

# Eozinofil Sayısı Yüksek Olanlarda Kistik Ekinokokkozis Araştırılmalı mı?

Senem YAMAN KARADAM<sup>1</sup>, Hatice ERTABAKLAR<sup>1</sup>, Cavide SARI<sup>2</sup>,  
Yelda DAYANIR<sup>3</sup>, Sema ERTUĞ<sup>1</sup>

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi <sup>1</sup>Parazitoloji Anabilim Dalı, <sup>2</sup>Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, <sup>3</sup>Radyoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

**ÖZET:** *Echinococcus granulosus* metasestodunun neden olduğu kistik ekinokokkozis (KE) dünyada ve ülkemizde önemli sağlık sorunlarına neden olan paraziter hastalıklardan biridir. Bu çalışmada eozinofil sayısı yüksek olan ( $\geq 350/\text{mm}^3$ ) olgularda KE araştırılmasının gerekli olup olmadığı saptanmaya çalışılmıştır. Bu amaçla eozinofil düzeyi yüksek bulunan yaşları 1-94 arasında değişen 392 (%41,4) erkek, 554 (%58,6) kadın olmak üzere toplam 946 olgu çalışma kapsamına alınmıştır. Serum örneklerinde enzymlerle bağlanmış immünozorbent assay (ELISA) ve indirekt hemaglutinasyon (IHA) yöntemleri ile parazite özgü antikorlar araştırılmıştır. Antikor yanıtı saptanan olgular batin ultrasonografisi ve akciğer grafisi ile KE açısından değerlendirilmiştir. Toplam 946 olgudan beşinin (%0,53) serumunda ELISA ve IHA yöntemleri ile parazite özgü antikor yanıtı saptanmış, bu olgulardan birisinin renal cell carcinoma nedeniyle opere edildiği öğrenilmiştir. Batin ultrasonu ile yapılan radyolojik incelemede bir olguda (%0,11) karaciğer KE ile uyumlu bulgular saptanmış ve hastanın genel cerrahi bölümünde cerrahi müdahale sonucu KE tanısı doğrulanmıştır. Diğer üç olguda ise bu yöntemlerle KE saptanamamıştır. Bu sonuçlarla tek başına eozinofilinin KE'yi düşündürmeye yeterli bir bulgu olmadığı, öncelikle KE'in klinik veya radyolojik bulguları olan hastalarda bu parazitin araştırılması gerektiği düşünülmüştür.

**Anahtar Sözcükler:** Eozinofili, ekinokokkozis, eozinofili

## Should Cystic Echinococcosis Be Investigated in Patients Having High Eosinophil Counts?

**SUMMARY:** Cystic echinococcosis (CE) caused by the metacestode form of *Echinococcus granulosus* is one of the important health problems in Turkey and in the world. In this study, whether or not the presence of CE in patients with a high eosinophil count should be determined was investigated. A total of 946 specimens from patients with a high eosinophil count ( $\geq 350/\text{mm}^3$ ) were evaluated. The age of patients ranged from 1-94 years. Of the patients, 392 (41.4%) were male and 554 (58.6%), female. The specific antibody response in the specimens was determined by ELISA and IHA. Specific antibody response was detected in five sera of 946 (0.53%) patients with ELISA and IHA. The patients, with an antibody response, were evaluated further with liver ultrasonography and chest X-ray. One patient, in which an antibody response was detected, had a history of renal cell carcinoma surgery. In one patient (0.11 %), CE was detected in the liver and the diagnosis was confirmed by surgery. No CE was found in the other three patients. In conclusion, eosinophilia is not a sufficient indicator for CE alone and this parasite should be sought in patients with clinical and radiological signs.

**Key Words:** Eosinophilia, echinococcosis, eosinofilia

## GİRİŞ

Eozinofiller, hücresel ve salgısal bağışıklık sisteminde rol oynayan hücreler olup, periferik kan lökositlerinin %1-3'ünü oluşturmaktadırlar. Eozinofil sayısının kanda  $>350/\text{mm}^3$  olması eozinofili olarak tanımlanmaktadır. Kan dolaşımındaki eozinofil sayısının alerjik hastalıklar, parazit enfeksiyonları ve

onkolojik hastalıklarda arttığı belirtilmektedir (8, 15, 28). Parazit enfeksiyonlarından özellikle ekinokokkozis, fasciolosis, toxocariasis, schistosomiasis gibi dokuda yerleşen helmint enfeksiyonlarında eozinofilinin önemli bir bulgu olduğu ifade edilmektedir (12, 28).

