

22608

T.C.
DICLE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Başkanı:
Prof.Dr.Ömer METE

KALA-AZAR (VISCERAL LEISHMANIASIS)
İNFEKSİYONUNDA TANI YÖNTEMLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Arş.Gör.Nezahat ÜZERDEM

DANIŞMAN

Prof.Dr.Ömer METE

DIYARBAKIR - 1992

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İÇİNDEKİLER

SAYFA

| | |
|-------------------------|-------|
| GİRİŞ | 1 |
| GENEL BİLGİLER | 3 |
| MATERYAL ve METOD | 9 |
| BULGULAR | 12 |
| TARTIŞMA | 14 |
| SONUÇ | 22 |
| ÖZET | 24 |
| KAYNAKLAR | 24-29 |

GİRİŞ

Organ Leishmaniasisi gelişmekte olan ÷lkelerde özellikle çocuklarda gör÷len; Dünya Sağlık Örgütü'nün önemle üzerinde durduğu hastalıklardan biridir (33). Hastalık 19.yy'lin ikinci yarısından sonra tanınmaya başlamıştır. Hastalığa Hintliler tarafından "kara ateş" anlamına gelen kala-azar adı verilmiştir. Etkenle mücadele birçok ÷lke olumlu sonuç sağlamışken, sosyo-ekonomik düzeyi düşük buna bağlı olarakta hijyen şartları yetersiz olan ÷lkelerde halen ciddi bir sağlık sorunu olarak önemini korumaktadır.

Yurdumuzda daha çok kıyı bölgeleri olmak üzere bütün bölgelerimizde gör÷lmektedir. Bölgemizdeki gör÷me sıklığıda eskiye oranla artış göstermiştir. Etken Trypanosomidae familyasında yer alan Leishmania cinsine bağlı Leishmania donovani türüdür. Etken insanın iç organlarında monosit ve histiyositlerin içinde parazitlenerek, başlıca kansızlık, granulositopeni, hiperglobulinemi, sürekli düzensiz ateş, dalak ve karaciğer büyümesiyle kendini belli ederek hastalığa neden olmaktadır. Leishmania donovani phlebotomus cinsinden bazı tatarcık sinekleriyle taşınır. Bunların insan sokmasıyla kana karışırlar. Vektörlük yapan bu tatarcıklar özellikle, rutubetli, ıslak, gölgeli yerleri sevmektedirler. Bölgemizde GAP (Güneydoğu Anadolu Projesi) ile sulu tarıma geçilecektir. Dolayısıyla vektörleri barındırma ortamları artacağından, bölgemizde kala-azar'ın ciddi bir şekilde artacağı endişesindeyiz.

Kala-azar'da klinik bulguların yanısıra laboratuvar tanı yöntemlerinde hastalığın teşhisi için önem taşıması, bu konuda daha kesin,duyarlı ve güvenilir sonuçlar verebilecek yöntemlerin araştırılmasını zorunlu hale getirmiştir.Çalışmamızda laboratuvarımızda rutin tanı yöntemi olarak kullanılmakta olan formol jel yöntemi ile birlikte, duyarlı olduğu bildirilen ELISA yöntemi (1) kullanarak karşılaştırmayı planladık.

GENEL BİLGİLER

Leishmania donovani; kamçılı bir hücre içi paraziti-
dir. Son konağın retikülo endotelial sistem (RES) hücrele-
rine yerleşir ve bu hücreler içinde çoğalır. 1903 yılında
Leishman ve Donovan isimli araştırmacılar paraziti tesbit
etmişler ve ayrı ayrı yayınlamışlardır. 1910 yılında anti-
monlu ilaçlarla tedavisi önerilmiştir. 1924 yılında hasta-
lığın yayılmasından sorumlu olan tatarcık sineği tesbit
edilmiştir. Daha sonraki yıllarda gerek tanı ve gerekse
tedavi yönünden günümüze dek devam eden önemli gelişmeler
olmuştur (5,11,15,30,41,44).

Leishmania cinsinin iki morfolojik formu vardır. Son
konaklarda amastigot veya leishmania formu şeklinde, biyo-
lojik vektörlük yapan phlebotomuslarda ise promastigot
veya leptomonas formu şeklindedir (Şekil 1).

Leishmania formu son konak olan insan ve bazı meme-
li hayvanların (köpek, köpekgiller ve bazı kemiriciler) RES
hücreleri içinde ve özellikle monositlerde bulunur.

Giemsa boyamada, leishmania formu 2-4 µm büyüklüğün-
de yuvarlak veya yumurtamsıdır. Stoplazma soluk mavi, çekir-
dek ve granüller ise koyu kırmızı renkte boyanırlar. Çekir-
dek büyük ve yuvarlaktır. Çekirdeğin yanında parlak kırmızı
çomak tarzında kinetoplast bulunur. Kinetoplast çomakcık
biçiminde olan parabazal oluşum ile koyu kırmızı nokta
biçimindeki blefaroplasttan oluşmuştur. Bazan blefaroplast-
tan çıkan ve çepere değin ince bir çizgi gibi uzanan rizo-
plast görülür. Leishmania formu kamçısız ve hareketsizdir.

Besinini dokulardan alarak osmosla beslenir.RES hücreleri içinde ikiye bölünerek çoğalırlar.

Leptomonas formu 14-28 μm boyunda 2-4 μm enindedir.Silindir veya iğ şeklinde,hareketli ve tek kamçısı bulunur. Boyama özelliklerinde; çekirdeği, kinetoplastı leishmania formundakine benzer.Kinetoplast vücudun ön ucuna yakındır.Blefaroplasttan çıkan ve kırmızı görülen kamçı ön uçta serbest kalır ve hemen hemen vücut uzunluğundadır.

Leishmanialar insan vücudunda monositli makrofaj sistem hücreleri içinde ikiye bölünerek çoğalır.Çoğalan parazitin etkisiyle hücreler patlar ve parazitler serbest hale geçer.Bunların bir kısmı fagosite edilip tahrip edilirken bir kısımda yeni hücreler içine girer ve çoğalmaya devam ederler.

