

Dört Çocuk Hastada İndirekt Floresan Antikor Test Kullanımı ile *Visceral Leishmaniasis* Tanısının Değerlendirilmesi

Evaluation of *Visceral Leishmaniasis* Diagnosis Using Indirect Fluorescent Antibody Tests in 4 Pediatric Patients

Yasemin Işık Balcı¹, Meral Türk², Arzu Özgür³, Kazım Küçüktaşçı⁴

¹Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Hematoloji Bilim Dalı, Denizli, Türkiye

²Denizli Devlet Hastanesi, Parazitoloji Bölümü, Denizli, Türkiye

³Servergazi Devlet Hastanesi, Pediatri Bölümü, Denizli, Türkiye

⁴Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri Bilim Dalı, Denizli, Türkiye

ÖZET

Çocuklardaki *Visceral Leishmaniasis* (VL), sıklıkla 2-4 yaş arasında görülür ve enfeksiyon uzun süren ateş, halsizlik, kilo kaybı, hepatosplenomegali ve pansitopeniye sebep olur. Türkiye'deki VL etkeni *Leishmania infantum*'dur. Bu çalışmada 4 pediatrik VL hastası retrospektif olarak incelenmiştir. Kemik iliği aspirasyonu 2 hastaya yapıldı ve *Leishmania* amastigotları saptanamadı. Tüm hastalarda *Leishmania* antikorları indirekt immün floresan antikor (IFAT) ile pozitif bulundu. IFAT'ın pediatrik hastalarda güçlü klinik şüphe var ise VL'in kesin tanısında parazit saptanması için uygun bir alternatif olduğunu düşünmekteyiz. (*Türkiye Parazitol Derg* 2011; 35: 114-6)

Anahtar Sözcükler: *Visceral leishmaniasis*, IFAT

Geliş Tarihi: 01.09.2010

Kabul Tarihi: 19.05.2011

ABSTRACT

Visceral Leishmaniasis (VL) in infancy is mostly seen between the ages of 2-4 ,and visceral infection causes long standing fever, weakness, weight loss, hepatosplenomegaly and pancytopenia. *Leishmania infantum* is responsible for VL in Turkey. In this study, 4 pediatric cases of VL were analysed retrospectively. Bone marrow aspirate was obtained in two cases and *Leishmania* amastigotes were not obtained in these cases. *Leishmania* antibodies by the indirect immunofluorescent antibody test (IFAT) were positive in all cases. We consider that IFAT was a suitable alternative to parasite detection in the conclusive diagnosis of *visceral leishmaniasis* in pediatric patients when strong clinical suspicion is present. (*Türkiye Parazitol Derg* 2011; 35: 114-6)

Key Words: *Visceral leishmaniasis*, IFAT

Received: 01.09.2010

Accepted: 19.05.2011

GİRİŞ

Visceral leishmaniasis (VL) retikuloendotelial sistemi tutan yaygın bir enfeksiyon hastalığıdır (1). Ülkemizde hastalık Ege ve Akdeniz bölgelerinde endemik, diğer bölgelerde ise sporadik seyretmektedir. Türkiye'de yapılan moleküler düzeydeki çalışmalarda VL'de etkenin *L. infantum* olduğu saptanmıştır (2). Ana rezervuarı köpekler ve kemiricilerdir. Etkenin insana bulaşı, enfekte dişi tatarcık sinekleri (*phlebotomus*, yakarca) ile olmaktadır (3). Enfekte yakarca insanı sokunca, tükrüğü ile promastigotları deriden içeriye verir.

Makrofajlar tarafından fagosite edilen promastigotlar, amastigot şekline dönüşerek bölünmeye ve çoğalmaya devam eder. Makrofajların parçalanmasıyla serbestleşen amastigotlar tekrar makrofajları enfekte ederek karaciğer, dalak, kemik iliğine yayılarak hastalığa neden olur (4). Ateş, iştahsızlık, halsizlik, solukluk ve karın şişliği en sık başvuru nedenlerindedir. Fizik incelemede sıklıkla splenomegali ve hepatomegali vardır. Pansitopeni, karaciğer enzimlerinde yükselme, hipergammaglobulinemi ve serum albümin düzeyinde düşüklük saptanır (5).

