected to contain toxocara antibody by ES-ELISA method were investigated for ECP, eosinophils, CRP, erythrocyte sedimentation rates, IgE, ALT, and AST levels. Moreover, gender, age, and complaints of patients were reported and they were compared with ECP levels.

ECP levels in 66 of 86 patients were found to be increased. All of patients with dyspnea had high levels of ECP in sera, suggesting that ECP may have an inflammatory effect on airways. There was no meaningful difference between ECP levels of the patients who have the complaints without dyspnea. There was a positive correlation between IgE, CRP, erythrocyte sedimentation rates and ECP levels. A meaningful correlation between eosinophilia, liver enzyme levels and ECP

levels could not be detected. This situation related to the eosinophilic granulomas which exist in local eosinophilia or toxocariasis.

In conclusion we can suggest that, ECP can be used as another diagnosis criteria which is auxillary to the other laboratorial signs in patients with toxocariasis.

Keywords; Toxocariasis, Eosinophilic Cationic Protein, ELISA

9. KAYNAKLAR

1. Aydenizöz M. Larva migrans Türkiye Parazitoloji Dergisi; 23(3):317-332 1999
2. Beaver PC, Jung RC, Cupp EW. Clinical parasitology. 9. ed. Lea & Febiger. Philadelphia. 1984 s:128-131
3. Beaver PC. The nature of visseral larva migrans. Journal of parasitology, 55(1) 3-12,1969
4. Glickman TI, Schantz PM. Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis. Epidemiology Rewiew 3:230-250, 1981.
5. Markell KE, David TJ, Wojciech AK. Markell and Voge's Medical parasitology. 8. Edition. USA., s:345-346,1999
6. Saygı G. Temel Tıbbi Parazitoloji. Sivas. 128-129, 1998.
7. Unat EK, Yücel A, Altaş K, Samastı M. Tıp parazitolojisi, 5. baskı. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Vakfı Yayınları No:15 İstanbul,1995.
8. Yaşarol Ş. Türkiye Parazitolojisi. Ege Üniversitesi basımevi, Bornova-İzmir,1974
9. Alonso MJ, Bojanich MVI, Chamorro M, Gorodner JO. Toxocara seroprevalence in children from a subtropical city in Argentina. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 42(4):235-237,2000.
10. Arpino C, Gattinara CG, Piergili D, Curatolo P. Toxocara infection and epilepsy in children:A case-control study. Epilepsia,31(1):33-36,1990
11. Glickman TI, Magnaval JF, Domanski Shofar SF, Lauria SS, Gottstein B, Brochier B.Visseral larva migrans in french adults:A new disease syndrome Am J Epidemiology, 125(6):1019-1034,1987.
12. Güngör Ç,Çiftçi E, Aral Akarsu G. Nedeni bilinmeyen karın ağrısı şikayeti olan çocuklarda Toxocara antikoru prevalansı. Türkiye parazitoloji dergisi, 23(1):24-27,1999.
13. Hill RI, Denham DA, Scholtz CL. Toxocara canis larvae in the brain of a British child. Trans R Soc Trop Med Hyg.,79: 351-354,1985.
14. Jacquier P, Gottstein B,Stingelin Y, Erkert J. Immunodiagnosis of toxocariasis in human: Evaluation of new enzym-linked immunosorbent assay kit. Journal of clinical microbiology., 29 (9): 1831-1835, 1991.
15. Kaplan M, Gökekmerdan A, Kalkan A, Erensoy A, Özden M Elazığ yöresindeki T.canis seroprevalansı. Fırat üniversitesi sağlık bilimleri dergisi.,13(1):51-54, 1999.
16. Lokman Hakim S, Thadasavanth R, Raden Shamilah RH, Yogeswari S.Prevalence of toxocara canis antibody among children with bronsial asthma in Klang hospital, Malaysia. Trans R Soc Trop Med Hyg.,91:528,1997.
17. J-F Magnaval,A. Berry,R.Fabre, B.Morassin. Eosinophilic cationic protein as a possible marker of active human toxocara infection. Allergy 2001 56:1096-1099