Ara konak aynı zamanda vektör olan bazı tatarcık türleridir.Tatarcıkların dişileri insandan kan emerken Leishmanialarıda deri yoluyla kandan alırlar. Tatarcığın orta barsağına gelen parazitlerin boyutları uzar ve leptomonas formuna dönüşürler.Leptomonaslar ikiye bölünerek üç günde çoğalırlar.Sayıları artan leptomonaslar tatarcığın proventrikülünde birikirler.Beşinci güne kadar yutağa gelirler ve burayı gittikçe doldurarak tıkarlar.Yedinci günden sonra hipostoma geçer ve burada da birikirler.Tatarcıklar kan almak için insanı deriden sokunca parazitleride derideki yaradan insana geçirirler.Insanda doku-

daki makrofajlar tarafından alınan parazitler leishmania-
lara dönerek çoğalmaya devam ederler (Şekil 1) (9,26,28,31,
42).

Her bölgede Leishmania donovani için biyolojik vek-
törlük görevini yapan farklı phlebotomus türleri vardır.
Genel olarak; phlebotomus major, P.perfiliewi, P.papatasii, P.
sergenti, P.martini, P.chinensis, P.argentipes en önemli
biyolojik vektör türleridir (26,31). Yurdumuzda rastlanan
phlebotomus türleri; P.wenyoni, P.perfiliewi, P. jasveki,
P.gallaeus, P.papatasii, P.sergenti, P.alexandri, P.major
ve P.caucasicus'lardır (38,44).

Leishmania donovani invitro olarak N.N.N. (Nouy,
N nicolle, Mc Neal) besiyerinde üretilir. Invivo olarakta;
14 günlük tavuk embriyonuna ven yoluyla verildiğinde kara-
ciğerde üredigi gibi embriyondan elde edilen fibroblast
kültüründe ve çeşitli doku kültürlerinde üretilebilmekte-
dir.

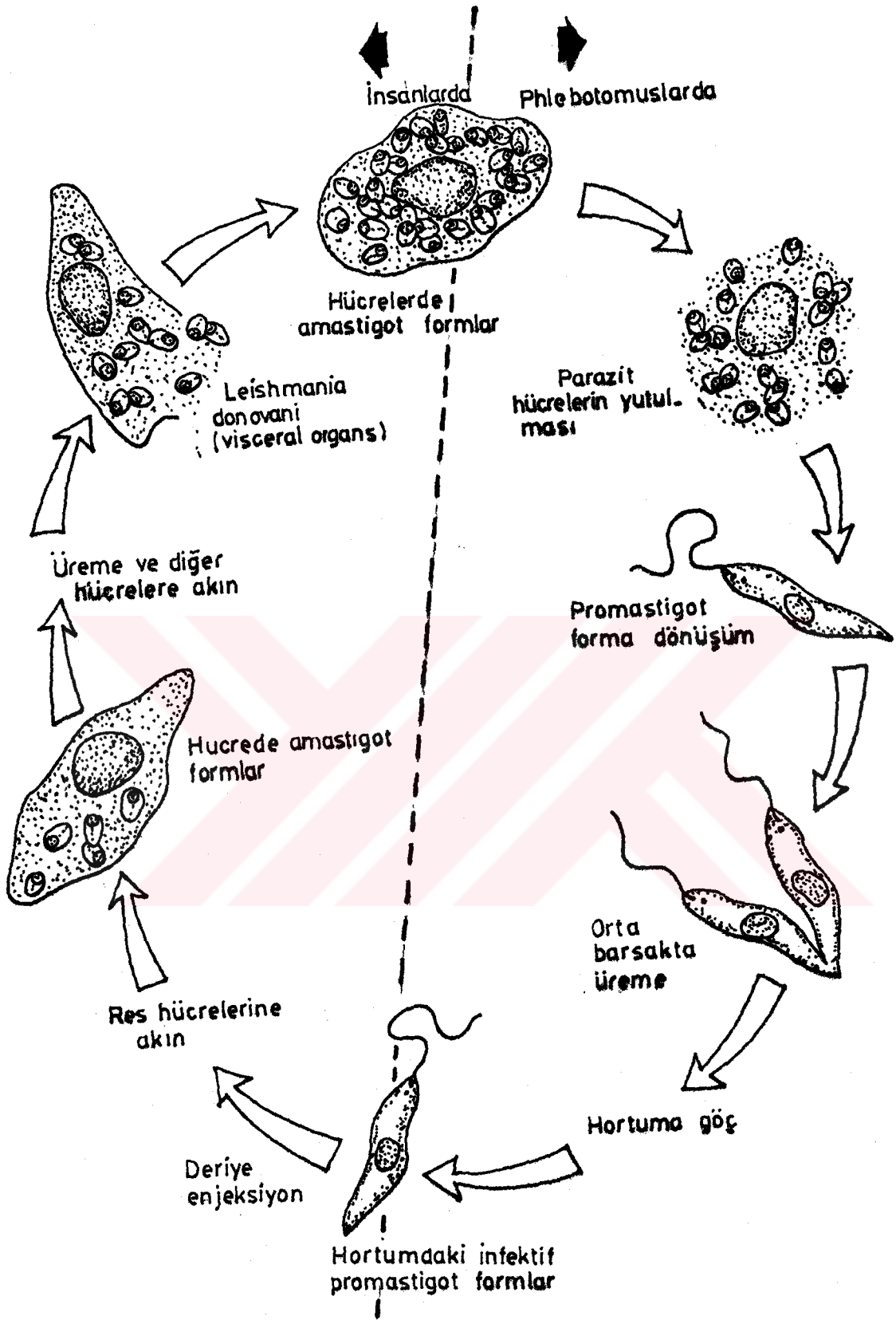
Kala-azar'da kuluçka dönemi 1-4 ay arasındadır. Ongün
kadar kısa iki yıl kadar uzun dönemleride olabilir. Uzun
süre gizli kalabilen hastalık vücut direncinin düşmesiyle
ortaya çıkabilir. Hastalık bazan yüksek ateş, titreme, kusma,
ishal gibi belirtilerle ani başlayıp sıtma ile karıştırı-
labilir. Böyle akut vakalar birkaç haftada ölümle sonlanır.
Tipik vakalarda ateş trasesi öğleden sonra ve gece yarısı-
sına doğru iki yükselme gösterir, düştüğünde ileri derecede
terleme olur. Dalak, karaciğer büyür. Dalak ele gelmeye
başlar ve yumuşaktır. Her ateş sırasında, dalak büyür

