

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ENSTİTÜSÜ

283932



HİSTOPLASMOSİSİN
TÜRKİYEDEKİ EPİDEMİYOLOJİSİ
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

TURAN UÇKUN

DOKTORA TEZİ

ANKARA - 1972

UA

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOPLASMOZİSİN
TÜRKİYEDEKİ EPİDEMİYOLOJİSİ
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

TURAN UÇKUN

DOKTORA TEZİ

ANKARA - 1972

İÇİNDEKİLER

	<i>Sayfa</i>
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİ	2
MATERYEL VE METOT	22
BULGULAR	27
Mikolojik Kültür Sonuçları	27
Fare İnokülasyonu	27
Histoplasmin Deri Testi Sonuçları	28
Kompleman Birleşmesi Test Sonuçları	30
Periferik Yayma Sonuçları	31
TARTIŞMA	35
ÖZET	44
KAYNAKLAR	45

T A B L O L A R

<u>Tablo No.</u>	<u>Sayfa</u>
1 - Memleketimizde histoplasmin ve serolojik testler ile mikolojik kültür çalışmaları sonuçları	21
2 - Histoplasmin deri testi uygulananların yaş ve cinslere göre dağılımları	28
3 - Histoplasmin deri testi uygulananların bölgelere göre dağılımları	29
4 - Histoplasmin deri testi uygulananların radyografilerine göre dağılımları	29
5 - Kompleman birleşmesi testi yapılan vak'aların yaş ve cinslere göre dağılımları	30
6 - Kompleman birleşmesi testi yapılan vak'aların bölgelere göre dağılımları	31
7 - Çalışmalarımızın özeti	32
8 - Pozitif vak'alarımızın özeti	33
9 - Histoplasmin-Tüberkülin-Radyografi sonuçları (Palmer ve arkadaşlarınının 10629 öğrenci üzerindeki etüdüleri)	38

Ş E K İ L L E R

<u>Şekil No.</u>	<u>Sayfa</u>
1 - Miçelial fazda tüberküloklamidosporlar	13
2 - Maya fazında tomurcuklanan hücreler	13
3 - Histoplasma capsulatumun hastalık lezyonlarındaki hücre-içi şekilleri	13
4 - Enjeksiyondan sonra farenin dalağında meydana gelen iltihap odağı	27

G İ R İ Ő

1906 yılındanberi tanınan histoplasmosis, önceleri Amerika kıtasına özge ve öldürücü bir hastalık olarak saptanmıştı. Sonraki araştışılar, hastalığın Amerika dışında, diğer birçok ülkelerde de bulunduğunu ve selim seyreden subklinik şekillerinin daha fazla olduğunu meydana çıkarmıştır. Önemli olan sorun, hastalığın akciğer şeklinin klinik ve radyolojik bulgular yönünden akciğer tüberkülozuna benzemesi ve bu iki hastalıkta tedavi şekillerinin farklı olmasıdır. Bu nedenle tüberkülozun yaygın olduğu memleketimizde histoplasmosis yönünden araştışmaların yapılması zorunluluğu bir gerçektir.

Yurdumuzda birçok araştışıcılar, 1945 yılındanberi histoplasmosis yönünden çeşitli araştışmalar yapmışlardır. Bu çalışmaların bir kısmı deri ve serolojik testler, bir kısmı histopatoloji ve bir kısmı da etkenin izolasyonunu sağlama yönünde olmuştur. Fakat yapılan bu araştışmaların yetersizliği, konuya kesinlik sağlamamıştır.

Biz bu araştışılara katkıda bulunmak ve her yeni çalışmanın sonuca daha bir kesinlik kazandıracasına inandığımız için, çeşitli toprak örneklerinden etkenin izolasyonuna çalıştık. Ayrıca yurdumuzun çeşitli bölgelerindeki göğüs hastalıkları hastanelerinde yatan hastalara deri testi uygulayarak, test pozitif ve negatif vak'alardan aldığımız kanla kompleman birleşmesi deneyi ve froti yaptık. Balgamlarından etkenin izolasyonuna ve radyolojik bulgularının histoplasmosis yönünden değerlendirilmesine tüm olanaklarımızla uğraştık.

GENEL BİLGİ

TARİF VE TARİHÇE

"Darling Hastalığı" olarak da isimlendirilen histoplasmosis, sistemik mikozlardan maya-küf (yeast-mold) sınıfına dahil "Histoplasma capsulatum" ile meydana gelen ve lenf nodülleri, karaciğer, dalak, adrenaller, barsak, kemik iliği, özofagus, kalp, deri, mukoza ve semimukozada yerleşerek, çeşitli klinik tablolar gösteren sistemik bir fungus hastalığıdır (1).

Hastalık ilk kez Darling tarafından 1905 yılında Panama bölge kanalının inşaatı esnasında leishmaniasis araştırması yapılırken gözlemlenmiştir. 1906'da da aynı gözlemci ilk gözlemlerindeki vak'alara benzer 3 vak'anın da bir protozoon ile meydana geldiğine inanarak hastalığı tarif ve "HISTOPLASMOSİS" olarak adlandırmıştır(1,3,5). 1913 de Da Rocha Lima, hastalığın lezyonlarında maya (yeast) formlarını görmüş ve Histoplasma capsulatum'un bir fungus olduğunu saptamıştır(1). 1934 de De Monbreun, adî besiyerinde 23°C de miçelial (mold) fazı ve kanlı agarda 37°C de maya (yeast) fazını üreterek etkenin kültürünü yapmayı başarmıştır (1,5). 1940 da Negroni, mikolojik histoplasmosisin ilk gözlemlerini yayınlamıştır. İn-vitro olarak flamantöz kültürden, maya fazın elde edilebileceğini ispat etmiştir. Yine ilk kez flamantöz kültürün ekstratını -ki bu histoplasmin¹ dir- elde edip maymun, tavşan ve farelerde allerji yaptığını göstermiştir. Ayrıca sülfamidlerin histoplasmosisin tedavisinde kullanılabileceğini ileri sürmüş ve bu yolla birçok hayatı kurtarmıştır (1). Emmons, Morlen ve Hill 1949 da Histoplasma capsulatum'u topraktan izole ederek, insan ve hayvanların birçok kaynaklardan enfeksiyonu alabileceklerini göstermişlerdir (1).

ETKENİN ÖZELLİKLERİ

Etken vücutta retikuloendotelial sistemin (RES) makrofaj hücrelerinin protoplasmasında çoğalır (1), RES hücreleri ve monositlerde yerleşir, kanda ise ender rastlanır (6). Vücutta maya fazında, vücut dışındaki kültürlerde ise, oda derecesinde (16⁰-22°C) miçelial ve 37°C de maya fazlarında üremektedir (1,3,4,5).

Etkenin morfoloji, virülans ve biyolojik özellikleri yönünden farklı türleri vardır. Maya fazındaki şekillere göre bunlar:

- Histoplasma capsulatum..... (Amerika tipi, 2-5 μ çapında)
- Histoplasma duboisii..... (Afrika tipi, 5-15 μ çapında)
- Histoplasma farciminosum..... (Afrika tipi, 3-10 μ çapında)
- Histoplasma muris..... (4 μ uzunluk, 1-2 μ genişliğinde)

dir (1,2,3,4).

Histoplasma capsulatum'dan ilerde ayrıntılı bilgiler sunacağımızdan, burada sadece çok virülan olduğunu belirtmekle yetineceğiz.

Histoplasma duboisii kültürünü ilk kez 1945 de Catanei ve Kervran yapmışlardır (10). 1947 de Kervran ve Aretas yeni bir Afrika vak'asından fungusu üretmişlerdir. Öldürücü tipteki bu yayılmış vak'anın lezyonlarındaki ajan 5-15 μ çapında idi. 1947 de Duncan bu izole edilen Afrika tiplerinin değişik bir tip mi, yoksa o tipin değişik bir varyantı mı olup olmadığını inceledi. Belçika Kongosu'nda Dubois, Janssens, Brutsaert ve Vanbreuseghem'in 1952 deki araştırmaları, bu yeni Afrika cinsinin Histoplasma duboisii suşu olduğunu saptadı (10). Bu suşun Histoplasma capsulatum'dan farkı, hücre duvarının kalın, şeklinin oval, büyüklüğünün 13-15 μ çapında olmasıdır (1). De Vries'in 1953 ve Drouhet'in 1957 deki çalışmalarında, aynı sayıda Amerika ve Afrika suşları incelenmiş ve sırayla 1-4 μ ve 6-14 μ çapında farklı elementler görülmüştür. Afrika ve Amerika suşları arasındaki en belirgin fark parazitik fazda görülür. Kronik ve benign seyreden 20 Afrika tipi vak'ada yapılan incelemelerde, deri ve deri altındaki lezyonlarla beraber apseler ve gomların teşekkül ettiği görülmüştür. Anatomo-patolojik yönden kronik folliküler granuloma, epiteloid ve dev hücrelerle beraber, çok miktarda 5-18 μ çapındaki parazitik elementler her zaman bulunmuştur (11). Dubois ve Vanbreuseghem'e göre, Histoplasma duboisii'nin kültür veya lezyon materyeli kobaylara, Histoplasma capsulatum'unki ise hamsterlere inoküle edilmelidir (10). Yaptığı en son çalışmalarda Drought, lezyondaki parazitlerin büyüklüklerinin

çok değişiklikler gösterdiğini görmüştür. Küçük formlar 1-3 μ , orta formlar 5-7 μ ve en büyük formları 10-18 μ dur.

Histoplasma farciminosum tek tırnaklı hayvanlarda kendiliğinden iyileşebilen bulaşıcı epizootik lenfanjite sebep olur (2). İlk kez 1934 de Cifferi ve Dedaelli tarafından rapor edilmiştir (1). At ve eşeklerin lenf bezlerinde nodüller lezyonlar, burun ve yanak mukozasında ülserasyonlar meydana getirir (2). Kaynak Kuzey Afrika ve bilhassa Cezair'dir. Birinci Dünyü Harbi esnasında dünyanın her tarafından birçok vak'alar bildirilmiştir (2). Kültürden atlara inokülasyon yapılarak aşı hazırlanabilmiş, maya ve miçelial fazı üretilebilmiştir (2).

Emmons, köpek ve insanlarda histoplasmosisi tesbit ettiği yerlerdeki sıçan ve farelerde Histoplasma muris'i bulmuş ve fungusun Histoplasma capsulatum'la aynı karakteri gösterdiğini bildirmiştir (12). Shortt 1922-23 yıllarında Hindistan'da kala-azar araştırması yaparken bu fungusu bulmuş ve histopatolojik yünden histoplasmosis olacağını tahmin etmemiştir. Parazite farenin iç organlarında rastlamış, kanda çok nadir olarak tesbit etmiştir. Maya formu oval ve yuvarlak ve boyanmayan bir kapsülle sarılmıştır. İçinde Romanovsky boyasıyla kırmızıya boyanan bir cisim vardır. Dokuda maya tomurcuklanarak çoğalar. Bu çoğalma karaciğer, dalak, kemik iliği ve akciğerlerde tesbit edilmiştir. Bu parazitin henüz kültürü yapılamadığından hakikî yapısı bilinmemektedir. Emmons'a göre bu parazit, Histoplasma capsulatum'un bir varyantıdır (12).

KLİNİK ŞEKİLLER

Histoplasmosisin 5 önemli klinik şekli tarif edilmiştir (1). Aşağıda açıklanan bu şekiller, laboratuvar bulgularıyla da kuvvetlendirilmiştir.

a. Belirtisiz ve Gizli Enfeksiyon:

Histoplasma capsulatum'un sporları solunum yoluyla alındığında herhangi bir belirti görülmez fakat, histoplasmin deri testiyle allerjik cevap meydana gelir. Bu pozitif reaksiyon inhalasyondan 3 hafta sonra görülür. Amerika'da bu

antijene karşı birkaç milyon pozitif reaktör bulunmaktadır. Bu reaktörlerden % 25 inin radyografilerinde pulmoner kalsifikasyon gözlenmiştir. Bu veriler vak'aların birçoğunun belirtisiz veya gizli enfeksiyon şeklinde olduğunu düşündürmektedir. Amerika'nın endemik bölgelerinde yaşayan 10-12 yaş grubunda % 90 pozitif reaktör bulunduğu rapor edilmiştir (1).

b. Akciğerlerin Primer Enfeksiyonu:

Furcolow ve arkadaşları akut pulmoner histoplasmosis'in selim (benign), orta (mutedil) şiddette ve şiddetli olabileceğini bildirmişlerdir.