18. J-F Magnaval, A. Berry, R.Fabre, B.Morassin. Eosinophil cationic protein, spesific IgE and IgG4 in human toxocariasis. *Journal of helmintology* 2006(80),417-423.
19. Gillespie S H:A Rewiiew Human Toxocariasis. *J App Bacterology*. 1987;63:473-479
20. Unat E K, Yücel A, Atlas K, Samastı M: Unat'ın Tıp Parazitolojisi. İnsanın Ökaryonlu Parazitleri ve Bunlarla Oluşan Hastalıkları, 5. Baskı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Vakfı Yayınları: 15,İstanbul, 1995;285-288.
21. Yorke W, Maplestone PA. *The Nematode Parasites of vertebrates*. Hafner Publ Co., New York. S. 257-260,1962.
22. Beaver P C:Visceral Larva Migrans. *Clinical Parasitology*. 9.ed.Philadelphia 1964.325-333 1977
23. Matsumura K,Kazuta Y,Endo R, Tanaka K:Detection of Circulating Toxocaral Antigens in Dogs by Sandwich Enzyme-Immunnassay. *Immunology*. 1984;51:609-613
24. Dunn AM, 1969. *Veterinary Helminthology*. William Heinemann Medical Books Ltd, London. 60
25. Areal VM, Crandall CA. 1971. Toxocariasis. In *Pathology of protozoal and helminthic diseases* (Ed. RA Marcial-Rojas). RE Krieger Publising Co, NewYork. 808-842
26. Fairbairn D. 1961. The in vitro hatching of *Ascaris lumbricoides* eggs. *Can J Zool*. 39: 153-162
27. Beaver P C. Zoonoses, with particuler reference to parasites of veterinary importance. *Biology of parasites Academic Pres Inc, New York* 215-218. 1966
28. Nicoli RM, Penaud A. 50 Cycles Epidemiologiques Interrelations. *Des Etres Vivants tirage. MEDSI Paris* s:66-68.1983.
29. Nichols RL. 1956. The etiology of visceral larva migrans. I. Diagnostic morphology of infective second-stage *Toxocara* larvae. *J Parasitol*. 42: 349-362
30. Beaver PC, 1977. Visceral larva migrans after 25 years. *Proc Eighteenth seameo-tropedmed seminar, Kuala Lumpur, 2-5 August 1977*. 40-44.
31. Kennedy MW, Maizels RM, Meghji M, Young L, Qureshi F, Smith HV.1987. Species-specific and common epitopes on the secreted and surface antigens of *Toxocara cati* and *Toxocara canis* infective larvae. *Parasite Immunol*. 9: 407-420.
32. Nash TE. 1995. Visceral larva migrans and other unusual helminth infections. *Principles and Practise of Infectious Diseases*. Ed. GL Mandell, JE Bennett, R Dolin. Churchill Livingstone, New York.2553-2557.
33. Nagakura K, Tachibana, Kaneda, Kato Y. 1989. Toxocariasis possibly caused by ingesting raw chicken. *J Infect Dis*. 160 (4): 735-736.
34. Kuman HA, Altıntaş N. 1984. Ege bölgesinde serolojik olarak saptanan toxocariasis olguları. *T Parazitol Derg*. 1-2: 113-119.