ateşsiz dönemde biraz küçülür ve zamanla spinalara kadar inebilir.Özellikle boyun lenf bezlerinin şişmesi,göğüste, kollarda ve bacaklarda bariz olan zayıflama,karnın şişmesi, bacakların alt kısmında ve ayaklarda ödem,mukoza solması tipiktir.Deri esmerleşmesi özellikle alında,karnın orta çizgisinde el ve tırnaklarda belirgindir.Hastada gittikçe ilerleyen anemi,nispi monositozla birlikte lökopeni ve trombositopeni vardır.Sedimentasyon artmıştır.İleri dönemlerde asites ve ödemler oluşur.Hastalık tedavi edilmezse kendiliğinden nadiren iyileşme olur.Hastalığı geçirenlerde bağışıklık meydana gelir (9,26,28,31,44).

Kala-azar birçok ülkede endemik olarak bulunur ve zaman zaman epidemilere neden olur.Görüldüğü ülkelerde bölgesel karakter gösterir.Bunda ısı,nem,bölgenin yüksekliği,bitki örtüsü gibi faktörlere bağlı olarak vektör olan phlebotomus türlerinin o bölgede fazla olması ve rezervuar olan insan ve hayvanların bulunması rol oynar.

Parazitin iki önemli rezervuarı insan ve köpeklerdir.Bazı ülkelerde örneğin Hindistan'da önemli rezervuar insandır.Infeksiyon zinciri insan-tatarcık-insan olarak devam eder.Özellikle kala-azar sonrası deri leishmaniasisi olan insanlar rezervuar olarak önemlidir.Buna karşılık başta Akdeniz bölgesi,Kafkasya,İrak olmak üzere bazı bölgelerde önemli rezervuar köpeklerdir.Infeksiyon zinciri köpek-tatarcık-köpek olarak devam eder.Bazı bölgelerde de, tilki,çakal,yabani kemiricilerde rezervuar olabilir (7,9, 22,31,38,42,44).

Phlebotomuslar daha çok nemli, uygun bitki örtüsü ve çürümüş bitkiler bulunan su birikintilerini severler. Hastalık kırsal kesimlerde, sosyo-ekonomik düzeyin düşük olduğu toplumlarda daha sık görülür. Infeksiyon zamanında teşhis ve tedavi edilmezse yayılma eğilimi gösterir (5,44). Kala-azarın endemik olduğu bölgelerde değişmek üzere yaşla büyük ilgisi vardır. Akdeniz bölgesinde ve yurdumuzda en çok 2-6 yaş arasındaki çocuklarda, Hindistan ve Çin'de daha büyük çocuklarda, Sudan'da gençlerde görülür. Fakat her yerde daha az olmak üzere erişkinlerde de rastlanır (9,26, 28,31,42).



Şekil-1: *L. donovani*'nin Yaşam Çemberi

MATERYAL ve METOD

Bu araştırmada veri olarak,Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları Anabilim Dalına, Ocak 1991 Ocak 1992 tarihleri arasında başvuran,klinik olarak Kala-azar ön tanısı konmuş 80 olgu çalışılmıştır.Olguların hepsi 2-10 yaş grubu arasındaki çocuklardır.

Tüm olgularda inceleme materyali olarak kan örnekleri alınmıştır.Alınan 5 cc düz kan,aseptik koşullarda santrifüj edilerek serumları ayrılmıştır.Formol jel hemen uygulanırken ELISA yöntemi için serumlar kullanılıncaya kadar -20°C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

FORMOL JEL TESTİ İÇİN

Kan serumunda gamma globulin artmasını,albuminin azaldığını gösteren formol jel reaksiyonu kala-azar infeksiyonunun birinci ayında pozitifleşmeye başlar, 3-4. ayında tam gelişir,iyileştikten sonrada 3-4 ay pozitif kalır.

TESTİN YAPILIŞI:

- * 0.5 cc kan serumu bir deney tüpüne konur.
- * Üzerine % 40'lık formol'den 0.5 cc ilave edilir.
- * Serum hemen çalkalanır ve kendi haline bırakılır.

Birkaç dakika içinde serum kaynamış yumurta akı gibi katılaşır ve aynı zamanda saydamlılığında yitirerek opaklaşırorsa reaksiyon pozitif olarak değerlendirilir.Bunda önemli olan opaklaşmadır.Bu reaksiyon 24 saat içinde bile belirirse reaksiyon pozitif olarak okunur.

ELISA İÇİN

ELISA yöntemi ile Leishmaniaya ait (donovani,major, mexicana,braziliensis) IgG antikoru aranmıştır.Bunun için MELOTEC kiti kullanılmıştır.

KİTİN İÇERİĞİ

Leishmania donovani antijeni ile kaplanmış polisteren 96 kuyucuk

Serum sulandırma solüsyonu (sample diluent)

Yıkama solüsyonu

Substrat A ve B solüsyonları

IgG yüksek pozitif kontrol serum

IgG düşük pozitif kontrol serum

Negatif kontrol serum

Konjugat:Anti-human IgG/HRPO içermektedir.

