

TOXOCARA CANIS İLE DENEYSSEL ENFEKTE FARELERDE VİSCERAL LARVA MİGRANSIN İNDİREKT HEMAGLUTİNASYON VE İNDİREKT FLORESAN ANTİKOR TESTLERİ İLE TEŞHİSİ¹

H. Oğuz SARİMEHMETOĞLU²

The diagnosis of visceral larvae migrans with the indirect haemagglutination and indirect fluorescence antibody test in the experimental infected mice with Toxocara canis

Summary: *The diagnosis of visceral larva migrans in the experimentally infected mice with Toxocara canis was investigated comparatively by using indirect Haemagglutination (IHA) and indirect Fluorescence Antibody (IFA) tests. The T. canis eggs used in the study were obtained from female parasites, which were collected from the intestines of dead dogs. Toxocara canis antigens used in the study were also obtained from adult parasites (female and male) which were collected from the intestines of dead dogs in the same way.*

Mice were infected by 2000 T. canis infected eggs. For every infection days 5 infected and 5 control (without T. canis infection) mice were used, 10 mice in all. After the 0., 2., 4., 6., 8., 10., 12., 14., 16., 18., 20., 22., 24., 26., 28., 30., 33., 36., 39., 42., 46., 50., 54., 58., 62., 75., 90. and 120th days of infection during the serological test by using both tests, first antigens were detected on zero day with IHAT and 14th day with IFAT after geometric average was taken.

As a result of serological examinations, IFAT was found to be more specific but less sensitive than IHAT in the diagnosis of visceral larva migrans depending on T. canis. False positive reactions were observed both in IFAT and IHAT control group serums. However, in the IHAT, false positive reactions were found to be at higher levels than those in IFAT.

Key words: *Toxocara canis, Visceral larvae migrans, IFAT, IHAT*

Özet: *Bu çalışmada Toxocara canis ile deneysel enfekte farelerde indirekt hemaglutinasyon ve indirekt floresan antikor testleri ile karşılaştırmalı olarak visceral larva migransın teşhisi araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan T. canis yumurtaları, ölü köpeklerin bağırsaklarından toplanan dişi parazitlerden, antijenler de hem dişi, hem de erkek T. canis'lerden elde edilmiştir.*

Visceral larva migransı oluşturmak amacı ile her fareye ortalama 2000 Toxocara canis yumurtası verilmiştir. Belirlenen her gün için 5 enfekte, 5 kontrol olmak üzere toplam 10 fare kullanılmıştır. Enfeksiyondan sonraki 0., 2., 4., 6., 8., 10., 12., 14., 16., 18., 20., 22., 24., 26., 28., 30., 33., 36., 39., 42., 46., 50., 54., 58.,

1. Aynı adlı Doktora tezinden özetlenmiştir.

2. Dr..Ankara Üniv. Veteriner Fak. Parazitoloji Anabilim Dalı, Helminoloji Bilim Dalı, Dışkapı-Ankara

62., 75., 90. ve 120. günlerde her iki testle de yapılan serolojik kontrollerde, geometrik ortalama çıkarıldıktan sonra, IFAT ile en erken 14. günde, IHAT ile ise 0. günde antikor tespit edilmiştir.

Serolojik kontroller sonucunda, *T. canis*'den meydana gelen visceral larva migransın teşhisinde IFAT'ın daha spesifik, IHAT'ın ise daha duyarlı olduğu gözlenmiştir. Hem IFAT, hem de IHAT'da kontrol grubu serumlarda, yalancı pozitif reaksiyonlar gözlenmiştir. Ancak IHAT'daki yalancı pozitif reaksiyonların IFAT'a göre çok daha yüksek oranda olduğu dikkat çekmiştir.

Anahtar kelimeler: *Toxocara canis*, Visceral larva migrans, IFAT, IHAT

Giriş

Toxocara canis'in olgunları başta köpek olmak üzere, tilki, kurt, çakal gibi et yiyen hayvanların ince bağırsaklarında, seyrek olarak da kalın bağırsak ve midelerinde yaşarlar. Nadiren olgunları kedilerde de bulunabilmektedir(15).

Parazitin köpeklerdeki yayılışı ile ilgili olarak yurt dışında yapılan çalışmalarda değişik ülkelerden, %1-49.5 arasında değişen farklı yayılış oranları bildirilmiştir (2,3,5,9,19).

Toxocara canis'e, Türkiye'de de köpeklerde oldukça sık rastlanmaktadır (11). Parazitin köpeklerdeki yayılışı Ankara'da %20-54.6 (10,15,25), Elazığ'da %26-44.76 (16,33), İzmir'de %67.87 (6), İstanbul'da %22.7 (24), Bursa'da %39 (34) olarak bildirilmiştir. Tiğin ve ark. (36) yaptıkları çalışmada Ankara Atatürk Orman Çiftliği Hayvanat Bahçesi'ndeki karnivor hayvanlardan köpek, kurt ve aslında *T. canis*'e rastladıklarını belirtmişlerdir.

