

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

PLASMODİUM VİVAX'IN TANISINDA KALIN DAMLA İLE
İMMÜNOKROMATOĞRAFİK YÖNTEMİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. İbrahim KOCAÇİFTÇİ

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. İ. Soner KOLTAŞ

ADANA-2007

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

***PLASMODİUM VIVAX*'IN TANISINDA KALIN DAMLA İLE
İMMÜNOKROMATOĞRAFİK YÖNTEMİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. İbrahim KOCAÇİFTÇİ

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. İ. Soner KOLTAŞ

Bu çalışma Ç.Ü.Rektörlüğü Araştırma Fonu TF.2003.LTP.18 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

ADANA-2007

TEŐEKKÖR

Uzmanlık öğrenciliği eğitimim süresince yetişmemde büyük katkıları ve emekleri olan, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, değerli hocalarım Prof.Dr.Kadri ÖZCAN, Prof.Dr.Akgün YAMAN ve Doç.Dr.İ.Soner KOLTAŞ'a;

Tezimin hazırlanmasında bana yol gösterip, bilgi ve deneyimlerini aktarıp yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç.Dr.İ.Soner KOLTAŞ'a tüm değerler ve paylaşımlar adına,

Diyarbakır İlinde bulunduğum süre içerisinde, tez çalışmalarımnda yardımlarını esirgemeyen Diyarbakır İl Sağlık Müdür Yardımcısı Hakan KARAKAŐ, Sıtma Savaş İl Sorumlusu Faysal HATİPOĞLU, Bismil ve Silvan İlçe Sıtma Savaş Sorumlusu arkadaşlara,

Beş yıl boyunca çok şey paylaştığım değerli Yüksek Lisans öğrencileri, biyolog, teknisyen ve sekreter arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Dr.İbrahim KOCAÇİFTÇİ

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO.

TEŞEKKÜR

İÇİNDEKİLER	i
ŞEKİLLER DİZİNİ	iii
TABLolar DİZİNİ	iv
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Sıtmanın Tanımı	3
2.2. Sıtmanın Tarihi	3
2.3. Plasmodiumlar	4
2.4. Plasmodiumların Yapısı	4
2.5. Yaşam Döngüsü	5
2.5.1. Şizogoni	5
2.5.2. Sporogoni	6
2.6. Sıtmanın Vektörleri	7
2.7. Sıtmanın Patogenezi	8
2.8. Sıtmanın Patolojisi.....	8
2.9. Sıtmanın Epidemiyolojisi	9
2.10. İmmünoloji.....	10
2.11. Klinik	11
2.12. Tedavi	13
2.13. Korunma	14
2.14. Sıtmanın Tanısı.....	15
2.14.1. Doğrudan Tanı Yöntemleri.....	15
2.14.2. İndirekt Tanı Yöntemleri	18
2.14.2.1. IFAT	19
2.14.2.2. İHA	19
2.14.2.3. ELİSA	19

2.14.2.4. Moleküler Biyoloji Tanı Yöntemleri.....	20
2.14.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	20
2.14.2.6. Kantitatif Buffy Coat Yöntemi (QBC).....	21
2.14.2.7. Hızlı Tanı Testleri.....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	24
3.1. Mikroskopik Bakı ve Parazitemi Sayımları	25
3.2. OptiMAL Test İle Sıtma Tanısı	25
4. BULGULAR.....	28
5. TARTIŞMA	31
6. KAYNAKLAR.....	35
7. ÖZGEÇMİŞ	39
EKLER	
Ek 1. Sıtma Araştırma Bilgi Formu	
Ek 2. Etik Onam Kurul Kararı	

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA NO.

Şekil 1. Üç <i>Plasmodium</i> türünün kalın damla kan preparatındaki görünüşleri.....	5
Şekil 2. <i>Plasmodium</i> 'ların insan ve sivrisinek vücudundaki yaşam döngüsü	7
Şekil 3. Üç sıtma türünde görülen tipik ateş şeması	12
Şekil 4. a) <i>P. vivax</i> tanısında negatif OptiMAL test sonucu.....	26
b) <i>P. vivax</i> tanısında pozitif OptiMAL test sonucu	26
Şekil 5. OptiMAL test kiti.....	27

TABLÖLAR DİZİNİ

SAYFA NO.

Tablo 1. Dünyada ilk 12 sırada yer alan ölüm nedenleri	9
Tablo 2. Dünyada ilk 10 sırada yer alan enfeksiyon hastalıkları	10
Tablo 3. İnce yayma ve kalın damla kan preparatlarının sıtma açısından incelenmesi	16
Tablo 4. Boyalı ince yayma preparatlarındaki enfekte eritrositler ve <i>Plasmodium</i> 'lardaki ayırt edici değişiklikler	17
Tablo 5. İnce yayma kan preparatlarındaki <i>Plasmodium</i> 'lar ile enfekte eritrositlerde görülen değişiklikler	18
Tablo 6. Sıtma antikorlarının saptanmasında sıklıkla kullanılan serolojik yöntemler	19
Tablo 7. Hastaların bölgelere göre dağılımı ve kalın damla preparatların sıtma açısından durumu	29
Tablo 8. Kalın damla preparatları sıtma pozitif saptanan hastaların yaş gruplarına göre dağılımı	29
Tablo 9. OptiMAL tanı testi ve kalın damla preparatların mikroskop bakışı sonuçları	30
Tablo 10. Kalın damla preparatları pozitif olan hastalardaki parazitemi yoğunluğu	30
Tablo 11. OptiMAL test sonuçları ile kalın damla preparatlarının mikroskop bakışı sonuçları	30

ÖZET

***PLASMODIUM VIVAX* TANISINDA KALIN DAMLA İLE İMMÜNOKROMATOĞRAFİK YÖNTEMİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dünyada sıtmalılı bölgelerde üç milyardan fazla insan yaşamaktadır. Her yıl 300 milyon insan sıtma enfeksiyonuna yakalanmakta ve 2,5 milyon insan sıtmadan ölmektedir. İnsanda sıtmaya dört tür sebep olmaktadır. Tüm sıtma olgularının % 95'inin nedeni *Plasmodium vivax*'tır. Sıtma paraziti insanlara dişi Anofel sivrisineklerinin ısırması ile geçmekte ve sıtma epidemileri gelişmektedir. Bu epidemiler gelişmekte olan ülkelerde sağlık altyapısı ve yerel ekonomiler üzerinde güçlü etkiler yapmaktadır. Sıtma parazitinin saptanmasında klasik altın standart yöntem kalın damla kan preparatlarının incelenmesidir. Bununla birlikte sıtma tanısı için mikroskobiye alternatif yöntem olarak hızlı sıtma tanı testleri sunulmuştur.

OptiMAL test, parazit laktat dehidrogenaz enzimine karşı gelişmiş antikorlarla renk tayini olanağı sunacak şekilde düzenlenmiş, dipstik prensibine dayanan immünokromatografik hızlı bir testtir. Test tam kanda *Plasmodium vivax* ve *Plasmodium falciparum* sıtmasını saptamaktadır.

Çalışma Mayıs 2004-Ekim 2005 süresince Diyarbakır ilinde merkez ilçe Silvan ve Bismil ilçelerinde gerçekleştirilmiştir. Kırsal ve şehir merkezlerinde sıtma benzeri belirtileri bulunan toplam 109 hastadan kalın damla kan preparatları hazırlanması ve OptiMAL test için tam kan örnekleri alındı. Ayrıca her bir pozitif kalın damla kan preparatı için parazit yoğunluğu hesaplandı. Çalışmada 83 hastaya ait kalın damla kan preparatları incelemesi ile *Plasmodium vivax* pozitif bulunurken, OptiMAL test ile 84 hastada *Plasmodium vivax* pozitif bulundu. Kalın damlası pozitif olan bir hastada OptiMAL test negatif bulundu. İki hastanın kalın damla sonucu negatif iken, bunlar OptiMAL testte olarak saptandı.

Kalın damla altın standart olarak kabul edildiğinde; OptiMAL testin duyarlılığı % 98,8, seçiciliği % 92,3 olarak bulunurken, pozitif prediktif değeri % 97,6, negatif prediktif değeri % 96 oranında bulundu.

Sonuç olarak, hızlı sıtma tanı testi olan OptiMAL basit, seçici ve etkin bir test olup, saha çalışmalarında *Plasmodium vivax* sıtma tanısı için kolaylıkla kullanılabilir.

Anahtar sözcükler: *Plasmodium vivax*, Tanı, OptiMAL test, Kalın damla.

ABSTRACT

THE COMPARISON OF THE IMMUNOCHROMATOGRAPHIC METHOD WITH THICK BLOOD EXAMINATION FOR DIAGNOSIS OF *PLASMODIUM* *VIVAX* MALARIA

More than 3 billion people live in malarious regions at the worldwide. Every year 300 million people suffering from malarial infection and 2.5 million people die from the malaria. There are four species causing human malaria. Ninety five percent of all human malaria is caused by *Plasmodium vivax*. The bite of female *Anopheles* mosquito transmits the malaria parasite to humans and develop malaria epidemics. These epidemics have strong effects on the health infrastructure and local economics in developing countries. The classical gold standart method for detection of the malaria parasite is the examination of thick blood films. However, rapid malaria tests have been introduced as an alternative conventional microscopic methods for the diagnosis of malaria.

The OptiMAL test is an immunochromatographic rapid malaria test based on the dipstick principle which was designed to provide colorimetric determination by developing antibody to the lactate dehydrogenase enzyme of the parasite. It detects of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* malaria in whole blood.

Our study was conducted in Diyarbakır province including Diyarbakır centrum, Silvan and Bismil district during the period of May 2004-October 2005. A total of 109 whole blood samples were obtained from patient with malaria-like symptoms from the rural and urban areas for thick blood films and OptiMAL test. In addition, parasite density was calculated for each positive thick film. As a result of our study the eighty three patients were diagnosed having *Plasmodium vivax* malaria using examination thick films and eighty four patients were positive according to the OptiMAL test. A patient having *Plasmodium vivax* malaria on the basis of thick film, the OptiMAL test is negative. Two patients is positive according to the OptiMAL test, while their thick films result is negative.

When the thick blood film is accepted of the gold standard method, we found that the OptiMAL test have a sensitivity 98,8 %; a specificity 92,3 %; a positive predictive value 97,6 % and a negative predictive value 96 % in our study.

As a result, the rapid malarial diagnosis test, OptiMAL is simple, specific, and efficient and it can be used in the diagnosis of *Plasmodium vivax* malaria in field studies.

Keywords: *Plasmodium vivax*, Diagnosis, OptiMAL test, Thick blood film.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sıtma, diğer adıyla malarya, Anofel cinsi dişi sivrisineklerin ısırmasıyla insana bulaşan *Plasmodium* türlerinin parazitliği olup; ateş nöbetleri, kansızlık, dalak büyümesi ve iç organlarda özel bir boyanın birikmesiyle kendini gösteren bulaşıcı bir hastalık olup, günümüzde dahi ciddi sorunlar oluşturmaya devam etmektedir¹.

Dünyadaki sıtma olgularının % 95'inden fazlasının etkeni *Plasmodium vivax* (*P. vivax*) ve *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) dur. *P. vivax* ile olan sıtmaya % 80 oranında rastlanmaktadır. Ülkemizde saptanan asıl sıtma etkeni *P. vivax*'tır¹⁻³.

Dünya nüfusunun % 40'ından fazlası sıtmanın endemik olduğu bölgelerde yaşamakta olup, her yıl 300 milyon yeni sıtma olgusu ortaya çıkmakta ve 1,5-2,7 milyon insan ölmektedir. Sıtmadan dolayı olan ölümler, bulaşıcı hastalıklardan kaynaklanan ölüm nedenleri içerisinde ilk üç sırada yer almaktadır. Geçmişte olduğu gibi günümüzde de insanlarda en çok görülen ve öldüren ilk on hastalık içinde yer almaktadır². Sıtma, günümüzde bile dünyada en çok çocuk ölümüne neden olan bir parazitozdur. Sıtma gebelerde de ağır seyretmekte, düşüklere ve erken doğumlara yol açabilmektedir³.

Sıtma, insanlık tarihi kadar eski bir hastalık olup geçmişte büyük salgınlar yapmış, aynı zamanda sosyal ve ekonomik gelişimi engellemiştir. Bugün sıtma ile mücadelede ana hedefler; mortaliteyi, sosyoekonomik kayıpları ve morbiditeyi önlemektir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) erken tanıyı hastalık kontrolünde en temel strateji olarak varsaymaktadır. Sıtmanın tanısında bir damla kanın incelenmesi büyük önem taşımaktadır. Sıtma tanısında kalın damla preparatların mikroskopi ile incelenmesi altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, günümüzde sıtma tanısında seçenek tanı yöntemlerinin geliştirilmesine emek harcanmaktadır. Bunlar içerisinde eritrositler içerisinde *Plasmodium*'ların gösterilmesi (Floresan mikroskopi tanı yöntemi, Kantitatif Buffy Coat (QBC), Karanlık saha mikroskobisi), vücut sıvılarında *Plasmodium* antijenlerinin tespiti, [Radioimmunoassay (RIA), Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Dipstik tanı yöntemi] ve Anti-Plasmodium

antikorlarının serumdaki varlığının gösterilmesi (IFAT, Western blotting) gibi yöntemler yer almaktadır².