I. Benign Enfeksiyon:

Belirtiler grip veya influenzadaki gibi boğaz ve baş ağrısı, yerel kırgınlık v.b. şeklinde 1 ilâ 4 gün sürer. Bu esnada ateş de vardır ve histoplasmin reaksiyonu pozitifdir.

II. Mutedil Enfeksiyon:

İnfluenzaya benzer belirtiler benign tipten daha uzun süreli olup, solunum sistemine ait belirtiler; göğüs ağrısı, öksürük ve ateştir. Bu durum 10 ilâ 15 gün devam eder. Radyografide infiltrasyon veya non spesifik hilar lenfadenopati görülür. Bu belirtiler atipik pnömoni veya tüberkülozu da teşhis ettirebilir. Hastalığın akut fazından 3 veya 4 hafta sonra deri ve serolojik testler pozitif sonuç verir. Belirtisiz faz süresince bu testler negatiftir.

III. Şiddetli Enfeksiyon:

Atipik pnömoni belirtilerinin varlığı, haftalarca veya aylarca hastaların bakımını gerektirir. Röntgende heriki akciğerde de muntazam, dağınık küçük odaklar (miliar nodüller) görülür.

Mutedil ve şiddetli enfeksiyonu bazı otörler akut epidemik tip olarak tarif ederler. Bu epidemik şekil Peru, Venezuela ve Mexico'da rapor edilmiştir.

c. Akut, Yayılımlı Histoplasmosis:

Bu formda dalak ve karaciğer büyümesi, ishale birlikte gastrointestinal ve sistemik enfeksiyon belirtileri görülür. Yayılma, parazitin yüksek ateş meydana getirdiği devrede olur.

Radyografide her iki akciğerde de yaygın lezyonlar görülür. Bu klinik şekil genellikle çocuklarda görülür ve ağır seyreder. Kan dolaşımında parazit görülür, otopside tüm organlarda kültür pozitif bulunur ve deri testi genellikle negatiftir.

d. Kronik, Yayılımlı Histoplasmosis:

Ağız ve larenks mukozasındaki lezyonlar, yorgunluk ve kilo kaybı, ilk klinik belirtilerdir. Fiziksel olarak dalak ve karaciğer büyümesi ve periferial adenopati görülür. Röntgen bulguları zayıftır. Larenks lezyonları granüler veya ülserozdur ve lupus, tüberküloz ve epitelioma ile karışır. Deri lezyonu olarak da apseler, ülserler ve infiltrat olmayan şeffaf yaralar görülür.

Parazitin vücuda girişi ağız yoluyla olur ve bu vak'alarda pulmoner lezyonlar çok görülür.

e. Kronik, Pulmoner Histoplasmosis:

40 yaşın üstündekilerde çok görülen ve vak'aların % 33 ünde aktif belirtiler gösteren bu klinik şekil, kronik pulmoner tüberküloza çok benzer. Hastalığın gelişmesi, şiddetlenme ve hafifleme periyodları ile karakterizedir.

Radyografide, her iki akciğerin apikal kısmında kaviteye dönüşen fibröz infiltrasyonlar ve hilusta kalsifiye odaklar görülür. Kalsifiye odaklar re-enfeksiyona sebep olurlar. Furcolow ve arkadaşlarına göre ölüm, parazitin kan yoluyla yayılmasıyla olur. Balgam muayenesinde *H. capsulatum*'la

aynı anda Mycobacterium tuberculosis'in varlığı da görülebilir. Bu hali 1956 da Furcolow ve Brasher, Missouri'deki tüberküloz sanatoryumunda 550 hastadan 19 unda müşahade etmişlerdir. 95 hastada da H. capsulatum için serolojik testler pozitif bulunmuştur(1).

EPİDEMIYOLOJİ

Hernekadar histoplasmosis vak'alarının bir çoğu Amerika ve bilhassa Güney Amerika'dan bildirilmişse de, bu mikotik hastalık dünyanın 30 dan fazla memleketinden bildirilmiştir.

Histoplasmosis'in coğrafik dağılımını anlayabilmek için raporlar aşağıdaki katogoriye göre sınıflandırılmalıdır (1):

- I. Mikroskopik muayene ve kültürlerde izolasyonu yapılarak doğrulanmış yerel klinik vak'alar,
- II. Histoplasma capsulatum'un topraktan izole edilmesi,
- III. Seroloji ve histoplasmin deri reaksiyonlarıyla doğrulanmış klinik vak'alar,
- IV. Histoplasmine karşı görülen deri reaksiyonları.

Tabiatıyla bu 4 değişik görünüm aynı değerde değildir. İlk iki şekil (I ve II) münakaşa kabul etmez şekilde birbirine uymaktadır. Bilhassa epidemik şekil olarak isimlendirilen klinik histoplasmosis vak'alarının kaydedildiği yerlerdeki toprakta, H. capsulatum'un varlığını göstermek mümkün olmaktadır. Bu durum, belirli bir sahadaki histoplasmosis'in endemikliğinin saptanmasını kolaylaştırır. Böyle yerlerdeki klinik vak'aları ve histoplasmine hasasiyeti de önceden tahmin etmek mümkün olmaktadır (1).

Epidemiyolojik çalışmalar kıtalara göre şöyledir:

AMERİKA:

Histoplasmosis, A.B.D.'nin Missouri, Ohio, Illinois, Indiana, Tennessee, Kuzey Karolina, St. Lawrence Vadisi bölgeleri, Kentucky, Arkansas, Louisiana'da endemik olarak bulunmaktadır.

Ayrıca Amerika kıtasındaki Panama, Meksika, Brezilya, Arjantin, Venezuela, Uruguay, Honduras, Kanada, Nicaragua, Küba, Porto Rico, Kolombiya, Fransız Gine'si, Peru, Ekvator, Şili, Oklahoma, Florida, Alabama, Virginia, Jawa, Minnesota, Michigan ve Kaliforniya'dan da sporadik vak'alar rapor edilmiştir (1, 13,14,15,27).

AVRUPA:

İngiltere, İspanya, Hollanda, Portekiz, Avusturya, Almanya ve Romanya'dan etkenin izolasyonu yapılan vak'alar bildirilmiştir (1,5,15,27,41). Ayrıca histoplasmin hassasiyeti üzerinde de heven her ülkede çalışmalar yapılmıştır.

AFRİKA:

Drought, Murray ve Brandt (1) Afrika'dan 24 klinik vak'adan etkenin izolasyonunu yapmışlardır. Edwards ve arkadaşları tarafından 1956 da Sudan'da tüm halka uygulanan deri testleri pek az sayıda pozitif sonuç vermiştir. Ekvator'un güneyinde yaşayanlarda ve Cezayir'de 323 madenci arasında yapılan deri testlerinde % 15 reaktör tesbit edilmiştir. Libya ve Mısır'da bazı reaksiyonların 8 mm. den büyük olduğu bildirilmiştir. De Vriese'nin 1953 de, ve Claessence ve Haven'in 1954 de yaptıkları araştırmalarda, Belçika Kongosu'nda % 10,8 - 17,8 arasında reaktör bulunmuştur. Merveille ve arkadaşları 1954 de Fransız Ekvator Afrika'sında % 3,5, Stott, 1954 de Kenya'da % 8,6, Uganda'da % 6,3 ve Birleşik Güney Afrika'da % 0,7 - 8 arasında reaktör tesbit ettiklerini rapor etmişlerdir (1,5,15,27). Uganda'da 1144 kişiye uygulanan deri testi taramalarında, ülkenin

bazı bölgelerinde reaktör oranı % 10 u bulduğu halde, bazı bölgelerde bu % 0 bulunmuştur. Deri testi pozitif çıkan vak'a adedi 44 dür. Mesleki gruplar üzerinde yapılan analiz, reaksiyon gösteren halkın çoğunlukla kereste fabrikasında çalışanların olduğu gerçeğini ortaya çıkarmıştır (16).

AVUSTURALYA VE ADALAR:

Avusturalya'dan 1948 de 1, 1958 de 3 ve Hawaii'den 1 klinik vak'a bildirilmiştir. Bu vak'alardan alınan materyel, kültürde üretilenmiş fakat araştırmacılar teşhislerini histolojik görünümüne göre saptadıklarını bildirmişlerdir. Vak'alardan 1 inin çiftçi ve enfeksiyonunun deri histoplasmosisi olduğu bildirilmektedir. Filipin Adaları'ndan da 1947 de Mendoza tarafından 3 vak'a bildirilmiştir. Edwards ve Klear'ın 1956 da yaptıkları deri testi taramalarında % 3,2 - 17,5 oranında reaktör bulunduğu bildirilmiştir (1,5,15,27,28).

ASYA:

Jawa'dan 3 histoplasmosis vak'ası bildirilmesine rağmen, diğer Endonezya adalarından hiç vak'a bildirilmemiştir. Li Kian Joe ve arkadaşlarının 1956 da yaptıkları deri testi taramalarında % 1,8 - 12 arasında reaktör bulunduğu rapor edilmiştir. Çin, Hindistan ve Japonya'dan da histoplasmin hassasiyetleri bildirilmiştir (1,15,18,27).

Hastalığın insanlardan başka bazı hayvanlarda da bulunduğu, etkenin izole edilmesiyle anlaşılmıştır. Etkeni köpekten ilk kez De Monbreun izole etmiştir (1). Sonraları Emmons ve diğer araştırmacılar köpek, kedi, sıçan, fare, sansar, tilki, at, eşek, dağ gelinciği, maymun, güvercin, tavuk ve yarasalardan izole etmişlerdir (2,3,6, 12,22,31).

Köpekte etken balgam, tükürük, kusmuk, gaita ve idrarda bulunmaktadır. Bununla beraber enfeksiyonlu hayvanlardan sağlam hayvanlara bulaşma gösterilememiştir. Fakat köpeklerin bu enfeksiyona çok hassas oldukları ve köpekten köpeğe bulaşmanın mümkün olduğu görülmüştür. Hayvandan insana bulaşma tesbit edilememiştir (6).

Histoplasma capsulatum'un toprakta serbest olarak bulunduğu Emmons, Morlen ve Hill tarafından gösterilmiştir (1,5). Etken, mağara, ağaç kovuğu, loş, karanlık ve rutubetli yerlerde, yaprak çürükleri, odun toz ve talaşı, yarasa, güvercin ve tavukların barındığı yerlerdeki gübrelerde, toz ve toprakta bulunmaktadır (6,16,29).

Enfeksiyon daha çok solunum yolu ile, az nisbette de deri yolu ile bulaşmaktadır (1,2,3). A.B.D.'den bugüne değin 15'in üzerinde epidemiyolojik bildirilmiştir. Bu epidemilerde ölüm oranı ortalama % 1,2 dir. Hastalık köylülerin yaşadığı bölgelerde daha sık görülmektedir (1,5,6). Laboratuvar enfeksiyonları da siktir. Laboratuvar personeline etken ile temastan sonra deri testi pozitifleşmektedir (1,5,6). İntrauterin enfeksiyona ait deliller yoktur (1,7).

HASTALIĞIN EPİDEMİYOLOJİSİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER:

Hastalığın başlangıcı ve seyri üzerinde yaşın hiçbir rolü olmayıp, 1 aylık çocukta görüldüğü gibi, 80-90 yaşındaki kimselerde de görülebilir (1,2). 10 yaş ve biraz üstüne kadar hastalık cinsler arasında eşit dağılım gösterirse de, bundan sonraki yaşlarda erkeklerde, kadınlara kıyasla çok daha fazla görülür. Bu oran 7/1 dir (5). Araştırmacılar bu bulguları, erkeklerin enfeksiyon kaynaklarıyla daha çok temasta bulunmasına yormaktadırlar (1,2). Hastalığa yakalananlarda ırkla bir ilişki görülmemiştir. Meslek yönünden laboratuvar elemanlarında sık görüldüğü bildirilmiştir (5).