Stop solüsyonu (2 Mol H₂SO₄ içerir)

2 4

SOLÜSYONLARIN HAZIRLANMASI VE SULANDIRIMI:

Sulandırma solüsyonu: Hazır bulunan bu solüsyonla serum örnekleri 1/20'lik sulandırmaya tabii tutuldu.

Yıkama solüsyonu: 20 ml konsantre yıkama solüsyonu 1/20 oranında distile su ile (19 cc distile su+ 1 cc yıkama solüsyonu) sulandırıldı.

TESTİN YAPILIŞI

* Bütün reaktifler oda ısısı derecesine getirildi.

* Serum örnekleri serum diluenti ile 1/20'lik sulandırmaya tabii tutularak kullanıma hazır duruma getirildi.

Kuyucuklara 100 ml sulandırılmış serum örneklerinden,yüksek

pozitif,düşük pozitif ve negatif kontrol serumlarından kondu.

* 5 saniye karıştırıldıktan sonra 20-25°C'de 10 dakika enkübasyona bırakıldı.Enkübasyon sonunda 5 kez sulandırılmış yıkama solüsyonuyla otomatik yıkama cihazında yıkandı.

* Bütün kuyuculara hazır konjugattan 100 µl ilave edildi. 5 saniye karıştırıldıktan sonra,5 dakika 20-25°C'de etüvde enkübasyona bırakıldı.

* Enkübasyon sonunda 5 kez yıkama işlemi uygulandı.

* Yıkanmış kuyucukların tümüne hazır olan substrat A ve substrat B solüsyonlarından 50'şer µl ilave edildi.

* Karışım karanlıkta oda ısısında 10 dakika bekletilerek tüm kuyucuklara 10 µl stop solüsyondan eklendi.

* 450 nm özel spektroda bütün kuyucuklar okundu.Prospektisinde yazılı hesaplamalar göz önünde bulundurularak pozitif ve negatif değerler ortaya çıkarıldı.Buna göre her kuyucuk değerlendirildi.

Istatistiksel karşılaştırmada "Bağımlı gruplarda iki yüzde arasındaki farkın önem kontrolü" Student's t testi kullanılmıştır (35).

BULGULAR

Bu çalışmada Kala-azar ön tanılı 80 olgudan alınan kan serumlarında ELISA yöntemiyle IgG antikor araştırılmış ayrıca formol jel testi uygulanmıştır.

Olguların 44'ü (% 55) erkek, 36'sı (% 45) kız çocuğudur. Verilerden elde edilen seropozitiflikler tablo I'de gösterilmektedir.

Tablo I: Olgulardaki ELISA ve Formol Jel Seropozitifliğinin Dağılımı.

| Yöntem | Formol jel (+) | Formol jel (-) | Toplam |
|-----------|----------------|----------------|-------------|
| ELISA (+) | 13 | 18 | 31 (%38.75) |
| ELISA (-) | 3 | 46 | 49 |
| Toplam | 16 (%20.00) | 64 | 80 |

t=3.272 Serbestlik derecesi=78 P<0.01

ELISA testine göre seropozitif olma durumu % 38.75 ve formol jel testine göre seropozitif olma durumu % 20 olduğu tabloda görülmektedir. Bu iki "Bağımlı gruplarda iki yüzde arasındaki farkın önem kontrolü" Student's t testi ile karşılaştırıldı. İki oran arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu (P<0.01).

İki laboratuvar testi arasındaki duyarlılık farkı tablo II'de gösterilmiştir.

Tablo II ELISA ve Formol jel testlerine göre seropozitif olma durumu.

| | |
|----------------|--------------|
| ELISA (+) | 31 (% 38.75) |
| Formol jel (+) | 16 (% 20.00) |
| Toplam | 80 |

Tabloda formol jel testiyle 18.75 gibi bir teşhis kaybı olduğu görülmektedir.

Ayrıca formol jel testi seropozitif olan 16 olgunun kemikiliği Giemsa boyama yöntemiyle boyanarak mikroskopta incelenmiştir. Sonuç olarak 4 olguda Leishmania formları görülmüştür.

TARTIŞMA

İnfeksiyon hastalıkları dünya üzerinde coğrafya, iklim koşulları, toplumun kültür düzeyi, sosyo-ekonomik koşullar, yaşama ve beslenme düzeni, örf ve adetlerle yakın bağlantılar gösteren bir hastalık grubudur. Ülkemizde son 30-40 yıl içinde koruyucu hekimlik yönünden birçok önlemler alınmaya çalışılırken, tarımdan endüstriye geçiş çabaları, süratli ve sağlıksız kentleşme, yetersiz alt yapı tesisleri, su ve besin hijyeni bozuklukları, ulaşım olanaklarının artması, dış dünyaya açılma gibi faktörler infeksiyonlarda ülke düzeyinde yeni epidemiyolojik özellikler getirmiştir. Uygur ülkelerin klasik kitaplarından öğretim konusu olarak dahi şarbon, ruam gibi konular çıkarılmış, tifo, dizanteri, malarya, tüberküloz gibi hastalıklar ise buralarda ancak ekzotik ithal hastalıklar olarak, bireysel vakalar halinde rastlanırken büyük kentlerimiz hastahanelerinde, sezon özelliği niteliğini dahi kaybeden tifo, dizanteri vakaları her mevsimde rastlanır haldedir. Gücünü yitiren malarya ve tüberküloz savaşı ile kliniklere başvuran vaka sayısı azınsanmayacak düzeydedir (39).

Güneydoğu Anadolu Projesi (GAP) enerji üretimi ve sulamayı kapsayan büyüklü küçüklü 13 projeyi bir araya getirmektedir. Konuya bir bütün olarak bakıldığında GAP, barajlar, hidroelektrik santralleri, sulama tünelleri ve tesislerinin yanısıra tarımsal yapı, ulaştırma, endüstri, eğitim, sağlık ve sosyal yapı ve diğer sektörlerin tesis ve hizmetlerini etkileyecek çok geniş, çok yönlü ve çok

kapsamlı bir projeler demetini oluşturmaktadır.GAP'ın su depolama,enerji ve sulama yapılarından oluşan fiziksel yatırımları hızla gerçekleşmekte ortaya çıkan eserler Türkiye ve özellikle Güneydoğu Anadolu için dev bir kalkınma potansiyelini simgelemektedir.Bu projenin sağlayacağı en büyük yararlarından birisi kuşkusuz Türkiye'nin bugün sulayabildiğinden daha fazla tarım alanının sulamaya (1.8x10⁶ ha) açılacak olmasıdır (17).

