

Trichinella spiralis'in Tanısında Gallium-67 Sintigrafisinin Yeri

Tonay INCEBOZ¹, Recep BEKİŞ², Çiler AKISÜ¹, Yaşar İMREN²,
Hatice DURAK², Osman YILMAZ³

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Parazitoloji Anabilim Dalı, ²Nükleer Tıp Anabilim Dalı;
³Deney Hayvanları Anabilim Dalı, İnciraltı, İzmir, Türkiye

ÖZET: Çalışma deney grubu *Trichinella spiralis* ile enfekte 3 adet, kontrol grubu ise 5 adet *Wistar albino* ırkı sığırdan oluşturulmuştur. Çalışmada enfeksiyon ve enflamasyon görüntüleme ajanı olan Ga-67 sintigrafisinin trişinelozis tanısına katkı sağlayıp sağlamayacağı araştırılmıştır. Bütün hayvanlara Ga-67 sintigrafisi uygulanarak enfeksiyon sırasında oluşan lezyonlar izlenmeye alınmıştır. Bunun için hayvanlara 7.4 MBq (200 µCi) Ga-67 sitrat intravenöz yolla verilmiş ve statik görüntüleme yöntemi ile hayvanların tüm vücutları 24. 48. ve 72. saatlerde görüntülenmiştir. Tüm hayvanların tüm vücut, diyafram, boyun kasları ve ekstremiteler kaslarındaki aktivite sayımları hesaplanmıştır. Bu görüntüler ve aktivite sayımları karşılaştırmalı olarak nükleer tıp uzmanları tarafından yorumlanmış ve sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Çalışmamızın sonuçları Ga-67'nin trişinella enfeksiyonlarının tanısında uygun bir ajan olmadığını göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: *Trichinella spiralis*, Gallium-67 scintigraphy, enfeksiyon

The Ability of ⁶⁷Ga Scintigraphy to Detect *Trichinella spiralis*

SUMMARY: To assess the value of ⁶⁷Ga scintigraphy in the lesions of *Trichinella spiralis*, an animal model was developed. Three infected and five healthy animals were enrolled in this study. After the injection of 7.4 MBq (200 µCi) ⁶⁷Ga citrate intravenously, static images from whole body were obtained at 24th, 48th and 72nd hours. Visual and semiquantitative analyses were performed. In semiquantitative analysis, activity counts were calculated over the whole body, diaphragm, neck muscles and extremities muscles of all animals. Between the infected animals and control group, mean bodies activity ratios were compared as visually and statistically. ⁶⁷Ga scintigraphy can't successfully demonstrate the lesions of *Trichinella spiralis*.

Key Words: *Trichinella spiralis*, Gallium-67 scintigraphy, infection

GİRİŞ

Trichinella spp. erişkinleri ile bağırsaklarda, larvaları aynı konağın çizgili kaslarında yerleşerek trişinelozise neden olmaktadır. İnsanda enfeksiyonun kaynağı enfekte domuz ve at etidir. Trişin larvaları bulunduran çiğ veya iyi pişmemiş domuz etleri yediğinde larva midede kistten çıkmakta ve bağırsaklarda 24-48 saatte erişkin hale gelmektedir (10, 16). Dişiler bağırsak mukozasında derinlere göç ederek larvalarını doğurmaktadır. Bu larvalar kan ve lenf damarlarına girerek kan dolaşımına karışmakta, sonuçta çoğunlukla iskelet kaslarına

gelerek yerleşmektedir. Larvaların kaslarda yol açtığı klinik tablo erişkinlerin bağırsaklarda sebep olduğu semptomlardan daha ciddidir. Bağırsakta çok sayıda parazit bulunduğu şiddetli bir kataral yangı ile ishal ve sindirim kanalındaki kanamaya bağlı olarak koyu renkte dışkı görülür. Bu hastalıkta saptanabilen klinik belirtiler gastro-intestinal yakınmalara ek olarak ateş, yüz ve göz kapaklarında ödem, kornea çevresinde, konjunktivada, retinada kanamalar, deri döküntüleri, adale ağrıları, solunum şikayetleri, göğüs ağrıları, larvaların beyini tutmaları ile baş ağrıları, baş dönmesi, kulak çınlaması gibi sinir sistemi belirtileri, ansefalitis, aşırı zayıflık, miyokard yetmezliği olarak sayılabilir (16).

