

İndirekt Floresan Antikor Test İle Tanı Konan *Leishmania* Enfeksiyonuna Bağlı Hemofagositik Sendrom

Hemophagocytic Syndrome due to *Leishmania* Infection Diagnosed with Immunofluorescence Antibody Test

Hakan Sarbay¹, Yasemin Işık Balcı¹, Selin Güler¹, Meral Türk², Mehmet Akın¹, Aziz Polat¹

¹Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Bilim Dalı, Denizli, Türkiye

²Denizli Devlet Hastanesi, Tıbbi Parazitoloji Kliniği, Denizli, Türkiye

ÖZ

Leishmaniasis, sıklıkla 5 yaş altında görülen retikuloendotelial sistemi tutan enfeksiyon hastalığıdır. Visseral enfeksiyon, uzun süreli ateş, kilo kaybı, halsizlik, pansitopeni, hepatosplenomegaliye sebep olabilir. Türkiye’de Visseral Leishmaniasis’ten (VL) sorumlu etken *Leishmania infantum*’dur. Bu yazıda İndirekt Floresan Antikor Test (IFAT) ile tanı konan *Leishmania* enfeksiyonuna bağlı hemofagositik sendrom sunulmuştur. Özellikle kemik iliği aspirasyonunda amastigot görülmeyen vakalarda, IFAT’ın VL tanısında çok önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: IFAT, Leishmaniasis, Hemofagositik Sendrom

Geliş Tarihi: 27.04.2016

Kabul Tarihi: 22.07.2016

ABSTRACT

Leishmaniasis is a reticuloendothelial system disease that mostly observed before the age of 5. Visceral infection causes long-standing fever, weight loss, weakness, pancytopenia, and hepatosplenomegaly. *Leishmania infantum* is responsible for visceral leishmaniasis (VL) in Turkey. We present a case of hemophagocytic syndrome due to *Leishmania* infection diagnosed with an immunofluorescence antibody test (IFAT). *Leishmania* amastigotes were not observed on bone marrow aspiration. We consider that IFAT is very important for parasite detection in the diagnosis of VL in children, particularly when amastigotes are not obtained on bone marrow aspiration.

Keywords: IFAT, leishmaniasis, hemophagocytic syndrome

Received: 27.04.2016

Accepted: 22.07.2016

GİRİŞ

Visseral leishmaniasis (VL), retikuloendotelial sistemi tutan parazit hastalığıdır (1). Ülkemizde Ege ve Akdeniz bölgelerinde endemik seyretmektedir. Türkiye’de yapılan çalışmalarda VL’de etkenin *L. infantum* olduğu saptanmıştır (2). Ana rezervuarı köpekler ve kemiricilerdir. Etkenin insana bulaşması enfekte dişi tatarcık sinekleri (phlebotomus, yakarca) ile olmaktadır (3).

Leishmania enfeksiyonlarına bağlı sekonder Hemofagositik Lenfositosis (HLH) gelişebilmektedir. HLH, lenfosit ve makrofajların artmış aktivasyonu sonucu fazla miktarda sitokin üretimiyle oluşan hiperinflamatuvar bir sendromdur

(4). Histiosit içine yerleşen *Leishmania*, *Mycobacterium tuberculosis* veya *Salmonella typhimurium* gibi intraselüler patojenler tarafından Toll Like reseptörlerin (TLR) direkt aktivasyonunun enfeksiyon ilişkili HLH’ye neden olduğu düşünülmektedir (5). *Leishmania* enfeksiyonuna bağlı gelişen HLH’de kemik iliği aspirasyonunda hemofagositoz ve *Leishmania* amastigotları görülebilmektedir (6).

Bu yazıda ateş, pansitopeni, hepatosplenomegali kliniği olan, kemik iliği aspirasyonunda hemofagositoz görülen fakat *Leishmania* amastigotları görülmeyen Immunofluorescence Antibody Test (IFAT) ile VL’e bağlı HLH tanısı konan hasta sunulmuştur.