Bu çalışmada, Mayıs 2004 ile Ekim 2005 tarihleri arasındaki dönemde Diyarbakır ili merkez, Silvan ve Bismil ilçelerinden, ateş etyolojisi olan ve sıtma şüphesi bulunan hastalardan kan örnekleri alındı. Kalın damla ve ince yayma kan preparatları hazırlanarak sıtma varlığı araştırıldı. Ayrıca, son yıllarda sıtma tanısında seçenek bir yöntem olarak kullanılmaya başlanan ve sahada kolayca uygulanabilen hızlı tanı testi ile kalın damla yöntemi karşılaştırıldı. Böylece, kalın damla yöntemi ile sıtma saptanan olguların parazitemi yüzdeleri hesaplanarak, hızlı tanı testinin tanıdaki değerini saptamak amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sıtmanın Tanımı

Anofel cinsi sivrisineklerin ısırmasıyla insana bulaşan *Plasmodium* türlerinin parazitliği ile oluşan; ateş nöbetleri, kansızlık, dalak hatta karaciğer büyümesi de olabilen ve iç organlarda bir boyanın (pigment) birikmesi ile kendini gösteren Malaria, Paludisma da denen bir hastalıktır¹.

Hastalık ayrıca Romen ateşi, Chagies ateşi gibi adlarla da anılmıştır. Malaria kelimesi İtalyanca iki kelime olan mal (kötü) ve aria (hava) kelimelerinden türemiştir⁴. Bir zamanlar büyük bataklıklar ve sıtmasıyla meşhur İtalya'da aralıklı gelen ateşli hastalıklara istinaden bu ad türemiş, ateşli hastalıkların; hastalıklardan yükselen kötü havanın solunmasıyla oluştuğu düşüncesi yerleşmiştir².

2.2. Sıtmanın Tarihi

Sıtma insanlık tarihinin en eski zamanlarından beri bilinmektedir. Sıtmanın; Hitit, Mezopotamya, Grek uygarlığını çöktüren en önemli etmen olduğu kabul edilir². Hipokrat, ateş özelliklerini tarif ederek üç günde bir gelen hummanın öldürücü nitelikte olduğunu yazmıştır^{2,4}. Kinin'in sıtma tedavisinde etkili olduğu, Peru'da eskiden beri bilinmekte idi. Sıtma etkeni olan *Plasmodium*'ları Laveran ilk olarak tarif etmiştir. İtalyan Marchiava ve Celli *Plasmodium* adını ilk kullanan şahıslardır².

Dr. Romanowsky, kan boyama için kendi adıyla anılan yöntemi bulmuş ve *Plasmodium* türleri bu boya ile daha iyi ayırt edilmeye başlanmıştır. Sıtmanın sivrisineklerle bulaştığı Dikong tarafından ortaya atılmıştır. 1920'li yıllardan sonra kinin sıtma tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır².

T.C. devletinin ilk ele aldığı sağlık sorunu sıtma olup 1926 yılında sıtma mücadelesi kanunu çıkarılmıştır. Adana Sıtma Enstitüsü de malaryoloji eğitimi alınan bir kurum olmuştur².

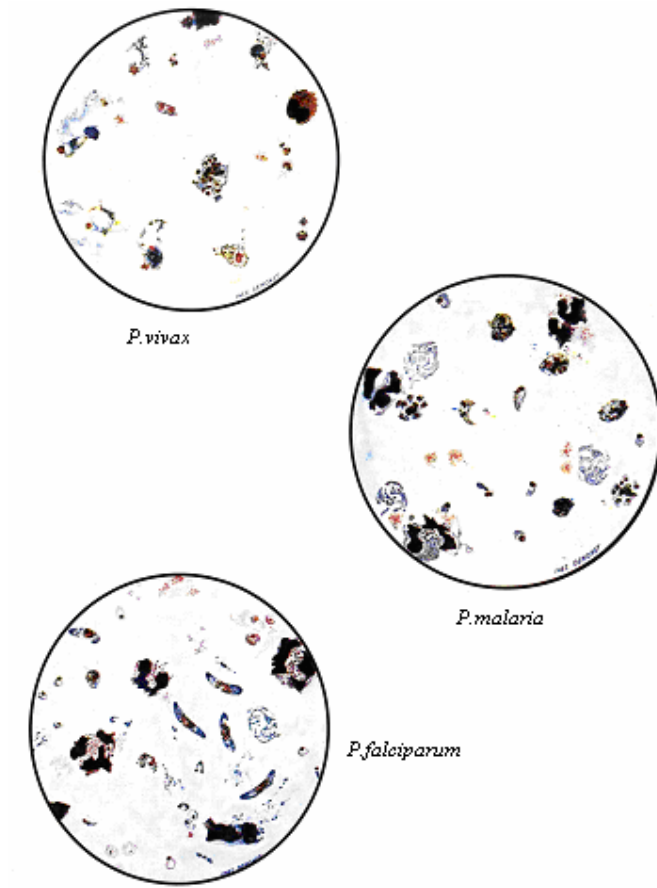
2.3. *Plasmodium*lar

Sıtma parazitleri, hayvanlar aleminin bir alt evreni olan Protozoa'ların Apicomplexa şubesi, Eucoccidida takımı, Plasmodiidae ailesi ve *Plasmodium* cinsi içerisinde yer alırlar. İnsan sağlığı yönünden en önemli türler; *P. vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae* ve *P. ovale*'dir¹⁻⁵. Sıtmayla ilgili klinik çalışmalar, 1917 yılından beri klinik ve tedavi üzerine spesifik hastalarda düzenlenmiş olup, bu ateş serebral sfilizin tedavisi için kullanılmıştır.⁵ Bu dört türün dışında bazı maymun türlerinin sıtma paraziti olan *P. cynomolgi* de insanda hastalık yapabilir. İnsanda sıtma yapan türlerden *P. vivax*, tüm dünyada sıtmanın % 80'inin etkenidir. *P. falciparum* tüm dünyada % 5 etkindir. *P. malariae* ve *P. ovale* daha nadir olarak sıtma yaparken, *P. ovale* türü Türkiye'de görülmemektedir³.

2.4. *Plasmodium*ların Yapısı

İnsan *Plasmodium*'larının tipik morfolojisinde, sitoplazma değişik gelişme evrelerinde düzensiz şekildedir. Kromatin, pigment ve granüller içermektedir. Sıtma pigmenti; eritrositlerden kaynak alan parazitlerce metabolize edilen bir denatüre protein kompleksi olup, hematin ve hemozoin olarak bilinir. Bu pigment karaciğer hücrelerindeki eritrosit dışı dönemde parazitlerde yoktur⁴.

Gametositler olgun trofozoitlerden daha yoğun bir sitoplazmaya sahiptir. Kromatini yoktur ve periferde pigment yayılmış haldedir. İki veya daha fazla tür bir arada bulunabilir. Mikst enfeksiyon adını alan bu birliktelik en sık *P. vivax* ve *P. falciparum* beraberliğidir. Periferik kanda parazit sayıları çok değişken olup, *P. falciparum* eritrositlerin % 30-40'ını enfekte ettiği için çok fazla sayıdadır ve birden fazla eritrositi enfekte etme durumu *P. falciparum*'da daha sıktır. *P. vivax* ve *P. ovale* retikülositlere eğilim gösterirken, *P. falciparum* her yaştaki eritrositleri, *P. malariae* daha çok olgun eritrositleri enfekte etme eğilimindedir. *P. vivax* ile enfekte olan eritrositler soluk, hemoglobinden daha geniş olurlar⁴. Üç *Plasmodium* türünün kalın damla kan preparatındaki görünimleri Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Üç *Plasmodium* türünün kalın damla kan preparatındaki görünüşleri³.

2.5. Yaşam Döngüsü

İnsan (omurgalı) ve dişi sivrisinekte (omurgasız) geçer. Sıtma parazitleri için tanımlayıcı çeşitli anofel cinsi sivrisinekler mevcuttur. Cinsel olmayan dönem omurgalıda bulunup şizogoni, sporlanmış cinsel dönem ise sivrisinekte geçmekte olup sporogoni adını almaktadır⁴.

2.5.1. Şizogoni

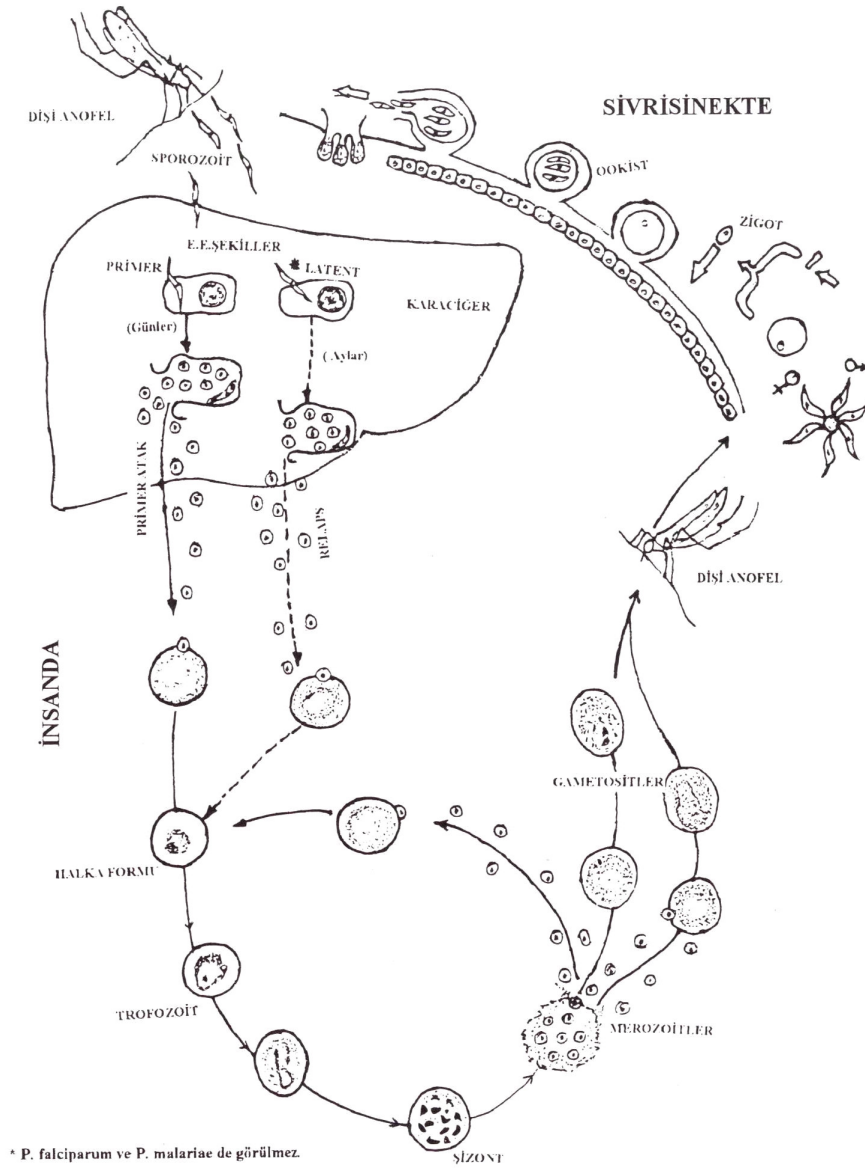
İnfekte olmuş dişi anofelin tükürük bezindeki sporozoitler sineğin ısırması ile insan kan akımına geçer. Bu silindirik biçimli hareketli organizma 30 dakika içinde yaşam döngüsünün eritrosit dışı kısmını başlatıp karaciğer hücrelerine girer. Bu evre eritrosit içinde olmadığından eritrosit dışı evre adını alır. Karaciğer hücresinde gelişen yapı

kriptozoik şizont adını alır. Karaciğer hücresinde gelişen bu yapı karaciğerde bölünüp merozoitleri bulunduran bir yapı haline gelir. Bu hücreler parçalanır ve merozoitler serbest kalırlar⁴.

Bir merozoit bir eritrosite girince eritrositer evreyi başlatır. Önce bir halka (ring) şeklinde trofozoit halini alır. Trofozoit büyüdükçe sitoplazma boyutu artar, pigment geliştirmeye başlar. Genç şizontlara dönüşür. Daha sonra olgun şizont oluşur ve merozoitlere bölünür. Merozoitlerin serbest kalmasıyla entrosit parçalanır ve merozoitler tekrar bir şizogonik evreyi başlatırlar. Entrositlere giren bazı merozoitler gametosit olarak cinsel evreyi de başlatabilirler⁴.