HİSTOPLASMOZİS'İN LABORATUVAR TEŞHİSİ:

Histoplasmosis'in başlangıcında patolojik bir belirti görülmez. Bu nedenle hastalığın teşhisinde klinik ve radyolojik bulguların yanı sıra başlıca şu laboratuvar teşhis metodları kullanılmaktadır:

- a. Direkt mikroskopik muayene,
- b. Kültür ile izolasyon,
- c. Hayvan deneyi,

d. Histoplasmin deri testi,

e. Serolojik teşhis:

1. Kompleman birleşmesi reaksiyonu,
2. Kollodion ağıltınasyonu,
3. Hemaglütinasyon,
4. Presipitasyon, tüpte ve jel diffüzyon metodu,
5. Lateks ağıltınasyonu,

f. Floresan antikor deneyi "Henüz başarılı bir sonuç alınamamıştır (3,7)".

a. Direkt Mikroskopik Muayene:

Bu maksatla balgam, bronş lavaj ifrazı, mide suyu, cerahat, periferik kan, kemik iliği, serebrospinal likör, idrar, nazo-oral lezyon, lenf guddesi, plevra, dalak ve karaciğere ait ponksiyon materyeli ile, deri lezyonlarına ait kazıntılar, mukozal ülserasyonlar ve biyopsi materyelinin boyalı preparatları yapılır. Direkt metot ile muayene yetersizdir. Wright, Giemsa, Hotchkiss-Mac Manus veya May Grun Wald ile boyanan preparatlarda etkeni, genellikle mononükleer hücreler içinde, bazan serbest ve nadiren de polimorfnükleer hücreler içinde ve maya fazında görme imkanı vardır (1,2,3,5,7).

Biyopsi ve ponksiyon materyeli ile otopsi materyelinin; (diğer bir ifade ile dokulardaki fungusun) tetkiki için en çok Periodic Acid-Schiff (PAS) ve metenammine gümüş nitrat metodları kullanılmaktadır.

b. Kültürde İzolasyon:

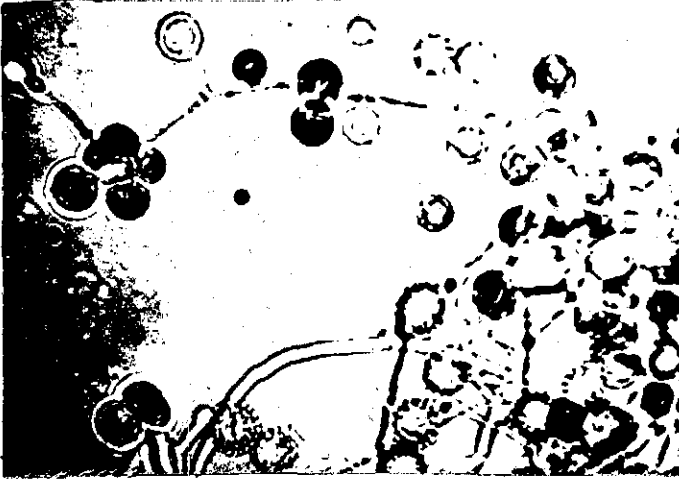
Kültür ile izolasyon kesin teşhis vasıtasıdır. Direkt muayenede adı geçen materyel, aynı zamanda kültür için de kullanılır. Dansitesi fazla ve yarı katı maddelerin kültürleri emülsifiye edildikten sonra yapılır. Keza sulu materyelin santrifüj kalıntısı, biyopsi materyelinin steril serum fizyolojik ile hazırlanan süspanstiyonu, sitratla veya heparinle alınmış kanın 1 haftalık enkübasyondan sonra plasma altında teşekkül eden (buffy-coat) kısmı kültürler için elverişlidir (1.3,4,5).

Etken vücut dışında iki fazda da bulunmasına rağmen, besiyerindeki üreyişi yavaştır. En erken 1, en geç 4 haftada ürer. Bu nedenledir ki bütün kültürlerin negatifliğine en az 1 ay bekletildikten sonra karar verilmelidir (1,3,4).

Miçelial fazda üremeyi sağlamak için Sabouraud'un glikozlu jelozu veya glikozlu patates agarı kullanılır. Bu besiyerlerine bakteri üremesini engellemek gayesiyle 40 ü/cc. Penicilline ve 80 mg/cc. Streptomycine ilave edilir (1,3,4,6). George, Ajello ve Gordon (1951) antibiotiklerden başka, besiyerine, 0,1 - 0,5mg/cc. actidione ilave etmişlerdir (1). Actidione, saprofit fungusların üremesini engellemektedir. Besiyerlerinin pH sı hafifçe aside kaymalı (pH : 6,5) ve oda ısısında bol havayla temas etmelidir. Monbreun, besiyerinin pH sını düzeltmek için asetik asit yerine, hidroklorik asit kullanılması gereğine dikkati çekmiştir. Bu araştırmacı, asetik asitin, fungusun üremesini yavaşlattığını iddea etmektedir.

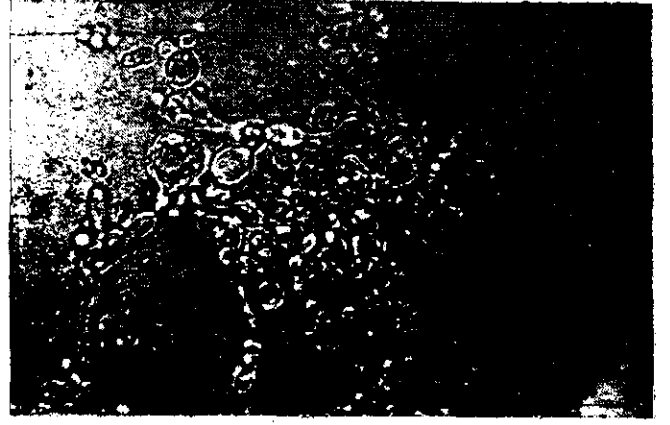
Bu koşullarda; başlangıçta beyaz pamuk tarzında ve aerial miçelyumları olan bir koloni meydana gelir, sonra rengi açık kahverengiden, koyu kahverengine kadar değişir. Bunların mikroskopik tetkiklerinde genç kültürlerde küçük, oval veya yuvarlak sporların sapsız olarak yan dallar üzerinde bulunduğu görülür. Ayrıca bilhassa eski kültürlerde, klamidosporeler ile, Histoplasma capsulatum'a özge ve teşhise yarayan etrafı diken şeklinde çıkıntılarla örtülü "tüberküloklamidospor"lar görülür (1,5) (Şekil: 1).

Etkeni maya fazında elde etmek için proteince zengin tavşan, insan veya tercihan at kanlı, bol rutubetli ve katı bir besiyerinde 37°C de, 3-5 günde bir pasaj yaparak üretmek ve saklamak gerekir (1,2,5). Maya fazındaki etkeni saklamak için besiyerinin ağzı iyice parafinlenmelidir (5). Bu koşullara uyularak 37°C de üretilen etken, kanlı jelozda, Francis'in sistinli, glikozlu kanlı jelozunda ve bilhassa Brain-Hearth Infusion (Beyin-Kalp İnfüzyon) kanlı veya kansız agarında kirli-beyaz renkte ve Staphylococcus aureus kolonilerine benzeyen koloniler halinde ürer. Bunların mikroskopik muayenelerinde oval ve bazıları tomurcuklanan oluşumlar görülür. Bu oluşumlar fungusun doku fazına benzerler (1,5) (Şekil: 2).



Şekil: 1

Miçelial fazda tübercülchlamidosporlar



Şekil: 2

Maya fazında tomurcuklanan hücreler

HISTOPLASMA CAPSULATUM'UN KÜLTÜRDEKİ DEĞİŞİK MORFOLOJİLERİ

c. Hayvan Deneyleri:

Bu gayeyle kullanılan fare, kobay, köpek, maymun arasında, Histoplasma capsulatum'a en duyarlı hayvan farelerdir (1,2,3,26). Kotcher ve arkadaşlarının yaptıkları inokülasyonlardan % 100 pozitif sonuç alınmıştır (1). Fareler intra-peritoneal, intravenöz ve intraserebral yollarla; köpekler beslenme ile veya materyelin inokülasyonu yoluyla enfekte olurlar (5,20). Zerk sonunda hayvanlar hastalanırlar veya 8 - 10 günde ölürlür. Karaciğer ve dalakta retükuloendotelial hücre hiperplazisi ve retükulum içinde intraselluler H. capsulatum şekilleri görülür (1,2,3) (Şekil: 3).



Şekil: 3

HISTOPLASMA CAPSULATUM'UN HASTALIK LEZYONLARINDAKİ HÜCRE-İÇİ ŞEKİLLERİ

Karaciğer hücrelerinin tahribi ile birlikte merkezî lobüler nekroz görülebilir (3). Sinüsler, paket halinde bir araya gelmiş makrofajlar, kuppfer hücreleri ve parazitlerle dolar. Akciğerlerde büyük monositlerden meydana gelmiş kütleli bir infiltrasyon vardır ve alveol kollabe olmuştur. Büyük mononükleer elementlerle işgal edilmiş dokularda polinükleer infiltrasyon olmaz (3).

d. Histoplasmin Deri Testi:

Bilhassa endemik bölgelerde ve selim şekillerin epidemiyolojisini araştırma bakımından değerlidir (1,2). A.B.D. ve diğer ülkelerde yapılan araştırmalara göre, pozitif reaksiyon, hastalığın aktif olmasından ziyade, etken ile daha evvelce temas edildiğini gösterir (1,2,5). Aktif hastalık geçirenlerin ancak yarısında pozitif reaksiyon gözlenebilmiştir. Şu halde; histoplasmin deri testinin pozitifliği, geçirilmiş veya hâlihazırdaki enfeksiyona delâlet eder (1,3,5).

Emmons 1945 de yaptığı çalışmalar sonucunda Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis ve Coccidioides immitis'in ortak antijenleri bulunduğunu ve histoplasmine hassas şahısların daha çok blastomyc'in'e ve daha az da coccidioidin'e çapraz reaksiyon verdiğini saptamıştır. Bu verilerin ışığı altında yaptığı deri testlerinde H. capsulatum ile aşılansmış hayvanların % 50 sinin blastomyc'in'le de pozitif reaksiyon verdiğini görmüştür (1). Gene B. dermatitidis ile aşılansan kobaylarda da histoplasmin reaksiyonu pozitif bulunmuştur (1,5). Standart histoplasmin 1/100 den 0,1 cc. intradermal zerk suretiyle yapılan testin pozitif belirtisi, tüberkülinin pozitif belirtisinin aynıdır. 24-48 saat sonra okunan reaksiyon en az 5 mm. çapta eritem ve endürasyon göstermelidir ki test pozitif kabul edilsin (1,5).

Reaksiyon sonuçlarını Smith ve arkadaşları şu şekilde değerlendirmektedirler:

Kızarıklık 5 mm. den az iseşüpheli reaksiyon,
Eritem ve endürasyon 5-9 mm. çapta ise 1+
" " " 10-14 mm. " " 2+
" " " 15 mm. veya daha büyük ise 3+
" " " ve merkezî nekroz varsa..... 4+

Enfeksiyonun başlangıcından 1 hafta sonra hasta histoplasmine aşırıduyarlı olur ve bu hassasiyet birkaç sene kalır, muhtemelen şahsın hayatı boyunca devam eder (1,5).

Saslow ve diğer bazı araştırmacılara göre; tekrarlanan histoplasmin deri testleri şahısları bu antijene karşı duyarlı hale getirmeyip, kanda K.B. antikorlarının görülmesini teşvik eder (1,5,6). Fakat histoplasmin testinin serolojik testten önce uygulanmasının, test sonucu üzerinde herhangi bir etkisi yoktur (5).

e. Serolojik Teşhis:

1. Kompleman birleşmesi reaksiyonu:

K.B. histoplasmosisin aktivitesini göstermek bakımından deri testinden daha kıymetlidir (1,5,6,7). Furcolow'a göre; hastaların 1/7 sinde enfeksiyonun başlangıcından 2 hafta sonra, 6/7 sinde de 4 hafta sonra kanda K.B. antikorları meydana gelir, zirveye ulaşır. Kandaki antikor titreleri, enfeksiyonun başlangıcından itibaren artar, ve belirtilerin ortadan kalkması ile yavaş yavaş azalır(5). Eğer hastalık kontrol edilmezse ve bağışıklık zayıfsa, hastalık generalize hal alır ve bu durum artan titre ile saptanır. Deney, şahsın immun cevabından ziyade, enfeksiyonun aktivitesini ölçmeye yardım eder (7). Furcolow ve arkadaşlarının çalışmalarına göre; deri testi pozitif olanlardan sadece % 59 u serolojik reaksiyon vermektedir (1). Saslaw ve Campbell, K.B. reaksiyonlarına istinaden, hastalığın erken devrinde, düşük antikor titrasyonunun kötü prognoza, yüksek antikor titrasyonunun ise iyi prognoza delâlet ettiğini ileri sürmektedirler (5). Deneysel olarak vak'aların % 10 unda K.B. antikorları yoktur. Normal şahısların % 8 inde düşük titrasyonda antikor bulunur. Bu nedenledir ki, antikor hassasiyetinin izahını kıymetlendirebilmek için, seri halde testler yapılmalıdır (5).

