

SALMONELLA İNFEKSİYONLARININ SEROLOJİK TANISINDA YENİLİKLER VAR MI?

Ayşe WILLKE

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AB Dalı, Kocaeli

Salmonella cinsi bakteriler oldukça fazla sayıda serotipleri olan ve değişik klinik şekillerde infeksiyonlara yol açan mikroorganizmalardır. Gastroenterit, tifo ve paratifo (enterik ateş), bakteriyemi ve lokalize infeksiyonlar salmonellaların etken olduğu başlıca hastalıklardır (1).

Bu hastalıklar içinde serolojik tanı yöntemleri en çok *S. typhi*'nin etken olduğu tifoda kullanılmaktadır (2). Tifo düşmeyen ateş, mental konfüzyon, genel durum bozukluğu, baş ağrısı, karın ağrısı, relatif bradikardi, splenomegali, rozeol denilen deri döküntüleri ile belirgin bir hastalıktır (1).

Dünya Sağlık Örgütü tarafından tüm dünyada her yıl 16-17 milyon civarında tifo görüldüğü ve bu hastalardan yaklaşık 600 000'inin öldüğü hesaplanmıştır (3).

Salmonella infeksiyonlarının kesin tanısı; kan, kemik iliği, dışkı, idrar, duodenum sıvısı v.b. örneklerden etken olan salmonellaların izole edilmesiiile konur (2). Birden fazla kültür alındığında etkenin izolasyon oranı %73-97 arasında olduğu bildirilmektedir. Ülkemizde ise tifolu hastalarda kültür pozitifliği %40-60 arasında değişmektedir (1). Bizim yaptığımız bir çalışmada 100 tifolu olgunun 48'inde *S. typhi* üretmek mümkün olmuştur. Aynı çalışmada önceden antibiyotik kullanımı ile kültür negatifliği arasında istatistiki önemde bir korelasyon saptanmıştır (4). Kemik iliği kültüründe kan kültürüne göre bakteriyi üretme olasılığı biraz daha fazladır. Bir başka çalışmada kan kültürü ile birlikte duodonal ip (string) kültürü birlikte yapıldığında kemik iliği kültüründen daha yüksek olasılıkla kültür pozitifliği saptanmıştır (5). Dışkı kültürü ise tifolu hastaların yarısından azında, idrar kültürü bundan daha az olasılıkla pozitifdir (2). Tüm bu verilerin ışığında açıktır ki tifo şüpheli bir hastada kültürlerle ek olarak diğer spesifik tanı yöntemlerine de başvurmak gerekmektedir.

TİFODA SEROLOJİK TANI

Widal testi

Tifo tanısında en yaygın kullanılan ve en eski serolojik test Widal testidir.

Widal testi tifonun serolojik tanısında 1898 yılından beri kullanılmaktadır. Fernand Isidore Widal isimli Parisli bir hekim tarafından bulunmuştur.

Widal testi hasta serumunda *S. typhi*'nin O (somatik) ve H (flajeller) antijenlerine karşı antikorları gösteren bir aglutinasyon testidir. Widal testinin tanı değeri son yıllarda çok tartışılmaktadır. Bunun nedeni testin yalancı pozitif ve yalancı negatif sonuçlar verebilmesidir. Diğer salmonellalar, enterik basillerle oluşan enfeksiyonlarda, malar, tifo, *C. neoformans* menenjit, romatizmal hastalıklar, kronik akciğer hastalığı ve immünolojik bozukluklarda test yalancı pozitif sonuç verebilmektedir.

Diğer yandan özellikle hastalığın erken döneminde tifolu olgularda Widal testi negatif bulunabilir.

Widal testi ile ilgili bir diğer sorun da tanıya yardımcı olan en düşük titrenin saptanmasındaki güçlüklerdir. Ülkemiz için en düşük pozitif titre $\geq 1/200$ olarak kabul edilmektedir. Aslında Widal testinin anlamlı titrelere ülkeler arasında ve aynı ülkede zaman içinde değişiklik gösterebilmektedir. Bunun nedeni hastalığın toplumdaki görülme sıklığının sağlıklı kişilerdeki aglutinin varlığını etkilemesidir. Tifoya karşı rutin aşılama uygulaması da test sonuçlarını etkilemektedir. Dolayısıyla Widal testinde anlamlı titre ülkeler arasında 1/50 ile 1/640 arasında değişmektedir.