*Echinococcus granulosus* metasestodunun neden olduğu KE'in dünyada ve ülkemizde önemli sağlık sorunlarına neden olan paraziter hastalıklardan biri olduğu bilinmektedir. KE'li olguların yaklaşık %65'inin bulgu vermemesi nedeniyle başka hastalıklar araştırılırken genellikle tesadüfen saptanabildiği ifade edilmektedir (4). Günümüzde KE'in ön tanısının genellikle radyolojik tanı yöntemleri ile yapıldığı ancak ön tanının serolojik tanı yöntemleri ile desteklenmesinin gerektiği ifade

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

Geliş tarihi/Submission date: 23 Mart/23 March 2009

Düzeltilme tarihi/Revision date: 13 Temmuz/13 July 2009

Kabul tarihi/Accepted date: 17 Temmuz/17 July 2009

Yazışma /Corresponding Author: Senem Yaman Karadam

Tel: (90) (232) 361 49 37 Fax: -

E-mail: drsenem@yahoo.com

Bu çalışma, 15. Ulusal Parazitoloji Kongresi'nde (18-23 Kasım 2007, Kayseri) sunulmuştur.

edilmektedir (10, 22). Tedavi sonrası hastaların takiplerinde ise radyolojik tanı yöntemlerinin yetersiz kaldığı ve özellikle serolojik tanı yöntemlerinin önemli olduğu vurgulanmaktadır. Kistin organ yerleşimi, büyüklüğü, canlılığı, kişinin bağışıklık sistemi ve seçilen serolojik yöntemlerinin sonuçları etkileyebileceği göz önüne alınarak serolojik sonuçların iyi yorumlanmasının gerektiği bildirilmektedir (6, 10, 13, 22, 25).

KE tanısında ELISA yönteminin kısa sürede sonuç verdiği, çok sayıda serum örneğinin aynı anda değerlendirilebildiği ve duyarlılığın kullanılan antijenin saflığına bağlı olmakla birlikte yüksek olduğu bildirilmiştir (10, 31). ELISA testi ile KE'li olguların %96'sında antikor yanıtının saptandığı ve diğer paraziter hastalıklarla çapraz tepkimelerin görülebildiği bildirilmiştir (26). KE tanısında IHA yönteminin sık olarak kullanıldığı, düşük seviyelerdeki antikorları saptadığı ve duyarlılığının %60 ile %100 arasında değiştiği ifade edilmiştir (10, 21).

Bu çalışmada eozinofil sayısı yüksek olan olgularda serolojik yöntemler ile KE'e özgü antikorların araştırılması ve serolojik yanıt alınan olgularda radyolojik yöntemlerle KE varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Böylece tek başına eozinofil düzeyi yüksek olan olgularda rutin olarak KE varlığının araştırılmasının gerekli olup olmadığı saptanmaya çalışılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nin değişik kliniklerinden Biyokimya Anabilim Dalı'na eozinofil düzeyi saptanmak amacıyla gönderilen ve eozinofil düzeyi yüksek ( $> 350/\text{mm}^3$ ) bulunan yaşları 1-94 arasında değişen 392 (%41,4) erkek, 554 (%58,6) kadın olmak üzere toplam 946 olgu çalışma kapsamına alınmıştır.

In house ELISA yöntemi için mezbahadan temin edilen KE'li koyun karaciğerlerinden steril şartlarda alınan fertil kist sıvısı antijen olarak kullanılmıştır. Alkalen fosfataz enzimi ile işaretli anti-human IgG (Sigma A 3187) konjugenin kullanıldığı bu testte  $\geq 1/80$  serum sulandırımında IgG antikor yanıtı veren örnekler pozitif olarak değerlendirilmiştir (16, 27).