Kaufman, Hall ve David 1970 de histoplasmosis'in serolojik teşhisinde, standart metod olarak kullanılan makrokompleman ve mikrokompleman birleşmesi testleri üzerinde karşılaştırmalı bir değerlendirme yapmışlardır (34). Şüpheli ve kültür

yolu ile saptanmış 937 hasta serumu ile Histoplasma capsulatum'un maya formu antijenleri ve histoplasmin solubl antijenlerine karşı kullanılan testler göstermiştir ki; mikrotitrasyon aletinde ve makrotitrasyonda okunan sonuçlar ± 1 hata ile % 83 ilâ % 93 arasında birbirinin aynı çıkmıştır. Hassasiyet, tekrarlanabilirlik, ekonomi ve yapılabilme kolaylığı nedeniyle, fungus serolojisinde mikro-seroloji tekniğinin kullanılması kuvvetle tavsiye edilmektedir (34).

K.B. deneyinde her memlekette küçük değişikliklerle Colmer'in makro (5) veya Hallonen'in mikro-seroloji (39) teknikleri kullanılmaktadır. Reaksiyona kontrol olarak pozitif ve negatif serumlar katılmalıdır (5). Pozitif serum olarak, kültür ile histoplasmosis olduğu saptanmış şahıslardan elde edilen yüksek titreli (1/128 -1/512) serum kullanılmalıdır. Aşırıbağışık veya enfekte tavşan serumları tatminkâr değildir.

Conant'a göre K.B. testini pozitif kabul etmek için, kandaki antikor titresinin 1/30 - 1/40 dan yüksek olması gerekmektedir (5).

2. Kollodion Aglütinasyonu:

Histoplasmosis'in erken safhasında meydana gelen antikorları gösteren serolojik bir testtir. Bilhassa pulmoner tipteki enfeksiyonların taşhisi için yapılır. Saslaw ve Charlotte, hem hayvan, hem de insan serumları ile yaptıkları aglütinasyon testinde, histoplasmin ile hassaslaştırılmış kollodion partüküllerini kullanmışlardır (5).

3. Hemaaglütinasyon:

Norden, Histoplasma capsulatum ile enfekte edilmiş tavşan serumlarıyla, histoplasmin ile hassaslaştırılmış koyun kırmızı kan hücreleri kullanarak hemaaglütinasyon deneyi yapmış, fakat bu testin enfekte olmuş insan serumlarıyla yapılamıyacağını bildirmiştir (5).

4. *Presipitasyon, Tüpte ve Jel Diffüzyon Metodu:*

Presipitasyon ilk kez Salvin ve Furcolow tarafından uygulanmıştır (5). Liptniskii de histoplasmosisin teşhisinde bu serolojik testten faydalanabileceğini söylemiş fakat konu ile ilgili açıklama yapılmamıştır (33). Walter, histoplasmosisli hastanın tedavisinden 9 sene sonra dahi presipitasyon bantlarının görülebileceğini bildirmiştir (42).

Jel presipitin metoduyla histoplasmosiste başarılı bir teşhise varmak için çalışmalar henüz yeterli değildir (7,33).

5. *Lateks Aglütinasyonu:*

Gordon, primer akut histoplasmosis (32), Liptniskii de, blastomycosis teşhisinde bu testin kullanılacağını bildirmişlerdir (33).

MEMLEKETİMİZDE HISTOPLASMOSES ÜZERİNE YAPILAN ÇALIŞMALAR:

Memleketimizdeki ilk histoplasmosis vak'asını 1945 de Sağlam bildirmiştir(19). Sağlam'ın vak'asında hepatosplenomegali ve lenfadenopati tesbit edilmiş, karaciğer ve dalak ponksiyonlarında organizme rastlanmamış ve kültürde de izolasyon yapılamamıştır. Hastanın lökositleri sıçanlara zerk edilmiş fakat mikroskopik bir sonuç alınamamıştır. 3 ay sonra ölen hastanın dalağındaki nekrotik odaklardan yapılan frotide belirgin olarak Histoplasma capsulatum'un görüldüğü bildirilmiştir. Otopsi materyelinden yapılan kültür ve hayvan deneyleri negatif bulunmuştur.

İkinci vak'a 1950 de Mutlu tarafından tebliğ edilmiştir (20). Deri testinin yapıp yapılmadığı bilinmeyen vak'anın lenf düğümlerinin anatomo-histolojik incelenimi, mediastanal ve klavikula lenf düğümlerini attake etmiş bir histoplasmosis teşhisini düşündürmüştür.

1949-1951 yıllarında Sökmen Ankara Tıp Fakültesi tüberküloz ve diğer servislerinde yatan toplam 109 hastaya deri testi uygulamış ve kalsifiye akciğer lezyonları gösteren 1 hastada, testi pozitif bulmuştur (21).

Türkiye'de ilk hayvan histoplasmosis vak'ası 1950 de Akün tarafından bir kedinin otopsi müşahedesi ile bildirilmiş ise de, bu vak'a itirazlara yol açmıştır. 1951 de aynı araştırmacı postmortem teşhise varılan ikinci bir kedi histoplasmosis vak'asını yayımlamıştır (22). Pleuritis exudativa teşhisini takiben ölen bu kedinin lenf bezinden hazırlanan süspansiyonlar kobaylara zerk edilmiş ve teşhis mononükleerlar içinde H. capsulatum'un maya formunun görülmesiyle konmuştur.

Ulus'un Ankara'da tüberküline cevap vermeyen bir miktar çocuğa (15), Sağlam'ın İstanbul'da 348 tutuklu ve 154 klinik hastasına uyguladıkları deri testleri negatif sonuçlanmıştır (25).

1952 de Sirmen Ankara'da talebe, çocuk islâh evi sakinleri ve klinik hastalarından toplam 1810 şahsa histoplasmin deri testi uygulanmış ve 80 (% 4,4) reaktör tesbit etmiştir (35). Sirmen vak'alarını 5 grupta tartışmış ve;

- a. Aktif akciğer tüberkülozu teşhisiyle tedavi gören ve tüberkülin ile basil pozitif bulunan 237 hastanın teşkil ettiği ilk grupta 1 (% 0,42),
- b. Ankara Merkez Cezaevi'ndeki 481 tutuklunun bulunduğu ikinci grupta 22 (% 4,57),
- c. 12-16 yaş arasındaki Çocuk İslâh Evi sakinlerinden 132 şahsın bulunduğu üçüncü grupta 17 (% 12,9),
- d. 930 sağlamanın bulunduğu dördüncü grupta 40 (% 4,3) reaktör bulmuş ve
- e. Deri hastalarından 30 şahsın bulunduğu son gruptan negatif sonuç almıştır.

Karasu 1953 de Türkiye'den dışarı çıkmamış olan 1944 kişiye histoplasmin deri testi uygulanmış ve 78 (% 4) reaktör tesbit etmiştir (23).

1954 de Tezok, histoplasmin antijeni elde etmek için uğraşında bulunmuş ve elde ettiği antijenin K.B. testinde 1/8 - 1/16 ve kollodion aglütinasyonunu testinde 1/50 dilüsyonlarda kullanılabileceğini saptamıştır (36).

Kurtar adı geçen antijeni, H. capsulatumla enfekte edilen kobayların derisi içine değişik dilüsyonlarda zerk ederek diğer ticarî antijenlerle mukayesesini yapmış ve bu antijenin 1/50 dilüsyonunun deri testlerinde kullanılabileceğini göstermiştir (36). Kurtar serolojik metodla değişik menşeli 90 adet sığır ve koyunda histoplasmosis araştırması yapmış sonuçları negatif bulmuştur.

Göksel 1956 da yukarda adı geçen antijeni kullanarak 686 insan serumunda Wasserman tekniği ile serolojik testler, % 22 si akciğer enfeksiyonu gösteren 197 vak'ada deri testleri ve % 32 si akciğer enfeksiyonu gösteren 489 vak'adan çeşitli mikolojik kültürler yapmış fakat tüm testlerden negatif sonuç almıştır (37).

1956'da Ekmen, toplam 2814 vak'ada histoplasmosis taraması yapmış ve 155 (% 5,5) reaktör bulmuştur (38). İncelenen vak'alardan:

943 ü daimî sakin ve bunlardan 27 (% 2,86) si pozitif,
1180 i değişik şehirlerde bulunmuş 24 (% 2,03) ü pozitif,
400 ü Yozgat şehri dahilinde 16 (% 3,65) sı pozitif,
225 i Yozgat'ın Bişek Köyü ve çevresinden ... 89 (% 39,5) u pozitif idi.

Araştırma sonunda reaktörlerin Orta Anadolu ve buranın kuzey ve güneyini içine alan geniş bir bant dahilinde toplandığı, Bişek Köyü ve çevresindeki yüksek oranın Amerika Kitası haricinde en yüksek oranlardan biri olduğu bildirilmiştir.

1957-60 da Acuner 407 değişik hasta materyeli ve 810 toprak örneğinden mikolojik kültür yapmış, fakat etkeni izole edememiştir (36). Çeşitli klinik hastalarından 144 üne histoplasmin deri testi uygulanmış, 2 (% 0,69) reaktör tesbit etmiştir (36). 339 değişik vak'adan aldığı kanla yaptığı K.B. testinden 6 (% 1,8) sının pozitif sonuçlandığı rapor edilmiştir (36). Deri ve K.B. testleri pozitif bulunan vak'alardan kültürle izolasyon yapılamamıştır.

1965 de Vidinel Elazığlı bir hastayı radyolojik görünümünün tipik olması nedeniyle histoplasmosis olarak rapor etmiştir (24). Hastanın radyolojik görünümünde hilus ve mediastunumdaki lenf bezlerinde kalsifikasyon görülmüş, deri ve K.B. testleri negatif bulunmuştur.

Riordon ve arkadaşları 1966-68 de sistemik fungusları üretmek amacıyla memleketimizin 6 değişik iklim bölgesinden aldıkları 127 toprak örneğinden kültür yapmışlar fakat bu funguslardan hiçbirini üretememişlerdir (26). (Tablo:1).

TABLO 1
Memleketimizde Histoplasmin ve Serolojik Testler ile Mikolojik Kültür Çalışmaları Sonuçları

YIL	MÜELLİFİN ADI	TETKİKLERİN YAPILDIĞI		HISTOPLASMIN DERİ TESTİ		SEROLOJİK TEST			MİKOLOJİK KÜLTÜR		
		BÖLGE	VAKA GURUBU	VAKA	POZİTİF VAKA % si	VAKA	POZİTİF VAKA % si	VAKA	POZİTİF VAKA % si	VAKA	POZİTİF VAKA % si
	Sağlam	İstanbul	Mahkum şahıslar	348	0						
	Sağlam	İstanbul	Klinik hastaları	154	0						
	Ulus	Ankara	Çocuk	?	0						
1951	Sökmen	Ankara	Muhtelif şahıslar	109	0,9						
1952	Sirmen	Ankara	Muhtelif şahıslar	1810	4,4						
1953	Karasu	Ankara	Muhtelif şahıslar	1944	4						
1955	Kurtar	Ankara	Koyun ve sığır	90	0						
1956	Göksel	Ankara	Muhtelif şahıslar	197	0	686	0	489	-	0	
1956	Ekmen	Ankara	Muhtelif şahıslar	2814	5,5						
1960	Acuner	Ankara	Muhtelif şahıslar	144	0,69	339	1,8	407	-	0	
1960	Acuner	Ankara	Toprak					810	-	0	
1968	Riardon	6 İlim bölgesi	Toprak					127	-	0	

MATERYEL VE METOT

Memleketimizde histoplasmosis araştırması için, evvelce bahsettiğimiz teşhis yollarından mikolojik kùltùr, fare inokùlasyonu, histoplasmin deri testi, kompleman birleşmesi ve periferik yayma metodlarını çalışmalarımıza dahil ettik. Bùylece, metodlardan herhangi birinin vereceği sonucu diğerleri ile de kontrol etmek ve hata kaynaklarını en aza indirmek istedik. Keza vak'a adedinin fazla olması için de çaba gösterdik.