Trichinella spiralis larvalarından elde edilen E/S antijeni kullanılarak uygulanan serolojik yöntemler ile hastalığın tanısı konulabilmektedir (1, 15, 18). Ancak bazı durumlarda serolojinin geç pozitifleşmesi, serolojik testlerin yalancı pozitif ya da negatif sonuç vermeleri nedeni ile farklı tanı yöntemlerine ihtiyaç bulunmaktadır.

Makale türü/Article type: **Araştırma / Original Research**

Geliş tarihi/Submission date: 12 Aralık/12 December 2007

Düzeltilme tarihi/Revision date: 08 Nisan/08 April 2008

Kabul tarihi/Accepted date: 14 Nisan/14 April 2008

Yazışma /Corresponding Author: Tonay İnceboz

Tel: (+90) (232) 412 45 45 Fax: (+90) (232) 259 05 41

E-mail: tonay.inceboz@deu.edu.tr

14. Ulusal Parazitoloji Kongresi'nde (18-25 Eylül 2005, İzmir) sunulmuştur.

Nükleer tıp alanında çeşitli paraziter hastalıkların tanısında Gallium-67 (Ga-67) sintigrafisi kullanılarak tanı konulabildiği gösterilmiştir (2, 5, 9, 17). Ayrıca Ga-67 sintigrafisi kullanılarak enfeksiyon hastalıklarının tanısı konulabilmektedir (13). Bu nedenle çalışmamızda *Trichinella spiralis* ile enfekte edilen sıçanların kaslarındaki larvaların oluşturduğu enflamasyona Ga-67 sintigrafisi ile tanı konulup konulamayacağı araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deney Hayvanı Seçimi:

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda bulunan *Trichinella spiralis* suşu parazite duyarlı olduğu bilinen *Wistar albino* ırkı sıçanlarda sürdürülmektedir. Bu suş İtalya'daki *Trichinella* referans merkezinden (Laboratory of Parasitology Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, 00161 Rome) temin edilmiştir.

Wistar albino ırkı sıçanların bu çalışmada tercih edilmesinin nedeni *Trichinella spiralis*'e duyarlı olmaları yanında (4, 6, 8, 11, 12, 14, 18) uysal ve farelerden büyük olmaları, bu nedenle damar içine Ga-67'nin kolay verilebilmesi ve sintigrafi değerlendirmelerinin kolaylıkla yapılabilmesidir.

Sıçanlar deneye alınmadan önce 30 gün multidisiplin deney hayvanları bölümünde tutulmuştur.

Sıçanların enfekte edilmesi:

Trichinella spiralis ile enfekte bir önceki pasaja ait sıçanlar, eter anestezi ile uyutulduktan sonra serebral dislokasyon ile öldürülmüş ve enfekte kasları ayrılmıştır. Bu kaslar bir petri kabı içerisine toplanmıştır. İnfekte sıçan kaslarından hazırlanan preparatlar inverted mikroskopta incelenerek larvaların viabiliteleri araştırılmıştır. Canlı oldukları belirlendikten sonra hayvanlara verilmiştir.

Grup I (Deney Grubu):

Bu grup için sağlıklı 8-12 haftalık, yaklaşık 150-200 gr ağırlıkta 3 adet dişi, *Wistar albino* ırkı sıçan seçilmiştir. Enfekte edilecek deney grubu (Grup I: 3 adet *Wistar albino* sıçan) hayvanları bir gün önceden aç bırakılmış ve laboratuvar koşullarında her biri ayrı kafese konulmuştur. Larva içeren etler porsiyonlara bölünerek oral yoldan verilmiştir.