In house IHA yöntemi için glutaraldehit ve tannik asit ile muamele edilen koyun eritrositleri kullanılmıştır. Bu testte  $\geq 1/40$  serum sulandırımında saptanan antikor yanıtı KE tanısı için pozitif olarak kabul edilmiştir (18).

Antikor yanıtı saptanan olguların dosyaları incelenmiş ve telefonla Anabilim Dalı'mıza davet edilmiştir. Bu olgular Radyoloji AD'da batın ultrasonografisi ve akciğer grafisi ile KE açısından değerlendirilmiştir.

## BULGULAR

Çalışma kapsamındaki 946 olgudan beşinin (%0,53) serumunda ELISA yöntemi ile 1/80 ve üzeri serum sulandırımında ve aynı beş olguda IHA yöntemi ile 1/40 ve üzeri serum sulandırımında parazite özgü antikor yanıtı saptanmıştır. Olguların sırası ile ELISA ve IHA titrasyonları: birinci olgu (renal

cell cinsinom): 1/160, 1/80, ikinci olgu (KE olgusu): 1/640, 1/160, üçüncü olgu: 1/160, 1/80, dördüncü olgu: 1/80, 1/40, beşinci olgu 1/80, 1/80 olarak saptanmıştır. Serolojik yanıt alınan olgulardan birisinin renal cell cinsinoma nedeniyle opere edildiği öğrenilmiştir. Akciğer grafisi ve batın ultrasonu ile yapılan radyolojik incelemelerde bir olguda (%0,11) karaciğer KE ile uyumlu bulgular saptanmış ve hasta genel cerrahi polikliniğine yönlendirilmiştir. Olgunun cerrahi müdahale sonucu yapılan patolojik değerlendirmesinde KE tanısı doğrulanmıştır. Diğer üç olguda ve renal cell cinsinoma olan olguda ise bu yöntemlerle KE saptanamamış ve olgulara serolojik ve radyolojik takip önerilmiştir.

## TARTIŞMA

KE'in dünyada ve ülkemizde önemli sağlık sorunlarına neden olan paraziter hastalıklardan biri olduğu bilinmektedir (2, 17, 29). Ülkemizin hemen her bölgesinde görülmekle birlikte Marmara, İç Anadolu'nun batısı ve özellikle Doğu Anadolu Bölgelerinde KE'in yaygın olarak görüldüğü bildirilmektedir (7, 11, 17).

Periferik kanda eozinofil sayısında artışın infeksiyon hastalıkları, malign veya alerjik hastalıklar gibi birçok durumda görüldüğü bilinmekle beraber, dünyada en yaygın eozinofili nedeninin paraziter infeksiyonlar olduğu ifade edilmektedir. En sık eozinofili nedeni olan paraziter hastalıkların KE, strongyloidosis, schistosomiasis, filariasis, trichinosis, toxocariasis ve fasciolosis olduğu bildirilmektedir (12, 28). Eozinofilisi ve alerjik yakınması olan olgularda KE gibi iç organlara yerleşen parazitlerin de ayırıcı tanıda göz önünde bulundurulması gerektiği belirtilmektedir (14). Eozinofil düzeyi ile KE için spesifik antikor düzeyi arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada eozinofilisi olan olgularda IHA yöntemi ile %15,5 oranında KE antikor saptandığı, eozinofilisi olan hastaların KE yönünden araştırılmasının uygun olacağı bildirilmiştir (5).

