

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**MERSİN İLİ MUT İLÇESİ'NDEKİ DEĞİŞİK YAŞ
GRUPLARINDA LEISHMANIA ANTİKOR DÜZEYLERİ**

Hamdi ERHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Gürol EMEKDAŞ

MERSİN – 2006

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**MERSİN İLİ MUT İLÇESİ'NDEKİ DEĞİŞİK YAŞ
GRUPLARINDA LEISHMANIA ANTİKOR DÜZEYLERİ**

Hamdi ERHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Gürol EMEKDAŞ

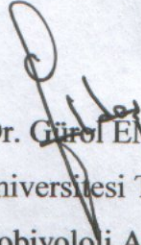
Tez No:

MERSİN – 2006
Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

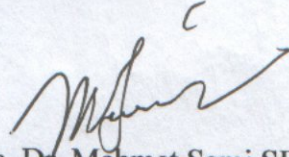
Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan '*Mersin İli Mut İlçesi'ndeki Değişik Yaş Gruplarında Leishmania Antikor Düzeyleri*' adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

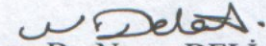
Tez Savunma Tarihi 14/07/2006



Prof. Dr. Gürsel EMEKDAŞ
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı
Jüri Başkanı / Danışman

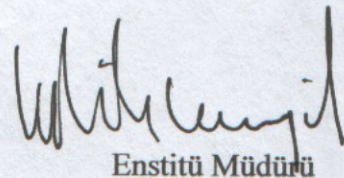


Doç. Dr. Mehmet Sami SERİN
Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Mikrobiyoloji Bilim Dalı
Jüri Üyesi



Doç. Dr. Nuran DELİALİOĞLU
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı
Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 18.07.2006... tarih ve 2006/192... sayılı kararı ile kabul edilmiştir.



Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Murat DİKMENGİL

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince her konuda yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı ve aynı zamanda danışman hocam Sayın Prof. Dr. Gürol EMEKDAŞ'a, başta Sayın Doç. Dr. Gönül ASLAN olmak üzere değerli hocalarım Sayın Doç. Dr. Candan ÖZTÜRK, Sayın Doç. Dr. Nuran DELİALIOĞLU ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Feza OTAĞ'a eğitim ve öğretimime katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca gerek sahada gerekse laboratuvar ortamında sonsuz desteklerini gördüğüm arkadaşlarım Araştırma Görevlisi Çilem YILDIZ ve Araştırma Görevlisi Seda TEZCAN ile Biyolog Şahin DİREKEL başta olmak üzere tüm Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ederim.

Tezimin örnek serumlarının toplanmasında yardımcı olan Mut Devlet Hastanesi Laboratuvarı'nda ve Acil Servisi'nde çalışan personele ve çalışmam sırasında her türlü destekleri ile katkıda bulunan tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatıma sonsuz katkılarından dolayı anneme, babama, sevgili eşime ve kızıma en derin teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe.....	3
2.2. Morfoloji.....	4
2.2.1. Amastigot Formlar	5
2.2.2. Promastigot Formlar.....	6
2.3. Sınıflandırma.....	6
2.4. Klinik.....	7
2.4.1. Kala-Azar (VL).....	7
2.4.2. Şark Çıbanı (KL).....	8
2.4.3. Mukokutanöz Leishmaniasis.....	9
2.4.4. AIDS ve Leishmaniasis.....	9
2.5. Tanı Yöntemleri.....	10
2.5.1. Kala-Azar (VL).....	10
2.5.1.1. Chopra'nın Antimon Testi.....	11
2.5.1.2. Formol-Gel Deneyi.....	11
2.5.1.3. Kompleman Birleşmesi Testi.....	11
2.5.1.4. IHA, IFA, ELISA.....	11
2.5.2. Şark Çıbanı (KL).....	12
2.5.2.1. Direkt Tanı.....	12

2.5.2.2. İndirekt Tanı.....	12
2.5.2.3. Deneysel Tedavi	12
2.5.3. Moleküler Biyolojik Yöntemler.....	13
2.5.3.1. PZR.....	13
2.5.3.2. Leishmaniasis Tanısında IFA.....	13
2.5.3.3. Western Blot.....	14
2.6. Tedavi Uygulamaları.....	14
2.6.1. Sistemik Tedavi.....	14
2.6.2. İntralezyonel Tedavi.....	15
2.7. Ayırıcı Tanı.....	16
2.8. Kontrol Önlemleri.....	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
3. 1. Örneklerin Toplanması, Taşınması ve Saklanması.....	17
3.1.1. Kutanöz Leishmaniasis Düşünülen Hastalardan Örneklerin Alınması, Mikroskopik İncelenmesi ve Kültürü.....	18
3.1.2. Kültürde Üreme Saptanan Örneklerdeki Parazitlerin Subkültürlerinin Yapılması.....	20
3.2. Antijenin Hazırlanması.....	21
4. BULGULAR.....	22
5. TARTIŞMA.....	24
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	28
KAYNAKLAR.....	29
ÖZGEÇMİŞ.....	32