Toxocara canis, üzerinde yaşadığı hayvanların sağlığı kadar insan sağlığını da yakından ilgilendirmektedir (15,27). Şöyleki: İnsanlar tarafından ağız yoluyla alınan embriyonlu *T. canis* yumurtalarının bağırsaklarda açılmasıyla serbest kalan larvaların çoğu bağırsak mukozasını delerek hepatik vene ulaşırlar. Az sayıda larva da mezenter lenf yumurtalarına, oradan da kalbe geçerek genel kan dolaşımı yoluyla çeşitli organ ve dokulara gelirler. Larvalara en çok karaciğer, akciğer ve beyinde daha seyrek olarak da kas ve göz gibi organlarda rastlanmaktadır (13,39,40). Visceral larva migrans (iç organ larva göçü) adı verilen bu olayda insanlarda çeşitli allerjik bozuklukların yanısıra sindirim, solunum ve sinir

sistemi bozuklukları ile ilgili çeşitli semptomlar da görülebilmektedir(8,32,35).

Serolojik testlerle visceral larva migransın insanlardaki yayılışı; Avrupa'da %5-13, Amerika Birleşik Devletleri'nde %4-8.8, Afrika'da %5-16.4, Avustralya'da %3.3-7, Birleşik Devletler Topluluğu'nda %14.3-17.8, Irak'da %7.3 olarak saptanmıştır(2,7,17,22,30).

Türkiye'de, bu konu ile ilgili yapılan bir çalışmada(21) indirekt hemaglutinasyon testi kullanılmış ve %44.28 pozitif sonuç alınmıştır. Yapılan başka bir çalışmada ise bu oran %70 olarak bildirilmiştir (26).

Toxocara canis'in embriyonlu yumurta kesitlerini antijen olarak kullanarak IFAT ve Pre-sipitasyon testini uygulayan Baufine ve ark. (4) IFAT'ın, daha duyarlı ve kullanışlı olduğunu belirtmişlerdir. Annen ve ark. (1) da titrenin 1/10-1/320 arasında değiştiğini ve negatif kontrollerde antikorların saptanmadığını, ayrıca *Ascaris suum* ile enfekte hayvanlarda azda olsa kros reaksiyon görülebileceğini kaydetmişlerdir. Kobayları 500, 1000, 1500 *T. canis* yumurtası ile enfekte ettikten 5 hafta sonra, olgun *T. canis*'leri antijen olarak kullanarak, CIEP ve IHAT teknikleri ile enfeksiyonun teşhisini deneyen Enayat ve Pezeshki (12), her iki testin de visceral larva migransın serolojik teşhisinde kullanımının mümkün olabileceğini bildirmişlerdir. Krupp (20), *T. canis* ve *A.suum*'un olgun ve larvalarından elde ettiği protein ekstraktlarını antijen olarak kullanarak IHAT ile kontrol ettiği visceral larva migransdan şüpheli 237 hasta serumundan 122 sinin negatif, 115 ininde pozitif sonuç verdiğini bildirmiştir. Ateş, hepatomegali, solunum yetmezliği, öksürük ve hırıltılı solunum gibi visceral larva migrans be-

İrtisi görülen 82 çocuk hastadan Agar Jel Pre-sipitasyon Testi ile pozitif bulunan 6'sının serumunun İHAT ile kontrolünde olumlu sonuçlar alınmıştır (14). Yapılan bir çalışmada (23), 5000 *T. canis* yumurtası ile visceral larva migrans oluşturulan tavşanlarda, İHAT ile %44.8 oranında pozitif sonuç alınmıştır.

Bu çalışmada İFA ve İHA testleri ile visceral larva migransının erken dönemde teşhisi, ayrıca bu testlerden hangisinin daha spesifik ve duyarlı olduğunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Keçiören Belediyesi'nden ölü olarak temin edilen, 131 sokak köpeğinin otopsileri yapılarak bağırsaklarında bulunan olgun *Toxocara canis*'ler toplanmıştır. Parazitlerin dişileri ayrılarak uterusları açılmıştır. Uterustan toplanan yumurtalar petri kutularına aktararak 26-28°C a ayarlı etüvde içlerinde 2. dönem enfektif larva gelişinceye kadar (4-5 hafta) tutulmuştur.

Çalışmada bildirilen her enfeksiyon günü için (5 pozitif kontrol, 5 negatif kontrol) 10 olmak üzere toplam 280 adet, 5-6 haftalık erkek(115) ve dişi(165) beyaz fareler (*Mus musculus* var. *albinos*) kullanılmıştır. Pozitif kontrol farelere, 0.5 cc fizyolojik tuzlu su içinde 2000 enfekte yumurta, ucunda eğri uçlu küt kanül bulunan bir enjektör yardımı ile oral olarak verilmiştir. Negatif kontrol grubunda bulunan 5 fareye ise aynı yolla sadece 0.5 cc fizyolojik tuzlu su verilmiştir.

Enfeksiyondan sonraki 0., 2., 4., 6., 8., 10., 12., 14., 16., 18., 20., 22., 24., 26., 28., 30., 33., 36., 39., 42., 46., 50., 54., 58., 62., 75., 90. ve 120. günlerde pozitif (enfekte) ve negatif kontrol gruplarından 5'er farenin kanları alınarak otopsileri yapılmıştır. Otopsi yapılan farelerin karaciğer ve akciğerlerinde bulunan larvaların teşhis edilebilmesi amacı ile bu organlar Sprent'in (31) bildirdiği teknikten faydalanılarak hazırlanan pepsin solüsyonu içerisinde alınmış, küçük parçalara ayrılarak 37°C da 10-12 saat etüvde bekletilmiştir. Bu işlemler sonrasında örnekleme usulü ile larvalar sayılmıştır. İFAT için serumlar, Coons buffer so-

lasyonu ile 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128'e kadar sulandırılmıştır. Antijen olarak olgun *T. canis*'in çeşitli bölgelerinden alınan donmuş kesitleri kullanılmıştır. İHAT için serumlar PBS'de (pH 7.2) hazırlanan %0.7'lik at serumu ile 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256'ya kadar sulandırılmıştır. Antijen olarak olgun *T. canis* dişi ve erkeklerinden hazırlanan solüsyon kullanılmıştır(38).