Türkiyede yapılan sero-epidemiolojik çalışmalarda; Alkan ve Özcel 1991 (1) yılında Adana'da kırsal bölgede yaşayan 684 kişide 100.000'de 585 (4/684); Altıntaş ve ark.(3), İzmir ve civarında yaşayan 2.055 kişide %3,45; Yazar ve ark.(33) Kayseri'de 2.242 kişide ELISA ve IFAT ile %2,72, Western blot yöntemiyle ise %0,94 seropozitiflik saptamışlardır. Özkol ve ark. yaptıkları çalışmada ilkökul öğrencilerinde ELISA yöntemi ile %8,9 ve IHA yöntemi ile %10,1 oranında KE için seropozitiflik saptadıklarını ancak ultrasonografi ile bu olgulardan sadece %0,3'ünde karaciğer KE'i saptadıklarını bildirmişlerdir (24). Diğer bir çalışmada ise serolojik ve radyolojik yöntemlerle taranan birinci grupta, ELISA yöntemi ile %8,9 ve IHA yöntemi ile %10,1 oranında KE için seropozitiflik saptanırken ultrasonografi ile %0,3'ünde, sadece ultrasonografi ile taranan ikinci grupta ise %0,5'inde karaciğer KE'i saptandığı bildirilmiştir (20). Bizim çalışmamızda ise eozinofil sayısı yüksek olan olguların sadece beşinde (%0,53) parazite özgü antikor saptanmıştır. Araştırmacılar çoğu tarafından tanı amacıyla kullanılan

antijen ve serolojik yöntemlerin ayrıntıları belirtilmemesine karşılık çalışma sonuçlarımız ile diğer çalışmalar arasındaki bu farkın kullanılan yöntemlerin özgüllük ve duyarlılıkları arasındaki farklılıklara bağlı olabileceği düşünülmüştür. Serolojik testlerle alınan pozitif sonuçların çoğunun yanlış pozitiflik olabileceği ve tanıda kullanılması gereken ilk yöntemin ultrasonografi olması gerektiği ifade edilmiştir (20, 24). Çalışmamızda da serolojik olarak antikor yanıtı alınan beş olgunun dördünün radyolojik değerlendirilmesinde KE'ye ilişkin bir bulguya rastlanılmamış olması ultrasonografik tanının önemini vurgulamaktadır.

Sestod grubunda bulunan diğer parazitlerle infekte olgularda ELISA ve IHA yöntemleri ile KE'ye karşı antikor yanıtının saptanabileceği ve bunun tanıda yalancı pozitif sonuçların alınmasına neden olduğu bildirilmektedir (19, 30, 32, 34). Çalışmamızdaki beş olguda ELISA ve IHA yöntemleri ile antikor pozitifliği saptamamıza rağmen sadece bir olguda radyolojik olarak KE saptanmıştır. Bu durumun diğer olgularda bulunabilecek KE dışındaki sestod grubu parazit enfeksiyonlarından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızdaki olgularda diğer parazitlerin araştırılmaması çalışmamızın bir kısıtlılığıdır. Ayrıca kanserler gibi parazit dışı hastalıklarda da KE için çapraz serolojik yanıt alındığı araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (30). Renal cell carcinoma nedeniyle opere edilen olgudaki serolojik yanıtın bundan kaynaklanmış olabileceği de düşünülebilir. KE'in beyin (%2-3), dalak (%2-3), kemik(%0,5-2) gibi birçok doku ve organı tutabileceği bilinmektedir (9, 23). Çalışmamızın bir kısıtlılığı da olgularımızın batin ultrasonografisi ve akciğer grafisi dışında bir yöntemle araştırılmaması nedeniyle bu olgularda olası beyin, kemik gibi farklı vücut bölgelerindeki KE varlığının saptanamamasıdır. Bu nedenle serolojik olarak antikor yanıtı saptanan olgulara serolojik ve ultrasonografik takip önerilmiştir.

Bu sonuçlarla tek başına eozinofilinin KE'i düşündürmeye yeterli bir bulgu olmadığı, öncelikle KE'in klinik veya radyolojik bulguları olan hastalarda bu parazitin araştırılması gerektiği düşünülmüştür. Ayrıca bu sonuçlarla KE tanısı için serolojik yöntemlerden önce radyolojik yöntemler ve özellikle ultrasonografinin kullanılmasının daha uygun olduğu görülmektedir. Bu konuda daha geniş kapsamlı araştırmalara ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

## TEŞEKKÜR

*Çalışmada kullanılan serumların elde edilmesinde katkıları olan Adnan Menderes Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı'na teşekkür ederiz.*