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Dr. Hakan Sarbay E.posta: drhakansarbay@hotmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2016.4692

©Telif hakkı 2016 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2016 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

OLGU SUNUMU

Ateş ve iştahsızlık nedeniyle başvuran hastanın bir haftadır 39-40°C'yi bulan ateş, halsizlik, iştahsızlık ve her iki bacağına ağrı şikayetleri bulunmaktaydı. Üç yaş dört aylık olan hastanın öyküsünde ailenin hayvancılıkla uğraştığı, hastanın hayvanla temas ve çiğ süttten yapılan peynir tüketim öyküsü mevcuttu. Fizik muayenesinde genel durum orta, soluk görünümündü. Servikal, supraklavikuler, aksiller, inguinal lenfadenopati saptanmadı. Karaciğer 5 cm, dalak 6 cm palpe edildi. Laboratuvar tetkiklerinde beyaz küre: 3140 /mm³ (4.000-12.000/mm³), Hemoglobin: 7,3 gr/dl (>11 gr/dL), MCV: 85 (73-92), trombosit sayısı: 55.000 /mm³ (150.000-450.000/mm³), AST: 98 IU/L (<45 IU/L), ALT: 60 IU/L (45 IU/L), LDH: 503 U/L (120-330 U/L), sedimentasyon: 54 mm/sa (<20 mm/sa), CRP: 7,3 mg/dL (<0,5 mg/dL), böbrek fonksiyon testleri ve elektrolitler normal saptandı. Periferik yaymasında nötrofil: %40, lenfosit: %54, monosit: %6, atipik hücre-blast yoktu, hipokromi ve anizositoz mevcuttu, trombositler her sahada ortalama 4-5 adet görüldü. Viral serolojik incelemelerinde Toxoplazma, CMV, Rubella, EBV testlerinde özellik saptanmadı. Brucella tüp aglütinasyon testi negatif saptandı. Leishmaniasis kültürü gönderildi. Hemofagositik sendrom düşünülen hastanın ferritin: 573 ng/mL (20-200 ng/mL), trigliserid: 193 mg/dL (32-99 mg/dL), kolesterol: 79 mg/dL (109-189 mg/dL), HDL: 3 mg/dL (35-84 mg/dL), LDL: 37 mg/dL (60-140 mg/dL), fibrinojen: 287 mg/dL (200-400 mg/dL) saptandı. Kemik iliği aspirasyonu normoselüler, heterojen görünümdeydi. Blast, amastigot görülmedi, 3 adet hemofagositoz görüldü. *Leishmania* kültüründe üreme olmadı. *Leishmania* IFAT istendi. Hastaya 1 gr/kg/gün dozunda 2 kez IVIG verildi. Takiplerinde ateş yüksekliği devam eden hastaya HLH 2004 protokolü başlandı. Tedavinin 3. gününde hastanın ateşi normal sınırlara geriledi. *Leishmania* IFAT pozitif gelen hastaya lipozomal amfoterisin-B tedavisi 3 mg/gün dozunda 7 gün verildi. Tedavi başlangıcının 15. gününde laboratuvar tetkiklerinde, beyaz küre: 7.840 /mm³, hemoglobin: 8,6 gr/dL, trombosit sayısı: 204.000 /mm³, tedavinin 30. gününde beyaz küre: 9.200 /mm³, hemoglobin: 10,1 gr/dL, trombosit sayısı: 223.000 /mm³ saptandı. Hastanın kontrol kemik iliği aspirasyonu normal olarak değerlendirildi. Tedavi sonrası fizik muayenesinde hepatosplenomegali saptanmadı. Kontrol için gönderilen *Leishmania* IFAT negatif saptandı.

TARTIŞMA

Visseral leishmaniasis, daha çok çocuklarda görülen, retiküloendotelial sistemi tutan protozoon enfeksiyonudur. Kuluçka süresi 10-14 günden 10 yıla kadar değişebilmekle birlikte ortalama 2-4 aydır. VL olgularının %80'i beş yaş altındaki çocuklardır. Hastalığın bulgularının özgül olmaması ve kuluçka döneminin uzun olması nedeniyle çocuklarda tanı koymak zordur (7). Hastamız 3 yaş 4 aylık olup şikayetleri bir haftadır mevcuttu.