Grup II (Kontrol Grubu):

Kontrol grubu olarak deney grubundakiler ile aynı özellikleri taşıyan 5 adet dişi *Wistar albino* türü sıçan ayrılmıştır.

Hayvanlar ve *Trichinella spiralis* ile enfekte dokularla steril koşullarda, güvenlik kabini içinde çalışılmış, çalışanlar maske ve eldiven kullanmıştır. Laboratuvar personelinin ve diğer deney hayvanlarının enfekte olmamaları için, enfekte materyaller -50 °C'de 24 saat tutulmuş, daha sonra bu materyaller enfekte çöp kısmına atılmıştır.

Görüntüleme:

Grup 1 ve grup 2'deki tüm hayvanlara enfeksiyondan 30 gün sonra Ga-67 sintigrafisi yapılmıştır. 7.4MBq (200 µCi) Ga-67 kuyruk veninden intravenöz olarak verildikten 24, 48 ve 72 saat sonra medium enerjili kolimatör kullanılarak (256x256 matriks, 2 zoom) gama kamerada 30'ar dakikalık tüm vücut statik görüntüler alınmıştır. Görüntülerin değerlendirilmesi birbirinden bağımsız üç nükleer tıp uzmanı tarafından görsel ve kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Enfekte bölgede Ga-67 tutulumu olup olmadığına karar vermek için enfekte hayvandan elde edilmiş Ga-67 sintigrafisi ile kontrol grubundan elde edilmiş Ga-67 sintigrafileri görsel olarak karşılaştırılmıştır. Ayrıca, görüntüler üzerinde hayvanın tüm vücut, diyafragma, boyun, kol ve bacak kaslarına ilgi alanları çizilerek, bu ilgi alanlarındaki aktivite sayımları elde edilmiştir. Tüm vücut aktivite sayımlarında toplam aktivite miktarı kullanılırken, diğer kas alanlarından saptanan aktivite sayımlarında ortalama aktivite oranları kullanılmıştır.

Radyoaktif madde verilen deney hayvanları Nükleer Tıp bölümünde yapılan görüntüleme işlemlerinin tamamlanmasından ardından temel radyasyondan korunma prensiplerine uygun olarak diğer hayvanlardan izole edilmiştir.

Enfekte edilen sıçanlarda *Trichinella spiralis* larvalarının bulunup bulunmadığının araştırılması:

Deney ve kontrol grubundaki tüm hayvanlar Ga-67 sintigrafisi ile incelendikten sonra serebral dislokasyon ile öldürülmüştür. Öldürülen hayvanlar laboratuvar koşullarında, laminar flow içinde, karın bölgesi üst tarafta kalacak şekilde yatırılıp dezenfekte edilmiş ve ekstremitelelerinden flasterle tespit edildikten sonra, batın linea alba çizgisi doğrultusunda önce deri, sonra kas kesilmiştir. Kaslarda (diyafragma, dil, ve diğer kaslar) parazit larvalarının yerleşip yerleşmediği hazırlanan preparatlar mikroskopta 10, 20 ve 40'lık büyütmelemlerde incelenerek araştırılmıştır.

İstatistik yöntem: Enfekte ve kontrol grubundan elde edilen kas aktivite sayımları arasında istatistiksel fark olup olmadığı non-parametrik Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Ga-67 görüntüleri görsel olarak değerlendirildiğinde grup 1 ve grup 2 arasında Ga-67 tutulumu açısından herhangi bir fark izlenmedi. İlgi alanlarından kantitatif olarak hesaplanan aktivite sayım ortalamaları tablo 1-5 de özetlendi. Hesaplanan aktivite sayım ortalamaları arasında tüm vücut ve kas tutulumları açısından grup 1 ve grup 2 arasında istatistiksel bir fark bulunmadı ($p>0.01$). İlginç olarak enfekte hayvanların kaslarında Ga-67 tutulumunun daha fazla olmasını beklenirken kontrol grubuna göre daha az olduğu dikkat çekmiştir (Tablo 1, 2, 3, 4, 5; Şekil 1).