## KAYNAKLAR

1. **Alkan MZ, Özcel MA**, 1984. Kist hidatik'te seroepidemiolojik araştırmalar. *Türkiye Parazit Derg*, 18(3): 302-307.
2. **Altıntaş N**, 2003. Past to present: Echinococcosis in Turkey. *Acta Trop*, 85(2): 105-112.
3. **Altıntaş N, Yazar S, Yolasiğmaz A, Aküsü Ç, Şakru N, Karacasu F, Güzelant A**, 1999. A serum epidemiological study of cystic echinococcosis in İzmir and its surrounding area, Turkey. *Helminthologia*, 36(1): 19-23.
4. **Ammann R, Eckert J**, 1996. Clinical diagnosis and treatment of echinococcosis in human, Thompson RCA, Lymbery AJ eds. *Echinococcus and Hydatid Disease*, CAB International UK; p. 411-463.
5. **Atambay M, Aycan O, Karaman U, Daldal N**, 2002. Eozinofilili hastalarda hidatik kist seroprevalansı. *Türkiye Parazit Derg*, 26(4): 400-402.
6. **Babba H, Messedi A, Masmoudi S, Zribi M, Grillot R, Ambriose-Thomas P, Beyrouti I, Sahnoun Y**, 1994. Diagnosis of human hydatidosis: comparison between imagery and six serologic techniques. *Am J Trop Med Hyg*, 50: 64-68
7. **Başak O, Turgut M, Aydın N**, 1998. Aydın bölgesinde uniloküler kistik echinococcosis (110 olgu). *Türkiye Parazit Derg*, 22(3): 262-267.
8. **Behm CA, Ovington KS**, 2000. The Rol of Eosinophils in Parasitic Helminth Infections: Insights from Genetically Modified mice. *Parasitol Today*, 16(5): 202-209.
9. **Berberoglu B, Çapan N, Pelit A, Atkcan S, Oncul Canbakan S, Başer Y**, 1996. Multipl organ tutulumlu kist hidatik olgusu. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 16: 226-229
10. **Biava MF, Dao A, Fortier B**, 2001. Laboratory Diagnosis of Cystic Hydatid Disease. *World J Surg*, 25(1): 10-14.
11. **Budak S**, 1991. Kist hidatik'in epidemiyolojisi, İnsanlarda ve hayvanlarda hidatik kist. *Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 10*, İzmir, E. Ü. Ofset Basımevi, s. 55-64.
12. **Chusid MJ**, 1999. Pediatric allergy and immunology. *Imm All Clin of North America*, 19(2): 327-346.
13. **Cohen H, Paolillo E, Bonifacino R, Botta B, Parada L, Cabrera P, Snowden K, Gasser R, Tessier R, Dibarbouré R, Wen H, Allan JC, Soto De Alfaro H, Rogan MT, Craig PS**, 1998. Human cystic echinococcosis in a Uruguayan community: a sonographic, serologic, and epidemiologic study. *Am J Trop Med Hyg*, 59: 620-627.
14. **Ertabaklar H, Bayram Delibaş S, Turgay N, Üstün S, Altıntaş N**, 2002. Alerji yakınması olan hastaların helmint enfeksiyonları yönünden araştırılması. *Türkiye Parazit Derg*, 26(2): 201-204.
15. **Guy JC, Athens JW**, 1998. Variations of leukocytes in disease. Lee GR, Foerster J, Lukers J, Paraskeuas F, Greer JP, Rodgers GM eds., *Wintrobe's Clinical Hematology*, Vol. 2.10.th edition, Baltimore, MD: Williams & Wilkins, p.1845-1848.
16. **Iacona A, Pini C, Vicari G**, 1980. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the serodiagnosis of hydatid disease. *Am J Trop Med Hyg*, 21(6): 913-918.
17. **Inceboz T, Altıntaş N, Kahya M, Haskaraca F**, 2001. Manisa bölgesinde uniloküler kistik ekinokokkozis. *Türkiye Parazit Derg*, 25(1): 45-48.