Sekonder HLH, enfeksiyon etkenleri içinde viral nedenlerden en sık CMV ve EBV enfeksiyonlarına, paraziter nedenlerden en sık *Leishmania* enfeksiyonlarına bağlı olarak gelişmektedir (8). HLH'de ateş, hepatosplenomegali, anemi, nötropeni, trombositopeni, hepatit, karaciğer fonksiyon testlerinde bozukluk, hiperferritinemi, hipofibrinojenemi, hipertrigliseridemi gibi klinik ve laboratuvar bulgular görülebilmektedir. Kemik iliği aspirasyonunda hemofagositoz %60 vakada görülebilir. Klinik ve laboratuvar şüphe varlığında kemik iliği aspirasyonunda hemofagositozun olmaması tanıdan uzaklaştırmamalıdır (9). Hastamızda 1 haftadır

39-40°C bulan ateş, halsizlik, iştahsızlık ve her iki bacağına ağrı şikayetleri fizik muayenesinde hepatosplenomegalisi bulunmaktaydı. Laboratuvar tetkiklerinde pansitopeni, karaciğer fonksiyon testlerinde yükselme ve hiperferritinemi mevcuttu. Yapılan kemik iliği aspirasyonunda 3 adet hemofagositoz görüldü. Mevcut bulgularla HLH 2009 tanı kriterlerine göre 3 major, 2 minör kriter ile HLH tanısı konuldu ve HLH 2004 tedavi protokolü başlandı.

Leishmania enfeksiyonu, hem HLH'ye yol açabilir, hem de HLH'yi ateş, splenomegali, sitopeniye neden olduğundan taklit edebilir (10). Akut başlangıçlı hastalıkta ateş yüksekliği, solukluk, halsizlik, iştahsızlık ve karın şişliği en sık başvuru nedenleridir. Fizik muayenede, en sık bulgu masif splenomegalidir. Hepatomegali ve lenfadenopati de görülebilmektedir. Yurdumuzda yapılan çalışmalarda hepatosplenomegali %97,7-99, solukluk ise %50-99 saptanmıştır (11). Dokularda amastigotların gösterilmesi veya kültürde organizmanın üretilmesi ile kesin tanı konulabilmektedir. Karaciğer biyopsisi ve dalak ponksiyonu değerli tanı yöntemleri olsalar da her ikisi de kanama riski sebebiyle pratikte kullanılmamaktadır. Kemik iliği aspirasyonu güvenilir bir tanı yöntemidir. Amastigotlar, Giemsa ve Wright boyalarıyla %54-86 olguda görülmektedir (12). Spesifik *Leishmania* antikörlerini belirlemek üzere ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), IFAT, kompleman birleşmesi, hemagglutinasyon gibi tanı yöntemleri de kullanılmaktadır. IFAT, VL tanısı için sıkça kullanılan bir yöntemdir. Promastigot ve amastigot formlarından hazırlanan antijenler kullanılmaktadır ve %90 olumlu sonuç vermektedir (13). Literatürde asemptomatik olup IFAT pozitif saptanan olgular vardır (14). Ayrıca klinik bulgular ile birlikte IFAT pozitifliğinin VL tanısı için çok anlamlı olduğu bildirilmiştir (15). Ülkemizden yapılan bir çalışmada kemik iliği aspirasyonunda amastigotların görülme oranı %69,2 olmasına rağmen IFAT ile tüm hastaların VL olduğu saptanmıştır (16). Başka bir çalışmada 4 hastanın ikisinde kemik iliği aspirasyonunda amastigot saptanmamış, diğer 2 hastanın kemik iliği aspirasyonu aile izni olmadığı için yapılamamıştır. Bu hastalara VL tanısı IFAT ile konulmuştur (17). Hastamızda kemik iliği aspirasyonunda amastigot görülmedi. *Leishmania* kültüründe üreme olmadı. HLH 2004 protokolü başlanan hastanın *Leishmania* IFAT pozitif gelmesi üzerine VL bağlı HLH tanısıyla tedaviye lipozomal amfoterisin-B tedavisi eklendi. Kemik iliği aspirasyonunun yapılamadığı veya yapıp da amastigotların görülemediği hastalarda serolojik tanı yöntemlerinin kullanılmasının çocukluk yaş grubunda fatal seyredebilecek bir hastalığın tanısını koymada çok önemli olduğunu düşünmekteyiz.