İstatistik analiz: Sonuçların istatistiksel değerlendirilmelerinde geometrik ortalama kullanılmıştır. Sonuçların geometrik ortalamaları: $GO = \frac{\sum f(x)}{N}$ yararlanılarak elde edilmiştir. Burada (x) değişik antikor titrelerini, (f) bu titreleri veren serum sayısını, (N) de toplam muayene sayısını ifade etmektedir.

İki ortalama arasındaki farkın önem kontrolünde;

$$Sd = \sqrt{\frac{VGIKO(x_{m_1} + m_2/m_1 \times m_2)}{d}}$$

formülünden yararlanılmıştır. Burada da d=iki ortalama değer arasındaki farkı, Sd=iki ortalama arasındaki farkın standart hatasını, m_1 =birinci gruptaki denek sayısını, m_2 =ikinci gruptaki denek sayısını, GİKO=grup içi kareler ortalamasını göstermektedir.

Bulgular

Farelerin kan serumlarının İFAT ve İHAT ile kontrollerinde şu sonuçlar alınmıştır.

Enfeksiyon grubundaki farelerin İFAT ile yapılan kontrollerinde; 2., 4., 10., 12. ve 120. günlerde her 5 fareden birinin; 8., 50., 58., 62., 75. ve 90. günlerde 5 fareden 2'sinin; 14., 16., 22., 46. ve 54. günlerde 5 fareden 3'ünün; 18., 20., 26., 30. ve 42. günlerde 5 fareden 4'ünün; 24., 28., 33., 36. ve 39. günlerde de farelerin tamamının pozitif reaksiyon verdiği saptanmıştır (Şekil1). Sıfıncı ve 6. günlerde ise kan serumlarının tamamının negatif reaksiyon verdiği gözlenmiştir (Tablo1).

Buna karşılık kontrol grubundaki farelerin kan serumlarının aynı testle yapılan bakılarında 4., 10., 18., 20., 24., 30., 39., 54. ve 75. günlerde her 5 fareden biri, 33., 36., 46., 50., 62. ve 120. günlerde 5 fareden 2'si yalnızca pozitif re-

aksiyon verirken, 0., 2., 6., 8., 12., 14., 16., 22., 26., 28., 42., 58. ve 90. günlerde ise tamamının kan serumu negatif reaksiyon vermiştir (Tablo1)(Şekil1).

Enfeksiyon grubundaki toplam 140 serumdan IFAT ile pozitif reaksiyon veren 77'sinin %7.8'i yalnız 1/2, %39'u 1/4, %23.4'ü 1/8, %19.5'i 1/16, %9'u 1/32, %1.3'ü de 1/64

sulandırmaya kadar pozitif reaksiyon vermiş; 1/128 ve daha yukarı sulandırmalarda ise negatif reaksiyonlar görülmüştür (Tablo2).

Kontrol grubundaki toplam 140 fare serumundan IFAT ile pozitif reaksiyon veren 21'inin %23.8'i yalnız 1/2, %47.6'sı 1/4, %28.6'sı da 1/8 sulandırmaya kadar pozitif reaksiyon vermiştir(Tablo2).

Tablo1. Enfekte ve kontrol gruplarında belirli günlerde titre dikkate alınmaksızın IFAT ve IHAT ile pozitif bulunan serum sayısı

Table1. The number of positive blood sera in infected and control groups of mice determined by using IFAT and IHAT without considering titers

GÜNLER	Pozitif Serum Sayısı			
	IFAT		IHAT	
	Enfekte grup	Kontrol grup	Enfekte grup	Kontrol grup
0.	-	-	2	2
2.	1	-	2	2
4.	1	1	5	2
6.	-	-	3	2
8.	2	-	5	3
10.	1	1	5	1
12.	1	-	5	5
14.	3	-	4	5
16.	3	-	5	2
18.	4	1	4	1
20.	4	1	5	4
22.	3	-	4	1
24.	5	1	5	1
26.	4	-	4	3
28.	5	-	5	4
30.	4	1	5	2
33.	5	2	5	2
36.	5	2	5	3
39.	5	1	5	2
42.	4	-	3	2
46.	3	2	5	1
50.	2	2	3	2
54.	3	1	3	3
58.	2	-	5	4
62.	2	2	3	3
75.	2	1	4	3
90.	2	-	3	4
120.	1	2	2	3



Şekil 1. IFAT' da pozitif ve negatif reaksiyonlar
Figure 1. Positive and negative reactions determined by using IFAT

Tablo 2. Enfekte (A) ve kontrol (B) gruplarındaki farelerin IFAT ile pozitif bulunan kan serumu sayılarının serum sulandırmalarına göre oranı
Table 2. The distribution of positive sera in infected (A) and control (B) groups of mice determined by using IFAT according to serum dilutions

(A)

Kan serumu sayısı ve %	Serum sulandırmaları						
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
6 7.8	+	-	-	-	-	-	-
30 39	+	+	-	-	-	-	-
18 23.4	+	+	+	-	-	-	-
15 19.5	+	+	+	+	-	-	-
7 9	+	+	+	+	+	-	-
1 1.3	+	+	+	+	+	+	-

Toplam:77

(B)

Kan serumu sayısı ve %	Serum sulandırmaları						
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
5 23.8	+	-	-	-	-	-	-
10 47.6	+	+	-	-	-	-	-
6 28.6	+	+	+	-	-	-	-

Toplam:21

IFAT için en yoğun pozitif reaksiyonların görüldüğü günlerin 18-42. günler olduğu gözlenmiştir.

