

Original araştırma-Original research

Sivas'ta insanlarda babesiozis seroprevalansının araştırılması

The investigation of seroprevalence of human babesiosis in Sivas

Kadir Kalkan, Semra Özçelik, Erdoğan Malatyalı

Hayvan Yetiştiriciliği ve Sağlığı Programı (Öğr. Gör. Dr. K. Kalkan), C. Ü. Şarkışla Aşık Veysel MYO, TR-58400 Sivas, Parazitoloji Anabilim Dalı (Prof. Dr. S. Özçelik, Dr. E. Malatyalı), Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, TR-58140 Sivas

Özet

Amaç. Bu çalışmanın amacı hayvancılıkla uğraşan ve/veya kırsal kesimde yaşayan insanlarda babesiozis yaygınlığını seroprevalans olarak saptamaktır. **Yöntem.** Çalışmamızda, Sivas bölgesinde Mart-Haziran 2008 tarihleri arasında kene tutma öyküsü bulunan 150 kişinin serumunda *Babesia bovis*'e karşı IgG ve IgM antikorlarının varlığı araştırılmıştır. Hayvancılıkla uğraşan ve çoğunluğu kırsal kesimde yaşayan insanlardan alınan kan örnekleri indirekt floresan antikor testi (IFAT) yöntemiyle anti-*B. bovis* IgG ve IgM antikorları yönünden çalışılmıştır. **Bulgular.** Kene tutma hikayesi olan 150 insan serumunda IFAT yöntemiyle *B. bovis*'e karşı %5,33 oranında IgG, %0,66 oranında IgM antikor pozitifliği saptanmıştır. **Sonuç.** Yöremizde evcil hayvanlarda yaygın olan babesiosise insanlarda da rastlanma olasılığı yüksektir. İnsanlarda ölümcül olabilen bu parazitozla ilgili daha ayrıntılı çalışmalara ve diğer türlerle ilgili verilere de gereksinim vardır.

Anahtar sözcükler: Babesiozis, *B. bovis*, *B. divergens*, *B. microti*, indirekt floresan antikor testi

Abstract

Aim. The purpose of this study is to investigate the seroprevalence of the human babesiosis in some farmers and villagers in Sivas region. **Methods.** In this study the sera obtained from 150 person who had tick bite history was investigated for the presence of anti-*Babesia bovis* IgG and IgM antibody in March-June 2008, Sivas province. Sera samples were studied by using indirect fluorescent antibody test (IFAT) for the presence of anti-*B. bovis* IgG and IgM antibody. **Results.** It was observed that IgG positivity was 5.33%, and IgM positivity was 0.66% against *B. bovis* in 150 human sera by using IFAT. **Conclusion.** Babesiosis is a common disease in domestic animals such as cattle, sheep in Sivas province so, there is high risk for the population living in this region. Detailed studies are necessary to elucidate other *Babesia* spp.

Key words: Babesiosis, *B. bovis*, *B. divergens*, *B. microti*, Indirect Fluorescent Antibody Test

Geliş tarihi/Received: 5 Ocak 2010; **Kabul tarihi/Accepted:** 18 Şubat 2010

İletişim Adresi:

Dr. Erdoğan Malatyalı, Parazitoloji Anabilim Dalı, Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, TR-58140 Sivas e-mail:emalatyali@yahoo.com

Giriş

Son 30 yıldır *Babesia* türlerinin insanlar için de önemli bir patojen olduğu ve sığırlarda görülen türlerden *Babesia bovis* ile *Babesia divergens*'in insanlarda da enfeksiyon oluşturduğu ortaya konmuştur. Hastalık etkeni *Babesia* türleri, hayvanlardan insanlara keneler aracılığıyla nakledilmekte, bazı insanlara kan nakli ile de bulaşabilmektedir. İnsanda hastalık yapan başlıca etken türler Avrupa'da *B. bovis* ve *B. divergens*, ABD'de ise *B. microti* olarak saptanmış, taşıyıcı kenelerin ise çoğunlukla *Ixodes* cinsine ait olduğu

belirlenmiştir. Babesiosis insanlarda sıtma benzeri bir enfeksiyona neden olmaktadır. Gençlerde ve sağlıklı kişilerde genellikle hafif bir hastalık oluştururken, asplenik ve immün yetmezliklilerde veya yaşlılarda yaşamı tehdit ederek ölümcül olabilmektedir [1-4].