Bölgenin toprak ve iklim özellikleri göz önüne alınırca yaratılacak su olanağı ile ileri ve uygun teknolojiler kullanıldığında tarımsal üretim büyük ölçüde artabilecek ve çeşitlenebilecektir.Gerçek bir kalkınmadan söz edebilmek için ise yalnızca teknolojik değişim ölçüt kabul edilemez.Bölge içinde gelir dağılımının iyileştirilmesi,iş gücünün en iyi biçimde değerlendirilmesi,eğitim, sağlık,ulaşım,haberleşme gibi hizmetlerin yaygınlaştırılması,doğal kaynakların geliştirilmesi,sektörlerin dengeli olarak büyütülmesi,kentleşmenin düzenlenmesi,bölgede yaşayanların kalkınma çabasına ilişkin karar ve uygulamalara aktif olarak katılmaları kalkınmanın önemli yönleridir. Bütün bu değişimlerin teknik sorunların çözülmesinden daha güç sorunlarında beraber getireceği kuşkusuzdur.Doğacak sorunların çözümünü doğal akışına bırakmak bunların dahada ağırlaşmasından başka bir sonuç vermez (17).

Bugün Türkiye'de parazit hastalıkları insanlarda % 70 oranında hayvanlarda ise % 100 yaygınlık göstermektedir (40).Sulu tarımın bu oranı daha da arttıracığı endi-

sesindeyiz. Artış gösterebilecek hastalıklardan birisi de Kala-azar hastalığıdır. Yurdumuzda bu hastalığın varlığını ilk yazan Kristamonas'tır (23). Bu hekim Trabzonda kala-azar tesbit ettiğini bildirmiştir. 1918 yılında Dr Hofert Kaller İzmir civarında kala-azara rastlandığını bildirmiş, 4-6 Ekim 1948 tarihinde Ankara'da toplanan III. Türk Mikrobiyoloji Kongresinin ana konularından birini kala-azar oluşturmuştur (44). Çok eski bir geçmişe sahip olan bu hastalıkla mücadelede birçok batı ülkelerinde olumlu sonuçlar alınmış veya ortadan kaldırılmıştır. Ancak gelişmekte olan ülkelerde hala önemini korumaktadır.

Kala-azar'da klinik bulguların yanısıra laboratuvar tanı yöntemlerinde hastalığın teşhisi için büyük önem taşınması bu konuda daha kesin, duyarlı ve güvenilir sonuçlar verebilecek yöntemlerinin araştırılmasını zorunlu hale getirmiştir. Bu hastalığın tanısında, klinik tabloyu kanıtlayacak ve bizi kesin tanıya götürecektir direkt ve indirekt laboratuvar yöntemleri önem kazanmıştır.

Kala-azar'ın bir protozoon infeksiyonu olarak tanınmasından sonra, önceleri tanı için çeşitli direkt tanı yöntemleri ve özel olmayan bazı kimyasal testlerin kullanıldığı görülmüştür. Daha sonraları serolojik testlerin geliştirilmesiyle, KFT, FAT, IAT, DAT, IHA, EIA, kültür inhibisyon testleri hastalığın tanısında kullanılmaya başlanmıştır (7,8,14,20,21,25,34,43). Kala-azar'ın direkt laboratuvar yöntemleriyle tanısı tedavi edilmemiş hastalarda kolay, yetersiz tedavi edilmiş hastalarda zordur. En ucuz ve

kolay direkt tanı yöntemi kandan yayma ve kalın damla preparasyonlarının Giemsa ile boyanıp incelenmesidir. Fakat etkenin kanda görülmesi çok nadirdir. Etken kanda görülmediğinde, kemikiliğinde, dalak, karaciğer, lenf bezlerinden ponksiyonla alınan materyaller Giemsa ile boyanarak etken aranmaktadır. Kemikiliği ponksiyonunun boyandığı preparasyonlarda % 90 oranında pozitif sonuç alındığı bildirilmektedir (6). Ayrıca tedavi edilmiş hastalarda leishmanialar en son kemikiliğinde kaybolmaktadırlar (6). Çalışmamızda formol jel seropozitif ve ELISA ile IgG düzeyi yüksek seropozitif bulunan 4 olgunun kemikiliğinden yapılan yaymalarında Leishmanialar görülmüştür. En yüksek pozitiflik ise dalak ponksiyonlarından elde edildiği bildirilmektedir. HO.M ve arkadaşları (25) kala-azar tanısında dalak aspirasyonu ile ELISA yöntemini karşılaştırmışlardır. Çalışmaya göre dalak aspirasyonu % 98.4 duyarlı ve % 100 spesifik olduğu belirtilmiştir. Dalak aspirasyonu pozitif olan 62 hastanın antikor tesbiti ELISA ile pozitif bulunmuş sadece dalak aspirasyonu pozitif olan bir hasta ELISA ile negatif bulunmuştur. Sonuç olarakta ELISA'nın, dalak aspirasyonu kadar güvenilir olduğu belirtilmektedir (25). Karaciğer ponksiyon materyalinde ise % 77 olumlu sonuç alındığına dair çalışmalar vardır (6,41). Ancak en az tehlikeli ve kolay olması nedeniyle kemikiliği ponksiyonu tercih edilmektedir. Ayrıca etken invivo ve invitro olarakta üretilebilmektedir. Duyarlılığı % 100 olan kültürel teknik, zor ve zaman alıcıdır. Laboratuvar sonuçlarını beklemek

hastanın tedavisi yönünden dezavantajdır (16,18,32,37).