35. Herrmann N, Glickman LT, Schantz PM, Weston MG, Domanski LM. 1985. Seroprevalence of zoonotic toxocariasis in the United States: 1971-1973. *Am J Epidemiol.* 122 (5): 890-896.
36. Caucanas JP, Magnaval JF, Pascal JP. 1988. Prevalence of toxocaral disease. *Lancet* 1049.
37. De Savigny DH. 1975. In vitro maintenance of *Toxocara canis* larvae and simple method for the production of *Toxocara* E/S antigen for use in serodiagnostic tests for visceral larva migrans. *J Parasitol.* 61 (4): 781-782.
38. De Savigny DH, Voller A, Woodruff AW. 1979. Toxocariasis: serological diagnosis by enzyme immunoassay. *J Clin Pathol.* 32: 284-288.
39. Büyükbaba Ö, Özkan E, Büğet E. Toxocariasis canis ve çocuklardaki seroprevalansının ELISA ile araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi.*, 10(1): 7-11, 1996
40. Öge S, Öge H. Prevalance of *Toxocara* spp. Eggs in the soil of public parks in Ankara, Turkey. *J.Helminth.*, 73(4): 357-361, 1999.
41. Burren CH. The distribuion of toxocara larvae in the central nervous systm of the mouse. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*, 65(4):450-452,1971.
42. Lambertucci J, Rayes A, Serufo JC, Teixiera DM, Gerspacher-Lara R, Nascimento E, Brasilerio-Filho G, Silva AC. Visceral larva migrans and tropical pyomyelitis:A case report. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 40(6):383-385,1998.
43. Magnaval JF, Galindo V, Glickman LT, Clanet M, Human *Toxocara* infection of the central nervous system and neurolojik disorders:a case-control study. *Parasitology* 115: 537-543, 1997.
44. Schantz P M:Toxocara Larva Migrans Now. *Am. J. Trop. Med.Hyg.*1989 ;41(3) Suppl:21-34.
45. Ataş A D, Özçelik S, Saygı G: Sivas Sokak köpeklerinde görülen Helmint Türleri, Bunların Yayılışı ve Halk Sağlığı Yönünden Önemi: *Türkiye Parazitoloji dergisi.* 1997; 21(3). 305-309.
46. Dinning W J, Gillespie S H, Cooling R J, Maizels R M:Toxocariasis: A Practical Approach to management of ocular Disease. *Eye.* 1988; 2:580-582
47. Gönlügör U. Eozinofil lökositler. Dilek ofset Matbaacılık, Sivas, 2001
48. Gillespie SH, Bidwell D, Voller A, Robertson BD, Maizels RM. 1993. Diagnosis of human toxocariasis by antigen capture enzyme linked immunosorbent assay. *J Clin Pathol.* 46: 551-554.
49. Ayçiçek H,Tanyüksel M. *Toxocara canis* yumurtalarıyla infekte farelerde *T. canis* larval ve erişkin antijenleri kullanılarak toxocariasis ELISA ve IFA teknikleri ile serolojik tanı. 11. ulusal parazitoloji kongresi poster bildirisi. Sivas, 1999.