Tablo 1. Her iki grupta tüm vücuttan toplanan toplam aktivite sayımları ortalaması

	24 saat	48 saat	72 saat
Grup 1	185230 ± 30933	143620 ± 45163	124872 ± 23061
Grup 2	237246 ± 109080	181610 ± 93129	135952 ± 64985

Tablo 2. Her iki grupta diyafragma kasından toplanan ortalama aktivite sayımları ortalaması

	24 saat	48 saat	72 saat
Grup 1	15 ± 4	15 ± 5	14 ± 2
Grup 2	31 ± 14	23 ± 12	15 ± 6

Tablo 3. Her iki grupta boyun kasından toplanan ortalama aktivite sayımları ortalaması

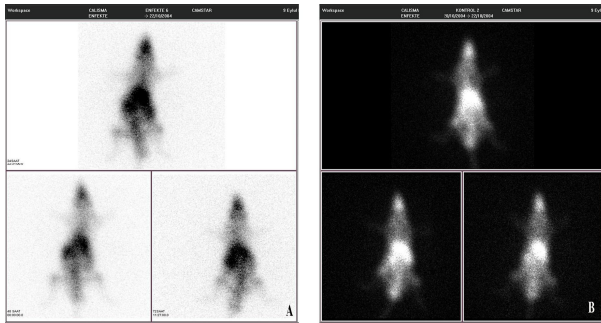
	24 saat	48 saat	72 saat
Grup 1	17 ± 4	14 ± 4	14 ± 0.4
Grup 2	31 ± 18	23 ± 14	18 ± 9

Tablo 4. Her iki grupta kol kaslarından toplanan ortalama aktivite sayımları ortalaması

	24 saat	48 saat	72 saat
Grup 1	5 ± 2	5 ± 1	4 ± 0.5
Grup 2	6 ± 3	5 ± 2	4 ± 0.9

Tablo 5. Her iki grupta bacak kaslarından toplanan ortalama aktivite sayımları ortalaması

	24 saat	48 saat	72 saat
Grup 1	11 ± 1	9 ± 2	9 ± 1
Grup 2	14 ± 7	12 ± 7	9 ± 4

**Şekil 1.** (A). Enfekte hayvan tüm vücut Ga-67 dağılımı ; (B). kontrol grubu tüm vücut Ga-67 dağılımı

Hayvanların kas biyopsilerinin incelenmesi sonrasında deney grubundakilerin tümünde larvalara rastlanmış, kontrol grubundakilerde ise larva görülememiştir.

TARTIŞMA

Trişinellosis tanısında klinik belirtilerin yanı sıra laboratuvar bulguları da önemli bir yer tutmaktadır. Trişinellosisde %20-

90 düzeylerinde bir eozinofili görülebilir. Kreatinfosfoki-naz (CPK) %75-90'ında ve laktat dehidrojenaz (LDH) gibi kas enzimlerinde de bir yükselme görülebilmektedir. Kas biyopsisi ile alınan örnekte kas içinde kistleşmiş *Trichinella* larvalarının gösterilmesi hastalığın başlangıcından 2-3 hafta sonra alınan kas biyopsilerinden elde edilebilmektedir. Larvaların alınmasını takiben genelde iki hafta sonra ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile parazite spesifik IgG'ler belirlenebilmektedir. Trişinellosisteki bulguların polinörit, akut anterior poliomyelit, myastenia gravis, menenjit, ensefalit, dermatomyozit, poliarthritis nodosa, akut glomerülonefrit, leptospirosis ile bir çok bakteriyel, viral ve parazit enfeksiyonunu, toksik veya allerjik reaksiyonları taklit edebileceği, bu nedenle de ayırıcı tanı dikkat edilmesi gerektiği bilinmelidir. Ayrıca, aynı kaynaktan çiğ veya az pişmiş enfekte etleri yiyen birden fazla kişi olabileceğinden, gıda kaynaklı enfeksiyonların da ayırıcı tanıda unutulmaması gerekmektedir (4, 14, 15).