Kala-azar olgularında gamma-globulinlerde artma ve albumin miktarında azalma olduğu bilindiğinden,şüpheli hastalarda globulin-albumin oranını saptamak gerekir. Albumin-globulin oranının değişmesi esasına dayanarak geliştirilen indirekt tanı yöntemleride vardır.Bu yöntemlerden biride Napier'ın aldehit veya formol jel testidir. Yapılışı kolay ve ucuz olan bu tanı yöntemi infeksiyonunun başlangıcından 1 ay sonra pozitif olmaya başlar ve 3.4. ayda % 82.85 oranlarında olumlu sonuçlar alınır (44).Ancak tüberküloz, lepra, trypanosomiasis, malarya,shistosomiasis hastalıklarında da pozitif sonuç verir. Diğer taraftan Gate ve Papacostas çalışmalarında kala-azar tanısında formol jel yönteminin tanıda,değeri olmadığını ancak immüno-globulinlerin artışlarını gösterdiğinden önemli olabileceğini bildirmektedirler (27).Nitekim ELISA yöntemiyle seropozitif olan 31 olgunun (%38.75) 13 tanesinde formol jel pozitif saptanmıştır.Bunun yanısıra ELISA ile IgG düzeyi yüksek seropozitif bulunan 6 olgunun formol jel reaksiyonuda pozitifti.Bu 6 olguya klinik tarafından kala-azar tanısı konulmuştur.

Laboratuvar çalışmalarının teknik açıdan her geçen gün kendini yenilemesi kullanılan testler arasındaki farklılıgıda arttırmıştır.Kala-azar tanısında kullanılan ilk serolojik yöntemlerden biriside Kompleman Birleşmesi Yöntemidir.Çeşitli araştırmacılar tarafından kullanılan değişik antiijenler nedeniyle bu test nonspesifik ve spesifik

olarak bildirilmekte,son çalışmalarda da pratikte bir değeri olmadığı ifade edilmektedir (7).Daha sonraki yıllarda FAT,IHA,IFAT,DAT,ELISA yöntemleri geliştirilerek kala-azar tanısında kullanılmaya başlanmıştır.Bugün ideal laboratuvar çalışmaları içerisinde ilk sırayı ELISA,IFAT, DAT testleri almaktadır (19,20,21,25,34,43).

Sudan'da kala-azar'lı hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada DAT ve ELISA yöntemleri karşılaştırılmıştır (34). Kenya'da yapılan diğer bir çalışmada (21) kala-azar'lı hastalarda DAT kullanılmıştır. Sonuç olarak DAT'ın % 100 duyarlı, % 98.8 spesifik bulunduğu belirtilmiştir.Üçüncü Dünya ülkelerinde yapılan bu çalışmalarda DAT'ın daha ekonomik olması nedeniyle ELISA ile mukayesesine gidilmiş ve rahatlıkla kullanabileceği belirtilmiştir (21,34). Daxbury ve Sadun (12) kala-azar'ın laboratuvar tanısında güvenilir bir test olarak geliştirilmek istenen IFA yöntemini leishmania donovaninin kültür serumları olan leptomonaslar ile denemişlerdir.Endemik bölgelerdeki kala-azar'lı hastaların serumlarını kullanan araştırmacılar, farklı leishmania türleri ve diğer çeşitli virütik,mikotik, parazitik infeksiyonlu olan hastaların serumlarında çapraz reaksiyon derecesine karar vermek için çalışmışlardır.Çalışma sonucunda IFA,immün serumlarının kullanıldığı yöntemlerde,leishmania donovaninin kültür şekillerinin belirgin sarımsı-yeşil floresan rengi,aynı yöntemin uygulandığı normal serumlardan açık bir şekilde ayırt edilmiştir. 30 kala-azar'lı hastanın 29'unda pozitif sonuç alan araştırıcı-

cılar,aktif leishmania donovani infeksiyonunu takiben hastalarda IFA yöntemi ile gösterilebilen spesifik antikorların meydana geldiğini ispatlamışlardır.Cock.K.M ve arkadaşları (10) Kenya'da kala-azar'ın teşhisi için uyguladıkları ELISA yönteminde 14 günlük kültürdeki promastigot formlarını sonikasyonla parçalayarak eriyik antijen haline getirmişler ve antijen konsantrasyonu olarak 5 mg protein/ml olacak şekilde kullanmışlardır.Aynı araştırmacılar herhangi bir sebeple splenomegali,hepatosplenomagelisi olan hastalarda ELISA yöntemiyle yaptıkları incelemede antikor absorbasını normal kişilerde 0.35'in altında,kala-azar'lı hastalarda 0.70'in üstünde bulmuşlardır ve ELISA yönteminin kala-azar'ın teşhisi için uygun ve güvenilir olduğunu aynı zamanda IFA,IHA,CF yöntemlerinin yerine geçebileceğini ileri sürmüşlerdir (10).

Yurdumuzda da kala-azar'la ilgili birçok yayın vardır (2,3,4,11,13,24,29,36).

Aksaray ve arkadaşları çalışmalarında 16 kala-azar vakasının tanı ve tedavisine ait sonuçları bildirmişlerdir (2). Macide Ak (1) kala-azar şüpheli 50 hastadan elde edilen serumlarda ELISA ve IFA yöntemi ile antikor araştırmış ve sonuçları karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak kala-azar hastalığının tanısında daha güvenilir ve hassas sonuç elde etmek için partikül antijen kullanılarak uygulanan IFA yönteminin yanısıra,eriyik antijen kullanılarak uygulanan ELISA yönteminde kullanılmasının faydalı olabileceğini belirtmektedir (1).Bölgemizde kala-azar'la ilgili

çalışmalardan birisi Eevli ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır (13).Bu çalışmada 8 ocuk kala-azar vakası ve tedavi sonuçları bildirilmiştir.Vakaların hepsi Güneydoğu Anadolu bölgesindedir.Bizde alışmamızda laboratuvarımızda rutin tanı yöntemi olarak kullanılan formol jel yönteminin tek başına yeterli olmadığını fakat tanı için iyi bir destekleyici olarak ELISA ile birlikte uygulanmasının gerektiğini söyleyebiliriz.