2.5.2. Sporogoni

Dişi bir anofel sıtmalılı bir insanı ısırınca dişi ve erkek gametosit içeren tükürük bezindeki kanı akıtır. Sinekte vücut ısı düşüncü erkek mikrogametosit eksflajellasyon sonucunda mikrogamet halini alır. Dişi makrogametosit makrogamet halini alır. Çiftleşme olur. Zigot meydana gelir. O da sineğin mide duvarında ookiste dönüşür. Ookist en sonunda haploid hücrelerde gelişir ve binlerce sporozoit meydana gelir. Sinekteki gelişim fazı sadece *Plasmodium* türüne değil, sineğe ve ortam sıcaklığına da bağlıdır. Bu süre, *P. vivax*'da 8 gün, *P. falciparum*'da 38 gündür. Sporozoitler sivrisineğin tükürük bezlerine geçip, sağlıklı bir insanı ısırıldığında inokule edilir. Dört türde de cinsel olmayan çoğalma karaciğerde olur. Fakat *P. vivax* ve *P. ovale*'de bir miktar parazit cinsel olmayan çoğalma öncesi hipnozoit denilen bir dinlenme dönemine girerler⁵. *Plasmodium*'ların insan ve sivrisinek vücudundaki yaşam döngüsü Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. *Plasmodium*'ların insan ve sivrisinek vücudundaki yaşam döngüsü².

2.6. Sıtmanın Vektörleri

Sıtma etkeni olan *Plasmodium*'ları sivrisineklerin yalnız *Anopheles* türleri insana bulaştırırlar. Anofeller için bulaşma kaynağı kanlarında gametositleri bulunduran insanlardır. Anofeller *Plasmodium*'lara geliştirici-üretici biyolojik taşıyıcılık (vektörlük) yaparlar. Bunların vücudunda *Plasmodium*'lar eşeyli üreme evresini geçirirler. Anofelin tükürük bezlerinde biriken sporozoitler ısırma sırasında insanın kanına geçerler⁶.

Her *Anopheles* türü sıtma etkenlerini bulaştırmaz; anofelin insanı ısırma eğilimi, kan emme alışkanlığı, yaşam süresi, *Plasmodium*'ların anofelde yerleşme olasılığı, anofelin etkinliği ve süresi gibi etmenlerin etkisi vardır. Bundan dolayı her bölgede çok sayıda anofel türü bulunsun bile ancak birkaç türü *Plasmodium*'lara vektörlük yapar⁶. Yurdumuzda sıtmanın vektörleri *Anopheles sacharovi*, *Anopheles superpictus* ve daha az rol oynayan *Anopheles maculipennis*'tir. 1977'de sıtma olgularının artmasının nedenlerinin başında *Anopheles sacharovi*'lerin D.D.T'ye direnç kazanması sonucu hızla üreyerek sıtmayı yeniden yaymaya başlamış olmalarıdır^{7,8}.

Yurdumuzda *A. sacharovi*, *A. maculipennis*, *A. melanoon subalpinus*, *A. algeriensis*, *A. plumbeus*, *A. hyrcanus*, *A. hyrcanus mahmudi*, *A. superpictus*, *A. claviger*, *A. marteri*, *A. sinensis*, *A. sergentii*, *A. multicolor* türleri bulunmaktadır^{1,2,6}.

2.7. Sıtmanın Patogenezi

Sıtma'da patojenik etkilerin infekte olan veya olmayan eritrositlerin hemoliziyle ilişkili olarak parazitten salınan metabolitler ve bu antijenik materyallere konağın immünolojik yanıtına ve sıtma pigmentinin oluşumuna doğrudan bağlı olduğu varsayılmalıdır. Ayrıca, *P. falciparum* sıtmasında sitoaderens olayı ile lokal olarak doku perforasyonunun bozulduğu aşikardır. Bu olay, üzerinde parazit ligandları bulunduran eritrositlere sahip olma halidir⁵.

İnfekte eritrositlerin parçalanmasıyla sıtmada nöbetler görülür. Bu sırada hücre yıkımında artma, dalakta ve daha sonra da karaciğerde büyümeye neden olur. Hemozoin pigmenti, vücutta demiri azalttığı için anemiye neden olur⁵.

2.8. Sıtmanın Patolojisi

Eritrosit yıkımı ve iç organlardaki kılcal damarların blokajı gibi temelde damarsal nedenlidir. İkincil olarak karaciğer ve diğer organlardaki anoksemik bozulmaya bağlıdır. Hücre parçalanmasının olması, fagositozun artması dalağı büyütür. Sıtma pigmentinin birikimi tüm organların siyah, grimsi bir renk almasına neden olur. Bu hematin ve hemozoin pigmentleri kronik iltihabi olayı daha da artırır. *P. vivax*'ta % 10-20 oranında eritrosit azalması olurken, bu oran *P. falciparum*'da daha fazladır. Damarların tıkanması *P. falciparum*'un kötü kliniğinde pay sahibidir. γ , α globulin düzeyleri, potasyum artar ve toplam plazma proteinlerinde azalma meydana gelir.

Sedimentasyon hızı artar ve retikülositoz olur. Erken dönemde dalak koyu kahverengi, yırtılmaya eğilimli ve büyüktür. Geç dönemde ise küçülür. Karaciğer de büyüyebilir^{4,5}.

2.9. Sıtmanın Epidemiyolojisi

Dünyada iki milyardan fazla insanı infekte eden, 200 milyon insanda ciddi hastalık oluşturan sıtma, 1-2 milyon insanın ölümüne neden olmaktadır. Çocuk ve anne popülasyonunda aneminin en büyük nedeni olup, diğer enfeksiyon ajanlarına oranla enerji kaybı, düşkünlük ve ekonomik zarar açısından en önemli hastalıktır⁹. Dünyada ölüme neden olan ilk 12 hastalık Tablo 1’de, dünyada ilk on sırada yer alan enfeksiyon nedenleri Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 1. Dünyada ilk 12 sırada yer alan ölüm nedenleri ².

Hastalık	Sıra	Ölüm Sayısı
İskemik Kalp Hastalıkları Serebrovasküler Hastalıklar	1	7 200 000
Akut Solunum Yolu Enfeksiyonları	2	4 600 000
Tüberkülozis	3	3 745 000
Kron Obst Akciğer Hastalıkları	4	2 910 000
İshal	5	2 890 000
HIV/AIDS	6	2 455 000
Sıtma	7	2 300 000
Prematürelilik	8	1 500 000
Solunum Sistemi Kanseri Kızamık	9	1 120 000
Doğumda Asfiksi	10	1 050 000
DİĞER	11	960 000
TOPLAM	12	920 000
		52 200 000

Tablo 2. Dünyada ilk 10 sırada yer alan infeksiyon hastalıkları ².

Hastalık	İnsidans	Ölüm
Akut Alt Solunum Yolu İnf	395 000 000	3 745 000
Tüberkülozis	7 250 000	2 910 000
İshal	4 000 000	2 455 000
HIV/AIDS	5 800 000	2 300 000
Sıtma	300 000 000	1500 000
Kızamık	31 075 000	960 000
Hepatit B	67 730 000	605 000
Boğmaca	45 050 000	410 000
Yeni doğan tetanozu	4 15 000	275 000
DiĞER		950 000
TOPLAM		17 310 000

Sıtma, anofellerin üreyebildiği her yerde görülebilir. Herhangi bir bölgede sıtmanın yerleşmesi için sıtmalı kişiler ve anofellerin bulunması yanında o bölgede sıcaklığın 15 °C'nin üzerinde bulunması şarttır. Çünkü parazit bu sıcaklık altında anofel vücudunda evrimini tamamlayamaz³. Bilinen 200 den fazla anofel türünden sadece 60 tanesi sıtmayı bulaştırabilmektedir¹⁻³.

Sıtma, günümüzde bile dünyada en çok çocuk ölümüne neden olan bir parazitozdur. Sıtma çocuklarda daha ağır seyreder. Dalak yırtılması, beyin sıtması ve ölüm sık görülür. Gebelerde çok ağır seyreden sıtma; düşük ve erken doğumlara yol açabilir. Doğum veya düşükten sonra rölaps ve depresmeler sık görülür. Gebelik sırasında nöbet geçiren kadınların yaklaşık % 1'inde doğumsal sıtma görülebilir¹⁻³.

2.10. İmmünoloji

Plasmodium türlerine karşı insanlarda ırk ve yaş direnci mevcuttur. Zenciler Duffy kan grubuna sahip olmadığı için sıtmaya dirençlidirler. Orak hücre anemili zencilerde de parazitin HbS'yi kullanamaması nedeniyle yine bir direnç mevcuttur³.

Sıtma türlerine karşı kişide türe özgül bir antikor yapımı mevcuttur. Bu, IgG ve IgM tipindedir. Bu antikorlar; IHA, KBD ve bir çok serolojik yöntem ile gösterilebilir. Sıtmada görülen koruyucu bağışıklık preminüsyon bağışıklığı şeklindedir. Yani vücutta az sayıda parazit bulunur³.

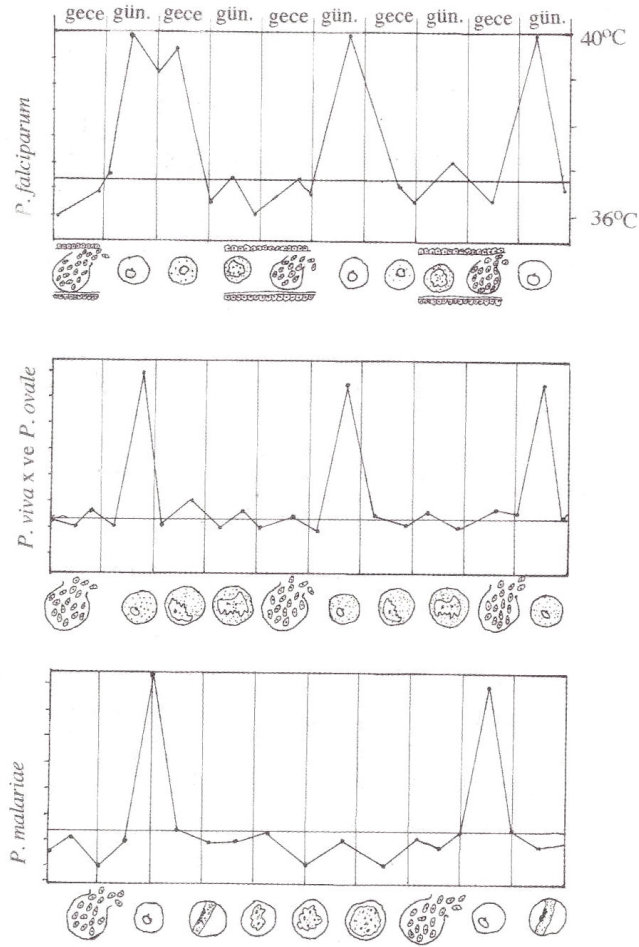
2.11. Klinik

Türe göre değişiklik gösterir. Tipik nöbetler 48 saatte bir gelirse bu tersiyana sıtması adını alır. *P. vivax* ve *P. ovale* ile gerçekleşir. Nöbetler 72 saatte bir olursa kuartana sıtması adını alır. Etken *P. malariae*'dir. Nöbetler 36-48 saatte bir gelirse ve tropikal bir bölgede oluşuyorsa buna tropikal sıtma denir. Etken *P. falciparum*'dur¹⁻³.

Sıtmada belirtiler iki neden ile olur:

- 1) Konağın parazite yangısal tepkisi olup, tipik sıtma nöbeti gelişir.
- 2) Kansızlık (anemi); infekte olan veya olmayan eritrositlerin yıkımına bağlıdır. En şiddetli tipi tropikal sıtmada görülür³.

Sıtmada görülen ateş, savunma mekanizması olup şizogoni sonucu kana dökülen merozoitler, pigment ve eritrosit artıklarının aktive makrofajlardan tümör nekroz faktörü (TNF) salgılatmalarıyla gelişir. Sonuçta ateşle beraber tipik sıtma nöbetleri görülür³. Üç sıtma türünde görülen tipik ateş şeması Şekil 3 de görülmektedir.



Şekil 3. Üç sıtma türünde görülen tipik ateş şeması ².

Sıtma nöbetleri tipik olarak 3 dönemden oluşur:

1) Üşüme-titreme dönemi: 30 dakika -1 saat sürer. Hasta çok aşırı üşür, titrer, üstüne örtülen battaniyeler bile bu hissi bastıramaz. Ateş yükselince bu evre biter.