IFAT ile enfekte grup fare serumlarının %55'inin pozitif reaksiyon verdiği buna karşın kontrol grubu fare serumlarının da %15'inin yalnızca pozitif reaksiyon verdiği gözlenmiştir.

Enfekte gruplarda IFAT ve IHAT ile pozitif reaksiyon veren kan serumlarının 67'si aynı serumda ortak pozitif reaksiyon vermiştir. Ortak pozitiflik oranı IFAT'da %87 (77 pozitif reaksiyonun 67'si) olarak gözlenmiştir.

Ortak negatif reaksiyon ise 10 olarak kaydedilmiştir. Bu oran IFAT'da %15.8 (63 negatif reaksiyonun 10'u), IHAT'da %8.7 (26 negatif reaksiyonun 10'u) olarak gözlenmiştir.

Enfeksiyon grubu farelerin IHAT ile yapılan kontrollerinde; 0., 2. ve 120. günlerde her 5 farenin 2'sinin; 6., 42., 50., 54., 62. ve 90. günlerde 5 fareden 3'ünün; 14., 18., 22., 26. ve 75. günlerde 4 farenin; 4., 8., 10., 12., 16., 20., 24., 28., 30., 33., 36., 39., 46. ve 58. günlerde de farelerin tamamının kan serumları pozitif reaksiyon vermiştir (Tablo1) (Şekil2).

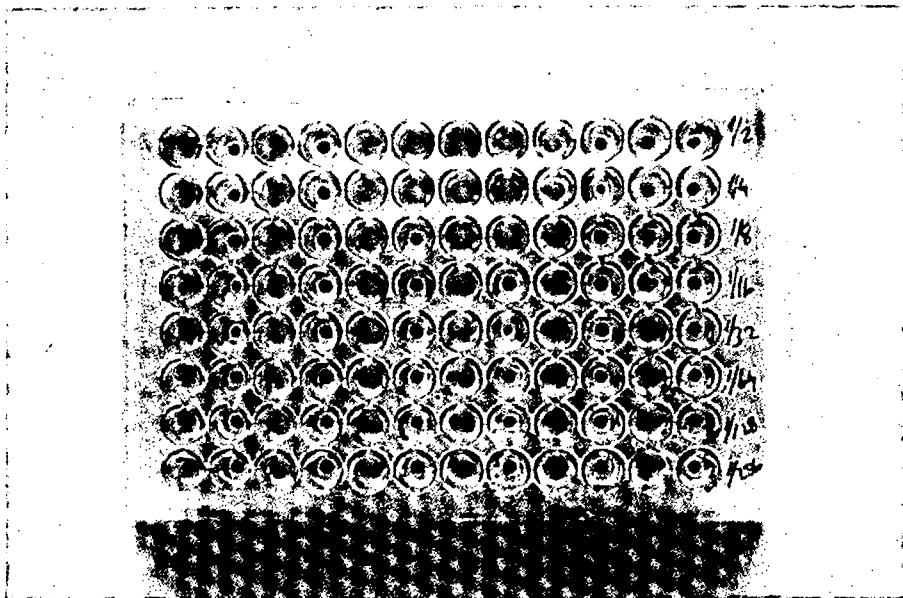
Kontrol grubundaki farelerin kan serumlarının aynı test ile yapılan bakılarında, 10.,

18., 22., 24. ve 46. günlerde her 5 fareden 1'inin; 0., 2., 4., 6., 16., 30., 33., 39., 42. ve 50. günlerde 5 fareden 2'sinin; 8., 26., 36., 54., 62., 75. ve 120. günlerde 5 fareden 3'ünün; 20., 28., 58. ve 90. günlerde 5 fareden 4'ünün; 12. ve 14. günlerde ise tamamının kan serumları yalnızca pozitif reaksiyon vermiştir (Tablo1).

Enfeksiyon grubundaki 140 fare serumundan IHAT ile pozitif reaksiyon veren 114'ünün %1.8'i 1/4; %2.6'sı 1/8; %4.4'ü 1/16; %8.8'i 1/32; %10.5'i 1/64; %11.4'ü 1/128; %60.5'i de 1/256 sulandırmaya kadar pozitif reaksiyon vermiş, 1/2 sulandırmada pozitif reaksiyon veren sadece 1 serum örneği gözlenmiştir (Tablo3).

Kontrol grubundaki toplam 140 fare serumundan IHAT ile pozitif reaksiyon veren 71'inin %1.4'ü yalnız 1/2, %25.4'ü 1/4, %26.8'i 1/8, %12.7'si 1/16, %8.4'ü 1/32, %12.7'si 1/64, %5.6'sı 1/128, %7'si de 1/256 sulandırmaya kadar pozitif reaksiyon vermiştir (Tablo3).