I. Mikolojik Kùltùr:

Bu gaye ile Sabouraud'un glikozlu jelozu ve beyin-kalp-infüzyon (B.H.I) kanlı jelozunu kullandık (1,2). Süspansiyon haline getirdiğimiz toprak örneklerinin 1/10, 1/100, 1/1.000 ve 1/10.000 dilüsyonlarının herbirinden B.H.I. agarına ikişer tane ektik (1). Kùltürlerden birer tanesini oda ısısında (22°C), birer tanesini de (37°C) de enkübasyona bıraktık. Plakları 3-4. günden itibaren sık sık kontrol etmeye başladık. şüpheli kolonileri, tek koloni elde etmek için tekrar pasaj yaptık ve kùltürlerin negatifliğine, basiyerlerini 1 ay beklettikten sonra karar verdik (1,5,26).

B.H.I. agarını aşağıdaki gibi hazırladık:

Kazein	20 gr.
Pepton	10 gr.
Yeast-extract	5 gr.
Glikoz	2 gr.
Sodyum Klorür	5 gr.
Di Sodyum Fosfat	2,5 gr.
Agar	20 gr.

Distile su 1000 cc. pH'yı 7,4 e ayarladık ve 121°C de 15 dakika sterile ettik. Sterilizasyondan sonra 100 cc. steril defibrine at kanı, 50 ü/cc. penicillin ve 100 μ g/cc. streptomycin ilâve ettik (1).

II. Fare İnokülasyonu:

Mikolojik kültür yapmak gayesi ile hazırladığımız toprak örneği süspansiyonlarının tam dilüsyonundan 20-22 günlük beyaz Hacettepe farelerine, intraperitoneal olarak 1 - 1,5 cc. zerkler yaptık (26). Metodda vak'a atlamamak için herbir toprak örneğini 5 fareye inoküle ettik. Bakteri enfeksiyonunu önlemek gayesiyle farelerin içme sularına zerkten 2 gün önce ve 2 gün sonra 5000 ü/cc. penicillin ve 5000 mg/cc. streptomycin ilâve ettik (1,5). Farelerin bazılarında enjeksiyon anında, toprak örneği ile birlikte 12500 ü/cc. penicillin ve 1000 mg./cc. streptomycini intraperitoneal olarak zerk ettik (26). Bu antibiyotiklerin zerkine ilk enjeksiyondan itibaren 4 gün daha devam ettik.

III. Histoplasmin Deri Testi:

Deri testi antijenleri olarak 3 ayrı laboratuvarın antijenlerini kullandık.

1. *Department of Health, Education, and Welfare PHS, National Communicable Disease Center., Atlanta/Georgia 30333. Lot No. H 42/68 (Dr. Ajello'dan),*
2. *Parke, Davis Co. Detroit, Mich. U.S.A.
Bio 498, Lot 987084 K, Stock 4-498-1,*
3. *Albert B. Chandler Medical Center, College of Medicine Department of Immunity Medicine Lexington, Kentucky 40506 HL-76 (Dr. Furcolow'dan).*

Konsantre olan bu antijenleri steril serum fizyolojikle (S.F.) 1/100 sulandırdık ve kullanmadığımız zaman da buzdolabında muhafaza ettik. Zerkleri, 0,1 cc. intradermal olarak yaptık. Sonuçları 48 saat sonra okuduk (1,5). Pozitif bulduğumuz vak'aların kesinliğini saptamak için en az iki firmanın antijenini zerk ettik. Yalancı pozitif reaksiyonun eliminasyonu için de, bu vak'alara 2 inci antijen zerklerinde diğer kola kontrol gayesiyle steril S.F. de zerk ettik. 5 mm. den küçük eritem ve endürasyon gösteren reaksiyonları negatif kabul ettik.

Test uyguladığımız vak'aların adı-soyadı, yaşı, cinsiyeti, mesleği, yaşadığı yer ile mevcut veya ihtimalî teşhisi, tüberküloz şüpheli hastalarda tüberkülin sonuçları, B.C.G. aşılı olup olmadığı ve mevcutsa radyografi raporlarını da kaydettik.

IV. Kompleman Birleşmesi (K.B.) Testi:

Kaufman ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmalara göre; hassasiyet, tekrarlanabilirlik, ekonomi ve yapılabilme kolaylığı nedeniyle, fungus serolojisinde mikro-kompleman birleşmesi tekniğinin kullanılması kuvvetle tavsiye edilmektedir (34). Bu nedenle ayrıntıları Halonen tarafından tarif edilen mikro-kompleman birleşmesi metodunu çalışmalarımıza esas olarak aldık (39). Bu metodun gerektirdiği materyeli aşağıdaki gibi hazırladık (40).

Veronal Tampon Solüsyonu (V.B.S.):

SOLÜSYON: A

NaCl.....	33,80 gr.
Sodyum barbital (sodium 5,5-diethyl barbiturate)...	3.00 gr.
NaHCO ₃	2,52 gr.
Tridistile su.....	1000 cc.

SOLÜSYON: B

Barbital (5,5- diethyl barbituric acid).....	4,60 gr.
MgCl ₂ . 6H ₂ O	1,00 gr.
CaCl ₂ . 2H ₂ O	0,20 gr.
Sıcak tridistile su	500 cc.

Yukardaki miktarlarda eriterek hazırladığımız (B) solüsyonuna, suyun sıcaklığı devam ederken (A) solüsyonunu ilâve ettik. (A) solüsyonunun bulunduğu balonu 3 kez 10 cc. tridistile su ile çalkalayıp, bu çalkantı suyunu tuz solüsyonlarına ilâve ettik. Solüsyonu, sıcaklığı 25°C ye gelecek şekilde soğuttuk, 1 litrelik balona aktarıp hacmini tridistile su ile 2000 cc. ye tamamladık, Seitz filtre-
siyle sterile ettik (5 X konsantre).

Hasta Serumları:

Hasta serumları 56°C lik su banyosunda 30 dakika tutularak inaktive edildi ve deneye kadar (-20°C) lik deep freezde saklandı.

Kompleman (C'):

Kompleman olarak kullandığımız kobay serumlarını her defasında titre ettik ve testte 2 ünite kullandık.

Hemolitik Sistem:

- a) Belirli miktar 1/750 titredeki amboseptöre,
- b) Eşit miktarda % 2 lik koyun eritrositi suspansiyonu ilâve ettik ve deneyde kullanmadan evvel 10 dakika 37°C lik etüvde beklettik.

Antijen:

Testte kullandığımız antijeni "Department of H.E.W., P.H.S., N.C.D.C. Biological Reagents Section Atlanta, GA. 30333 U.S.A." dan temin ettik. (*Antigen Test H. capsulatum Mycelial, For CF Test, Date 11/1/67, Lot 28, Vol 5 ml., 1/5000 Merthiolate*). Bu antijenlerin titresi belli olduğundan ayrıca titre edilmedi.

Kontrol Pozitif Serum:

Yukarda adı geçen müesseseden temin ettiğimiz serumu (*Serum convalescent Human Histoplasma capsulatum. For CF Test, Date 11/27/67, Lot 38. Vol 1 ml., Rehyd d.d H₂O. No Preservative Added.*) pozitif serum olarak kullandık.

Testin Yapılışı:

Testler aşağıdaki sıraya uyularak yapıldı (39):

Hasta Serumlarının Titrasyonu:

Hasta serumlarının titrelerini saptamak için (U) pleytlere:

1. Damlalıkla 0,025 cc..... Veronal tampon solüsyonu kondu,
2. " 0,025 cc..... Hasta serumu kondu, dilue edildi,

3. Damlalıkla 0,025 cc Antijen ilâve edildi,

4. " 0,025 cc Kompleman ilâve edildi,

5. Pleytlerin üstü sellofan teyp ile kapatıldı, karışması için hafifçe çalkalandı ve (+ 4°C) de 18 saat bırakıldı.

6. 18 saat sonra (+ 4°C) den alınan pleytler 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve deney yapılan her göze:

Damlalıkla 0,050 cc Hemolitik sistem ilâve edildi,

7. Pleytlerin üstü sellofan teyp ile tekrar kapatıldı, karışması için hafifçe çalkalandı ve 37°C lik etüvde ilk 30 dakikada, 10 dakikada bir çalkalanarak 60 dakika enkübe edildi.

8. Enkübasyondan sonra mikro-titrasyon aletinde sonuçlar okundu.

Hasta serumlarının titrasyonu esnasında; hasta serumlarının, hemolitik sistemin ve antijenin kontrolleri da yapıldı.

V. Periferik Yayma:

Periferik yayma, histoplasmin pozitif vak'aların ve hastalık şikayet ve belirtileri histoplasmosis'e uyan 138 vak'anın parmak uçlarından alınan kan ile yapıldı.

BULGULAR:

Mikolojik Kùltür Sonuçları:

138'i (% 56) erkek, 110'u (% 44) kadın hastalara ait olmak üzere toplam 248 balgam örneğinden kùltür yapıldı. Bu kùltürlerden *H. capsulatum* üretilemedi.

Araştırma yaptığımız Ankara, İstanbul, İzmir, Adana, Gaziantep, Mersin, Samsun, Giresun, Trabzon ve Rize kentlerindeki hastane bahçeleri, Atatürk Orman Çiftliği, Hıfzıssıhha ve Ankara'nın çeşitli semtlerinden alınan 218 toprak örneğinden yapılan kùltürlerden çeşitli funguslar üretilmiş, fakat *H. capsulatum* tesbit edilememiştir.

Fare İnokulasyonu:

Mikolojik kùltürünü yaptığımız toprak örneklerinden, farelere yaptığımız enjeksiyonlarda, farelerde herhangi bir patolojik bulguya rastlamadık. Yalnız, Atatürk Orman Çiftliği'ndeki tavuk kümesinden aldığımız toprak örneğinden yaptığımız enjeksiyondan sonra otopsi yapılan farelerden birinin dalağında beyaz bir iltihap odağı görüldü (Şekil: 4). Bu iltihap odağından yapılan kùltür ve re-enjeksiyondan bir sonuç alınamadı.



Şekil 4

Enjeksiyondan sonra farenin dalağında meydana gelen iltihap odağı.

Histoplasmin Deri Testi Sonuçları:

932'si (% 63,6) erkek ve 533'ü (% 36,4) kadın olmak üzere toplam 1465 vak'aya uyguladığımız deri testinden 11'ini (% 0,75) pozitif bulduk.

Test uygulanan şahısların yaş ve cinsleri Tablo: 2 de; radyografileri Tablo: 4 de; bölgelere göre dağılımı Tablo: 3 de gösterilmiştir.