Ülkemizde *Trichinella spiralis*'in yaygınlığı konusunda yapılmış kapsamlı bir araştırma olmadığından yeterli bilgi bulunmamaktadır. Ancak parazitin doğal yaşama koşulları ve halkımızın alışkanlıkları bu hastalığın ülkemizde bilindiğinden daha yaygın olması savını güçlendirmektedir. Türkiye'de son zamanlarda ortaya çıkan epidemiler görülmüştür. Bu epidemiler sırasında etkenin tanısı alınan kas biyopsi materyallerinin patoloğlar tarafından incelenmesi ve serolojik yöntemlere dayalı olmuştur. Trişinellosis tanısında halen güçlükler yaşanılmaktadır. Tanı konulurken eosinofili değerleri, kas enzimleri, serolojik testler dikkate alınmaktadır. Ancak kas biyopsisinde larvaların mikroskopik olarak görülmesi ile tanı konulabilmektedir. Bu ise her zaman için kas biyopsisinde larvaya rastlanamayacağından tanı için çok etkili değil, hasta için ise zor ve invaziv bir girişimdir. Ayrıca serolojik testlerin çapraz reaksiyon verme olasılığının olması nedeniyle de tanıda güçlükler yaşanmaktadır(6, 15).

Paraziter hastalıkların tanısı, parazitlerin yaşam evrelerini, ilaç etkilerini inceleyebilmek için deneysel hayvan modelleri ortaya konmuştur (3, 6, 7, 19). *Trichinella spiralis* enfeksiyonunun kaslarda lokalize olması nedeniyle trişinellosisde sintigrafik yöntemlerden tanı ve tedavinin izlenmesinde etkili bir şekilde yararlanılabileceği düşünülmüştür. *Echinococcus multilocularis*'in deney hayvanlarında (5), *Fasciola hepatica* ve *Schistosoma mansoni* gibi parazitlerin insanlarda oluşturduğu hastalıklara Gallium-67 (Ga-67) sintigrafisi kullanılarak tanı konulabildiği gösterilmiştir (2, 13, 17).

Bu çalışmada enfekte edilmiş ve enfekte edilmemiş deney hayvanlarının Ga-67 sintigrafileri ile karşılaştırılarak enfeksiyonun yeri, derecesi ve kaslardaki etkisinin gösterilmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına göre enfekte hayvanlar ve kontrol grubu arasında Ga-67 tutulumu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ancak ilginç olarak enfekte grupta Ga-67 tutulumunun daha fazla olmasını bekler-

ken kontrol grubuna göre daha az olduğu izlenmiştir. Bu bulgunun kasların kapsüllü trichinella larvaları tarafından yoğun istilasına bağlı olarak kas dokusu perfüzyonunun bozulmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızın sonuçları Ga-67'nin trichinella enfeksiyonlarının tanısında uygun bir ajan olmadığını göstermiştir.