2) Ateş dönemi: Yoğun bir baş ağrısıyla birlikte ateş 39-41°C yi bulabilir. Ateş, terleme başlayınca 2-6 saat arasında genellikle biter.

3) Terleme dönemi: 2-3 saat sürer, çok fazla olduğundan çamaşır değiştirmek gerekebilir. Bu dönemden sonra hasta halsiz düşüp uykuya dalar¹⁻³. Sıtma nöbetleri yaklaşık 6-12 saat sürer. Hastaların çoğunda parazitin kana geçişinden ilk nöbetlerin ortaya çıkmasına kadar birkaç gün süren bir prodrom dönem gözlenir. Bu döneme kuluçka dönemi de denebilir².

Sıtmanın klinik açıdan en tehlikeli ve en ağır tipi tropikal sıttadır. Aneminin en şiddetli görüldüğü tiptir. *P. vivax* sıtmasında dalak büyümesi ve anemi ilerleyicidir. Fakat ağır nöbet nadirdir. Kuartana sıtmasında böbrek bozuklukları sık görülür^{1,2}.

Sıttada konağın antikor seviyelerinin düşmesine bağlı olarak tekrarlama olabilir. Buna depreşme veya nüks denir. Bu durumlarda nöbetler daha hafif, parazitemi düzeyi daha yüksektir. *P. vivax* ve *P. ovale* ile gerçekleşen sıttada sessiz durumdaki hipnozoitlerin harekete geçmesiyle hastalık aktifleşir. Bu olaya rölaps (rekürrens) denilir. *P. malariae* ile depreşme (rekrüdens) denilen bir nüks tipi görülebilir. Bu olay parazitin kanda düşük bir düzeyde uzun süre kalmasına bağlıdır. 30 yıl sonra bile olabilir^{1,3}.

2.12. Tedavi

1. Yardımcı olmak amacı ile destek tedavisi,
2. Etkene özgün ilaç tedavisi yapılır.

1. Destek Tedavi: Her ateşli sıtma hastası yatırılmalı, bol limonata ve sulu içecekler verilmeli, klinik belirtilerine göre semptomatik tedavi (Kan transfüzyonu, vitaminler, demirli preparatlar, beslenme v.s.) uygulanmalıdır^{7,8}.

2.İlaç Tedavisi: 4-aminoquinoline (chloroquine), 8-aminoquinoline (primaquine), Dihidrofolat redüktazı inhibe edenler (Proguanil, Chlorproguanil, Pyrimethamine, Trimethoprim), Sulfonamidler (Sulfadoxine sulfalene), Sulfon'lar (Dapson), Quinolinemetanoller (Quinine, Quinidine, Mefloquine), Acridin'ler (Mepaerine, Floxacrine), Antibiyotikler (Tetracycline, Doxycycline, Mincycline, Clindamycin, Eritromycine) sıtma tedavisinde kullanılan ilaçlardır^{7,8}.

Klorokin, kinin, kinidin, meflokin, proguanil, pirimetamin, sülfadoksin kandaki şizontlara, pirimakin ekzoeritrositer şizontlara ve hipnozoitlere karşı etkindir. Ayrıca primakin gametositlerin anofellerdeki gelişimlerini engeller. Proguanil ve pyrimethamine de doku şizontlarına etkilidir^{7,8}.

Sıtma tedavisinde önemli bir nokta, etkenin ilaca dirençli olup olmamasıdır. Klorokine direnç yurdumuzda henüz görülmemektedir^{7,8}.

Sıtma nöbetleri sırasında tedavi için (nöbet tedavisi için) klorokin seçilecek ilaçtır. Dozu, 150 mg'lık (baz) tabletleri ve 50 mg (baz) 15 ml şurupları vardır. Hastalara

başlangıçta 600 mg baz, 6 saat sonra 300 mg, 12 saat sonra 300 mg, 24 saat sonra 300 mg veya takip eden 2-5. günde 300 mg verilir. Çocuklara başlangıçta 10 mg/kg, 6 saat sonra 5 mg/kg, 24 saat sonra 5 mg/kg hesabı ile ilaç verilir^{7,8}.

İnfeksiyonun kökten (radikal) tedavisi için primakin 15 mg (baz) 14 gün verilir (Primakin verilmeden önce G₆PD enzim düzeyine mutlak bakılmalıdır. Bu ilaç G₆PD enzim eksikliği olanlarda hemolitik krize neden olur)^{7,8}.

Klorokine 24 saatte yanıt alınmazsa günde 3 kez 650 mg kinin sülfat verilir ve 14 gün devam edilir^{7,8}.

Hastalarda çok yüksek parazitemi varsa (% 5'in üzerinde) veya *P. falciparum* sıtmasının önemli komplikasyonları (şiddetli anemi, akciğer ödemi, koma, böbrek yetmezliği gibi) ortaya çıkmış ise kinin hidroklorit İ.V. yolla yavaş bir şekilde 8 saat içinde uygulanır^{7,8}.

Gebelerde Anti-Malaria İlaçları: İnfeksiyon hastalıkları riski nedeni ile gebelerin sıtmalı bölgelere yolculuk yapmaları önerilmez. İhtiyaç duyulduğunda klorokin tedavisi veya profilaksisi hamilelerde genellikle emniyetlidir. Folik asit antagonistleri deneysel olarak teratojenik olduğundan hamilelerde profilaktik amaçla dahi kullanılmamalıdır. Hamilelerde tekrarlayan sıtmalarda primakinden kaçınılmalı, her defasında klorokin verilmelidir. Doğum sonrası primakin verilebilir^{7,8}.

2.13. Korunma

Hastaların tedavisi yanında sağlam şahısları korumak da önemlidir. Bunun için bulaşmayı ve hastalığı önlemek gerekir. Sıtmanın aşısı yoktur; fakat buna yönelik çalışmalar yapılmaktadır¹⁻³.

Sıtma ile savaş için alınacak belli başlı tedbirler şunlar olmalıdır:

1. Kitlesele taramalar yapılarak sıtmalılar saptanmalı, sıtmanın kuluçka dönemi araştırılmalı, hastaların çevresi ile ilgili tüm bilgiler kaydedilerek tedavisi yapılmalıdır.
2. Askeri birliklerde her ay (özellikle yaz aylarında) taramalar yapıp, sıtmalılar belirlenmeli ve tedavi edilmelidir.
3. Sıtma savaşını iyi bilen uzman hekimler acilen yetiştirilmelidir.
4. Bu alanda acilen çok sayıda teknik eleman yetiştirilip, sıtmanın endemik olduğu bölgelerde görevlendirilmelidirler.
5. Nüfus hareketleri bir an önce önlenip, iş sahası açılmalı, sıtmalı bölgeye

gidenlere koruyucu Klorokin 500 mg haftanın aynı günü veya primetamin haftada 1 tablet (25 mg) verilmelidir.

6. Halkın eğitime önem verilmeli, hastalar hiç olmazsa doktor kontrolünden geçirilmeli ve ilaçlamada iş birliği sağlanmalıdır.

7. Gecekondulaşma önlenmelidir.

8. Sivrisineklerin erişkinleri ile mücadele edilmeli;

a. İnsektisitlerle (D.D.T., Malation., temephos. fenitritation ve propoxur) yapılmalıdır. Sivrisineklerin insektisitlere direnç kazanmaları durumunda ilaç değiştirilmelidir.

b. Şahsi korunma (Cibinlik, pencerelere tel ve sinek kaçıracı ilaçlarla) sağlanmalıdır.

9. Larvalarla mücadele edilmeli;

a. Sivrisinek üreme yerleri saptanmalı (Kuyular, foseptik çukurlar, havuzlar, su birikintileri, durgun su kanal ve kanaletleri),

b. Çevre düzenlemesi yapılmalı^{7,8}.

2.14. Sıtmanın Tanısı

2.14.1. Doğrudan Tanı Yöntemleri

Sıtmanın endemik olduğu bölgelerde klinik tablo tanı açısından değerli olsa da kesin tanı ancak parazitin görülmesiyle konur. Zira sıtmayı ve nöbetlerini taklit eden birçok enfeksiyon hastalığı mevcuttur. Bunlar arasında solunum yolu ve bağırsak enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, tifo, tifüs, bruselloz, tüberküloz, Kala-azar, Hodgkin lenfoma vb... sayılabilir^{1,2}.

Sıtmada laboratuvar tanısı, şüpheli hastanın parmak ucundan alınan kandan hazırlanan kan preparatlarının incelenmesine dayanır. Bu amaçla kalın damla ve ince yayma kan preparatları hazırlanır. Kan, nöbet başlarken veya nöbet sürerken alınmalıdır. Her iki tip yayma birlikte yapılır. İnce yayma metil alkol ile tesbit edilirken kalın damla preparata bu işlem uygulanmaz ve preparat Giemsa boyası ile boyanır. İnce yaymalarda parazit pembe renkte, eritrosit içinde maviye boyanmış sitoplazma ve parlak renkte çekirdekler izlenir. Kalın damlada ise sadece parazitler görülür. Bu

preparatlar immersiyon yağı damlatılarak 100'lük objektif altında incelenir. Her türün kendine özgü tipik yapısı vardır¹⁻³.

Sıtma açısından ince yayma ve kalın damla kan preparatları arasındaki farklar Tablo 3'de, boyalı ince yayma preparatlarındaki infekte eritrositler ve *Plasmodium*'lardaki ayırt edici değişiklikler ve ince yayma kan preparatlarındaki *Plasmodium*'lar ile infekte eritrositlerde görülen değişiklikler ve tür özellikleri Tablo 4'de, İnce yayma kan preparatlarındaki *Plasmodium*'lar ile infekte eritrositlerde görülen değişiklikler Tablo 5'de gösterilmiştir.

Tablo 3. İnce yayma ve Kalın damla kan preparatlarının sıtma açısından incelenmesi².

Özellikler	İnce Yayma Preparat	Kalın damla Preparat
Preparat yüzeyi	250-450 mm ²	50-90 mm ²
Kan hacmi	1 µl	3-5 µl
Ortalama kalınlık	0,0025 mm	0,06-0,09 mm
Ort. konsantrasyon farkı	1	20-30
100 mikroskop alanının ortalama hacmi	0,005-0,007 µl 200-300 alan için	0,1-0,25 µl 100 alan için ortalama
İncelemek için gerekli zaman	20-25 dakika	5 dakika
Boyanma sırasında bozulan parazitler ve lökositler	Yok	Lökositlerin % 8'i ve parazitlerin % 20'si
Eritrositler	Tespit edilmiş halde	Hemolize
Parazit yapıların morfolojik özellikleri	Bozulma yok	Bozulmuş olabilir
Artefaktlar	Sık değil	Oldukça sık

Tablo 4. Boyalı ince yayma preparatlardaki infekte eritrositler ve *Plasmodium*'lardaki ayırt edici değişiklikler ².

Özellikler	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. malaria</i>
İnfekte eritrositlerde büyüme	-	+	+ -	-
İnfekte eritrositlerde büyümeme	+	-	+ -	+
İnfekte eritrositlerde ovalleşme	-	-	+	-
İnfekte eritrositlerde soluklaşma	-	+	+	-
İnfekte eritrositlerde Schüffner granülleri	-	+	+	-
İnfekte eritrositlerde Maurer tanecikleri	+	-	-	-
Eritrositlerde multipl infeksiyon	+	Nadir	-	-
Parazit, perifer kanda tüm şekillerinin görülmesi	-	+	+	+
Parazit, büyük halka yapılar	-	+	+	+
Parazit ,çifte kromatin tanecikleri	+	Nadir	-	-
Parazit, bant yapıları	-	-	-	+
Parazit, hilal şeklinde gametositler	+	-	-	-
Merozoit sayısı	8-24	12-24	8-12	6-12

Tablo 5. İnce yayma kan preparatlarındaki Plasmodium'lar ile infekte eritrositlerde görülen Değişiklikler ².

	Enfekte hücre
<i>P.vivax</i>	Normalden büyüktür, daha soluktur, sıklıkla şekli biraz bozulmuştur. Schüffner granülleri çok erken evre halka şekilleri dışında hemen hemen tüm şekillerde görülür. Çeşitli parazitlerle çoğul enfeksiyon sık değildir. Küçük çubuklar halinde kahverengimsi pigmentler görülür.
<i>P.malaria</i>	Yaklaşık normal boyutlarda veya hafifçe küçüktür. Kural olarak eritrositlerde çoğul enfeksiyon olmaz. Erken evrelerde bile pigmentler görülebilir. Hücre çeperine doğru yerleşmiş koyu granüller tipiktir.
<i>P.falciparum</i>	Normal büyüklüktedir. Eritrositlerde çoğul enfeksiyon sıktır. Bazı hücreler sarımsı renkte olup, çeperleri daha kalın gibidir. Schüffner granülleri görülmemesine karşılık uzun süre boyanmış preparatlarda düzensiz iri parçalar halinde Maurer lekeleri seçilir. Pigment granüllerinin birleşme eğilimleri vardır. Muz şeklindeki gametositlerde eritrosit güçlkle seçilir.
<i>P.ovale</i>	Pek çok infekte eritrosit tipik olarak büyümüş ve ovalleşmiş olup, içindeki parazit genel olarak yuvarlak veya hafifçe uzamış olarak bulunur. İnfekte eritrositlerin kenarları genellikle düzensizdir. Schüffner granülleri tüm enfeksiyon evrelerinde gözlenir ve <i>P. vivax'da</i> olduğu gibi kahverengimsi renktedir.