*TABLO: 2 Histoplasmin Deri Testi Uygulananların
Yaş ve Cinslere Göre Dağılımları*

Yaş Grupları	KADIN			ERKEK			TOPLAM		
	VAKA	POZİTİF VAKA	POZİTİF % si	VAKA	POZİTİF VAKA	POZİTİF % si	VAKA	POZİTİF VAKA	POZİTİF % si
0-10	35	0	0	68	0	0	103	0	0
11-20	56	2	3,6	95	0	0	151	2	1,33
21-30	115	3	2,6	244	1	0,4	359	4	1,11
31-40	103	1	1	198	0	0	301	1	0,33
41-50	98	1	1	153	2	1,3	251	3	1,2
50 den fazla	126	0	0	174	1	0,6	300	1	0,33
TOPLAM	533	7	1,3	932	4	0,43	1465	11	0,75

TABLO: 3 Histoplasmin Deri Testi Uygulananların
Bölgelere Göre Dağılımı

BÖLGELER	KADIN			ERKEK			GENEL		
	VAKA	POZİTİF VAKA	POZİTİF % si	VAKA	POZİTİF VAKA	POZİTİF % si	VAKA	POZİTİF VAKA	POZİTİF % si
KARADENİZ	232	1	0,43	322	2	0,62	554	3	0,54
İÇ ANADOLU	95	1	1,05	191	0	0	286	1	0,35
MARMARA	76	3	3,94	143	1	0,70	219	4	1,82
AKDENİZ	65	1	1,54	89	0	0	154	1	0,65
GÜNEYDOĞU ANADOLU	38	1	2,63	98	1	1,02	136	2	1,47
DOĞU ANADOLU	23	0	0	62	0	0	85	0	0
EGE	4	0	0	21	0	0	25	0	0
YABANCI	0	0	0	6	0	0	6	0	0
TOPLAM	533	7	1,3	932	4	0,43	1465	11	0,75

TABLO: 4 Histoplasmin Deri Testi Uygulananların
Radyografilerine Göre Dağılımı

RADYOGRAFİ SONUÇLARI	VAKA	POZİTİF VAKA	POZİTİF % si
KAVİTE	312	3	1
İNFLTRASYON	393	3	0,76
KALSİFİKASYON	114	3	2,63
MİLİAR NODÜL	124	0	0
PLÖREZİ	68	1	1,47
KALSİFİKASYON VE KAVİTE	61	0	0
DİĞER	293	1	0,34
NORMAL	37	0	0
BELİRTİLMEMİŞ	63	0	0
TOPLAM	1465	11	0,75

Kompleman Birleşmesi Test Sonuçları:

48'i (% 33,5) kadın, 101'i (% 66,5) erkek olmak üzere toplam 149 vak'anın serumuna test uygulandı. Bu vak'aların birinde 1/32, ikisinde 1/8 ve ikisinde de 1/4 titrede pozitif reaksiyon göziendi.

Test uygulanan vak'aların yaş ve cinsleri Tablo: 5 de, bölgelere göre dağılımları Tablo: 6 da gösterilmiştir.

TABLO: 5 Kompleman Birleşmesi Testi Yapılan Vak'aların Yaş ve Cinslere Göre Dağılımı

Yaş Grupları	KADIN			ERKEK			TOPLAM		
	VAKA	POZİTİF VAKA	POZİTİF % si	VAKA	POZİTİF VAKA	POZİTİF % si	VAKA	POZİTİF VAKA	POZİTİF % si
0-10	0	0	0	2	0	0	2	0	0
11-20	12	0	0	9	0	0	21	0	0
21-30	18	1	5,5	15	1	6,6	33	2	6,06
31-40	9	1	11,1	16	1	6,25	25	2	8
41-50	3	0	0	27	0	0	30	0	0
50 den fazla	6	1	16,6	32	0	0	38	1	2,63
Toplam	48	3	6,25	101	2	1,98	149	5	3,39

TABLO: 6 Kompleman Birleşmesi Testi Yapılan Vak'aların
Bölgelere Göre Dağılımı

Bölgeler	KADIN			ERKEK			TOPLAM		
	VAKA	POZİTİF VAKA	POZİTİF % si	VAKA	POZİTİF VAKA	POZİTİF % si	VAKA	POZİTİF VAKA	POZİTİF % si
KARADENİZ	9	1	11,1	18	1	5,5	27	2	7,4
İÇ ANADOLU	9	1	11,1	33	0	0	42	1	2,3
MARMARA	9	0	0	16	0	0	25	0	0
AKDENİZ	6	1	16,6	12	1	8,3	18	2	11,1
GÜNEYDOĞU ANADOLU	6	0	0	7	0	0	13	0	0
DOĞU ANADOLU	6	0	0	9	0	0	15	0	0
EGE	3	0	0	6	0	0	9	0	0
TOPLAM	48	3	6,25	101	2	1,98	149	5	3,35

Periferik Yayma Sonuçları:

Histoplasmin deri testi pozitif çıkan 11 ve hastalık şikayetleri histoplasmosis'e uyan 127 vak'anın parmak ucundan aldığımız toplam 138 kan ile yaptığımız periferik yaymada, makrofajlar içinde maya hücrelerini aradık. Bulgularımızda pozitif vak'a gözlenmedi.

Çalışmalarımızın özetini Tablo 7 de, pozitif vakalarımızın özetini Tablo 8 de sunuyoruz.

TABLO: 7 Çalışmalarımızın Özeti

ÇALIŞMALARIN ÖZELLİĞİ	VAKA	POZİTİF VAKA	POZİTİF VAKA %'İ
MİKOLojİK KÜLTÜR (Balgamdan)	248	0	0
MİKOLojİK KÜLTÜR (Çesitli Toprak Örneklerinden)	218	0	0
HİSTOPLASMIN DERİ TESTİ	1465	11	0,75
KOMPLEMAN BİLEŞMESİ TESTİ	149	5	3,35
FARE İNOKULASYONU (Çesitli Toprak Örneklerinden)	218	0	0
KAN FROTİSİ	138	0	0

TABLO: 8 Pozitif Vak'alarımızın Özeti

VAKA NO	YAS	CINS	YAŞADIĞI YER	MESLEĞİ	Histoplasmin DERİ TESTİ	KOMPLEMAN BİLEŞMESİ TESTİ	P.P.D. DERİ TESTİ	RADYOLOJİK GÖRÜNÜM
1	41	Erkek	Ordu (Karadeniz)	Bakkal	+	1/32	16 mm.	Kavite
2	61	Erkek	Trabzon (Karadeniz)	Rençber	+	-	?	Pnömotoraks
3	28	Erkek	İstanbul (Marmara)	Hamal	+	-	20 mm.	Kalsifikasyon
4	41	Erkek	Adıyaman (Güneydoğu)	Çiftçi	+	-	?	Kavite
5	46	Kadın	Konya (İç Anadolu)	Ev kadını	+	-	15 mm.	İnfiltrasyon ve kavite
6	31	Kadın	Adana (Akdeniz)	Ev kadını	+	1/8	?	İnfiltrasyon ve bronsektazi
7	26	Kadın	İstanbul (Marmara)	Ev kadını	+	1/8	-	Miliyar nodül ve Pnömotoraks
8	24	Kadın	Malatya (Doğu Anadolu)	Ev kadını	+	-	?	Plörezi
9	13	Erkek	İstanbul (Marmara)	Öğrenci	+	-	12 mm.	Kavite
10	18	Kadın	Trabzon (Karadeniz)	Ev kadını	+	-	?	Kalsifikasyon
11	27	Kadın	İstanbul (Marmara)	Ev kadını	+	-	8 mm.	Kalsifikasyon
12	59	Kadın	Zonguldak (Karadeniz)	Ev kadını	-	1/4	?	Linear dallanma
13	27	Erkek	Adana (Akdeniz)	Memur	-	1/4	?	Aort anevrizması

Çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalar, memleketimizde histoplasmin hassasiyetinin % 4,2 olduğunu göstermiştir (Tablo: 1). Sökmen bu oranı % 0,9; Acuner % 0,69 olarak saptamıştır. Bizim % 0,75 lik sonucumuz da bu son iki araştırmacının sonuçlarına benzer çıkmıştır.

Kompleman birleşmesi deneyi ile Acuner % 1,8 pozitif sonuç almış, biz ise bu oranı % 3,35 bulduk.

Tablo: 3 ve Tablo: 6 daki incelemeleri dikkate alarak (Ege ve Doğu Anadolu bölgelerinde test uygulanan vak'alarımız az olduğundan) histoplasmosis'in memleketimizde endemik olarak hemen her bölgede olabileceğini ifade etmekle yetineceğiz.

T A R T I Ő M A

Türkiye'de histoplasmosis enfeksiyonunun insanlarda mevcut olup olmadığı ve topraklarımızda etkenin bulunup bulunmadığı üzerinde geçmişte yapılan araştırmaların tatmin edici olmadığını görüyoruz (15,19,21,23,24,25,26,36,37,38,45). Yapılan bu araştırmaların yetersizliği, konuya kesinlik sağlayamadığından bu sahaya tekrar eğilmenin faydalı olacağı düşüncesiyle araştırmalar yaptık. Uyguladığımız teşhis ve izolasyon metodları çok yönlü olmasına rağmen yalnız immünolojik testler bize aydınlatıcı sonuçlar vermiştir. Şöyle ki:

Türkiye'nin çeşitli kentlerindeki göğüs hastalıkları hastanelerinde yatan 1465 hastaya histoplasmin deri testi uygulanarak 11 (% 0,75), 149 hasta serumuyla yapılan kompleman birleşmesi deneyinde 5 (% 3,35) pozitif vak'a bulunmuştur. 248 balgam ve 218 toprak örneğinden mikolojik kültür ve fare inokülasyonları negatif sonuç vermiştir. 138 vak'anın kan frotisi incelenmiş ve mikroorganizma tesbit edilememiştir.

Histoplasmin Deri Testi:

Endemik bölgelerin ve histoplasmosisin selim şekillerinin epidemiyolojisinin araştırılması bakımından değerli olduğu bildirilmektedir (1,2,3).

Ulus'un (15) Ankara'da tüberküline cevap vermeyen çocuklarda uyguladığı deri testleri, Sağlam'ın (25) İstanbul'da 348 mahkuma ve 154 klinik hastasına uyguladığı deri testleri, Göksel'in (37) % 22 si akciğer enfeksiyonu gösteren 197 vak'aya uyguladıkları deri testlerinde reaktör bulunmadığı rapor edilmiştir.

Sirmen'in (35) Ankara'da öğrenciler, Çocuk İslah Evi sakinleri ve klinik hastalarından 1810 kişilik bir gruba uyguladığı deri testinden 80 (% 4,4), Karasu'nun (23) Orta Anadolu sakinlerinden 1944 kişiye uyguladığı deri testinden 78 (% 4), Ekmen'in (38) 2814 kişiye uyguladığı deri testinden 155 (% 5,5),

Acuner'in (36) 144 klinik hastasına uyguladığı deri testinden 2 (% 0,69), Sökmen'in (21) Ankara Tıp Fakültesi kliniklerinde yatan 109 hastaya uyguladığı deri testinden 1 (%0,9) reaktör tesbit edildiği rapor edilmektedir (Tablo: 1).

Furcolow ve arkadaşlarının Kanada'da 82 laboratuvarında 44882 hastaya uyguladığı deri testinde 3666 (% 8,1) reaktör bulunmuştur (43). Gene Furcolow ve arkadaşları 1953 de Ohio'da 7194 okul çocuğuna histoplasmin uygulamış; 5 yaşa kadar olan çocukların % 15 inde ve 18 yaşa kadar olan çocukların % 80 inde pozitif reaksiyon tesbit etmiştir (1).

Zeidberg 1956 da Williamson County ve Tennessee'de 8967 kişide yaptığı deri testi taramalarında 72 (% 0,8) reaktör bulmuştur (1).

Kuzey İtalya'da 303 hasta üzerinde uygulanan testte 12 (% 4), İngiltere'de 1888 hastaya uygulanan testte 83 (% 4.3) reaktör bulunduğu bildirilmiştir (15).

Polonya'da 396 okul çocuğuna uygulanan test negatif sonuçlanmış, 586 kişilik başka bir gruba uygulanan testte 1 (% 0,17) reaktör bulunmuştur (15,17).

Romanya'da 5000 kişiye, İspanya'da 900 üniversite öğrencisine, Çekoslovakya'da 1000 vak'aya, Fransa'da 463 tüberküloz sanatoryumunda yatan hastalara, Hollanda'da yüzlerce vak'aya, Norveç, Danimarka ve Finlanda'da değişik guruplara uygulanan testlerde reaktör tesbit edilmediği bildirilmektedir (1,2,5,15,27).

İsviçre'de 180 hastaya test uygulanmış, 2 (% 1,1) reaktör bulunmuştur (15). Bunlardan 1'i 7 yıldan fazla Orta-batı Amerika'da bulunmuş, diğeri 25 yıl Jawa Adası'nda yaşamıştır. İsviçre'de yaşayan ve hiç dışarı çıkmayan 555 hastaya uygulanan test negatif sonuçlanmıştır (15). Gene İsviçre'de 1526 üniversite öğrencisine test uygulanmış ve 35 (% 2,3) reaktör bulunmuştur. Bu reaktörlerden; 27'si A.B.D.'li, 3'ü Kanada'lı, 1'i İsrail'li, 1'i Meksika'lı, 1'i Hindistan'lı, 1'i Türkiye'li 1'i de A.B.D. da 9 yıl kalmış İsviçre'lidir (27).