IHAT ile enfeksiyon grubundaki farelerin %81.4'ü pozitif reaksiyon verirken, kontrol grubundakilerin %50.7'sinin kan serumlarının yalnızca pozitif reaksiyon verdikleri gözlenmiştir.



Şekil 2. IHAT da pozitif ve negatif reaksiyonlar
Figure 2. Positive and negative reactions determined by using IHAT

Kesin pozitiflik sayısı, kontrol grubu kan serumlarının vermiş olduğu yalancı pozitif reaksiyonların geometrik ortalamalarının alınıp, bu değerlerin hem enfekte, hem de kontrol grubu kan serumlarının pozitif olanlarından çıkarılması ile elde edilmiştir. Bu değerler; IFAT için ≈ 4 , IHAT için ≈ 16 olarak bulunmuştur. Bu oluşuma göre: IFAT'ın enfekte gruplarda, 14. ve 58. günler arasında pozitif reaksiyonlar verdiği gözlenmiştir. En yoğun pozitif reaksiyonlara 22. ve 39. günler arasında rastlanmıştır. Kontrol grubu yalancı pozitif reaksiyonlardan geometrik ortalama değeri çıkarıldıktan sonra 1/4 sulandırmadan yalnız 1'inde pozitif reaksiyon görülmüştür. IHAT da ise, kontrol grubu yalancı pozitif reaksiyonların GO'ları, enfekte ve kontrol gruplardan çı-

kartıldıktan sonra enfekte grup kan serumlarının pozitiflik sayısı, 114'den 104'e, kontrol grubu kan serumlarının yalancı pozitiflik sayısı ise 71'den 25'e düşmüştür.

Her iki test sonuçları ile farelerin cinsiyetleri, ayrıca beyin, karaciğer ve akciğerlerindeki larva sayıları arasında herhangi bir bağlantı saptanamamıştır. Enfekte ve kontrol grubu farelerin bağırsak içeriklerinin mikroskopik muayenesinde, enfekte gruptaki farelerin %4.3'ünün *Hymenolepis nana* ile, %25'inin *Syphacia sp.* ile, %20'sinin *Aspicularis tetraptera* ile, %12.9'unun *H. nana*+*Syphacia sp.* ile, %7.1'inin *H. nana*+*A.tetraptera* ile, %18.5'inin *Syphacia sp.*+*A.tetraptera* ile %2.2'sinin ise her üç helmint türü ile enfekte olduğu gözlenmiştir.

Tablo 3. Enfekte (A) ve kontrol (B) gruplarındaki farelerin IHAT ile pozitif bulunanların serum sulandırmalarına göre dağılımı
Table 3. The distribution of positive sera in infected (A) and control (B) groups of mice determined by using IHAT according to sera dilutions

(A)

Kan serumu sayısı ve %	Serum sulandırmaları							
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
2 1.8	+	+	-	-	-	-	-	-
3 2.6	+	+	+	-	-	-	-	-
5 4.4	+	+	+	+	-	-	-	-
10 8.8	+	+	+	+	+	-	-	-
12 10.5	+	+	+	+	+	+	-	-
13 11.4	+	+	+	+	+	+	+	-
69 60.5	+	+	+	+	+	+	+	+

Toplam: 114

(B)

Kan serumu sayısı ve %	Serum sulandırmaları							
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
1 1.4	+	-	-	-	-	-	-	-
18 25.4	+	+	-	-	-	-	-	-
19 26.8	+	+	+	-	-	-	-	-
9 12.7	+	+	+	+	-	-	-	-
6 8.4	+	+	+	+	+	-	-	-
9 12.4	+	+	+	+	+	+	-	-
4 5.6	+	+	+	+	+	+	+	-
5 7.0	+	+	+	+	+	+	+	+

Toplam: 71

Kontrol grubundaki farelerin ise, %6.4'ünün *H. nana*, %32.8'inin *Syphacia* sp., %15'inin *A. tetraptera*, %5.7'sinin *H. nana*+*Syphacia* sp., %9.3'ünün *H. nana*+*A. tetraptera*, %14.3'ünün *Syphacia* sp.+*A. tetraptera*, %2.2'-sinin ise her üç helmint türü ile enfekte olduğu gözlenmiştir.

Kontrol grubundaki 140 fareden 20'sinde herhangi bir bağırsak helmintine rastlanmamıştır. Bağırsak parazitleri bulunmayan bu farelerin kan serumlarının IFAT ile kontrollerinde tümünün negatif reaksiyon verdiği gözlenmiştir. Bu farelerin kan serumlarının IHAT ile kontrollerinde ise 4 fare serumunda yalancı pozitif reaksiyon gözlenmiştir.

Yalnız *H. nana* ile enfekte kontrol grubu 9 farenin kan serumlarının IFAT ile kontrollerinde sadece 1 serumda, IHAT ile kontrollerinde ise 3 serumda pozitif reaksiyon görülmüştür.