2.14.2. İndirekt Tanı Yöntemleri

IFAT, IHA, İmmunopresipitasyon ve ELISA kullanılmakta olup, özellikle eritrositik evredeki enfeksiyonlara karşı oluşan antikorlar tespit edilmektedir. Bu antikorların saptanmasında kullanılan serolojik yöntemlerin özellikleri Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Sıtma antikorlarının saptanmasında sıklıkla kullanılan serolojik yöntemler².

Yöntem	Kullanım yeri	Antijen kaynağı	Tanıdığı antikor
İmmunopresipitasyon	Epidemiyolojik çalışmalar ve araştırma	Eritrositik şizont ve eriyik antijen	IgG, IgM
IFAT	Epidemiyolojik çalışmalar, araştırmalar, tanıya destek	Eritrositik şizontlar	IgG, IgM
IHA	Epidemiyolojik takip	Antijen kaplı eritrositler	IgA, IgG
ELISA	Epidemiyolojik çalışmalar, tanıya destek	Eriyik antijen	IgG, IgM
Radioimmunoassay	Araştırma	Eriyik antijen (veya antikorlar)	IgG, IgM
Kültürde merozitlerin inhibisyonu	Araştırma	Eritrositik şizonttan merozoit	IgG, IgM

2.14.2.1. IFAT

Lam üzerine ince tabaka halinde yayılmış infekte kan ve değişik sulandırımelerde serumlar kullanılır. Anti-insan globulinleri ile işaretlenmesi ve antijen-antikor bağlantısı floresan mikroskopta değerlendirilmektedir. Epidemiyolojik çalışmalarda ve belirtisiz hastalığı taşıyanların ayırımında kullanılır. Yüksek titreler (1:2000 ve üzeri) yeni enfeksiyonu gösterirken, 1:20 üzerindeki titreler pozitif kabul edilmektedir².

2.14.2.2. IHA

Gluteraldehit ile duyarlılaştırılmış *P. falciparum* veya farklı bir suş ile enfekte edilen Aotus maymunlarından elde edilen duyarlılaştırılmış koyun eritrositleri kullanılmaktadır. Duyarlılığı ve seçiciliği düşüktür².

2.14.2.3. ELISA

Eriyik antijenle kaplı mikroçukurlara sahip plaklar kullanılarak üzerine enzim işaretli anti-antikor eklenip antijen-antikor reaksiyonu izlenir. *P. falciparum*'da aktif enfeksiyonun değerlendirilmesine ihtiyaç olan hallerde cinsel olmayan şekillerde görülen SPF70 antijeni kullanılarak uygulanır. IgG/IgM oranı değerlendirilerek aktif ya da kronik enfeksiyon ayırımı 40 kDa olan antijen miktarı ile saptanabilmektedir¹⁰.

2.14.2.4. Moleküler Biyoloji Tanı Yöntemleri

Sıtmanın endemik olduğu bölgelerde yaşayan, düşük parazitemili şahıslarda plazmodi RNA'sı tespit yöntemleri çalışılmış, küçük ribozoma subünitlerinin türe özgül RNA bölgelerine yönelik çalışmalarda duyarlılık yüksek bulunmuş, ayrıca tür ayırımına olanak sağlanmıştır^{11,12}.

RNA proplarıyla 4 ayrı sıtma suşunun ayırımı çalışmalar sonucunda gösterilmiş, bunların RNA içerisinde çok fazla tekrarları olması dolayısıyla yüksek duyarlılıklar bulunmuştur. Bu yöntemler ile μl 'de 10 parazit gibi düşük düzeylerde dahi pozitiflik saptanmıştır².

2.14.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Snounu ve ark¹³. tarafından DNA ekstraksiyonu sonrası agaroz jel elektroforezi ile DNA tespit edilip yanında, 0,01-1/ μl yoğunluktaki düşük düzeyleri saptayan PCR yöntemi geliştirilmiştir. *P. falciparum* için geliştirilen nested PCR yöntemi ile 10 μl 'lik bir kanda 13 parazit yoğunluğu saptanmıştır¹³.

Bu yöntemlere ek olarak *P. falciparum* parazitlerinin saptanması için oldukça basit ve yüksek duyarlılıkta bir yöntem olan nested PCR geliştirilmiştir. Organik DNA ekstraksiyonlarına ve radyoaktif izotopların kullanılmasına gereksinim duymayan bu yöntem ile parmak ucundan alınan yaklaşık 10 μl 'lik bir kan örneği, uygun sayıda amplifikasyon döngüsünü takiben agaroz jel üzerinde DNA'nın gösterilmesini mümkün kılan kısa ve basit bir yöntem olarak tanımlanmıştır. Kullanılan 10 μl 'lik kan içerisinde 13 parazit gibi parazitemisi % 0,000026 olan olaylarda dahi parazit yoğunluğunun tespit saptanabildiği gösterilmiştir¹⁴.

Plasmodium tür tayininde klorokine dirençli geni saptayabilmek için uygulanabilen bir tanı yöntemi olarak biyotin ile işaretli PCR ürününün görünür hale gelmesine olanak sağlayan yönteme mikropalak hibridizasyon da denmektedir. Bu yöntem öncelikle saha çalışmalarında kullanılmak üzere geliştirilmiş, ancak *P. falciparum* ve *P. vivax* ayırımı yapmakta da kullanılmış olup, duyarlılığı yüksek olan bu mikropalak hibridizasyon yöntemi ile 36 *P. falciparum* sıtmasının tümü, 27 *P. vivax* olgusundan 26'sı, 11 *P. ovale* sıtması olgularının hepsi ve 2'de *P. malaria* sıtması tanısı başarı ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, yaymada sıtma saptanamayan 4 olgunun da

PCR ile sıtmalı olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada 10 parazit/μl kadar olan parazit yoğunluğunun bu plak hibridizasyon ile saptanabildiği gösterilmiştir¹⁵.

2.14.2.6. Kantitatif Buffy Coat Yöntemi (QBC)

Hematokrit pipeti içerisine alınan kanın içerisinde yer alan *Plasmodium* formlarının santrifüj işlemi ile tabakalandırılması ve tüpün içerisinde bulunan akrinin oranj boyası ile tüm DNA ve RNA içeren organizmaların boyanması esasına dayanmaktadır. Eritrosit içerisinde DNA veya RNA görünür hale gelebilmektedir. μl 'de 1-2 parazit düzeyini tespit ettiğini gösteren çalışmalar mevcuttur¹⁶. Bazen 150 parazit/μl düzeylerini ancak saptadığı olgular olup, *P. falciparum* tanısı için kalın damlaya alternatif olarak gösterilmektedir. Hematokrit pipetine alınan kan belli düzeyde santrifüj edilirse daha uygun olabilir¹⁷. Yapılan bir çalışmada bu yöntemin duyarlılığı % 82,2 olarak bulunmuştur¹⁸.

2.14.2.7. Hızlı Tanı Testleri

Laboratuvar olanağı bulunmayan kırsal alanlarda, endemik bölgelere gidenlerde tanı konulabilmesi, dış kaynaklı sıtma olgularında ölümleri önlemek amacı ile hızlı ve doğru tanı testlerine gereksinim duyulmuştur².

Hızlı tanı testlerine immünokromatografik testler de denmektedir. Bu testler, parazitlerin hedef antijenlerine karşı oluşmuş periferik ait monoklonal veya poliklonal antikorların antijenlerine bağlanarak birleşmesi esasına dayanmaktadır¹⁹.

Hızlı tanı testleri çubuk, şerit, kart, bloknot, yastık veya kaset şeklinde değişmektedir. Kaset şekli daha güvenli ve daha pratiktir. Genel olarak parmak ucu kan örneği, antikoagülanlı kan veya plazmadan (2-50 μl) kan örneği alınıp eritrosit parçalayıcı kısım içeren bir tampon solüsyonda ve koloidal altın gibi gözle görülür işaretleyici ile etiketli bir özgül antikorla karıştırılır. Bazı ticari kitlerde işaretli antikorlar işlem süresince birikmiş haldedir ve sadece parçalayan ve yıkayan tampon solüsyonu eklenir. Eğer hedef antijen kanda bulunuyor ise işaretli antijen-antikor kompleksi oluşur ve bu kompleks antijenlere ve işaretli antikorlara karşı birikmiştir. Bu kompleks yapı, çubuğun üst kısmına göç eder. Ortamdaki hemoglobini uzaklaştırmak ve hareketsiz antijen-antikor komplekslerinin renkli görünmesi için ortama bir yıkama

solüsyonu eklenir. pLDH test µl 'de 100-200 paraziti saptayacak ve bazı P.f.HRP-2 testleri µl 'de 40'dan fazla cinsel olmayan paraziti saptayacak şekilde oluşturulmuştur¹⁹.

P. falciparum'un histidinden zengin protein 2'si (P.f.HRP2), tüm türlerin plazmodi aldolazları, türe özgül plazmodi LDH (pLDH) larına karşı geliştirilmiştir¹⁹.

P.f.HRP-2, *P. falciparum*'un cinsel olmayan dönemleri ve gametositlerinden üretilen bir glikolitik yol enzimidir. Sıtma tedavisini takiben 28 gün boyunca kanda mevcuttur. Bu antijene karşı geliştirilen birkaç test vardır¹⁹.

Plazmodi aldolazları, tüm tipler tarafından üretilen bir glikolitik yol enzimidir. Monoklonal antikorlar geliştirir. Türe özgü kullanıldığı gibi her iki türü de saptayabilen P.f./P.v. immünokromatografik testlerde geliştirilmiştir¹⁹.

Plasmodium LDH'sı suda çözünen bir glikolitik yol enzimi olup cinsel ve cinsel olmayan canlı parazitlerden salınır. İnfekte eritrositte bulunur. Her türe özgü 4 tane enzim bulunmuştur. İmmünocapture, immünokromatografik dipstik, immünoblot assay ve poliklonal antikorları kullanan bir dipstik yöntemi geliştirilmiştir¹⁹.

Parasight F test ise, *P. falciparum*'un HRP2'sini tanımaya dayalı bir hızlı tanı testidir. Nitroselülöz kağıta bağlanan HRP-2'ye özgül monoklonal antikorlar, kanda bulunan *P. falciparum* HRP-2 antijenini yakalamaya hedeflenmiştir. Yapılan çalışmalarda bu yeni yöntem, mikroskopik bakı ve PCR ile karşılaştırılmıştır. Kanda bulunan parazit sayısı göz önüne alındığında *P. falciparum* enfeksiyonu ile uyumlu bir tablo oluşturan, 100-1000 parazit/µl 'lik parazit yoğunluğu bulunan olgularda duyarlılığının % 93 olduğu saptanmıştır. Bu testin özellikle gelişmiş ülkelerde *P. falciparum* tanısında önemli bir yöntem olarak kullanılabileceği düşünülmektedir²⁰.

Amrad ICT Malaria test de *P. falciparum* tanısında kullanılmaktadır. İki yüzeyi nitroselülöz zarla kaplı küçük bir kart şeklindeki sistemin yüzeyine doğrudan kan damlatılarak dolaşımda bulunan *P. falciparum*'ları saptamak mümkün olabilmektedir. Zara örnek kan damlatıldıktan sonra tümüyle yayılmasına izin verilip, daha sonra bu kart ikiye katlanarak diğer yüzeyde bulunan zarla temas ettirilip, antijenlerin yakalanıp diğer dipstiklerde olduğu gibi kontrol bantları ve eğer varsa antijene özgül bantları yüzeyinde oluşturarak pozitif veya negatif olarak değerlendirilebilmesi mümkün olmaktadır. Tek basamakla sonuçlandırılan ve yaklaşık 10 dakika süre alan yöntemde duyarlılık % 100, seçicilik % 96,2 bulunmuştur²¹.

ICT Malaria P.f./P.v. immünokromotografik testinde ise *P. falciparum*'un HRP2'si yanında panmalaryal antijene karşı ikinci bir monoklonal antikor ile desteklenmiştir. Bu test ile Endonezya'da yapılan bir çalışmada *P. falciparum* için duyarlılık % 95,5, seçicilik % 89,8 bulunurken: *P. vivax* için duyarlılık % 75, seçicilik % 94,9 bulunmuştur²².