KAYNAKLAR

1. **Auxiliadora Dea-Ayuela M, Bolas-Fernandez F.** 2000. Dynamics of the IgG3 responses following immunisation of BALB/c mice with somatic and excretory/secretory antigens from various *Trichinella* species. *Folia Parasitol (Praha)*. 47(3): 172-180.
2. **Chandramouly B, Rabin G, Schiano F.** 1995. *Schistosoma mansoni* colitis in AIDS. Ga-67 scintigraphic findings. *Clin Nucl Med*, 20(1): 72.
3. **Dağcı H, Uysalçı M, İnceboz T, Üner A.** 1998. İmmun suprese edilen ratlardan *P. carinii* kist ve trofozoitlerinin izole edilmesi, I. Ulusal Tropikal Hastalıklar Kongresi, Program ve Bildiri Özet Kitabı sayfa 316 (15-20 Haziran 1998, Van).
4. **Gurish MF, Bryce PJ, Tao H, Kisselgof AB, Thornton EM, Miller HR, Friend DS.** 2004. IgE enhances parasite clearance and regulates mast cell responses in mice infected with *Trichinella spiralis*. *J Immunol*, 172(2): 1139 -1145.
5. **Inceboz T, Mavi A, Capa Kaya G, Korkmaz M, Goktay Y, Yılmaz O, Uner A, Durak H.** 2006. The Ability of ⁶⁷Ga Scintigraphy to Detect the Lesions of *Echinococcus multilocularis* Infection: Preliminary Results. *Annals of Nuclear Medicine* 20, No. 5, 345-348.
6. **Inceboz T, Özkoç S, Aküsü Ç.** 2005. *Trichinella spiralis*'in vivo oluşturulması. *Türkiye Parazit Derg*, 30(4): 289-292.
7. **Inceboz T, Korkmaz M, Tokat Y, Uner A,** 2005. The first report on *Echinococcus multilocularis* strain isolation from human in *Meriones unguiculatus* in Turkey, *Türkiye Parazit Derg*, 29(1): 31-33.
8. **Kapel CM, Measures L, Moller LN, Forbes L, Gajadhar A.** 2003. Experimental *Trichinella* infection in seals. *Int J Parasitol*, 33(13):1463-70.
9. **Kapel CM.** 2000. Host diversity and biological characteristics of the *Trichinella* genotypes and their effect on transmission. *Vet Parasitol*, 1;93 (3-4):263-78.
10. **Kapel CM, Webster P, Lind P, Pozio E, Henriksen SA, Murrell KD, Nansen P.** 1998. *Trichinella spiralis*, *T. britovi*, and *T. nativa*: infectivity, larval distribution in muscle, and antibody response after experimental infection of pigs. *Parasitol Res*, 84(4): 264-271.
11. **Malakauskas A, Kapel CM,** 2003. Tolerance to low temperatures of domestic and sylvatic *Trichinella* spp. in rat muscle tissue. *J Parasitol*, 89(4): 744-748.
12. **Murrell KD, Pozio E.** 2000. Trichinellosis: the zoonosis that won't go quietly. *Int J Parasitol*, 30 (12-13): 1339-1349.
13. **Neumann RD, and McAfee JG.** 1998. Gallium-67 Imaging in Infection. In Sandler MP, Coleman RE, Patton JA, et al. eds. *Diagnostic Nuclear Medicine*, Philadelphia : Lippincott Williams&Wilkins, s.1205-1217.
14. **Nunez GG, Costantino SN, Venturiello SM.** 2003. Immunoparasitological parameters of the intestinal phase of trichinellosis in rats. *Parasitology*, 126(Pt 4): 321-325.
15. **Özkoç S, Delibaş SB, İnceboz T, Aküsü Ç.** 2005. Trichinellosis Tanısında ELISA Yöntemi ile ES ve Larva Krut Antijenin Karşılaştırılması, 14. Ulusal Parazitoloji Kongresi, s.203 (İzmir, 18-25 Eylül 2005).
16. **Pozio E.** 2001. New patterns of *Trichinella* infection. *Vet Parasitol*, 12; 98(1-3):133-48.
17. **Rivera JV, Bermudez RH.** 1984. Radionuclide imaging of the liver in human fascioliasis. *Clin Nucl Med*, 9(8): 450-453.
18. **Robert F, Weil B, Kassis N, Dupouy-Camet J.** 1996. Investigation of immunofluorescence cross-reactions against *Trichinella spiralis* by western blot (immunoblot) analysis. *Clin Diagn Lab Immunol*, 3(5): 575-577.
19. **Üner A, İnceboz T, Hacıoğlu M, Dağcı H** 2003. Immune deficiency and cryptosporidiosis in rats, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27(5): 1187-1191.