Ülkemizde babesiosisin hem hayvanlarda hem de insanlarda görülme sıklığı üzerine yapılan çalışma sayısı oldukça azdır. Yapılan çalışmaların önemli bir kısmı da sığır, koyun, at v.b. gibi canlılar üzerinedir. İnsanlardaki yaygınlığı üzerine ise sadece bir çalışma yapılmıştır [5]. Bu nedenle, planlamış olduğumuz bu çalışmanın, ülkemiz verileri ve yöremiz halk sağlığına katkıda bulunacağı ve parazitoza dikkat çekeceği kanısındayız. Günümüzde özellikle Sivas ve çevresinde görülme sıklığı artan bazı zoonotik karakterdeki hastalıklar, keneler üzerine daha fazla çalışma yapılması gereğini de ortaya koymaktadır.

Gün ve ark. [5] göre insanlarda ilk babesiosis olgusu 1904 yılında Wilson ve Chowning'e atfen Healey ve Ristic tarafından bildirilmiş fakat bu olguda babesiosise neden olan *Babesia* türü bildirilmemiştir. Daha sonra 1957'de Avrupa'da splenektomili bir Yugoslav çiftçisinde görülmüştür. Skarabalo ve Deanovic tarafından bildirilen olgu *B. bovis* nedeni olup, bu bölgede endemik bir kene türü olan *Ixodes ricinus* tarafından taşındığı saptanmıştır. Daha önceleri hastalığın asplenik kişilerde yaygın ve ölümcül olduğu bildirilmiştir. Ancak 1969'da Massachusetts kıyılarına yakın Nontucket adasında ilk kez dalağı sağlam bir kişide *B. microti* enfeksiyonu bildirilmiş ve o zamandan günümüze kadar literatürde yüzlerce olgu yer almıştır [1]. 1968'de İrlanda'da, 1976'da Fransa'da, 1979'da İngiltere'de dalağı sağlam kişilerde babesiosis tanımlanmıştır. ABD'de ilk olgudan sonra 1977, 1978, 1980 ve 1982 yıllarında *B. microti* kaynaklı olgular bildirmiştir [6].

Yukarıda klinik olgu olarak bildirilen ilk bilgiler dışında bugüne kadar insanlarda genellikle serolojik tanı yöntemleri ile tespit edilmiş pek çok sayıda babesiosis olgusu bildirilmiştir. Büyük çoğunluğu Kuzey Amerika'dan olmakla birlikte, Avrupa ülkelerinden ve Uzak Doğu ülkelerinden Tayvan ve Japonya'dan da bildirilmiş olgular bulunmaktadır [7].

İnsanlarda babesiosis genellikle latent seyirli olup, ancak splenektomili şahıslarda ve çeşitli nedenlerle immün sistemin baskı altında tutulduğu zamanlarda klinik semptomlar meydana gelmektedir. Özellikle latent seyirli babesiosis enfeksiyonlarında tanı oldukça zor olmaktadır. Ülkemizde insanlarda, günümüze kadar klinik babesiosis ile ilgili bildirilen herhangi bir bilgiye rastlanamamıştır. Bu durum serolojik tanı yöntemlerinin önem kazanmasına neden olmuştur.

Bu çalışmanın amacı hayvancılıkla uğraşan ve/veya kırsal kesimde yaşayan insanlarda ve özellikle kene tutma hikayesi bulunan kişilerde bu parazitozun yaygınlığını seroprevalans olarak saptamaktır.

Gereç ve yöntem

Bu amaçla, özellikle hayvancılıkla uğraşan kesimlerden ve hayvan bakıcısı olarak çalışan insanlardan olmak üzere 150 kişiden 10ml kan örneği alınmıştır. Steril tüplere alınan kanlardan elde edilen serumlar numaralandırılarak test edilinceye kadar -20 0C lik derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Ayrıca kan alınan kişilerin adı, yaşı, cinsiyeti ve adresi gibi bilgiler kayıt altına alınmıştır. Toplanan serumlar anti-*B. bovis* IgG ve IgM antikorları yönünden Fuller Laboratories firmasının üretmiş olduğu kitlerin lamları üzerinde çalışılmış ve konjugat olarak Sigma- anti human IgG ve IgM, FITCH konjugatları olarak kullanılmıştır.