MAKRO-MAL test, *P. falciparum* HRP2'sinin immünolojik olarak yakalanması ile diğer testlere benzer mekanizmayla çalışan bir tanı testidir. Nitroselülöz membran üzerinde pozitif hastaların kan veya serum örnekleri ile bantlar oluşturulması esasına dayanmaktadır. Test tüpü içerisinde yer alan tampon solüsyon içerisine 5 µl kan damlatılmış çubuk daldırılıp bir süre beklendikten sonra pozitif örneklerde çift, negatif örneklerde ise tek bant oluşmaktadır²³.

Hücre içi parazit özgül bir metabolik enzim olan LDH'ya karşı elde edilmiş monoklonal antikorların nitroselülöz kağıt üzerine kaplanarak oluşturulmuş dipstik yöntemi OptiMAL adıyla bilinmektedir. Bu yöntem ile türe özgü pLDH kullanılarak dört *Plasmodium* türünün 10 dakika gibi kısa bir sürede ayırımı mümkün olmaktadır. pLDH sadece canlı parazitlerden salındığından canlı parazitler ile ölü parazitleri de ayırabilmektedir²⁴.

OptiMAL test için kan özel hazırlanıp bir ticari solüsyon ile karıştırılıp dipstik üzerine damlatıldıktan yaklaşık 10 dk sonra ilk önce tüm türlerde ortak gözlenen pLDH'ya özgül monoklonal antikorlarla kaplanmış bölgede koyu renkli bant oluşmakta ve bu sıtma pozitifliği için yeterli olmaktadır. Örnekte *P. falciparum* mevcut ise ikinci bant oluşmaktadır. Eğer eş zamanlı *P. vivax* ve *P. falciparum* infeksiyonunun bir arada bulunduğu olgularda; *P. vivax*'a ait infeksiyonda kanda şizont, merozoit, gametosit ve trofozoit evrelerinin hepsi de görülebildiği için daha koyu ve kalın bir bant gözlenirken; *P. falciparum*'da temelde genç trofozoit ve gametosit evreleri görülebildiği için daha soluk ve ince bantlar gözlenmektedir. Honduras'ta yapılan çalışmada, kalın damla sonuçları ile OptiMAL test sonuçları karşılaştırılmış; toplam 202 sıtma şüpheli hastanın 98'inde (% 48) kalın damla pozitifliği elde edilmiş, OptiMAL test ile 91 (% 45) hastada pozitiflik bulunmuştur. OptiMAL testin *P. vivax* için duyarlılığı % 94, seçiciliği % 100, *P. falciparum* için duyarlılığı % 88, seçiciliği % 99 olarak saptanmıştır²⁴.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma; Diyarbakır ili merkez, Silvan ve Bismil ilçelerinde çoğunluğu kırsal alanda yaşayan ve ateş etiyolojisi nedeni ile Sıtma Savaş Kurumuna başvuran hasta grubundan oluştu. Çalışmaya 109 hasta dahil edildi. Çalışma 2004 Mayıs-2005 Ekim döneminde yürütüldü. Hastaların toplam 52'si şehir merkezlerinden, geri kalan 57'si kırsal kesimden oluşuyordu. Diyarbakır merkezden 34, kırsalından 22; Silvan ilçesi merkezinden 10, kırsalından 17; Bismil ilçesi merkezinden 8, kırsalından 18 hasta çalışmamıza dahil edildi.

Diyarbakır ilinde 2004 yılı itibariyle 2364, 2005 yılı itibariyle 898 sıtma olgusunun bulunduğu İl Sağlık Müdürlüğü istatistik kayıtlarından tespit edildi. Bu verilere göre en çok Diyarbakır merkez köyleri ile Silvan ve Bismil kırsalında sıtma olguları vardı. Aynı yıllarda sıtma olgularının Türkiye'deki sayıları; 2004 yılı için 5302, 2005 yılı için 2084 idi^{25,26}.

Diyarbakır ili yüzölçümü 15,355 km², nüfusu 2000 yılı sayımına göre 1 milyon 363 bindir. Şehir merkezinin nüfusu 546 bin, merkez köyleri ise 175 bin nüfusa sahiptir. Bismil ilçesinde merkez ilçede 61 bin, kırsalında 66 bin, Silvan ilçesinde merkezinde 64 bin, kırsalında 52 bin kişinin yaşadığı tespit edildi. Diyarbakır ilinin deniz seviyesinden yüksekliği 675 metre olup şehir merkezinin rakımı 660 metredir. Ortalama yağış 496 m³ olup, bu oran Silvan ve Bismil'de ortalama 525 m³ tür. Bu yağış tutarının yaklaşık % 2'si yaz aylarına tekabül etmektedir. Kırsal alanda yaşayan hastalar, yer yer tepelik alanların bulunduğu Dicle nehri veya diğer akarsu yakınlarında kırsal alanda yaşıyorlardı. Hastaların bulunduğu bölgelerde sulu tarım yaygındı. Bölge yer yer bataklık ve sazlıkların bulunduğu sulak bir bölge idi. Ovalık kesimlerde tütün, pamuk gibi tarım ürünleri ekili araziler çoğunlukta idi^{25,26}. Bu bölge sıtmanın endemik olduğu bir bölgeydi. Bölge halkından; ateş, üşüme, titreme, terleme gibi sıtma benzeri belirtilerin bir kaç gün sürdüğü hastalar çalışmaya tabi tutuldu.

Çalışmaya katılmayı kabul eden her hastadan kan örneği alabilmemiz için Etik Onam formu ve ayrıca anket formu doldurtuldu. Çalışma için etik kurul onayı Çukurova

Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan sağlandı (sayı 3 ve 07.03. 2006 tarihli yazı). Ek 1.

Her bir hasta için Etilendiamin tetraasetikasit (EDTA) kaplı tüpler içerisine 4'er ml venöz kan örneği alınıp, 2'şer ml olarak her bir hasta için 2 tüpe aktarıldı. Bu tüplerin bir tanesi +4 °C'de, diğeri de -20 °C'de bekletildi. Her bir hastadan eş zamanlı ince yayma ve kalın damla kan preparatları hazırlandı.

Kan alım işleminden sonra çalışma aşağıda belirtilen yöntemler ile yürütüldü.

3.1. Mikroskopik Bakı ve Parazitemi Sayımları

Hazırlanan tüm kalın damla ve ince yayma kan preparatları Giemsa boyası ile boyandı ve bölgedeki Sıtma Savaş kurumlarında iki farklı mikroskobist tarafından incelendi. Daha sonra bu preparatlar Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında iki farklı parazitolog tarafından tekrar incelendi. Her bir kalın damla preparat için 200 lökositin sayıldığı tüm mikroskop alanında parazit görülmedi ise örnek negatif olarak kabul edildi.

Standart parazitemi yoğunluğu sayım yöntemi; mikroskop alanında *P. vivax*'ın eritrositer dönemine ait parazitlerin görüldüğü her bir pozitif kalın damla preparat için μl 'de 8000 lökosit olduğu varsayılarak hesaplandı. 200 lökositlik alan tarandığı için her μl kanda sayılan parazit sayısı 40 katsayısı ile çarpılarak parazitemi düzeyi saptandı.

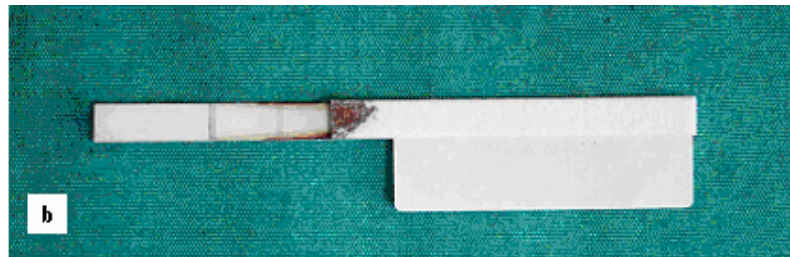
3.2. OptiMAL Test İle Sıtma Tanısı

Sıtma şüphesi bulunan 109 olgunun kan örnekleri kalın damla inceleme haricinde hızlı tanı testi olan OptiMAL yöntemine tabi tutuldu. Test hücre içi metabolik bir enzim olan pLDH'ya karşı oluşmuş monoklonal antikorlarla kaplı dipstik yöntemini içermekte idi. pLDH parazitle enfekte olmuş eritrositlerde mevcut olup eritrositlerden salınır. Test herhangi bir *Plasmodium* türünün varlığını ve bir türün diğerlerinden ayrımını yapmaktadır. Yöntemde enzim canlı parazitlerce salındığı için canlı olanı ölü parazitlerden de ayırt edebilmektedir.

Testin yapılışı kısaca şöyledir:

Her bir hasta için iki kuyucuk kullanılır. İkinci kuyucuk yıkama kuyucuğu olarak kullanıldı. Bir damla tampon solüsyonu birinci kuyucuğa, dört damla tampon solüsyonu ise yıkama kuyucuğuna kondu. Bir pipet yardımıyla bir damla kan (yaklaşık

10 µl) birinci kuyucuğa kondu. Aynı pipetle 1 dakika iyice karıştırılıp dikey olarak bu kuyucukta 10 dakika bekletildi. Dipstik üzerinde yayılmaya başlayan örnek yavaş yavaş kontrol bantı üzerinden geçti ve bu esnada kontrol bantı gözle görünür hale geldi. Daha sonra dipstik yıkama kuyucuğuna nakledildi. 5-10 dakika bu solüsyonda bekletildi. Hasta örneği yayılmaya devam etti ve test kitinin sonuna kadar yayıldı ve pozitiflerde bant kolayca görünür hale geldi. Bu süre sonunda reaksiyon okundu. Dipstik üzerinde kontrol bantla beraber koyu bir bant oluşursa muhtemelen *P. vivax* pozitif kabul edildi. Yalnız *P. ovale* ya da *P. malariae* olma ihtimali de göz önünde bulunduruldu. Bu bant haricinde ikinci bir koyu soluk bant daha oluşursa hasta örneği *P. falciparum* için pozitif kabul edildi. Şekil 4’de OptiMAL test ile *P. vivax* negatif ve pozitif olan iki örnek karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir. Şekil 5’de çalışmamızda kullandığımız OptiMAL test kiti görülmektedir.



Şekil 4. a. *P. vivax* tanısında negatif OptiMAL test sonucu.

b. *P. vivax* tanısında pozitif OptiMAL test sonucu.



4. BULGULAR

Çalışma, Diyarbakır ili merkez, Silvan ve Bismil ilçelerinden çoğunluğu kırsal bölgede yaşayan, daha az oranda ise merkez ilçelerde yaşayıp sıtma savaş kurumuna sıtma şüphesi için başvuran 109 kişiden çalışma için her bir hastaya Ek 2'deki etik onam anket formundaki bilgiler doldurtuldu.

Ankete göre olguların tamamında ateş etiyojisi mevcuttu. Olgularda ortalama ateşin başlama süresi dört gün idi. Titreme-terleme şikayetleri hastaların hepsinde vardı. Baş ağrısı keza olguların hepsinde mevcuttu.İştahsızlık 95 hastada, kırıklık 90 hastada, vücutta ve kollarda ağrılar 87 hastada, bulantı hissi 100 hastada mevcut iken, kusma 75 hastada tespit edildi. Çarpıntı hissi ise 50 hastada bulundu. Olguların daha önce % 3'ü sıtma geçirmişti ve tedavi edilmişlerdi. Tamamının oturduğu bölge tarım alanıydı.

İnceleme yapılan kalın damla preparatların mikroskop bakısı sonucu 83 (% 76,1) hastaya *P. vivax* sıtma tanısı kondu. Diyarbakır merkezinden 34, kırsalından 22 hastadan alınan kan örneklerinin merkezde 29, kırsalda 18'inde kalın damla kan örnekleri pozitif sonuç verdi. Silvan merkezinden 10, kırsalından 17 hastadan alınan örneğin merkezde 6, kırsalda 12'sinde kalın damla yaymalar pozitif sonuç verdi. Bismil merkezinden 8, kırsalından 18 hastadan alınan örneğin merkezde 6, kırsalda 12'sinde kalın damla yaymalar pozitif sonuç verdi (Tablo 7). Bu hastalardan kalın damla preparatların mikroskop bakısı sonucu sıtma pozitif olanların yaş grupları da değerlendirildi. 0-10 yaş grubunda 7, 11-20 yaş grubunda 21, 21-30 yaş grubunda 17, 31-40 yaş grubunda 22, 41-50 yaş grubunda 9, 51-60 yaş grubunda 3, 60 üstü yaş grubunda 4 hastada kalın damla preparatlar sıtma açısından pozitif saptandı (Tablo 8).

Tablo 7. Hastaların bölgelere göre dağılımı ve kalın damla preparatların sıtma açısından durumu.