18. **Kagan IG, Maddison SE**, 1992. Serodiagnosis of Parasitic Disease. In: Rose NR, Conway De Macario E, Fahey JL, Friedman H, Penn GM, eds. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. Washington, Am Soc Microbiol, p. 529-543.
19. **Kanwar JR, Kaushik SP, Sawhney IMS, Kamboj MS, Mehta SK, Vinayak VK**, 1992. Specific antibodies in serum of patients with hydatidosis recognised by immunoblotting. *J Med Microbiol*, 36: 46-51.
20. **Kilimcioğlu AA, Ozkol M, Bayindir P, Girginkardeşler N, Otsan I, Ok UZ**, 2006. The Value of ultrasonography alone in screening surveys of cystic echinococcosis in children in Turkey. *Parasitol Int*, 55(4): 273-275.
21. **Kuman HA**, 1997. İndirekt hemaglutinasyon, Özcel MA, Altıntaş N editörler. *Parazit Hastalıklarında Tanı*. İzmir, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, No:15, s.193-213.
22. **Muhammed AS, Craig PS, Macpherson CNL, Rogan MT, Gusbi AM, Echtuish EF**, 1999. An extensive ultrasound and serologic study to investigate the prevalence of human cystic echinococcosis in Northern Libya. *Am J Trop Med Hyg*, 60(3): 462-468.
23. **Ozbilgin A, Kilimcioğlu AA**, 2007. Kistik Echinococcosis, Özcel MA, Özbel Y, Ak M editörler, *Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları*. İzmir. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:22, s.541-566.
24. **Ozkol M, Kilimcioğlu AA, Girginkardeşler N, Balcioğlu IC, Sakru N, Korkmaz M, Ok UZ**, 2005. A discrepancy between cystic echinococcosis confirmed by ultrasound and seropositivity in Turkish children. *Acta Trop*, 93(2): 213-216.
25. **Paul M, Stafaniak J**, 2001. Comparison of the dot immunobinding assay and two enzyme-linked immunosorbent assay kits for the diagnosis of liver cystic echinococcosis. *Hepatol Res*, 21(1): 14-26.
26. **Poretti D, Felleisen E, Grimm F, Pfister M, Teuscher F, Zuercher C, Reichen J, Gottstein B**, 1999. Differential immunodiagnosis between cystic hydatid disease and other cross-reactive pathologies. *Am J Trop Med Hyg*, 60(2): 193-198.
27. **Ramzy RM, Helmy H, El Zayyat EA, Rifaat MMA, Hameed DMA, Abdel-Baki MH**, 1999. An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of IgG<sub>1</sub> antibodies specific to human cystic echinococcosis in Egypt. *Trop Med Int Health*, 4(9): 616-620.
28. **Rothenberg ME, Epstein FH**, 1998. Eosinophilia. *New Eng J Med*, 388(22): 1592-1600.
29. **Thompson RCA**, 1996. Biology and systematics of Echinococcus, Thompson RCA, Lymbery AJ eds. *Echinococcus and Hydatid Disease*, CAB International UK, p.1-37.
30. **Varela-Diaz VM, Lopez-Lemes MH, Prezioso U, Coltorti EA, Yarzabal LA**, 1975. Evaluation of four variants of the indirect hemagglutination test for human Hydatidosis. *Am J Trop Med Hyg*, 24(2): 304-311.
31. **Verastegui M, Moro P, Guevara A, Rodriguez T, Miranda E, Gilman RH**, 1992. Enzyme-linked immunoelectrotransfer blot test for diagnosis of human hydatid disease. *J Clin Microbiol*, 30(6), 1557-1561.
32. **Wen H, Craig PS**, 1994. Immunoglobulin G subclass responses in human cystic and alveolar echinococcosis. *Am J Trop Med Hyg*, 51(6): 741-748.
33. **Yazar S, Yaman O, Şahin İ**, 2004. Kayseri ve çevresinde yaşayan insanlarda anti-*Echinococ* antikorlarının seroepidemiolojik olarak araştırılması. 2. Ulusal Hidatidoloji Kongresi, 4-8 Eylül-2004, Bursa.
34. **Zarzosa MP, Orduna A, Gutierrez P, Alonso P, Cuervo M, Prado A, Bratos MA, Garcia-Yusme M, Ramos G, Torres A**, 1999. Evaluation of six serological tests in diagnosis and postoperative control of pulmonary hydatid disease patients. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 35: 255-262.