SONUÇ

Kala-azar bölgemizde yapılan çalışma ve laboratuvar testleri sonucunda şimdilik çok önemli bir sağlık sorunu oluşturmamaktadır. Ancak; GAP nedeniyle sulu tarıma geçecek olan bölgemizde hele bu hijyen koşulları devam ettikçe kala-azar'ın önemli bir sorun olması kaçınılmazdır. Özellikle infeksiyon 2-12 yaş grubu arasındaki çocuklarda daha çok görülmesi konuyu dahada anlamlı kılmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü'nün raporlarına göre kala-azar sıklığını belirleyen faktörlerin başında, kötü hijyen şartları ve düşük sosyo-ekonomik düzey gelmektedir. Bunu iklim, bitki örtüsü, tatarcıklar, nüfus yoğunluğu ve eğitim düzeyi izlemektedir.

Her ne kadar iklim, bitki örtüsü değiştirilmesede parazitle mücadele, hastaların erken teşhisi ve tedavisi, kitle teşhis ve taramaların kısa zamanda yapılması, tatarcıklarla mücadele, rezervuarların ortadan kaldırılması, tatarcıklardan kimyasal ve mekanik korunma tedbirleri ve halkı sağlık eğitimi yönünden bilinçlendirme her zaman olasıdır.

Sözünü ettiğimiz bu kuralların yanısıra klinik ve laboratuvara çok görev düşmektedir. Özellikle kala-azar'ın endemik olduğu alanlarda vektör rezervuar taraması yapılması ve laboratuvarlarda en son yöntemlerle klinisyen ile laboratuvarcının birlikte çalışarak koyacakları tanı daha da anlamlı olmalıdır.

Sonuç olarak yurdumuzda yaygın olan protozoon ve helmint hastalıklarının tanısında kliniklere yardımcı olabilmek için serolojik yöntemlerin süratli ve güvenilir sonuçlar verebileceğini ancak çapraz reaksiyon olasılığının her zaman akılda tutulması ve sonuçların buna göre değerlendirilmesi, tüm paraziter hastalıkların teşhisinde mümkünse birden fazla serolojik yöntemle çalışılmasının yararlı olacağını söyleyebiliriz.

Dileğimiz bütün paraziter infeksiyonların tanısında modern, pratik ve anlamlı yöntemlerin geliştirilmesidir. Bundan da önemlisi halka hastalıklardan korunma yolları eğitiminin verilmesidir.

ÖZET

Bu araştırma, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları Anabilim Dalı'na başvuran ve klinik olarak kala-azar ön tanılı 80 olgu üzerinde gerçekleştirildi. Olguların hepsinde IgG antikoru ELISA yöntemiyle arandı. Ayrıca formol jel testi uygulandı.

Kala-zar şüpheli 80 olgunun % 38.75'inde IgG antikoru seropozitif olarak bulundu. Formol jel testinde % 20'si seropozitifti.

Elde edilen bulgular istatistiksel olarak değerlendirildi. Tüm bulgularımızın ışığı altında tanıda laboratuvarın önemi ve kala-azar'la savaşta alınacak tedbirler konusuna değinildi.

SUMMARY

This research were carried out in 80 patients who applied for the Pediatrics Clinic of Dicle University and were diagnosed as kala-azar clinically. The antibody IgG were searched in all the patients by ELISA method. Further more the formol gel test were applied.

The antibody IgG were found seropositive in 38.75% of the 80 patients diagnosed as kala-azar which was not certain. In the formol gel test the 20% were seropositive.

The data obtained were evaluated statistically. Under the light of our data the importance of the laboratory in diagnose and the precautions in fighting against the kala-azar were treated.

KAYNAKLAR

- 1-Ak M: Kala-Azar tanısında değişik antijenlerle serolojik araştırmalar. T.P.Dergisi XII (3-4) s:39, 1989.
- 2-Aksaray N,Kılınc Y,Kümi M: The hemotological effect of Glucantime in visceral Leishmaniasis.Ç.Ü.Tıp Fak.Derg., 1-19, 1984.
- 3-Aksaray N,Kümi M,Kılınc Y,Tanyeli A:Çocukluk çağındaki Kala-Azar olgularının incelenmesi.Ç.Ü.Tıp Fak.Derg.,13: 1, 1988.
- 4-Başer Y,Gültürk R,Özensoy A ve Ark., Bir vaka nedeniyle Kala-Azar 1.Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi İzmir 20-23 Nisan 1987.
- 5-Bektaş Ş: Kala-Azar Yeni Tıp Dergisi (enfeksiyon hastalıkları özel sayısı) 7,4-53, 1990.
- 6-Belding DL: Textbook of Clinical Parasitology Third Edition. App. Cent-Crofts Inc. New York U.S.A 212,1199, 1976.
- 7-Bray RS:Immunodiagnosis of Leishmaniasis.In immunology of parasitic infections.Edition by Cohen and Sadun, 6,64, 1976.
- 8-Cenini P, AM Reeve RA. Neal: Two new techniques for quantitative determination of Leishmania amastigotes 2,83.194, 1989.
- 9-Çetin ET, Ang Ü, Töreci K: Tıbbi Parazitoloji (Kitap). İstanbul Univ.Tıp Fak. Yayınevi. 96, 1983.
- 10-Cock KM, Hodgen AN, Channon JY, Arapsiongok SB, Lugas SB, Rees PH: Enzyme-linked immunosorbent