Afrika'da çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan deri testi taramalarında % 0,7 - % 15 arasında reaktör tesbit edildiği belirtilmektedir (1,2,5,6,15,27).

Avusturalya ve Filipin Adaları'nda yapılan deri testi taramalarında % 3,2 ilâ % 17,5 reaktör tesbit edildiği bildirilmektedir (1,5,15,27,28,29).

Asya'da yapılan deri testi taramalarında % 1,8 ilâ 12 arasında reaktör bulunduğu bildirilmektedir (1,5,6,15,18).

Japonya'da yapılan deri testi taramalarında binlerce vak'adan reaktör tesbit edilememiş, yalnız bir çömlek fabrikasında çalışan işçilerde % 30 oranında reaktör bulunmuştur (27). Yapılan araştırmalar sonucu; bu fabrikada işlenen toprağın A.B.D.'den geldiği ve işçilerin hassasiyeti bu topraklardan aldığı anlaşılmıştır.

Biz, Türkiye'nin değişik iklim bölgelerinde bulunan 10 göğüs hastalıkları hastanesinde, çeşitli hastalıklar nedeniyle tedavi görmekte olan 1465 vak'aya histoplasmin deri testi uyguladık ve 11 (% 0,75) pozitif reaksiyon tesbit ettik (Tablo: 2). Elde ettiğimiz bu sonuç Sökmen (21) ve Acuner'in (36) bulduğu sonuçlarla paralellik göstermektedir. Sirmen'in (35) vak'aları ise 5 grupta tartışılmış ve aktif akciğer tüberkülozu teşhisiyle tedavi gören 237 hastanın teşkil ettiği ilk grupta 1 (% 0,42) vak'ada pozitif reaksiyon tesbit edilmiştir ki; bu oran da bizim bulgularımızla bir yakınlık göstermektedir.

Ekmen'in (38) yaptığı araştırmada, Yozgat'ın Bişek Köyü'nde % 39,5 oranında reaktör tesbit etmesi, genel reaktör oranını (% 5,5) etkilemiş olduğundan, sonuçlarımız farklı olabilir.

Karasu da (23) deri testini genellikle Orta-Anadolu sakinlerine uygulamış ve % 4 reaktör bulunduğunu bildirmiştir. Aynı araştırmacı bu guruplandırmasına tüberküloz hastalarını da dahil etmiş ve % 0,4 oranında reaktör tesbit etmiştir.

Bu bulgu bizim bulgularımızla yakınlık göstermektedir. Genel sonucun bizim sonuçlarımızla farklı olması, seçtiğimiz vak'a guruplarının farklılığı nedeniyle olabilir.

Furcolow ve diğer araştırmacıların A.B.D. ve Amerika Kitasında genel reaktör oranını farklı bulmaları ve sonuçlarımızın uygunluk göstermemesi, histoplasmosis'in bu kıtada epidemik olmasından ileri gelebilir. Nitekim, her sene A.B.D.' de histoplasmosis'e yakalananların % 6-30 unda ölüm görüldüğü bildirilmektedir (1).

İsviçre (15,27) ve Japonya'daki (27) bulgular da hastalığın Amerika'da epidemik olduğu fikrini kuvvetlendirmektedir.

Histoplasmin pozitif reaksiyon ile pulmoner kalsifikasyonun ilişkisi araştırılmış ve ikisi arasında büyük ilişki görülmüştür (1). Nitekim Palmer'in yaptığı araştırmalarda, pulmoner kalsifikasyonu olan bir gurubun % 85 inde histoplasmin deri testi pozitif bulunmuştur (1). Gene Palmer ve arkadaşlarının 10629 öğrenci üzerindeki etüdlerinde Histoplasmin -Tüberkülin- Radyografi sonuçları Tablo: 9 da sunulmuştur (35).

TABLO: 9 HISTOPLASMIN - TÜBERKÜLİN - RADYOGRAFİ SONUÇLARI

(Palmer ve Arkadaşlarının 10629 Öğrenci Üzerindeki Etüdləri)

Grup	Histoplasmin Deri Testi	Tüberkülin Deri Testi	Kalsifikasyon	Nodüler İnfiltrasyon	Yumuşak İnfiltrasyon	Fibröz İnfiltrasyon	Toplam
1	(+)	(+)	% 35	% 2,24	% 1,63	% 1,43	% 40,3
2	(-)	(+)	% 10,7	% 0,41	% 1,88	% 1,22	% 14,21
3	(+)	(-)	% 33,2	% 3,44	% 0,44	% 0,95	% 38,03
4	(-)	(-)	% 0,7	% 0,05	% 0,03	% 0,07	% 0,85

Christie'nin araştırmalarında ise bu pozitiflik % 87 bulunmuştur (1).

Alman ve Opinsky ise Colombia'da 441 pulmoner kalsifikasyonlu çocuğa uyguladıkları deri testinde % 81 reaktör bulmuşlardır (1).

Diğer araştırmacılara göre, Amerika'da bu antijene karşı birkaç milyon reaktör bulunmakta ve bu reaktörlerden % 25 inin radyografilerinde pulmoner kalsifikasyon gözlenmektedir (1). Bu veriler, otörleri, vak'aların birçoğunun belirtisiz veya gizli enfeksiyon geçirdikleri fikrine götürmektedir (1).

Bizim yaptığımız araştırmada da, histoplasmin pozitif reaksiyon ile pulmoner kalsifikasyonun ilişkisi oranı, diğer lezyonlara oranla yüksek görölmüştür (% 2,63) (Tablo: 8). Memleketimizde bu enfeksiyonun endemik olması, diğer araştırmacıların buldukları sonuçla, bizim sonuçlarımız arasındaki farkın nedeni olabilir.

A.B.D. ve diğer ölkelerde yapılan araştırmalara göre pozitif reaksiyon, hastalığın aktif olmasından ziyade, etken ile daha evvelce temas edildiğini gösterir (1,2,5). Pozitif reaksiyon, aktif hastalık geçirenlerin ancak yarısında bulunmuştur. şu halde pozitif histoplasmin deri testi, geçirilmiş veya halihazırdaki enfeksiyona delalet eder (1,3).

Bizim reaktörlerimizin 9'u (% 81,81) tüberküloz hastası olduğundan ve tüberkülotik tedaviyle iyileştiklerinden, 1'i (% 9,09) ameliyat esnasında ext. olduğundan ve 1'i (% 9,09) de non-spesifik plörezi tedavisiyle iyileştiğinden halihazırdaki enfeksiyonlarının histoplasmosis olmadığı, fakat etkenle daha evvelce temas etmiş olabilecekleri sonucuna varmamızı sağlayabilir.

Uyguladığımız deri testi taramaları, Türkiye'nin hemen her bölgesinde reaktör bulunabileceği (Tablo: 3) fikrini verebilir. Doğu Anadolu ve Ege bölgesi sakinlerinden az vak'a tetkik ettiğimiz için, bu bölgelerden pozitif vak'a bulma ihtimali azalmış olabilir.

Kompleman Birleşmesi Testi:

K.B. histoplasmosisin aktivitesini göstermek bakımından deri testinden daha kıymetlidir (1,5,6,7). Memleketimizde yapılan araştırmalarda Vidinel (24) radyolojik görünümüne göre histoplasmosis teşhisi koyduğu hastada, Göksel (37) rastgele topladığı 686 insan serumuyla K.B. testi yapmışlar, vak'aların hepsini negatif bulmuşlardır. Buna mukabil Acuner (36) 336 değişik hasta gurubunun 6 (% 1,8) sından pozitif sonuç almıştır.

Furcolow ve Brasher (1) Missouri'deki tüberküloz sanatoryumunda 550 hastadan 95 (% 17,2) inde ve 300 kişilik başka bir gurubun 40 (% 13,3) ında pozitif reaksiyon görmüşlerdir. Grayston (42)'un Kalifornia'da klinik belirtileri histoplasmosisi düşündüren 2000 hasta serumu ile yaptığı K.B. testinde ise 80 (% 4) pozitif vak'a bulunduğu bildirilmiştir. Veterans Administration'ın (44) Amerika'da yaptığı bir araştırmada, pulmoner enfeksiyon gösteren 5756 şahıstan % 11'inin K.B. testi ile pozitif sonuç verdiği bildirilmiştir. Bu çalışmalarda bir hastanedeki hastaların % 4,4 ünde etkenin kültürle izolasyonu yapıldığı bildirilmiştir.

Furcolow ve arkadaşları (43) 1957-69 yılları arasında Kanada'da 81 hastane ve tüberküloz sanatoryumunda yaptıkları histoplasmosis araştırmalarında 44882 hasta serumuna K.B. testi uygulamışlar ve 3366 (% 7,5) pozitif vak'a bulduklarını bildirmişlerdir.

Biz araştırma yaptığımız hastanelerde deri testi pozitif bulunan 11, ve deri testi negatif bulunan 138 vak'anın toplam 149 serumu ile K.B. testi yaptık ve 5 (% 3,35) pozitif vak'a bulduk. Acuner'in guruplandırmasında (36) histoplasmin deri testi pozitif olan 2 vak'adan 1 (% 50) inde K.B. testi pozitif bulunmuştur. Bizim çalışmalarımızda ise histoplasmin deri testi pozitif olan 11 vak'adan 4 (% 36,3) ünde ve histoplasmin deri testi negatif olan 138 vak'adan 1 (% 0,72) inde K.B. testi pozitif bulunmuştur.

Genel sonucun bizim sonuçlarımızla farklı olması, seçtiğimiz vak'a ve grup sayılarının farklılığı nedeniyle olabilir.

Furcolow ve Brasher'in (1) bulgularıyla bizim bulgularımızın farklılığı nedeni, histoplasmosisin Amerika'da epidemik olmasına bağlanabilir.

Kültür:

Vidinel'in (24) radyolojik bulgulara göre histoplasmosis teşhisiyle yayımladığı vak'asında, Sağlam'ın (19) mikroskopik teşhisle histoplasmosis olarak bildirdiği vak'asında, Göksel'in (37) % 32 si akciğer enfeksiyonu, diğerleri değişik semptomlar gösteren 489 vak'asında ve Acuner'in (36) çeşitli hastalıkları olan 407 klinik vak'asında mikolojik kültür sonuçları negatif bulunmuştur.

Hawaii'den 1947 de, Avusturalya'dan (15) 1948 de histolojik görünümüne göre histoplasmosis olduğu saptanan 1'er vak'a bildirilmiş, fakat organizmin izolasyonu yapılamamıştır. Malaya'dan (28) 1970 de ilk vak'a primer mukokutanöz histoplasmosis olarak bildirilmiş, fakat kültür yapılamamıştır. Amerika'da Furcolow ve arkadaşlarının (43) yıllar süren araştırmalardan aldıkları sonuçlara göre; A.B.D.'deki tüberküloz sanatoryumlarında her yıl ortalama 8200 histoplasmosis vak'asına rastlanmakta ve bunların 2000 (% 25) inden mikolojik kültür yapılabilmektedir. Arjantin'deki 51 histoplasmosis vak'asından 19 (% 37,25) unda fungusun izole edildiği bildirilmiştir (1). Drought ve arkadaşları (1) Afrika'da 24 klinik vak'adan fungusu izole edebilmişlerdir.

Biz araştırma yaptığımız hastanelerde histoplasmin deri testi pozitif bulunan 11 ve Ankara Etimesgut bölgesinde histoplasmin ve P.P.D. deri testleri negatif, fakat akciğerlerinde kalsifikasyon olan fakat tb. basil negatif olan 237 vak'anın toplam 248 balgam numunesinden kültür yaptık, fakat fungusu izole edemedik.

Nitekim, Hawaii, Avusturalya (15) ve Malaya (28), dan da histoplasmosis vak'aları bildirilmiş fakat izolasyon yapılamamıştır.

Klinik vak'alarda izolasyonlar Amerika (1,5,7,15,43), Arjantin (1), Afrika (1) ve Kanada (43)'dan bildirilmiştir.

Furcolow ve arkadaşlarına göre (1) akut ya da kronik yayıllımlı histoplasmosis vak'alarında kültürde izolasyon mümkün olabilmektedir.