Tartışma ve Sonuç

Çeşitli semptomlara ve kan tablosunda görülen değişikliklere bakılarak *Toxocara canis*'den ileri gelen visceral larva migrans olaylarından şüphelenilen insanlarda hastalığın IFAT ve IHAT ile teşhisi üzerine çeşitli araştırmalar yapılmıştır(14,18,21,26,29). Ayrıca sınırlı sayıda da olsa laboratuvar hayvanlarında visceral larva migransın, IFAT ve IHAT ile serolojik teşhisi üzerinde de çalışılmıştır (1,4,12,23,28,37).

Eklem ve kas ağrıları gibi çeşitli romatizmal şikayetlerle hastaneye yatan hastalarda, olgun *Toxocara* ve *Ascaris* eriyik ve kesit antijenlerini kullanarak IFAT, IHAT ve KB yöntemleri ile toxocariosis antikorları arayan Özcel ve Altıntaş (26), IFAT ve KB yöntemlerinde, pozitif reaksiyonların serum sulandırma sırasına göre görülmediğini, bu nedenle de bu iki test ile elde edilen sonuçları değerlendirmeye almadıklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise hem IFAT, hem de IHAT'da olumlu pozitif reaksiyonlar alınmıştır. IHAT'da pozitif reaksiyonların yüksek sulandırma oranlarında bile görülmesi bahsedilen çalışmanın (26) sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Ancak bu çalışmada Özcel ve Altıntaş'ın (26)

bildirdiğinin aksine visceral larva migransın teşhisinde IFAT'ın, IHAT'dan daha spesifik olduğu gözlenmiştir.

Kuman ve Altıntaş (21) tarafından visceral larva migransdan şüpheli 84 hasta serumu IHAT ile kontrol edilmiş ve en fazla pozitif reaksiyon 1/16 sulandırmada görülmüştür. Bu çalışmada ise, enfekte grup kan serumlarının en fazla 1/256 sulandırmada pozitif reaksiyon verdiği gözlenmiştir. Bu farklılık deneysel enfekte farelerde *T. canis*'in biyolojik gelişimine bağlı olarak kandaki antikor titrelerinin belirli günlerde düşmesinden kaynaklanmış olabilir. Zaten ilgili çalışmada (21), hastaların enfeksiyona ne zaman yakalandıkları ve enfeksiyonun kaçınıcı gününde olduklarının bilinmediği kaydedilmiştir.

Jung ve Pacheco(18) klinik kriterlere göre, visceral larva migransdan şüphelenilen ve *T. canis* olgun eriyik antijenlerini kullanarak IHAT uyguladıkları hasta serumlarının %79.3'ünde, 1/8 ve daha büyük sulandırmalarda pozitif reaksiyon görüldüğünü bildirmişlerdir. Bu çalışmada da, benzer şekilde enfekte grupta pozitif reaksiyonların %95.6'sının 1/8'den büyük sulandırmalarda olduğu gözlenmiştir.

Lukes ve Prokopiç (23), 5000 *T. canis* yumurtası ile deneysel olarak enfekte ettikleri tavşanların kan serumlarının %44.8'inin IHAT ile pozitif reaksiyon verdiğini ve bu testin larval toxocariosisin serolojik tanısında en duyarlı test olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da IHAT ile %81.4 gibi yüksek oranlarda pozitif sonuç alınmış ve IHAT'ın çalışmada kullanılan diğer test olan IFAT'dan daha duyarlı olduğu sonucuna varılmıştır.

Visceral larva migranstan şüpheli kişilerde IFAT'ı deneyen Safar ve ark. (29), embriyonlu yumurtaları antijen olarak kullandıklarında %52, dondurulmuş kesitleri antijen olarak kullandıklarında da %48 pozitif reaksiyon aldıklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada da, *T. canis* dondurulmuş kesitleri antijen olarak kullanılmış ve enfekte grup kan serumlarından %55 pozitif reaksiyon alınmıştır.

Deneysel olarak 500, 1000 ve 1500 *T. canis* yumurtası ile enfekte ettikleri koblalarda olgun parazit antijenleri ile IHAT'ı deneyen Enayat ve Pezeshki (12), birinci haftadan sonra 1/2-1/4 titrede, 4 hafta sonra ise 1/256 titrede tüm hayvan serumlarının pozitif sonuç verdiğini, bundan bir hafta sonra da titrenin 1/64-1/128'e düştüğünü gözlemişlerdir. Araştırmacılar (12), enfektif dozların serolojik teşhisde önemli olmadığını ve IHAT'ın visceral larva migransın teşhisinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmadaki sonuçlarda da ilk dört hafta içerisindeki pozitif reaksiyonlar çoğunlukla 1/256 gibi yüksek titrelere görülmüş, 50.günden sonraki pozitif reaksiyonların ise daha çok 1/64-1/128 titrelere görüldüğü belirlenmiştir.

Deneysel olarak *T.canis* ile enfekte ettikleri farelerde, antijen olarak parazitin larvalı yumurtalarını kullanan Baufine ve ark. (4), IFAT'ın visceral larva migransın teşhisinde precipitasyon testinden daha üstün olduğunu bildirmişlerdir. Weiland ve Schwarzhuber (37), 50-1000 *T. canis* yumurtası ile enfekte ettikleri farelerde IFAT uygulamışlar ve enfeksiyondan 12 gün sonra yavaş yavaş titrenin yükseldiğini, 40. günde 1/80 sulandırmada pozitif reaksiyonlar aldıklarını belirtmişlerdir. Bu çalışmada da benzer sonuçlar alınmış olup, enfeksiyondan 14 gün sonra 1/4 sulandırmada ilk pozitif reaksiyon saptanmış ve sonraki günlerde bu oran yükselerek 39. güne kadar devam etmiştir.