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Yasemin Işık Balcı, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Hematoloji Bilim Dalı, Denizli, Türkiye Tel.: +90 0258 263 93 11 Faks: +90 258 261 92 06 E-posta: dryibalc@gmail.com

doi:10.5152/tpd.2011.28

VL olgularının %80'i beş yaş altındadır. Kuluçka döneminin uzun olması ve başlangıç bulgularının özgül olmaması nedeniyle çocuklarda tanı koymak güçtür ve çoğunlukla gecikir. Kemik iliği, ponksiyon materyalinin Giemsa, Wright boyaları ile boyanması ile amastigotlar görülerek tanıya ulaşılır. Serolojik tanı yöntemlerinden, İndirekt Floresan Antikor Testi (IFAT) en güvenilir yöntemlerden biridir (4-6). Bu yazıda kemik iliği aspirasyonunda amastigot görülemeyen ya da kemik iliği aspirasyonu yapılamayıp IFAT ile tanı alarak tedavi edilen 4 VL çocuk hasta sunulmuştur.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya alınan 4 hasta Denizli'nin farklı merkezlerinden (Çardak, Bozkurt, Güney, Sarayköy) gelmekte idi. İki hastaya kemik iliği aspirasyonu yapılmış fakat amastigot görülememiştir. 2 hastaya ise kemik iliği aspirasyonu, ailesi izin vermediği için yapılamamıştır. Dört hastanın tanısı da IFAT ile güçlü floresan ışımaya ile konulmuş, 1-5 ve 10. gün verilen lipozomal amfoterisin-B 3mg/kg/gün ile başarılı bir şekilde tedavi edilmiştir.

IFAT' da (Euroimmun®) kiti kullanılmıştır. 1/100 serum dilüsyonları ile test çalışılmıştır. *Leishmania donovani* promastigotları ile kaplı biochip lamalar ve floresan işaretli anti-human IgG (goat) [konjuge] kullanılarak 1/100 serum dilüsyonlarında test çalışıldı. Floresan mikroskopta incelendi. 1/ 100 dilüsyonlardaki hastaların floresan ışımaları pozitif kontrole göre zayıf, orta, güçlü floresan ışımaya olarak değerlendirildi. Bizim 4 hastamızda da güçlü floresan ışımaya saptanmıştır.

BULGULAR

Hastaların 3'ü kız, 1'i erkek olup yaşları 18-34 ay arasında idi. 1hafta-10 gün öncesinden başlayan ateş, solukluk ve karında şişlik şikayetleri ile getirilmişti. Hiçbirinde immün yetmezlik ya da kronik hastalık yoktu. Hastaların klinik ve laboratuvar bulguları Tablo 1'de gösterilmiştir. Tedavi sonrası 3. günde ateş düşmüş, 7-13 gün içinde pansitopeni, 12-34 gün içinde klinik bulgular düzelmiştir. 6 aylık izlem süresince hiçbir hastada VL tekrarı görülmemiştir.

TARTIŞMA

VL, retiküloendotelial sistemi tutan, daha çok çocuklarda görülen protozoon enfeksiyondur. Kuluçka süresi 10-14 günden 10 yıla kadar değişebilmekte olup ortalama 2-4 aydır. Enfeksiyonun başlangıç dönemi, vücut ısısının ani olarak 39-40°C'ye kadar çıkması ve kusmalarla olabileceği gibi, çoğunlukla sinsidir. Solukluk, iştahsızlık ve zayıflama vardır. Başlangıçta subfebril bir ateş mevcuttur. İlk iki hafta sonrası, sabahları düşüp akşamları yükselen veya günde iki kez titremeyle yükselen ateş, bol terleme ile düşer. Dalak her ateşte biraz daha büyür. Karaciğerin büyümesi ise daha yavaştır (7, 8). Ülkemizde VL insidansını tam olarak belirten bir çalışma yoktur. Sağlık Bakanlığı verilerine göre yıllık 37 hasta gibidir. Türkiyede çocukluk yaş grubunda sıklıkla Akdeniz tip VL görülmektedir. Bu grupta 10 yaş altı çocuklarda splenomegali, hepatomegali, pansitopeni, hipergamaglobuine-mi ön planda iken lenfadenopati ve hiperpigmentasyon yaygın değildir (9). Hastalarımızın Akdeniz tipi ile benzer şekilde yaşları