Bizim bu konuda yaptığımız çalışmada kan donörlerinde (317 kişi) *S. typhi* O antikorları %7 oranında, H antikorları ise %2 oranında $\geq 1/200$ olduğu saptanmıştır. Test performans kriterleriyle çalışma sonuçları değerlendirilmiş, gerçekten de ülkemiz için anlamlı titrenin $\geq 1/200$ olduğu bulunmuştur. Kültür pozitif tifolu hastalarda (31 hasta) H antikor %29, O antikor %52 oranında $\geq 1/200$ saptanmıştır. Tifo dışı ateşli hastalığı olanlarda (41 hasta) O ve H antikorunun $\geq 1/200$ bulunması sırasıyla %5 ve %12'dir.

O antikor değerinin $\geq 1/200$ olmasının ilk serum sonuçlarına göre duyarlılığı %52, özgüllüğü %88, pozitif öngörü değeri %76 ve negatif öngörü değeri %71 olarak saptanmıştır. Hastalardan 7-10 gün sonra alınan serumların Widal test sonuçlarına göre ise bu oranlar artmaktadır. Şöyle ki duyarlılık ve özgüllük %90, pozitif öngörü değeri %88, negatif öngörü değeri %93 olarak bulunmuştur. Ancak bu sonuçlar tifonun akut döneminde tanıya yardımcı olamamaktadır (6).

Widal testi ucuz, kolay, noninvaziv bir tanı yöntemi olarak ancak klinik ve diğer laboratuvar test sonuçlarının desteği ile tanıyı doğrulamak amacıyla işe yarayabilir.

EIA

Tifo tanısında "dot enzyme immunoassay" (EIA) yeni geliştirilmeye ve standardize edilmeye çalışılan bir testtir. Malezya'da geliştirilen ve ticari olarak da üretilen (Typhidot®, Malaysian Biodiagnostic, Kuala Lumpur) 'dot EIA' testi *S. typhi*'nin dış membran proteini (OMP) ne karşı oluşan IgM antikorlarını saptamaya yarayan bir testtir. Duyarlılığı yüksek (%98) ancak özgüllüğü düşüktür (%67). Aynı hasta grubunda Widal testinin duyarlılığı %95, özgüllüğü %75'tir.

Dot EIA'nın, IgG moleküllerini inaktive eden bir basamak eklenecek modifiye edilmiş şekli de mevcuttur (7).

Dot EIA ile yeni yapılan bir çalışmada sensitivitesi %71, özgüllüğü %43 saptanmıştır (8). Diğer bir çalışmada ise duyarlılık %93, özgüllük %77 olarak bulunmuştur (9).

Dot blot EIA ile idrarda antijen aranması yeni geliştirilmeye çalışılan diğer bir yöntemdir. Monoklonal antikorlar kullanılarak iki saat ara ile üç idrar örneğinde antijenüri saptanarak yapılan bu testin duyarlılığı

ğı %92.2, özgüllüğü %71.3 olarak saptanmıştır (10).

Hasta serumunda hücre duvarı antijenleri veya lipopolisakkarit kullanılarak *S. typhi*'ye spesifik IgM, IgA, IgG ve IgG2 araştırılan ELISA testinde bu antikörlere tek tek bakmak yerine; IgA, IgG ve IgG2'nin birlikte araştırılmasının duyarlılığı %92, özgüllüğü %98 bulunmuştur. Tek başına IgM araştırılırsa duyarlılık %45 (özgüllük %100), tek başına IgG bakılırsa duyarlılık %95 (özgüllük %77) bulunmuştur (11).

Diğer serolojik yöntemler

Tifo tanısında "counter current immunoelectrophoresis" ile antijen arama çalışmaları duyarlılık ve özgüllüğü düşük bulunduğu için kullanılmamıştır (2).

Tifonun serolojik tanısında koagülünasyon, lateks aglutinasyonu ve indirek hemagglütinasyon testleri de denenmiştir. Bu testlerde *S. typhi* Barber protein antijeni ve Vi antijeni aranabilmektedir. Ancak bu testlerin tanıdaki yeri tam olarak belirlenememiştir (7,12).

Tifo tanısında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Tifo tanısında PCR ile ilişkili değişik çalışmalar sürdürülmektedir.

Salmonellaların bir çok gram negatif bakteriyle hatta *Candida* gibi funguslarla ortak antijenlerinin bulunması PCR 'da hangi antijene ait gen dizisine uygun primerlerin seçiminde güçlük oluşturmaktadır. Salmonella tanısında PCR yönteminin başarısını etkileyen bir diğer faktör tifo kanda dolaşan bakteri miktarının az olmasıdır. Yapılan bir çalışmada tifo hastalığı sırasında kandaki bakteri sayısının 1 cfu/ml olduğu saptanmıştır. Halbuki PCR genellikle en az 10 bakteriyi saptayabilmektedir (7).