50. Korkmaz Metin. Visseral larva migrans: ikinci evre toxocara canis larvalarının in vitro Kültürü. Eksretuvar/sekretuvar Antijeninin elde edilmesi ve ELISA Yöntemi ile tanısı. Ege üniv. Tıp. Fak. Uzmanlık tezi. İzmir.1984.
51. El Naga IF. Toxocara canis: determination of the origin of antijenic materials released from infective larvae. J EGYPT Soc Parasito., 30(3):669-78,2000.
52. Yamasaki H, Araki K, Lim PKC, Zamsy N, Mak J W, Taib R, Aoraki T. Development of a highhly spesipic recombinant Toxocara canis second-stage larva excretory-secretory antigen for immunodiagnosis of human toxocariasis. Clin Microbiology., 38(4): 1409-1413, 2000.
53. Glickman L, Schantz P, Dombroske R, Cypess R. 1978. Evaluation of serodiagnostic tests for visceral larva migrans. Am J Trop Med Hyg. 27: 492-498.
54. Magnaval JV, Fabre R, Maurières P, Charlet JP, de Larrard B. 1991. Application of the Western-blotting procedure for the immunodiagnosis of human toxocariasis. Parasitol Res. 77: 697-702.
55. Sobota K, Kotuliakova M, Sobotova O, Krcmery V. 1988. Our experiences in the clinic and treatment of larval toxocarosis. Helminthologia 25: 61-67.
56. Malafiej E, Spiewak E. The signicance of the level of antibodies in the evalution of the effect of treatment of toxocariasis. Wiadomosci Parazytolog., 47(4): 805-810,2001
57. Doğanay A: Ankara köpeklerinde görülen helmint türleri, Bunların yayılışı ve Halk Sağlığı Yönünden Önemi. Ank. Üniv. Vet. Fak. Dergisi 1983; 30(4):550-561
58. Craft JC. 1989. Visceral larva migrans. Infectious Diseases. Ed. PD Hoeprich, MC Jordan. JB Lippincott Company, Philadelphia. 825-829
59. Mizgajska H. 1997. The role of some environmental factors in the contamination of soil with Toxocara spp. and other helminth eggs. Parasitology Int. 46: 67-72
60. Molet S, Qutaybo H. Effects of corticosteroids on asthma pathology. Immunologyand Allergy Clinics of North America 1999; 19 (4): 638-708.
61. Murphy S. Asthma an inflammatory disease. In Hillman BC ed.Pediatric respiratory disease. Philadelphia, WB Saunders 1993: 621-7.
62. Menzies-Gow A, Robinson DS. Eosinophils, eosinophilic cytokines(interleukin-5) and antieosinophilic therapy in asthma. Curr. Opin. Pulm. Med. 2002 Jan; 8 (1): 33-8.
63. Moqbel R, Becker AB. The human eosinophil. In Lee RG, et al(eds). Wintrobe's Clinical Hematology. 10th edit.vol.1. Baltimore 1999; 14:pp.351-61.
64. Weller PF. The immunobiology of eosinophils. N Engl J Med 1991; 324: 1110-8
65. Friedenbergr WR. Disorders of Granulocytes: Qualitative and Quantitative.In Mazza JJ(ed). Manual of Clinical Hematology, second edition, Little, Brown and Company, Boston New York Toronto London, 1995; 7:pp. 163-189.

66. Ackerman SJ, Loegering DA, Venge P, Olsson I, Harley JB, Fauci AS, Gleich GJ J Immunol. 1983 Dec;131(6):2977-82 Distinctive cationic proteins of the human eosinophil granule: major basic protein, eosinophil cationic protein, and eosinophil-derived neurotoxin.
67. Pol Merkur Lekarski. 2007 Feb;22(128):134-9. Analysis of eosinophilic cationic protein levels in infants and children with wheezy bronchitis Gasiorowska J, Czerwionka-Szaflarska M, Gruszka M, Swincow G, Odrowaz-Sypniewska G.
68. Mustafa Demirci, Selçuk Kaya, Emel Sesli Çetin, Buket Cicioğlu Arıdoğan, Metin Korkmaz Eosinophil cationic protein in patients with fascioliasis: Its probable effects on symptoms and signs From the Departments of Microbiology and Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Süleyman Demirel University, Isparta, and Department of Parasitology, Ege University, Faculty of Medicine, Izmir, Turkey
69. Ayaz E, Yaman M, Gül A. Prevalence of *Toxocara* spp. eggs in soil of public parks in Van, Turkey. Indian Vet J 2003; 80:574-576.
70. Schantz PM, Glickman LT. 1978. Current concepts in parasitology. Toxocaral visceral larva migrans. *N Engl J Med.* 298(8): 436-439.
71. Özcel MA, Altıntaş N. 1987. İç organlar larva göçü hastalığının serolojik yöntemlerle araştırılması. T. Parazitoloj Derg. 11: 88-95
72. Ferah Ece, Turhan Ece, Çağla Çuhadaroğlu, Emine akkaya, Baykal Tülek, Hatice Türker İst. Tıp Fak. Mecmuası 62: 2,1999 Astım Bronşiale'lilerde Serum Eozinofilik Katyonik Protein Düzeyinin Klinik ve Fonksiyonel Parametreler ile İlişkisi
73. Dilaver Tafi, Faruk Çiftçi, Ömer Deniz, Ergun Tozkoparan Solunum 2003 Vol:5 Sayı: 2 Sayfa: 41-48 Allerjik Bronş Astımı Tedavisinin İzlenmesinde Serum Eozinofil Katyonik Protein Düzeyinin Değerlendirilmesi Gata Çamlica Göğüs Hastalıkları Hastanesi, Göğüs Hastalıkları Servisi, İstanbul
74. Espana A, Sanz ML, Sola J, Gil P. Wells' syndrome (eosinophilic cellulitis): correlation between clinical activity, eosinophil levels, eosinophil cation protein and interleukin-5. *British Journal of Dermatology* 1999; 140: 127-130.
75. Serpil Şener, Mustafa Şenol Allerji Astım Dergisi Yıl: 2001 / Cilt: 3 / Sayı: 3 Atopik Dermatit Ve Ürtikerde Test Seçimi
76. Aytül Sin, Ender Terzioğlu, Ali Kokuludağ, Filiz Sebik, Tomris Kabakçı Ege Tıp Dergisi 1997;36 :121-125 (3-4) Mevsimsel Allerjik Rinit ve Astımlı Hastalardaki Serum Eozinofil Katyonik Protein(ECP) düzeyleri 1997.
77. Nuran Delialioğlu, Gönül Aslan, Candan Öztürk, Handan Çamdeviren, Gürol Emekdaş *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 29(3): 180-182, 2005 Enterobiosisli Çocuklarda Serum Total IgE Düzeyleri.
78. Weller PF. The immunobiology of eosinophils. *N Eng J Med* 1991; 324:1110-1118
79. Juhlin L, Venge P. Eosinophilic cationic protein (ECP) in skin disorders. *Acta Derm Venerol* 1991; 71:495-501