Annen ve ark. (1), *T. canis* yumurtası ile enfekte ettikleri tavşan ve farelerin kan serumlarından IFAT ile 1/10-1/320 arasında sulandırmalarda pozitif reaksiyonlar almışlardır. Bu çalışmada da IFAT ile alınan sonuçlar, bahsedilen çalışmadaki (1), pozitif sonuçlara yakın olmuştur.

Sonuç olarak, bu çalışmada, *T. canis*'den ileri gelen visceral larva migransın teşhisinde IFAT'ın daha spesifik, IHAT'ın ise daha duyarlı olduğu görülmüştür. Ancak kontrol grubu olarak ayrılan ve *T. canis* bakımından sağlıklı olan fare serumlarında da pozitif reaksiyonların görülmesi her iki testin de bu enfeksiyonun teşhisinde çalışmada kullanılan antijenlerle tam spesifik olmadığını ortaya koymuştur. Farelerde

Syphacia sp. ve *A. tetraptera* enfeksiyonlarının bulunduğu dikkate alındığında bu nematodlarla *T. canis*'den kaynaklanan visceral larva migransın kros reaksiyon verdiği düşünülebilir. Özellikle IHAT'da, IFAT'a göre daha yüksek oranlarda ve yüksek sulandırmalarda yalnızca pozitif reaksiyonlar görülmesinin, serum örneklerindeki spesifik olmayan aglutine edici proteinlerden kaynaklandığı sanılmaktadır. Bu nedenle, her iki testte de, olgun parazit kesit ve kriyikleri yerine larval ya da olgun ekstrakt veya kesitlerinin antijen olarak kullanılmasının, yalnızca pozitif reaksiyonları azaltacağı ve sonuçların güvenilirliğini artıracığı kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

1. Annen, J. M., Eckert, J., Hess, U. (1975) A simple method for the preparation of *Toxocara canis* antigen for the indirect immunofluorescence test. Acta Trop., 32: 34-47. (Ref: Helminth Abst.1976, 45, 1219).
2. Barriga, O. O. (1988) A critical look at the importance, prevalence and control of toxocariasis and the possibilities of immunological control. Vet Parasit. 29: 195-234.
3. Batoriniene, D., Balkjawičius, B. (1988) The problem of toxocariasis in Lithuania. Wiad Parazyt. 34: 233-238.
4. Baufine-Ducroco, H., Couzineau, P., Beauvais, B. (1974) Diagnosis of visceral larva migrans by the immunofluorescent reaction. Bull Soc Path Eot. 66: 746-751. (Ref: Helminth Abst, 1975, 44, 3388).
5. Boreham, P.F., Copan, A.G. (1982) Environmental contamination with canine zoonotic helminths in Brisbane. Aust Vet Practitioner, 12: 14-16.
6. Burak, S., Sermet, İ., Üner, A. (1986) İzmir civarındaki sokak kedilerinde askarit prevalansı. T Parazitoloj Derg, 9: 57-65.
7. Chleffi, P.P., Ueda, M., Camargo, E.D., Souza, A.M.C., Leopoldo, E., Villa, N.A., Guedes, M.J. (1988) Occupation and domestic contacts with dogs as risk factors for human infection with *Toxocara* larvae. Revta Inst Med Trop S Paulo, 30: 379-382.
8. Cypess, R.H. (1982) Visceral larvae migrans. p.205-212. Ed. J.H. Steele. In: "Handbook Series in Zoonoses. Section C" Vol: 2 CRC Pres, Inc. Boca Raton, Florida.
9. Davidiyants, V.A., Chobanyan, A.G. (1981) Some aspects of the epizootology and epidemiology of toxocariasis. Tophicheskoj Meditsiny Kirova. 24: 83-84.
10. Doğanay, A. (1983) Ankara köpeklerinde görülen helminth türleri, bunların yayılışı ve halk sağlığı yönünden önemi. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 30: 550-561.
11. Doğanay, A. (1992) Türkiye' de kedi ve köpeklerde görülen parazitler. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 39: 336-348.