SONUÇ

Sonuç olarak *Leishmania* enfeksiyonundan şüphe duyulan hastalarda kemik iliği aspirasyonunda amastigot görülmesi bile IFAT ile antijen tayini yapılabileceği ve *Leishmania* enfeksiyonlarının HLH ile birlikteliğinin olabileceği unutulmamalıdır.

Hasta Onamı: Hasta onamı bu çalışmaya katılan hastalardan alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - H.S., Y.I.B.; Tasarım - H.S.; Denetleme - Y.I.B., A.P.; Kaynaklar - H.S., Y.I.B., S.G., M.T., M.A., A.P.; Malzemeler - H.S., Y.I.B., S.G., M.T., M.A., A.P.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - M.A., A.P.; Analiz ve/veya Yorum - H.S., Y.I.B., S.G., M.T., M.A., A.P.; Literatür Taraması - H.S.; Yazıyı Yazan - H.S., Y.I.B.; Eleştirel İnceleme - A.P., M.A., M.T.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadığını belirtmiştir.

Informed Consent: Informed consent was obtained from patients who participated in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - H.S., Y.I.B.; Design - H.S.; Supervision - Y.I.B., A.P.; Funding - H.S., Y.I.B., S.G., M.T., M.A., A.P.; Materials - H.S., Y.I.B., S.G., M.T., M.A., A.P.; Data Collection and/or Processing - M.A., A.P.; Analysis and/or Interpretation - H.S., Y.I.B., S.G., M.T., M.A., A.P.; Literature Review - H.S.; Writing - H.S., Y.I.B.; Critical Review - A.P., M.A., M.T.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

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.
3. Günay Ü, Baytan B, Güneş AM. Çocukluk Çağında Kala-Azar. *Güncel Pediatri* 2005; 3: 86-9.
4. Rosado FG, Kim AS. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: an update on diagnosis and pathogenesis. *Am J Clin Pathol* 2013; 139: 713-27. [CrossRef]
5. Verbsky JW, Grossman WJ. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: diagnosis, pathophysiology, treatment and future perspectives. *Ann Med* 2006; 38: 20-31. [CrossRef]
6. Gülez P, Hızarcıoğlu M, Dinçel N. Visceral Leishmaniasis ile Birlikte Hemofagositik Sendrom: İki Olgu Sunumu. *J Pediatr Inf* 2011; 5: 106-9.
7. Tanir G, Ozkan AT, Daglar E. Pediatric visceral leishmaniasis in Turkey. *Pediatrics International* 2006; 48: 66-9. [CrossRef]
8. Veerakul G, Sanpakit K, Tanphaichitr VS, Mahasandana C, Jirarattanasopa N. Secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis in children: an analysis of etiology and outcome. *J Med Assoc Thailand*. 2002; 85: 530-41.
9. Chandrakasan S, Filipovic AH. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: advances in pathophysiology, diagnosis and treatment. *J Pediatr* 2013; 163: 1253-9. [CrossRef]
10. Roupheal NG, Talati NJ, Vaughan C, Cunningham K, Moreria R, Gould C. Infections associated with haemophagocytic syndrome. *Lancet Infect Dis* 2007; 7: 814-22. [CrossRef]
11. Meral A, Sevinir B, Gunay Ü. The re-emergence of visceral leishmaniasis: important diagnostic features. *J Trop* 2001; 47: 187-8.
12. Özgüven V. Kala-Azar. In: *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*: Ankara: Güneş Kitapevi, 2000;233-7.
13. Kuman HA, Altıntaş N. Leishmanialar. *Protozoon Hastalıkları*. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi 1996; 79-100.
14. 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.
15. 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]
16. 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.
17. Balci YI, Turk M, Ozgur A, Kucuktasci K. Dört Çocuk Hastada İndirekt Floresan Antikor Test kullanımı ile Visceral Leishmaniasis Tanısının Değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2011; 35: 114-6. [CrossRef]