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi ki-kare testi kullanıldı.

Bulgular

Hayvancılıkla ilgisi olan ve kene tutma hikayesi bulunan 150 kişiden elde edilen serumların anti-*B. bovis* IgG antikorları yönünden incelenmesi sonunda test prosedürü gereği 1/40 sulandırmada %5,33 oranında IgG ve %0,66 oranında IgM seropozitifliği

saptanmıştır (Tablo1). IgG pozitifliği, IgM ile karşılaştırıldığında anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($\chi^2=5.61$, $p<0.05$).

Tablo 1. Risk grubu insanlardan alınan kan örneklerinde, IFAT ile anti- *B. bovis* IgG ve IgM antikorlarının dağılımı.

Araştırılan antikor	Pozitif		Negatif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Anti- <i>B. bovis</i> IgG	8	5,33	142	94,67	150	100
Anti- <i>B.Bovis</i> IgM	1	0,66	149	99,34	150	100

Tablo 2. Pozitif saptanan insan serum örneklerinin cinsiyete göre dağılımı.

Cinsiyet	Pozitif		Negatif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
	Erkek	1	1,8	53	98,1	54
Kadın	8	8,3	88	91,7	96	100
Toplam	9	6,0	141	94,0	150	100

Tablo 3. Pozitif saptanan insan serum örneklerinin yaşlara göre dağılımı

Yaş grupları	Pozitif		Negatif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
	0-20	0	0,0	29	100,0	29
20-40	3	7,5	37	92,5	40	100
40-60	3	5,2	55	94,8	58	100
60+	3	13,0	20	87,0	23	100
Toplam	9	6,0	141	94,0	150	100

Tablo 2 ve Tablo 3 de ise pozitif saptanan örneklerin yaş ve cinsiyete göre dağılımları yer almıştır. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, yaş ve cinsiyet yönünden gruplar arasındaki fark önemsiz bulunmuştur (sırayla $\chi^2=0.1$ ve 4.12, $p>0.05$). Ancak dikkati çeken Tablo 2 de, pozitif 9 örneğin 8'inin kadın olduğu ve Tablo 3 de ise pozitifliklerin 20 yaşın üstünde görülmesidir.

Tartışma

Dünyada Babesiosisle ilgili ilk ayrıntılı olgu bildirimini 1956'da Yugoslavyalı asplenik bir çiftçiden olmuştur. ABD'den bildirilen olguların çoğunluğunda *B. microti* etken olarak saptanmış, taşıyıcı kenelerin ise *I. scapularis* türü olduğu bildirilmiştir. Avrupadan bildirilen olguların çoğunun *B. divergens* olduğu ve sığırlardan *I. ricinus* türü kenelerle taşındığı belirtilmiştir. 1991–2000 arasında moleküler teknik çalışmalarla ABD'de WA1 (Washington 1), CA–1 (California 1) ve MO1 (Missouri 1) suşları belirlenmiş iken, İtalya ve Avusturya'dan tam olarak *B. divergens* karakterinde olmayan ve yeni tanımlanan EU1 (European Union 1) suşu tespit edilmiştir [8].

Günümüzde hala babesiosisle ilgili ölümler görülmeye devam etmektedir. ABD de 2008 yılında *B. microti* enfeksiyonu saptanan 14 hasta takip ve tedavi edilmiş ancak bunlardan üçü kaybedilmiştir (2). Dünyada olgular görüldükçe çok sayıda seroprevalans çalışmaları da yapılmıştır. Ülkemizde ise babesiosisin insanda serolojik yöntemlerle tanısına yönelik az sayıda çalışma vardır. Gün ve ark.[5]'in 1996 yılında yapmış olduğu çalışmada Türkiye'de ilk kez insanda *B. divergens* ve *B. bovis*'e karşı antikor pozitifliği araştırılmıştır. Ankara'nın Kızılcahamam ilçesinde yaşları 13–70 arasında olan 50 kişi, IFA testiyle incelenmiş olup bunlardan 4'ünde *B. divergens*'e karşı, 1'inde ise *B. bovis*'e karşı antikor varlığı tespit edilmiştir [5].