12. Enayat, M.S., Pezeshki, M. (1977) *The comparison of counterimmuno-electrophoresis with indirect haemagglutination test for detection of antibodies in experimentally infected guinea pigs with Toxocara canis.* J Helminth. **51**: 143-148.
13. Ghaffoor, S.Y.A., Smith, H.V., Lee, W.R., Quinn, R., Girdwood, R.W.A. (1984) *Experimental ocular toxocariasis: A mouse model.* Br J Ophthal. **68**: 89-96.
14. Gunasecelan, L., Ramadass, P., Raghavan, N. (1986) *Serological diagnosis of Toxocara canis infection in children.* Indian Vet J. **63**: 828-832.
15. Güralp, N. (1981) *Helmintoloji.* 2.baskı, Ankara Üniv Vet Fak Yayın. 368/266.
16. Güralp, N., Dinçer, Ş., Kemer, R., Cantoray, R., Taşan, E. (1977) *Elazığ yöresi köpeklerinde görülen gastro-intestinal helminth türleriyle bunların yayılış oranı ve halk sağlığı yönünden önemi.* Ankara Üniv Vet Fak Derg. **2**: 241-249.
17. Hübner, J., Uhlíkova, M. (1989) *Concurrent Toxoplasma and Toxocara infection in the population of Czechoslovenska.* Epidemiol Mikrobiol Immunol. **38**: 119-125.
18. Jung, C.R., Pacheco, G. (1961) *Use of haemagglutination test in visceral larva migrans.* Am J Trop Med Hyg. **9**: 185-191.
19. Kozakiewicz, B. (1983) *Prevalence of Toxocara canis infection in dogs and its epidemiological features in urban conglomerations.* Medycyna Vet. **39**: 660-663.
20. Krupp, I.M. (1974) *Haemagglutination test for the detection of antibodies specific for Ascaris and Toxocara antigens in patients with suspected visceral larva migrans.* Am J Trop Med Hyg. **23**: 378-384.
21. Kuman, H.A., Altıntaş, N. (1984) *Ege bölgesinde serolojik olarak saptanan toxocariasis olguları.* T Parazitol Derg. **7**: 113-119.
22. Ljungström, I., Knapen, F.V. (1989) *An epidemiological and serological study of Toxocara infection in Sweden.* Scand J Infect Dis. **21**: 87-93.
23. Lukes, S., Prokopiec, J. (1984) *Comparison of counterimmuno-elektrophoresis with indirect haemagglutination test in the detection of antibodies in rabbits experimentally infected with various species of Ascarids.* Folia Parazit (Praha), **31**: 157-162.
24. Merdivenci, A. (1961) *Istanbul'da larva migrans rezervuarları üzerine araştırmalar.* Türkiye Tıp Entümeni Arşivi, **46**: 149-164.
25. Mimioğlu, M., Güralp, N., Sayın, F. (1959) *Ankara köpeklerinde görülen paraziti türleri ve bunların yayılış nisbeti.* Ankara Üniv Vet Fak Derg. **6**: 53-68.
26. Özcel, M. A., Altıntaş, N. (1987) *İçorganlar larva göçü hastalığının serolojik yöntemlerle araştırılması.* T Parazitol Derg. **11**: 88-95.
27. Parsons, J. C. (1987) *Ascarid infections of cats and dogs.* Vet Clin North Am Small Anim Pract, **17**: 1307-1339.
28. Ruitenbergh, E. J., Buys, J. (1976) *An immunofluorescence technique for the detection of Toxocara canis antibodies.* Vet Parasit. **1**: 231-237. (Ref: Helminth Abst. 1976, 45, 6255)
29. Safar, E. H., Azab, M. E., Khalil, H. M., Bebars, M.A., El Hady, H., Khattab, H. M. (1968) *Immunodiagnostic of Toxocara canis in suspected ocular and visceral manifestations.* Folia Parasitologica. **37**: 249-254.
30. Scaglia, M., Gatti, S., Sangalli, G., Manfredi, W. T., Vgano, T., Bruno, A., Genchi, C. (1988) *Toxocara spp. infection: Sero-epidemiological survey in blood donors and evaluation of risk factors.* Mal Infect Parasit. **40**: 915-920.
31. Sprent, J. F. A. (1952) *On the migratory behavior of larvae of various Ascaris species in white mice. I. Distribution of larvae in tissues.* J Infect Dis. **90**: 165-176.
32. Sprent, J. F. A. (1963) *Visceral larva migrans.* Aust J Sci. **25**: 344-354.
33. Taşan, E. (1982) *Elazığ kırsal yöre köpeklerinde helminthlerin yayılışı ve insan sağlığı yönünden önemi.* Doğa Bilim Derg. **8**: 160-167.
34. Tınar, R., Çoşkun, Ş. Z., Doğan, H., Demir, S., Akyol, Ç.V., Aydın, L. (1989) *Bursa yöresi köpeklerinde görülen helminth türleri ve bunların yayılışı.* T Parazitol Derg. **13**: 113-120.
35. Tiğın, Y. (1970) *İnsan ve evcil hayvanlarda larva migrans.* Türk Vet Hekim Dern Derg. **40**: 45-52.
36. Tiğın, Y., Burgu, A., Doğanay, A., Öge, S., Umur, Ş. (1989) *Ankara hayvanat bahçesindeki bazı memeli ve kanatlı dışkılarının helminthi yönünden incelenmesi.* Ankara Üniv Vet Fak Derg. **36**: 646-664.
37. Weiland, G., Schwarzhuber, A. (1978) *Untersuchungen zum Nachweis von Larva migrans visceralis mit dem peroxydase Test (ELISA) und der Immunofluoreszenz.* Berl Münch Tierarztl Wschr. **91**: 209-213.
38. White, W. L., Ericson, M. M., Stevens, S. C. (1976) *Chemistry For The Clinical Laboratory.* 4th ed The C V Mosby Company, Saint Louis.
39. Yalçınkaya, F. (1977) *Larva migransın tedavisinde deneysel çalışmalar.* Türk Hij Biyol Derg. **3**: 12-18.
40. Zinkham, W. H. (1978) *Visceral larva migrans. A review and reassessment indicating two forms of clinical expression: Visceral and ocular.* Am J Dis Child. **132**: 627-633.

Yazışma adresi:

Dr. H. Oğuz SARIMEHMETOĞLU

Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi

Helmintoloji Bilim Dalı

06110 Dışkapı/Ankara

e-mail: osarimeh@veterinary.ankara.edu.tr