Kalın damla	Diyarbakır		Silvan		Bismil		Toplam
	Merkez	Kırsal	Merkez	Kırsal	Merkez	Kırsal	
Pozitif	29	18	6	12	6	12	83
Negatif	5	4	4	5	2	6	26
Toplam	34	22	10	17	8	18	109

Tablo 8. Kalın damla preparatları sıtma pozitif saptanan hastaların yaş gruplarına göre dağılımı.

Yaş Grupları	0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	60 üstü
Kalın Damla Yayıması Sıtma Pozitif Saptanan Hastalar	7	21	17	22	9	3	4

Toplam 84 (% 77,0) hastada OptiMAL test *P. vivax* için pozitif sonuç vermiştir. Pozitif çıkanlar arasında, sıtma tedavisi alan hasta yoktu. Çalışmada mikroskop bakısı sonucu sıtma olduğu saptanan bir hastada OptiMAL test negatif bulundu. Bu hastanın parazitemi sayısı 1520 parazit/μl olarak saptandı. Kalın damla preparatlarda mikroskop bakısı sonucu negatif olan iki hastada OptiMAL test ile pozitif bulundu (Tablo 9). Çalışmada, kalın damla preparatlarında sıtma paraziti ve Schüffner tanecikleri görülen örnekler *P. vivax* türü olarak değerlendirildi. Hiçbir olguda *P. falciparum* bandında pozitifliğe rastlandı.

Çalışmaya katılan hastalarda parazitemi düzeyleri de hesaplandı. Sıtma saptanan olgularda parazitemi düzeyleri 60-1520 parazit/μl sınırları arasında değişiyordu.

Parazitemi düzeyi 1-100 parazit/μl olan hasta sayısı 4 (% 4,8), 101-250 parazit/μl olan hasta sayısı 15 (% 18,1), 251-500 parazit/μl olan hasta sayısı 26 (% 31,3), 501-1000 parazit/μl olan hasta sayısı 21 (% 25,3) iken, 1001 parazit/μl üstü olanlar 17 (% 20,5) olarak bulundu (Tablo 10).

Çalışma sonucu OptiMAL tanı testinin duyarlılığı % 98,8, seçiciliği ise % 92,3 olarak bulundu. Pozitif prediktif değeri % 97,6 iken, negatif prediktif değeri % 96 olarak bulundu. Tablo 9’da OptiMAL tanı testi ve kalın damla preparatların mikroskopik bakı sonuçları gösterilmektedir. Tablo 10’da ise kalın damla preparatları pozitif olan hastalardaki parazitemi yoğunluğu gösterilmiştir.

Tablo 9. OptiMAL tanı testi ve kalın damla preparatların mikroskop bakısı sonuçları.

	Kalın damla preparatların mikroskopik bakısı		
OptiMAL test sonuçları	Pozitif	Negatif	Toplam
Pozitif	(% 75,2) 82	(% 1,8) 2	(% 77) 84
Negatif	(% 0,9) 1	(% 22) 24	(% 23) 25
Toplam	(% 76,1) 83	(% 23,8) 26	(% 100) 109

Tablo 10. Kalın damla preparatları pozitif olan hastalardaki parazitemi yoğunluğu.

Parazitemi düzeyleri (parazit/μl)	Hasta sayısı
1-100	4 (% 4,8)
101-250	15 (% 18,1)
251-500	26 (% 31,3)
501-1000	21 (% 25,3)
1001 ve üstü	17 (% 20,5)

Tablo 11. OptiMAL test sonuçları ile kalın damla preparatlarının mikroskop bakısı sonuçları

OptiMAL test sonuçları	Kalın Damla Sonuçları		
	Pozitif	Negatif	Toplam
Pozitif	82 (% 75,2)	2 (% 1,8)	84 (% 77,0)
Negatif	1 (% 0,9)	24 (% 22,0)	25 (% 22,9)
Toplam	83 (% 76,1)	26 (% 23,8)	109 (% 100)

5. TARTIŞMA

Hızlı tanı testleri, sıtma tanısında etkin ve pratik bir yöntem olarak giderek önem kazanmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sıtmayı kontrol etmede kesin ve hızlı tanı yöntemlerinin araştırılmasını desteklemektedir. Bu testler tanıyı daha da hızlandırarak ilaç tedavisini izlemede, ölüm ve işgücü kaybını azaltmada da dolaylı olarak etkin rol oynarlar².

OptiMAL test bu amaçla geliştirilmiş en son hızlı tanı testlerinden birisidir. Test tam kanda *P. vivax* ve *P. falciparum* olgularını saptamada kullanılan tek adımlı, in-vitro koşullarda, renklenmeye dayalı immünokromatografik bir yöntemdir^{19,24,28}.

Bu çalışmada, OptiMAL tanı testinin sıtmanın endemik olduğu Güneydoğu Anadolu Bölgesindeki tanısal değeri araştırıldı. Testin duyarlılık ve seçiciliği saptanarak tanısal başarısının ülkemizde ve dünyada geçmişte yapılan çalışmalarla karşılaştırılması yapıldı.

Sıtma benzeri belirtileri bulunan ve bölgedeki çeşitli sağlık kuruluşlarına başvuran 109 hastanın 83'ünde kalın damla preparatların mikroskopik bakışı ile *P. vivax* tanısı kondu (Tablo 7). OptiMAL hızlı tanı testi ile de 84 hasta örneği pozitif olarak saptandı. Kalın damla inceleme ile *P. vivax* sıtma tanısı konan bir hastada, OptiMAL test ile negatif sonuç elde edildi. Kalın damla preparatlarında parazit saptanamayıp OptiMAL test ile pozitif saptanan olgu sayısı iki bulundu. OptiMAL testle negatif olup, mikroskop bakışı pozitif olan tek hastada parazitemi düzeyi 1520 parazit/µl idi. Bu hastanın kan örneği ile tekrarlayan çalışmalarda OptiMAL test ile negatif sonuç alındı (Tablo 9). Bu hastada tedavi alma ve tedaviyi yarım bırakma gibi bir öykü de mevcut değildi. Bu durumun izahı, parazitteki pLDH gen oluşumunda bir genetik değişkenlik, gende silinme, yüksek parazitemi halinde gelişebilecek prozon fenomeni oluşumu veya pLDH ile antikorun immün kompleks oluşumuna karşı gelişebilecek önleyici antikorların olası varlığı ile açıklanabilir. Literatürde bu olayın çok ciddi yüksek parazitemi sayılarında bile olabileceği söylenmektedir¹⁹.

Çalışmada kalın damla yöntemi ile sıtma saptanamayıp OptiMAL test ile pozitif bant elde edilen iki olguda literatürde de belirtildiği gibi mikroskopik tanıma sınırının

altında kalıcı olarak yaşayabilen cinsel olmayan parazit sayısında fazlalık, gametositlerin kanda aşırı derecede fazla olması ve antijenlerin reaksiyona girmeden kalıcılığı gibi faktörlerden herhangi birisine bağlı olabilir¹⁹.

OptiMAL test sonuçları ile kalın damla preparatlarının mikroskop bakışı sonuçları Tablo 11’de gösterilmiş olup, çalışma sonucunda OptiMAL tanı testinin duyarlılığı % 98,8, seçiciliği % 92,3 olarak bulundu. Pozitif prediktif değer % 97,6, negatif prediktif değer % 96 olarak bulundu.

Sıtma tanısında kullanılan hızlı tanı testlerinden ilk kullanıma giren Parasight F testi sadece *P. falciparum* HRP2 antijenine özgü idi. Bir çalışmada *P. falciparum* olgularında testin duyarlılığı % 98, seçiciliği % 100 olarak bulunmuştur²⁷. Testin mikroskop bakışı olanaklarının bulunmadığı kırsal alanda ve saha koşullarında hızlı ve kesin tanı için kullanılabilir olduğu ileri sürülmüştür. Fakat testin diğer *Plasmodium* türlerinin tanısında kesinlikle başarısız olmasından dolayı tüm *Plasmodium* türlerinin tanımlanabileceği yeni hızlı tanı testlerinin bulunmasına ihtiyaç duyulmuştur. Bunlardan biri olan OptiMAL test sadece canlı parazitlerce salınan bir enzim olan pLDH’nın kendisine karşı oluşan monoklonal antikorların kullanıldığı bir immünokromatografik testtir. Bu antikorlar, pLDH’nın türe özgü izoformları arasındaki antijenik farklara dayanarak tür ayrımının da saptanmasına olanak sağlamaktadır^{24,28}.

Parazite özgül LDH’yı saptamaya yönelik tanı amaçlı dipstik olarak adlandırılan bu yöntemle, Avustralya’da yapılan bir çalışmada, sıtma benzeri belirtilerle başvuran 231 hastadan alınan kan örneklerinde mikroskopi ve moleküler tanı yöntemi olan PCR ile karşılaştırılmış; 53 örnek PCR ve/veya mikroskopi ile pozitif bulunurken, pLDH tespitine dayanan yöntemde ise 76’sında pozitif sonuç alınmıştır. Çalışma sonucunda pLDH testinin duyarlılığı % 88,5, seçiciliği ise % 99,4 olarak saptanmıştır²⁹.

Kalın damla kan preparatı inceleme sonuçları ile OptiMAL yöntemin karşılaştırıldığı bir başka çalışmada; 202 sıtma şüpheli hastadan alınan kan örneklerinden; % 48’inde kalın damla ile pozitiflik saptanırken, % 45’inde OptiMAL ile pozitiflik bulunmuştur. Kalın damla ile % 82 *P. vivax*, % 18 *P. falciparum* saptanırken OptiMAL ile olguların % 82’si *P. vivax*, % 18’i *P. falciparum*’lu olarak saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada, OptiMAL ile sıtmanın yakalanamadığı durumlarda paraziteminin μ l ’de 100’den az olduğu da belirlenmiştir²⁴. Bu araştırmacılar farklı olarak

çalışmamızda düşük parazitemi yoğunluğuna sahip örneklerde dahi OptiMAL test ile pozitif sonuç alınmıştır.

ICT ve OptiMAL testlerinin karşılaştırıldığı başka bir çalışmada ise; tropikal bölgeye seyahatten dönen ateşli hastalardan alınan kan örneklerinde mikroskop bakısı ve PCR referans yöntemler olarak kabul edildiğinde *P. falciparum* için ICT testinin duyarlılığı % 97, seçiciliği % 90 bulunurken, OptiMAL testinde bu değerler % 85 ve % 96 olarak bulunmuştur. Çalışmada, *P. vivax* için ICT'nin duyarlılığı % 44, seçiciliği % 100 bulunurken, OptiMAL testinin duyarlılığı ve seçiciliği sırasıyla % 80 ve % 97 olarak bulunmuştur³⁰.

Kore'de 2000 yılında mikroskop bakısı 87'si sıtma olduğu saptanan bir hasta grubunda ICT ve OptiMAL testleri karşılaştırılmış, OptiMAL testin duyarlılığı % 69,3 ICT'nin ise % 44,6 olarak bulunmuştur³¹.

Kuveyt'te göçmenler üzerinde yapılan bir çalışmada, 550 sıtma şüpheli hastanın 125'inin mikroskop bakısı sıtma olduğu saptanmış, OptiMAL test ile 95 hastada sıtma bulunmuş ve µl 'de 100'den fazla parazitemi bulunması durumunda % 97 duyarlılık saptanırken, µl 'de 50'den az parazitemi düzeyinde bu oranın % 39'a indiği gözlenmiştir³².

Peru'da 72 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada ise 39 hasta mikroskop bakısı ile sıtma pozitif bulunmuş, OptiMAL test ile 36 kişide pozitif sonuç alınmıştır ve testin duyarlılığı % 92,3 seçiciliği % 100 saptanmıştır. Fakat testin µl 'de 100'den az parazit bulunduğu durumlarda duyarlılığın kısmen azalmaya başladığı gösterilmiştir³³. Çalışmamızda µl 'de 100'den az parazitemi düzeyinde olan dört olguda da OptiMAL test ile pozitif sonuç alınmıştır.

Kolombiya'da ise OptiMAL testin *P. vivax* ve *P. falciparum* tanısındaki başarısını saptamak amacıyla yapılan bir çalışmada iki grup üzerinde OptiMAL testin doğru tanıdaki ortalama başarısı % 96,9 bulunmuştur. Bu oran *P. vivax* için % 98,1 ayrıca *P. falciparum* için % 94,9 bulunmuştur³⁴.

Hindistan'da benzer bir çalışmada ise 215 sıtma şüpheli hastada mikroskop bakısı baz alınarak 93 hasta OptiMAL yöntemi ile pozitif bulunmuştur. Bu sonuçlara göre OptiMAL testin duyarlılığı *P. vivax* için % 95, *P. falciparum* için % 94,5 olarak tespit edilmiştir.. Her iki tür için seçicilik % 100 saptanmıştır³⁵.