Tablo 1. Kala-azar tanısı alan hastaların özellikleri

Hasta No.	1	2	3	4
Yaş (Ay)	19	18	34	27
Cinsiyet	K	K	E	K
Başvuru Şikayeti				
Ateş	+	+	+	+
Solukluk	+	+	-	+
Karında Şişlik	-	+	+	+
Tanı Sırasında				
KC büyüklüğü (cm)	4	3	6	5
Dalak büyüklüğü (cm)	2	4	4	6
Hemoglobin (g/dl)	7.4	6.3	9.5	7.2
Lökosit (10 ³ /UL)	2800	3700	4200	3100
Trombosit (10 ³ /UL)	46000	58000	103000	24000
ALT (U/L)	203	118	92	318
AST (U/L)	78	63	98	233
Alb./Glob. (g/dl)	2.3/4.8	1.8/4.4	1.9/5.8	2/5.2
LDH (U/L)	1387	2145	1835	2302
IFAT	1/256	1/256	1/256	1/256
KİA (amastigot)	Görülemeydi	Görülemeydi	Yapılmadı	Yapılmadı
Sonuç	Şifa	Şifa	Şifa	Şifa
Alb./Glob: Albümin/Globulin, LDH: Laktikdehidrojenaz, KİA: Kemik iliği aspirasyonu, KC: Karaciğer, ALT: Alaninaminotransferaz, AST: Aspartataminotransferaz, IFAT: İmmunfloresan antikor test				

18-34 ay arasında olup, hepatosplenomegali, pansitopeni var idi. Lenfadenopati ve hiperpigmentasyon saptamadık. Denizli, Ege bölgesinin güneyinde yer alan, ılıman iklime sahip bir şehrimizdir. İlimizde daha önce yapılan bir çalışmada Honaz, Kale, Gümüşçay bölgelerinde 329 çocuk ve 217 217 erişkin taranmış ve yalnızca Honaz ilçesinde 2 erişkinde seropozitiflik saptanmıştır (10). Hastalarımızın tarama yapılan bölgelerden olmaması ilginçtir.

Kültürde organizmanın üretilmesi veya dokularda amastigotların gösterilmesi ile VL'in kesin tanısı konur. Karaciğer biyopsisi ve dalak ponksiyonu değerli tanı yöntemleri olsalar da her ikisi de hayatı tehdit eden hemoraji riski taşır. Kemik iliği aspirasyonu güvenilir bir tanı yöntemidir. Amastigotlar, Giemsa ve Wright boyasıyla %54-86 olguda görülür. Kemik iliği aspiratlarının "Novy-MacNeal-Nicolle (NNN)" veya "Schneider insect medium" besiyerine ekimi yapılır. Promastigotlar, kültürde oda ısısında 10-20 gün içinde ürerler. Türkiye'de VL düşünülen çocuk hastalarda yapılan kemik iliği kültürü çalışmalarda, NNN besi yerinde kültür pozitifliği %16.6 ve %14.2 olarak bildirilmiştir (6, 11, 12). Serolojik tanı yöntemleri içinde Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ve IFAT güvenilir tanı yöntemleridir. IFAT, VL tanısı için sıkça kullanılan bir yöntemdir. Promastigot ve amastigot formlarından hazırlanan antijenler kullanılır. %90 olumlu sonuç verir (6). Literatürde asemptomatik olup IFAT(+) saptanan olgular vardır (10). Ayrıca klinik bulgular ile birlikte IFAT pozitifliğinin VL tanısı için çok anlamlı olduğu bildirilmiştir (13). Ülkemizden yapılan bir çalışmada kemik iliği aspirasyonunda amastigotların görülme oranı %69.2 olarak saptanmış fakat IFAT ile tüm hastaların VL (+) olduğu gösterilmiştir (9). İki hastamızda kemik iliği aspirasyonunda amastigot saptanılmadı. İki hastamızın da aile izni olmaması nedeni ile kemik iliği aspirasyonunu yapılamadı. VL tanısını IFAT ile koyduk. Hasta sayımız az olmakla birlikte kemik iliği aspirasyonunun yapılamadığı veya yapıp da amastigotların görülemediği hastalarda serolojik tanı yöntemlerinin kullanılmasının çocukluk yaş grubunda böylesi fatal seyrebilecek bir hastalığın tanısını koymada çok önemli olduğunu düşünmekteyiz.