Yapılan bir çalışmada *S. typhi*'nin flagellin geninin 343 bp'lik kısmı kullanılarak nested PCR ile hastaların periferik kan mononükleer hücrelerinde DNA çoğaltılmış, agaroz jel elektroforezi ve Southern blot hibridizasyonu ile gösterilmiştir. Kan kültürü pozitif 12 hastanın 11'inde pozitif sonuç alınmıştır. Aynı çalışmada kan kültürü negatif olan ancak klinik tifo tanısı almış dört hastanın dördünde pozitif, tifo dışı ateşli hastalığı olan 10 hastanın 10'unda negatif sonuç alınmıştır (13).

Bir başka çalışmada Vi antijenini kodlayan gen bölgesine uygun primerler kullanılarak nested PCR'la DNA çoğaltıp jel elektroforezi ile gösterilmiştir. Tek bir bakteriyi bile saptadığı bildirilmiştir.

PCR 'la DNA araştırılmasında kan yerine kemik iliğinden daha iyi sonuç alınabileceği belirtilmektedir (14).

Sonuç olarak görülüyor ki tifo tanısında Widal testinden daha ucuz, daha basit, daha az invaziv, standardize bir serolojik tanı yöntemi henüz bulunamamıştır. Bu nedenle kültür olanaklarının geliştirilmesi, tekniğe ve yöntemlere uygun olarak antibiyotik başlanmadan kan kültürü ve diğer kültürlerin yapılması tanı yönünden en değerli seçenek gibi görünmektedir.

KAYNAKLAR

1. Willke Topçu A. Tifo ve tifo dışı salmonellozlar. In: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (eds) *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Kitabevleri, İkinci Baskı, İstanbul, 2002: 642-658.*
2. Pearson RD, Guerrant RL. Enteric fever fever and other causes of abdominal symptoms with fever. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) *Principles and Practice of Infectious Diseases. Churchill Livingstone, Fifth ed, Philadelphia, 2000 :1136-1150.*
3. Rees PH. (Editorial) Typhoid fever and the Widal test. *East African Medical Journal*; 1999 : 359-360.
4. Willke A, Sözen TH, Gültan K, Kurt H, Balık İ. Tifo: 100 hastanın klinik, laboratuvar ve tedavi yönünden değerlendirilmesi. *Ankara Tıp Bülteni* 1988; 10: 53-62.
5. Forward KR, Rainnie BJ. Use of selenite enrichment broth for the detection of *Salmonella* from stool: A report of one year experience at a provincial public health laboratory. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1997; 29:215-219.
6. Willke A, Ergönül O, Bayar B. Widal test diagnosis of typhoid fever in Turkey. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 938-941.
7. Parry CM, Beeching NJ. Epidemiology, diagnosis and treatment of enteric fever. *Curr Opin Infect Dis* 1998;11:583-590.
8. Khan E, Azam I, Ahmed S, Hassan R. Diagnosis of typhoid fever by Dot enzyme immunoassay in an endemic region. *J pak Med Assoc* 2002; 9: 415-417.
9. Purvaningsih S, Handoyo I, Prihatini, Probahoedodo Y. Diagnostic value of dot enzyme immunoassay test to detect outer membrane protein antigen in sera of patients with typhoid fever. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2001; 32: 507-512.
10. Nguyen N Q, Tapcahaisri P, Chongsa-ngnan et al. Diagnosis of enteric fever caused by *Salmonella* spp. in Vietnam by a monoclonal anti-body-based dot-blot ELISA. *Asian Pac J Allerg Immunol* 1997; 4: 205-212.
11. Shahenn HI, Girgis NI, Radier GR, Kamal KA. Evaluation of the response of human humoral antibodies to *Salmonella typhi* lipopolysaccharide in area of endemic typhoid fever. *Clin Infect Dis* 1995; 21:1012-1013.
12. Mukherjee C, Malik A, Khan HM, Malik A. Rapid diagnosis of typhoid fever by co-agglutination in an Indian hospital. *J Med Microbiol* 1993; 1: 74-77.
13. Song JH, Cho H, Park MY, Na DS, Moon HB, Pai CH. Detection of *Salmonella typhi* in the blood of patients with typhoid fever by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 439-1143.
14. Hashimoto Y, Itho Y, Fujinaga Y et al. Development of nested PCR based on the *ViaB* sequence to detect *Salmonella typhi*. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 775-777.