Almanya'da insanda *Babesia* enfeksiyonlarının prevalansını ortaya koymak amacıyla yapılan bir çalışmada Mayıs-Kasım 1999 tarihlerinde Rhein-Main bölgesinde toplanan

467 serum örneğinde IgG ve IgM antikorları (*B. microti* ve *B. divergens*'e spesifik) IFA yöntemiyle araştırılmıştır. Çalışmanın sonunda 467 serumun 25'inde (%5,4) *B. microti* antikorları, 17'sinde (%3,6) *B. divergens* saptanmıştır [9].

Haselbarth ve ark.[10], Almanya'da lenfoma nedeniyle 63 yaşında dalağı alınmış bir hastada 4 hafta sonra anemi, sarılık ve koyu renkli idrar yapma belirtileri görüldüğünü bildirmişlerdir. Laboratuvar bulgularında hemolitik anemi, hemoglobinuri ve böbrek yetmezliği saptanmıştır. Hasta kene kaynaklı hastalıkların yaygın olduğu bölgeden gelmiş olup PCR yöntemi ile babesiozis araştırılmış ve hastadan *Babesia* EU1 identifiye edilmiştir [10].

Chrisholm ve ark. [11], 185 insan serum örneğinin 6'sında 1:256 sulandırmada *B. microti*'ye karşı pozitiflik saptamışlardır [11]. Bir başka benzer çalışmalarında IFAT testi ile 282 kişinin 9'unda 1/1024 sulandırmada veya daha üstünde pozitiflik saptanmıştır. *B. bigemina*, *B. equi*, *B. argentina*, *Plasmodium spp.* ile çapraz reaksiyonlar olduğu da belirlenmiştir [12]. Bizim çalışmamızda da diğer *Babesia* türleri ile çapraz reaksiyonlar olabileceğini düşünmekteyiz.

Krause ve ark. [13] ise ABD'de insanda IFA testi ile *B. microti* antikorlarını araştırmıştır. İngiltere'den babesiosisli 258 kişi, yine aynı bölgeden babesiozis hikayesi olmayan 55 kişi ve İzlanda'dan 50 kişinin serumu çalışılmıştır. Test sonuçları değerlendirildiğinde IFA testi ile 4 farklı laboratuvarından alınan sonuçlara göre %88-96 duyarlılık, %90-100 özgüllük saptanmıştır [13].

Houghton ve ark. [14] nın yapmış olduğu çalışmada ise, IFA ile *B. microti*'ye karşı 18 serum ve 38 donör kanı pozitif bulunmuştur. Çalışmanın sonunda *B. microti*-spesifik peptide EIA yöntemi, IFA, PCR ve immunoblot yöntemleriyle doğrulanmıştır. *B. microti*-spesifik peptide EIA yönteminin özellikle kan bankalarında *B. microti* yönünden kullanılabilir bir test olduğu vurgulanmıştır [14].

Duh ve ark.[15] ticari kiti bulunmadığından IFA kiti oluşturmuş ve *B. divergens* ile *Babesia* EU1 arasında çapraz reaksiyon meydana geldiğini bildirmişlerdir [15].

Hollanda'da bir babesiozis salgını sonrası, salgın bölgesindeki hayvanlardan 4298 kene toplanmıştır. Kenelerde PCR ve RLB (Reverse Line Blot) yöntemleriyle *Borrelia*, *Babesia*, *Theileria*, *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Rickettsia*, araştırılmıştır. Toplanan kenelerde *Babesia* EU1 %1.2, *B. divergens* %0.4, *B. microti* %0.4 oranlarında saptanmıştır [16].

Sonuç olarak, çalışmamızda; hayvancılıkla uğraşan 150 kişiden elde edilen serumların anti-*Babesia bovis* IgG ve IgM antikorları yönünden incelenmesi ile %5.33 IgG, %0.66 IgM seropozitifliği saptanmıştır. Bu toplulukta kazanılmış bağışıklığın göstergesi olan IgG pozitifliğinin IgM'e göre anlamlı şekilde yüksek çıkması beklenen bir sonuçtur. Bununla birlikte 9 pozitif örnekten 8'inin kadınlara ait olması ve pozitifliklerin 20 yaşın üstünde görülmesi dikkat çekicidir.