Endonezya’da yapılan benzer bir çalışmada ise ICT testin *P. falciparum* için duyarlılık ve seçiciliği sırasıyla % 95,5 ve % 89,8 bulunurken, *P. vivax* için duyarlılık μ l ’de 500’den fazla parazitemi halinde % 96, μ l ’de 500’den az parazitemi halinde % 29 bulunmuştur²².

Türkiye’de 2001 yılında OptiMAL test ile ilgili yapılan bir çalışmada Şanlıurfa yöresinde sıtma şüphesi bulunan insanlardan toplanan kan örneklerinde mikroskop bakısı 81 kişi sıtma tanısı alırken, 76 hastaya OptiMAL test ile sıtma tanısı konmuştur. Çalışmada testin duyarlılığı % 96 seçiciliği ise % 100 bulunmuştur²⁸. Çalışmamızda ve bir çok çalışmada OptiMAL yönteminin duyarlılığı ve seçiciliği ile ilgili elde edilen sonuçlar birbirine benzer oranlarda bulunmuştur^{24,28,33,36}.

OptiMAL testin dezavantajları ile ilgili olarak çeşitli görüşler ileri sürülmüştür. Bunlardan birisi, parazitemi düzeyinin μ l ’de 100’den az olduğu olgularda, normalde % 100 olan duyarlılığın % 40 gibi çok düşük bir değere inebileceğidir. Ayrıca *P. vivax* ve *P. falciparum*’un birlikte bulunduğu ikili infeksiyon (çoklu) veya diğer olası çoklu infeksiyon hallerinde bu testin sadece *P. falciparum*’u tespit edip diğer türlerin hangileri olduğunun varlığını ayırt edememesidir. Ancak bu durum *P. falciparum* haricindeki üç türün bir arada bulunduğu ülkeler ya da bölgeler için söz konusudur^{24,28,33,36}.

Ancak bu durum ülkemiz gibi sadece *P. vivax*’ın bulunduğu ülkeler için sorun teşkil etmemektedir. Çünkü OptiMAL yönteminde birinci bantta pozitifliğin bulunması ülkemizde saptanan yerli olgular için bunun sadece *P. vivax* olduğunu, *P. malaria* ya da *P. ovale* olamayacağını göstermektedir. Ayrıca, çalışmada tanı yöntemi olarak OptiMAL’i seçmemizin bir diğer nedeni daha önce literatürde Güneydoğu Anadolu bölgesinde saptanan bazı olguların yerli *P. falciparum* olgusu olduğunun bildirilmesi idi^{24,28,33}. Bu nedenle çalışmamızda sıtmalı olgu sayısı az olmasına rağmen kalın damla incelemelerinden sonra OptiMAL yöntemi ile *P. falciparum* için tanıyı saptayan bantta negatif sonucun alınması bu türe sahip olguların bulunmadığını göstermiştir²⁸.

Sonuç olarak; *P. vivax*’ın endemik olduğu Türkiye gibi ülkelerde OptiMAL tanı yöntemi, kalın damla preparatların mikroskop bakısı tanısına eşdeğer, özellikle saha koşullarında kullanılabilecek seçenek, etkin ve etkili bir yöntem olarak değerlendirildi.

6. KAYNAKLAR

- 1- **Unat E K, Yücel A, Altaş K, Samastı M.** Unat'ın Tıp Parazitolojisi. Cerrahpaşa Tıp Fak. Vakfı Yayınları, Yayın No: 15. Beşinci Baskı, **1995**: 623-660.
- 2- **Özcel M A.** Sıtma. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No:16, **1999**: 1-190.
- 3- **Saygı G.** Temel Tıbbi Parazitoloji. Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları, İkinci Baskı, **1998**: 59-70.
- 4- **Brown W H.** Basic Clinical Parasitology. Fourth Edition. Appleton Century Crofts, New York, **1975**: 75-87.
- 5- **Markel E K, John D T.** Medical Parasitology. Eighth Edition. Chapter 4 W. B. Saunders Company, London, **1999**: 90-102.
- 6- **Merdivenci A.** Türkiye Sivrisinekleri. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, **1984**: 6-194.
- 7- **Özcel M A.** Güneydoğu Anadolu Projesini Tehdit Eden Parazit Hastalıkları. Türkiye Parazitoloji Derneği, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, **1995**:31-56.
- 8- **Özcel M A.** GAP ve parazit hastalıkları. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No: 11, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, **1993**:29-52.
- 9- **Leech J H, Sande M A.** Parasitic Infections. Vol.7. Churchill Livingstone, New York, **1988**:16-20.
- 10- **Balthazar Guedes H C.** Malaria Diagnosis. Parasitol Res, **1995**;81:4, 305-309
- 11- **Gilles H M.** Diagnostic methods in malaria. Bruce Chwatt's Essential Malariology Third Edition, London, **1993**:78-95.
- 12- **Singh B.** Molecular methods for diagnosis and epidemiological studies of parasitic infections. Int J Parasitol, **1997**; 27(10): 1135-1145.
- 13- **Snounou G.** Identification of the four human malaria parasite species in field samples by PCR and detection of prevalence of mixed infection. Mol Biochem Parasitol, **1993**; 58:283-292.

- 14- **Arai M C.** Detection of *P. falciparum* in human blood by a nested PCR. Am J Trop Med Hyg, **1994**; 51(5): 617-626.
- 15- **Kimura M, Miyake H.** Species-specific PCR detection of malaria parasites by microtiter plate hybridization. J Clin Microbiol, **1995**; 33(9):2342-2346.
- 16- **Rickman L S, Oberst R.** Rapid diagnosis of malaria by acridine orange staining of centrifuge parasites. Lancet, **1989**; 1:68-71.
- 17- **Wang X, Zhu S.** Field evaluation of the QBC technique for rapid diagnosis of vivax malaria. World Health Organisation, **1996**; 74(6):599-603.
- 18- **Kumar B K, Fadeel M.** Efficacy and limitations of QBC acridine orange staining as a diagnostic technique for malaria in developing countries. J Trop Med Hyg, **1993**; 96(4): 245-248.
- 19- **Kakkilaya B S.** Rapid diagnosis of malaria. Lab Medicine, **2003**; 8(34):602-608.
- 20- **Humar A.** Parasight F test compared with the PCR and microscopy for the diagnosis of *P. falciparum* malaria in travelers. Am J Trop Med Hyg, **1997**; 56(1):44-48.
- 21- **Amrad homepage:** <http://www.amrad.com.au/aux1/ict/products>
- 22- **Tjitra E.** Field evaluation of the ICT malaria test for detection of *P.falciparum* and *P. vivax* in patients with a presumptive clinical diagnosis of malaria in Eastern Indonesia. J Clin Microbiol, **1999**; 37(8):2412-2417.
- 23- **MAKRO-MAL homepage:** www.malaria.org/inthenews.html.
- 24- **Palmer J C, Lindo J F.** Evaluation of the OptiMAL test for rapid diagnosis of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* malaria. J Clin Microbiol, **1998**; 36(1):203-206.
- 25- **Eriřim:** <http://www.saglik.gov.tr/default.asp>.
- 26- **Eriřim:** <http://www.diyarbakir.gov.tr>
- 27- **Swift C J.** The rapid manual ParaSight-F test. A new diagnostic tool for *P. falciparum* infection Trans R Soc Trop Med Hyg, **1993**;87(3):646-648.

- 28- **Aslan G. Ulukanligil M.** Diagnostic performance characteristics of rapid dipstick test for *Plasmodium vivax* malaria. Mem Inst Oswaldo Cruz, **2001**;96(5):683-686.
- 29- **Jelinek T.** Sensitivity and specificity dipstick test for rapid diagnosis of malaria in nonimmune travelers. Clin Microbiol, **1999**; 3:721-723.
- 30- **Playford E G.** Evaluation of the ICT malaria P.f/P.v and the OptiMAL rapid diagnostic tests for malaria in febrile returned travellers. J Clin Microbiol, **2002**; 40(11):4166-4171.
- 31- **Cho D.** Evaluation of rapid immunocapture assays for diagnosis of *Plasmodium vivax* in Korea. **2001**. <http://springerlink.metapress.com/media>
- 32- **Iqbal J.** Comparison of the OptiMAL test with PCR for diagnosis of malaria in Immigrants. J Clin Microbiol, **1999**; 37(11):3644-3646.
- 33- **Tarazona A S.** Evaluation of the rapid diagnostic test OptiMAL for diagnosis of malaria due to *Plasmodium vivax*. B J Infect Dis, **2004**; 8(2):151-155.
- 34- **Ferro B E.** Performance of OptiMAL in the diagnosis of *P. vivax* and *P. falciparum* infections in a malaria referral center in Colombia. Mem Inst Oswaldo Cruz, **2002**; 97(5):731-735.
- 35- **Khan S A.** Comparison of optimal malarial test with light microscopy for the diagnosis of malaria. J Pak Med Assoc, **2004**; 54(8):404-407.
- 36- **Moody A.** Performance of the OptiMAL malaria antigen capture dipstick for malaria diagnosis and treatment monitoring at the hospital for tropical diseases, London. B J Haematol, **2000**; 109(4):891.

7. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	: İbrahim KOCAÇİFTÇİ
Doğum Tarihi ve Yeri	: 15.09.1971/KADIRLI
Medeni Durumu	: Bekar
Adres	: Öğretmenler Sitesi B Blok 14/9 Kadirli/OSMANİYE
Telefon	: 0505-304 69 37
E-mail	: ikocaciftci@mynet.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi	: Çukurova Üniversitesi
Görev Yerleri	: Sumbas Sağlık Ocağı (iki yıl), Fırat Üniversitesi Nöroloji (bir yıl)
Yabancı Dil	: İngilizce

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI
SITMA ARAŞTIRMA BİLGİ FORMU

Adana,/...../2004

Adı-Soyadı :		
Yaşı :		
Cinsiyeti :	E ☐	K ☐
Doğum yeri :		
Yaşadığı yer :		
Ateş :	Var ☐	Yok ☐
Ateş düzeni :	Düzenli ☐	Düzensiz ☐
Kaç gündür ateş var :		
Beraberinde titreme ve terleme var mı?:	Var ☐	Yok ☐
Başağrısı var mı ? :	Var ☐	Yok ☐
İştahsızlık :	Var ☐	Yok ☐
Kırıklık :	Var ☐	Yok ☐
Vücutta ve kollarda ağrılar:	Var ☐	Yok ☐
Bulantı :	Var ☐	Yok ☐
Kusma :	Var ☐	Yok ☐
Çarpıntı :	Var ☐	Yok ☐
Kusma, susama hissi :	Var ☐	Yok ☐
Daha önce sıtma geçirdi mi?:	E ☐	H ☐
Daha önce sıtma geçirdi ise		
Tedavi aldı mı? :	E ☐	H ☐
Ailede sıtma geçiren var mı? :	E ☐	H ☐
Oturduğu yer tarım alanı		
Veya bataklık mı? :	E ☐	H ☐

Ev adresi:

İş Adresi :

Telefon :



T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURULU



T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ETİK KURULU

Toplantı Sayısı		Tarih
3		07.03.2006

KARAR No 17- Parazitoloji Anabilim Dalı'nda Doç. Dr. İ. Soner Koltas yönetiminde Dr. İbrahim Kocaçiftçi tarafından tıpta uzmanlık tez çalışması olarak yürütülmesi öngörülen "Plasmodium Vivax'ın tanısında kalın damla ile immünokromatografik yöntemin karşılaştırılması" başlıklı proje araştırma etiği yönünden değerlendirildi; uygun olduğuna toplantıya katılan üyelerin oybirliğiyle karar verildi.

Prof. Dr İter Uzel
Etik Kurulu Başkanı

Toplantıya Katılmadı

Prof. Dr Fatma Tuncay Özgönen
Etik Kurulu Üyesi

Prof. Dr Ayhan Usal
Etik Kurulu Üyesi

Toplantıya Katılmadı

Prof. Dr Bilgin Yüksel
Etik Kurulu Üyesi

Prof. Dr Behnan Alper
Etik Kurulu Üyesi

Toplantıya Katılmadı

Doç. Dr Recep Tuncer
Etik Kurulu Üyesi

Doç. Dr Davut Alptekin
Etik Kurulu Üyesi

Yar. Doç. Dr Ersin Akpınar
Etik Kurulu Üyesi

Ar.Gör. Dr Gökhan Morgül
Etik Kurulu Üyesi

Toplantıya Katılmadı

Başhemşire Nuriye Kabukçu
Etik Kurulu Üyesi

Üyelikten Ayrıldı

Öğrenci Temsilcisi Boray Altunay
Etik Kurulu Üyesi

01330 Balcalı-ADANA

Telefon: 0-322 338 60 60/3465

Fax: 0-322 338 65 72