- assay (ELISA) for the diagnosis of visceral leishmaniasis in Kenya. The Jour of infect diseases. 151:4,750, 1985.
- 11-Degertekin H, Yenice N, Aksoy N, Uslusoy H, Mete D.: Bir Kala-Azar vakası. T.Klin.Gastroenterohepatoloji 2,1991.
- 12-Duxburg RM, Sadun EH : Fluorescent antibody test for serodiagnosis.Am.J. Trop.Med. Hys. 13:525, 1964.
- 13-Elevli M, Haspolat K, Aktar I: Klinikimizde 1988-1990 yılları arasında izlenen Kala-Azar olgularının değerlendirilmesi.Klimik, 1991.
- 14-Faust EC, Russel PF and Jung RC : Clinical parasitology. Eight. Edit, 96, 1970.
- 15-Feigir RD, Chery JD: Textbook of Pediatric Infections Diseases, 2nd Ed.Philadelphia, Saunder.Co, 1987.
- 16-Fraikel S, Reitman S: Gradwohl's Clinical Parasitology. Sixth Edit. 904, 1013, 1963.
- 17-GAP Tarımsal Kalkınma Sempozyomu 8-12 Kasım 1989.
- 18-Glaser A, Wells JS, Spithill WT, Pettitt MJ, Humphris CD, Mukkada JA : Leishmania major and L.donovani: A method for Rapid Purification of Amastigotes.Experimental Parasitology. 71.343, 1990.
- 19-Halevy D, Sarou B, Sarou I, ON J.:Cutaneous leishmaniasis serodiagnosis by immunoperoxidase assay.Israel Jousnet of Medical Sciences, Vol.26, 1990.
- 20-Harith AE, Kolk AHJ, Kager PA, Leeuwenburg J, Muigai R, Kivgu S, Laarmen JJ: A simple and economical direct agglutination test for serodiagnosis and sero-epidemi-

- ological Studies of visceral leishmaniasis. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 80:583, 1989.
- 21-Harith EA, Kolk HJA, Leeuwenburg J, Muigai R, Huigen E, Jelsma T, Kager AP : Improvement of a Direct Agglutination Test for Field Studies of visceral leishmaniasis. Journal of Clinical Microbiology. 1321, 1988.
- 22-Harith EA, Slappendel RJ, Reiter I, Knapen F, Korte P, Huigen E, Kolk AHJ: Application of direct agglutination test for detection of specific anti-Leishmania antibodies in the canine reservoir. Journal of Clinical Microbiology. 2252, 1989.
- 23-Heynenan D, Hoogstraal, Djigounian A: Bibliography of Leishmania and Leishmanial Diseases. United States Naval Medical Research Unit-Number three (Nanru-3) Cairo, Egypt, 1980.
- 24-Hıçsönmez G, Özsoylu S: Studies of the anemia of Kala-Azar in 68 childhood cases. Clin, 16:733, 1977.
- 25-Ho M, Leeuwenburg J, Mbuqua G, Wamachi A, Voller A: An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for field diagnosis of visceral leishmaniasis Am. J. Trop. Med. Hyg. 32 (5). 943, 1983.
- 26-Howard JB, Klaus J, Rubin JS, Weissfeld A, Tilton CR : Clinical and Pathogenic Microbiology (Kitap). Toronto 722, 1987.
- 27-Jadin J, Ray dela-Famere L: Diagnostic dela leishmaniasse viscerale parla reaction de l'inhibition dela culture. Bull. Soc. Patho. Exot. 63:334, 1970.

- 28-Jawetz E,Melnick LJ,Adelberg AE : Review of Medical Microbiology. 542, 1986.
- 29-Köse G,Özkan H,Kaya S: Kala-Azar (iki olgu nedeni ile) 5. Ulusal Parazitoloji Kongresi Adana.
- 30-Marvashivili CDM: Epidemiology of visceral Leishmaniasis of mediterranean type ussr Ministry of Health, Berneleya Inst.Epid and Vicr. 1-20, 1980.
- 31-Medivenci A:Medikal Protozooloji (Kitap).Istanbul.1974.
- 32-Medivenci A:Medikal Protozooloji Pratigi.1.Ü.Cer.Tıp Fak.Yayınları Istanbul. 89, 1979.
- 33-Report of A Expert Committee: The Leishmaniasis world Health organisation.Genova, 1984.
- 34-Safı EHS, Evans AD : A comparison of the direct agglutination test and enzyme-linked immunosorbent assay in the serodiagnosis of Leishmaniasis in the Sudan.Trans R.Soc.Trop.Med. Hys. 83.334, 1989.
- 35-Sümbüloğlu K,Sümbüloğlu V: Biyoistatistik Çağ Matbaası. Ankara 82, 1987.
- 36-Talak K, Aksüyürek Ç, Sarıbaş S: Bir olgu nedeniyle Kala-Azar tedavisi ve izlemi.Dr.Sami Ulus Çocuk Hast. Ar.Gel.Der.Yay. 9:13, 1989.
- 37-Taylar AER, Baker JR: The cultivation of parasites in vitro part: 1,cultivation of protozoa. 3-45, 1968.
- 38-Türkiye Parazitoloji Dergisi Sayı 3-4, 1991.
- 39-1. Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kitabı. İzmir, 1987.

- 40-6. Ulusal Parazitoloji Kongresi Raporu T.parazitoloji Dergisi XII (3-4), 1989.
- 41-Unat EK : Tıp Parazitolojisi.Insan ökaryonlu parazitleri ve bunlarla oluşan Hastalıkları İstanbul.540,1979.
- 42-Unat EK: Tıp Parazitolojisi.İstanbul 580, 1982.
- 43-Xiaosu H, Qing L, Feng-qing L, Tao-lin Y, Ya-sin W, Zhi Q, Ping L, Ling W: Kala-Azar Infected serum curculation antigens and their characteristics detected by monoclonal antibody.Clin Med. 101,1, 1988.
- 44-Yaşar Ş:Leishmaniasis, 2.Ulusal Parazitoloji Kongresi Kitabı. T.parazitoloji Derneği Yay. İzmir, 1981.