80. Kapp A. The role of eosinophils in the pathogenesis of atopic dermatitis eosinophil granuler proteins as markers of disease activity. *Allergy* 1993; 48:1-5
81. Miyasato M, Tsuda S, Nakam T et al. Serum levels of eosinophil cationic protein reflect the state of in vitro degranulation of blood hypodence eosinophils in atopic dermatitis. *J Dermatol* 1996; 23:382-388
82. Tischendorf FW, Brattig NW, Burchard GD, Kubica T, Kreuzpaintner G, Lintzel Eosinophils, eosinophil cationic protein and eosinophil-derived neurotoxin in serum and urine of patients with onchocerciasis coinfectd with intestinal nematodes and in urinary schistosomiasis. *Acta Trop* 1999;72:157-173.
83. Çetinkaya F, Çakır M. Serum ECP and total IgE levels in children with acute laryngotracheobronchitis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2005;69:493-6.
84. Wardlaw A J Eosinophils in 1990s: new perspectives on their role in healt and disisease. *Postgrad MED J* 1994; 70(826): 536-52 Rewiew.
85. D'amato G, Liccardi G, Russo M, Saggese M; Measurement of eosinophilic cationic protein to monitor patients with seasonal respiratory allergy induced by Parietaria pollen (treated and untreated with spesific immunoterapy) *Allergy*. 1996; 51(4): 245-50.
86. Vatrella A, Ponticiello A, Parrella R, Romano L, Zofra S; Serum eosinophilic cationic protein as a marker of disisease activity and treatment efficacy in seosanal asthma. *Allergy*. 1996; 51(8): 547-55.
87. Tomassini M, Magrini L, De Petrillo G, Adriani E; Serum levels of eosinophilic cationic protein in allergic disieases and naturel allergen exposure. *J Allergy Clin Immunology*. *Allergy*. 1996; 97(6): 1350-55
88. Roquet A, Hallden G, Ihre E, Hed J; Eosinphil activity markers in peripheral blood have high predictive value for bronchial hyperactivity in patients with suspected mild asthma. *Allergy*. 1996; 51(7): 482-88.
89. Allerjik bronş astımı tedavisinin izlenmesinde serum eozinofil katyonik protein düzeyinin değeri Dilaver TAFİ, Faruk ÇİFTÇİ, Ömer DENİZ, Ergun TOZKOPARAN *Solunum* 2003 Vol: 5 Sayı: 2 Sayfa: 41-48
90. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Allerji - Astım Sempozyumu 6 Mart 1998, İstanbul, s. 67-76 Doç.Dr. OSMAN ARSLAN