SONUÇ

VL çocuklarda hızlı tanı konularak hemen tedavi edilmesi gereken bir hastalıktır. IFAT, VL tanısında sensitivitesi yüksek bir testtir.

Girişimsel bir yöntem olan kemik iliği aspirasyonu, VL'in ayrıcı tanısı için önemli bir inceleme şeklidir. Sunduğumuz hasta sayısı sınırlı olsa da kemik iliği aspirasyonunun yapılamadığı veya tanıya yardımcı olamadığı durumlarda IFAT klinisyene yardımcı olan önemli bir alternatif teknik olduğu sonucuna varılmıştır. Denizli bölgesinde VL için seroepidemiolojik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Minodier P, Garnier JM. Childhood visceral leishmaniasis in Provence, Arch Pediatr 2000; 7: 572-7. [CrossRef]
2. Ozensoy S, Ozbel Y, Turgay N Alkan MZ, Gul K, Gilman-Sachs A, et al. Serodiagnosis and epidemiology of visceral leishmaniasis in Turkey, Am J Trop Med Hyg 1998; 59: 363-9. [CrossRef]
3. Günay Ü, Baytan B, Güneş AM. Çocukluk Çağında Kala-Azar. Güncel Pediatri 2005; 3: 86-9.
4. Özgüven V, Kala-azar. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi, 2000; 233-7.
5. Melby PC, Leishmania, "Beherman RE, Kliegman RM, Jenson HB (eds): Nelson Textbook of Pediatrics, 16th ed." kitabında s.1041-1044, WB Saunders Company, Philadelphia 2000.
6. Kuman HA, Altıntaş N. Leishmanialar. Protozoon Hastalıkları. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi 1996; 79-100.
7. Tanır G, Ozkan AT, Daglar E. Pediatric visceral leishmaniasis in Turkey. Pediatrics International 2006; 48: 66-9. [CrossRef]
8. Dursun O, Erişir S, Yeşilipek A. Visceral childhood leishmaniasis in southern Turkey: experience of twenty years. Turk J Pediatr 2009; 51: 1-5.
9. Yılmaz EA, Tanır G, Tuygun N, Özkan AT. Visceral Leishmaniasis in 13 pediatric patients in Turkey: Treatment Experience Türkiye Parazitoloji Dergisi 2009; 33: 259-62.
10. Ozensoy Töz S, Sakru N, Ertabaklar H, Demir S, Sengul M, Ozbel Y. Serological and entomological survey of zoonotic visceral leishmaniasis in Denizli Province, Aegean Region, Turkey. New Microbiol 2009; 32: 93-100.
11. Hiçsönmez G, Caglar K, Renda N. Kala-Azar. Katkı Pediatri Dergisi 1985; 34: 3-4; 256-60.
12. Totan M, Dagdemir A, Muslu A, Albayrak D. Visceral childhood leishmaniasis in Turkey, Acta Pediatr 2002; 91: 62-4. [CrossRef]
13. Brustoloni YM, Cunha RV, Dorval ME, Oshiro ET, Pontes ER, Oliveira AL, et al. Comparison of conventional methods for diagnosis of visceral leishmaniasis in children of the Center-West Region of Brazil. Braz J Infect Dis 2007; 11: 106-9. [CrossRef]