Bu veriler ve bulgularımız, memleketimizde histoplasmosisin akut ya da kronik yayıllımlı olmadığını, belirtisiz veya gizli enfeksiyon şeklinde olabileceğini düşündürebilir.

Periferik Yayma:

Akut, yayıllımlı ve kronik, pulmoner histoplasmosiste kan dolaşımında mononükleer hücreler içinde, bazen serbest ve nadiren de polimorf nükleer hücreler içinde etkenin maya fazında görüldüğü bildirilmektedir (1).

Bu verilerin ışığı altında 11'i histoplasmin deri testi pozitif ve 127 si histoplasmin ve P.P.D. deri testleri ve tb. basil negatif, fakat akciğerlerinde kalsifikasyon olan toplam 138 kan frotisini inceledik, fakat mononükleer hücreler içinde veya serbest maya fazındaki mikroorganizmleri göremedik.

Bu bulgularımız, histoplasmosisin memleketimizde ağır klinik tablolarla seyretmediği fikrini vermektedir.

Etkenin Topraktan İzolasyonu:

Acuner (36) Ankara'da çeşitli semtlerden toplanan 807, Riordon ve arkadaşları (26) memleketimizin 6 iklim bölgesinden topladıkları 127 toprak örneğinden kültür yapmışlar, fakat etkeni üretememişlerdir. Ekmen de (45) Yozgat ve çevresinden aldığı toprak örneklerini kültürünün yapılması için A.B.D'ne göndermiş fakat bu örneklerden de H. capsulatum izole edilememiştir.

Afrika ve Amerika kıtasının hemen her bölgesinden (1,13,14), Romanya, İngiltere, İspanya, Hollanda, Portekiz, Avusturya, Romanya ve Hindistan'dan da *H. capsulatum*'un topraktan izole edildiği rapor edilmiştir (1,2,5,15,27,41).

Biz de Ankara'nın ve araştırma yaptığımız kentlerin çeşitli semtlerinden aldığımız 218 toprak örneğinden mikolojik kültür ve fare inokülasyonu yaptık fakat *Histoplasma capsulatum*'u izole edemedik.

Amerika ve Afrika kıtalarında etkenin her zaman izole edilebilmesi, *H. capsulatum*'un bu kıtalara özge bir mikroorganizm olduğunu ve bu fungusun topraklarımızdan halen izole edilemediğini ifade etmekle yetineceğiz.

Ö Z E T

Histoplasmosis'in Türkiye'deki epidemiyolojisini ve göğüs hastalarındaki prevalansını saptamak amacıyla, çeşitli kentlerdeki göğüs hastalıkları hastanelerinde yatan 1465 hastaya deri testi uyguladık, 149 hastanın serumuyla kompleman birleşmesi deneyi yaptık, 248 vak'anın balgam kültürünü yaptık, 138 vak'anın kan frotisinde mikroorganizmi aradık, 218 toprak örneğinden mikolojik kültür ve fare inokülasyonu yaptık (Tablo: 7).

Balgam ve toprak örneği kültürlerinden, fare inokülasyonundan ve kan frotülerinden negatif sonuçlar aldık; fakat 1465 histoplasmin deri testi vak'asından 11'ini (% 0,75) ve 149 kompleman birleşmesi deneyinden de 5'ini (% 3,35) pozitif bulduk.

Pozitif vak'alarımızdan 11'i Ankara dışındaki hastanelerde müşahade edildiğinden, 1'i taburcu ve 1'i de ext. olduğundan, vak'alarımızı kesinleştirmek için tetkiklerimizi derinleştirmek olanağını bulamadık. Birer kez alınabilen balgam örneklerinden yaptığımız kültürler negatif sonuç vermiştir. Vak'alarımızın yaş, cins, meslek, kesin veya ihtimali teşhisleri, radyografileri ve yaşadıkları bölgeler de (Tablo: 1,2,3,4,5,6) da belirtilmiştir.

Tartışma bölümünde bulgularımız ile diğer araştırmacıların bulguları karşılaştırılmış ve sonuçların birbirleriyle uygunluk gösterdiği saptanmıştır. Bulgularımız, bizi histoplasmosis'in Türkiye'de endemik olarak bulunabileceği kanısına götürmektedir.

K A Y N A K L A R

1. Negrone, P.: *Histoplasmosis. Diagnosis and Treatment*, Charles C. Thomas Publisher. Springfield, Illinois, U.S.A.: 1965.
2. Vanbreuseghem, R.: *Mycoses of Man and Animals*, London. Sir Isaac Pitman and Sons.: 149-163, 1958.
3. Emmons, W.C., Binford, H.C., Utz, P.J.: *Medical Mycology*, Philadelphia, Lea and Febiger: 218-244, 1970.
4. Wolstenholme, G.E.W., Porter, R.: *Systemic Mycoses*, London, Churchill: 1968.
5. Conant, N.F., Smith, D.T., Baker, R.D.: *Manuel of Clinical Mycology*, W.B. Saunders Company, Philadelphia and London: 119-149, 1954.
6. Unat, E.K.: *Tıbbi Mikoloji, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınlarından: 182-194, 1962.*
7. Wilson, J.W., Plunkett, A.O.: *The Fungous Diseases of Man*, Berkeley, Univ. of Calif. Pr.: 65-83, 1965.
8. Drouhet, E., Segretain, G.: *Histoplasmosse expérimentale chez le hamster doré.: Ann. Inst. Pasteur (Par), 83: 381-383, 1952.*
9. De Vriese, J.: *Premiers resultats de reactions cutanées l'histoplasmine au Congo Belge.: Ann. Soc. Belg. Med. Trop., 33: 211-213, 1953.*
10. Dubois, A., Vanbreuseghem, R.: *Inoculation au hamster, Cricetus auratus, des cultures d'Histoplasma duboisii. Vanbreuseghem 1952.: Ann. Soc. Belg. Med. Trop., 33: 383-387, 1953.*

11. Droughet, E.: Quelques aspects biologiques et mycologiques de l'histoplasmosis.: *Sem. Hop. Paris.*, 33: 789-793, 1957.
12. Ciferri, R., Redaelli, P.: Histoplasmosis and related diseases in Man and Animals.: *Proc. Fourth Int. Cong. on Trop. Med. and Malaria. Washington.* II: 1252-62, 1948.
13. Seward, C.W., John, A.M., Everett, R.R.: An outbreak of Histoplasmosis in Oklahoma.: *Amer. Rev. Resp. Dis.* 102 (6): 950-958, 1970.
14. De Araujo, F.C.: First isolation of *Histoplasma capsulatum* from soil of Minas Gerais (Brazil).: *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 12 (3): 185-191, 1970.
15. Mochi, A.: Geographical distribution of histoplasmosis and histoplasmin sensitivity.: *Bul. of the WHO.*: 5: 259-291, 1952.
16. Bezjak, V., Suleiman, J.F.: Prevalence of skin sensitivity to histoplasmin and coccidioidin in various Ugandan populations: *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 19 (4): 664-669, 1970.
17. Dodge, H.J., Otto, K.E., Katherine, M.D.: Observations on the decline of histoplasma infections in school children: *Milan, Michigan, 1958-1968.*: *Amer. J. Pub. Health.* 60 (8): 1442-1446, 1970.
18. Sathi, K.K., Srindha, P.: Histoplasmosis in India: *Mycopathol. Mycol. Appl.* 40 (3/4): 369-374, 1970.
19. Sağlam, T.: Türkiye'de ilk Histoplasmosis vak'ası.: *Türk Tıp Cem. Mec.*: 2: 494-509, 1945.

20. Mutlu, K.: Türkiye'de görülmüş bir Histoplasmosis vak'ası ve bu hastalığın genel olarak histopatolojisi hakkında.: X. Millî Tıp Kongresi tutanakları., 155-164, 1950.
21. Sökmen, C.: Ankara'da Histoplasmosis üzerinde bir araştırma.: A.Ü. Tıp Fak. Mec., 5 (3-4): 99-106, 1951.
22. Akün, R.Ş.: Histoplasmosis veya Darling hastalığı.: Mik. Derg., 4: 340-355, 1951.
23. Karasu, S., Sirmen, A.A.: Ankara'da histoplasmin ve coccidioidin deri testleri ile yapılan araştırmalar.: Tüberküloz ve Toraks., I: 2: 3-14, 1953.
24. Vidinel, İ.: Histoplasmosis oder Tuberkülose?.: 18. Tuberk. Konferansı, München., Oct. 1965.
25. Ekmen, H.: Mantar hastalıklarının memleketimizdeki bugünkü durumu ve buna bağlı bazı problemler.: Ank. Üniv. Tıp Fak. Mec., 20 (3): 503-512, 1967.
26. Riordon, J.P., Johnson, A.L., Agee, J.S.: A search for systemic fungi in Turkish soil.: The U.S. Logistics Group Detachment 36 USAFE Professional Report No. 68-8, Project number 67-6, 15 August 1968.
27. Edwards, P.O., Et Klaer, J.H.: World-Wide Geographic Distribution of Histoplasmosis and Histoplasmin sensitivity.: Amer. J. Trop. Med. Hyg., 5: 235-257, 1956.
28. Dutt, A.K., Garai, B.K.: Primary mucocutaneous Histoplasmosis.: Med. J. Malaya, 24 (3): 231-233, 1970.
29. Dubos, R.J.: Bacterial and mycotic infections of man., Philadelphia, Lippincott: 671-674, 1952.

30. Marx, M.B., Eastin, E.C., Turner, C. Smith, C.D., Irene, R., Furcolow, M.L.:
The influence of amphotericin B upon Histoplasma infection in dogs.:
Arch. Environ Health, 21 (5): 649-655, 1970.
31. Smith, T.D.: The diagnosis and therapy of mycotic infections.: Bul. of
New York Acad. Med., 29: 778-795, 1953.
32. Gordon, M.A.: Practical serology of the systemic mycoses.: Int. J.
Dermatol. 9 (3): 209-214, 1970.
33. Liptniskii, A.V.: Immunological diagnosis of some deep mycoses.: Mikrobiol.
Epidemiol. Immunobiol. 47 (1): 126-129, 1970.
34. Kaufman, L., Elmerc, H., Maxine, J.C., David, Mc L.: Comparasion of
macrocomplement and microcomplement fixation techniques used in fungus
serology.: Appl. Microbiol, 20 (4): 579-582, 1970.
35. Sirmen, A.: Ankara'da histoplasmin antijeni ile yapılan araştırmalar.:
12. Millî Türk Tıp Kongresi Tutanak ve Serbest Tebliğler.: 163-167, 1952.
36. Acuner, H.: Memleketimizde Histoplasmosis ve Epidemiyolojisi Üzerine
Araştırma.: M.S.B. Gülhane Ask. Tıp Akad. Bakt. ve İnt. Hast. Klin.
Tez çalışması, 1957-1960.
37. Göksel, Z.: Kliniğimizde Derin Mikoz Araştırmaları: M.S.B. Gülhane Ask.
Tıp Akad. İnt. Klin. ve Bakt. Lab. Tez çalışması, 1958.
38. Ekmen, H.: Türkiye'de Histoplasmin Hassasiyeti Üzerinde Bir Çalışma.: Türk
Hijyen ve Tec. Biol. Derg.: 18: 158-166, 1958.
39. Sever, J.L.: Application of a microtechnique to viral serological
investigations.: The Journal of Immunology, 88 (3): 320-329, 1962.

40. Hsiung, G.D.: *Diagnostic Virology: New Haven and London, Yale University Press., 1964.*
41. Alteras, I.: *First Romanian isolation of Histoplasma capsulatum from the soil: Biological abstracts, 50 (5): 26602, 1966.*
42. Grayston, T.J.: *A study of the complement fixation reaction in Histoplasmosis: The Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 40: 90-101, 1952.*
43. Furcolow, M.L., Schubert, J., Tosh, F.E., Doto, I.L., Lynch, H.J.: *Serologic Evidence of Histoplasmosis in Sanatoriums in the U.S.: The Journal of the American Medical Association, 180: 109-114, 1962.*
44. *Histoplasmosis Cooperative Study I. Frequency of Histoplasmosis Among Adult Hospitalized Males. Veterans Administration Cooperation Study on Histoplasmosis.: Amer. Rev. Resp. Dis.: 84: 663-668, Nov. 1961.*
45. Ekmen, H.: *Şahsi görüşmeler.*