Kaynaklar

1. Ünal S. Babesiosis. In: İnfeksiyon Hastalıklarında Güncel Yaklaşımlar. Remington JS, Swartz MN (Eds.) (Tercüme), Bonus Ltd. Şti. Ankara: 1998; pp 222-36.
2. Krause PJ, Gewurz BE, Hill D, Marty FM, Vannier E, Foppa IM, Furman RR, Neuhaus E, Skowron G, Gupta S, McCalla C, Pesanti EL, Young M, Heiman D, Hsue G, Gelfand JA, Wormser GP, Dickason J, Bia FJ, Hartman B, Telford SR 3rd, Christianson D, Dardick K, Coleman M, Giroto JE, Spielman A. Persistent and relapsing babesiosis in immunocompromised patients. Clin Infect Dis. 2008; 46:370-6.
3. Kurt Ö, Girginkardeşler N. Babesiosis. Türkiye Parazit Derg 2001; 25: 94-8
4. Özcel MA, Alkan ZM. Babesiosis. In: Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. Özcel MA (Ed). Meta Basım, İzmir: 2007; pp 135-40.
5. Gün H, Tanyüksel M, Yukarı BA, Çakmak A, Karaer Z. Türkiye'de babesiosisin ilk insan serodiagnozu, Türkiye Parazit Derg 1996; 20:1-7.
6. Beaver PC, Jung RC, Cupp EW. Clinical Parasitology. 9th ed. Philadelphia U.S.A: Lea & Febiger, 1984; pp 205-8.

7. John DT, Petri BA jr. Markell and Voge's Medical Parasitology. 9th Ed. Missouri U.S.A: Elsevier, 2006; pp 151-63.
8. Herwaldt BL, Cacciò S, Gherlinzoni F, Aspöck H, Slemenda SB, Piccaluga P, Martinelli G, Edelhofer R, Hollenstein U, Poletti G, Pampiglione S, Löschenberger K, Tura S, Pieniazek NJ. Molecular characterization of a non-*Babesia divergens* organism causing zoonotic babesiosis in Europe. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9: 942-8.
9. Hunfeld KP, Lambert A, Kampen H, Albert S, Epe C, Brade V, Tenter AM. Seroprevalence of *Babesia* infections in humans exposed to ticks in midwestern Germany. *J Clin Microbiol.* 2002; 40: 2431-6.
10. Häselbarth K, Kurz M, Hunfeld KP, Krieger G. Babesiosis in an immunocompromised German patient. *Medizinische Klinik* 2008, 103: 104-7.
11. Chrisohm ES, Ruebush TK, Sutzer AJ, Healy GR. *Babesia microti* infection in man: evaluation of an indirect immunofluorescent antibody test. *Am J Trop Med Hyg.* 1978; 27:14-9.
12. Chrisohm ES, Suizer AJ, Ruebush TK. Indirect immunofluorescence test for human *Babesia microti* infection: antigenic specificity. *Am J Trop Med Hyg.* 1986; 35: 921-5.
13. Krause PJ, Telford SR 3rd, Ryan R, Conrad PA, Wilson M, Thomford JW, Spielman A. Diagnosis of Babesiosis: evaluation of a serologic test for the detection of *Babesia microti* antibody. *J Infect Dis.* 1994; 169: 923-6.
14. Houghton RL, Homer MJ, Reynolds LD, Sleath PR, Lodes MJ, Berardi V, Leiby DA, Persing DH. Identification of *Babesia microti*-specific immunodominant epitopes and development of a peptide EIA for detection of antibodies in serum. *Transfusion* 2002; 42: 1488-96.
15. Duh D, Jelovsek M, Avsic-Zupanc T. Evaluation of an indirect fluorescence immunoassay for the detection of serum antibodies against *Babesia divergens* in humans. *Parasitology* 2007; 134: 179-85.
16. Nijhof AM, Bodaan C, Postigo M, Nieuwenhuijs H, Opsteegh M, Franssen L, Jebbink F, Jongejan F. Ticks and associated pathogens collected from domestic animals in the Netherlands. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2007; 7: 585-95.