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Leishmania Formları.....	5
Şekil 3.1. Yüz Bölgesinde Lokalize Kutanöz Leishmaniasis Lezyonu.....	18
Şekil 3.2. Lezyondan Mikroskopi İçin Örnek Alınması.....	19
Şekil 3.3. Alınan Örnekte Giemsa ile Boyama Sonrası Amastigotların Görünümü.....	19
Şekil 3.4. İnkübasyon Sürecindeki Serum Örneklerinin Bulunduğu Lamlar	21
Şekil 4.1. Leishmania IgG Antikor Pozitifliğinin Floresan Mikroskopta Görünümü...	23

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Leishmania Türlerinin Taksonomik Yerleri.....	7
Çizelge 3.1. Serum Örneği Alınanların Yaş Grubu Dağılımı	17
Çizelge 4.1. Pozitif ve Negatif Serum Örneklerinin Dağılımı	22
Çizelge 4.2. Pozitif Serum Örneklerinin Farklı Titrelede Dağılımı.....	22

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AIDS	Acquired Immuno Deficiency Syndrome (Kazanılmış İmmün Yetmezlik Sendromu)
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ELISA	Enzim Linked Immunosorbent Assay
FITC	Fluorescein Isothiocyanate
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IHA	İndirekt Hemaglutinasyon
IFA	İndirekt Floresan Antikor
IM	Intramuscular
IV	Intravenöz
kDNA	Kinetoplast Deoksiribonükleik Asiti
KL	Kutanöz Leishmaniasis
MCL	Mucocutaneous Leishmaniasis
nDNA	Nükleer Deoksiribonükleik Asit
NNN	Novy, Nicolle, Mac Neal
PBS	Phosphate Buffer Saline
PKDL	Post Kala-Azar Dermal Leishmaniasis
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rDNA	Ribozomal Deoksiribonükleik Asit
RES	Retikuloendotelyal Sistem
RNA	Ribonükleik Asit
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
VL	Visseral Leishmaniasis

ÖZET

MERSİN İLİ MUT İLÇESİ'NDEKİ DEĞİŞİK YAŞ GRUPLARINDA LEISHMANIA ANTİKOR DÜZEYLERİ

Leishmaniasis, Leishmania cinsi parazitik kamçılı protozoonların neden olduğu hastalığa verilen genel bir isim olup, klinik olarak Visseral Leishmaniasis, Kutanöz Leishmaniasis ve Mukokutanöz Leishmaniasis olmak üzere üç grup altında incelenmektedir.

Bu çalışmada Mersin İli Mut ilçesinde yaşayan 2 yaşın üzerinde, değişik yaş gruplarında Leishmaniasis lezyonu bulunmayan, 212 erkek ve 196 kadın olmak üzere toplam 408 kişiden alınan serum örneklerinde IFA yöntemi ile Leishmania IgG antikor varlığı araştırılmıştır. Rastlantısal olarak toplanan Mut ilçesi ve köylerinde ikamet eden bu kişilerden alınan örneklerin incelenmesi sonucunda, çalışma örneklerinin 5'inde (% 1.2) Leishmania IgG tipi antikor varlığı tespit edilmiştir. Örneklerin 4 ünde (% 0.98) 1/32 titre düzeyinde, 1'inde (% 0.24) ise 1/64 titrede pozitiflik saptanmıştır.

Endemik bölgelerde parazitlerle mücadelede hastaların tespiti ve tedavi edilmesi, bölgede yaşayan insanların eğitimi ve bu kişilere koruyucu önlemlerin aktarılması, bölgemizde düşük endemi gösteren hastalığın yok edilebilmesi için gerekli görülmektedir.

Anahtar sözcükler: Leishmaniasis, IFA, IgG antikor

ABSTRACT

ANTI-LEISHMANIAL ANTIBODY LEVELS IN MUT TOWN OF MERSİN CITY

The cause of Leishmaniasis is a flagelled protozoon known as Leishmania. There are three clinical subtypes of Leishmaniasis; Visceral Leishmaniasis, Cutaneous Leishmaniasis, and Mucocutaneous Leishmaniasis.

In this study, we evaluated the serum Ig G antibody levels of Leishmania of the healthy individuals by IFA. The study group was composed of 408 people (212 male, 196 female). The samples were collected from the region of Mut randomly. We detected IgG antibody of Leishmania in 5 of the collected samples (1.2 %). We also detected 1/32 titer of Ig G antibody in 4 of the samples (0.98 %) and 1/64 titer of IgG antibody level in 1 of the samples (0.24 %).

Detection and treatment of the patients, education and protective applications to the people living in endemic regions, seems to be needed, in order to eradication of this low endemic disease.

Key words: Leishmaniasis, IFA, IgG antibody

1. GİRİŞ

Leishmaniasis, leishmania cinsi parazitik kamçılı protozoonların neden olduğu hastalığa verilen genel bir isimdir. Klinik olarak Visseral Leishmaniasis (VL, İç Organlar Leishmaniasis'i, Kala-Azar), Kutanöz Leishmaniasis (KL, Deri Leishmaniasis'i) ve Mukokutanöz Leishmaniasis (MCL, Espundia) olarak ayrılabilir (1).

L. donovani'nin VL etkeni olduğu deride, tedavi sonrası ortaya çıkan ve Post Kala-Azar Dermal Leishmaniasis (PKDL) olarak adlandırılan klinik tablo da son yıllarda dördüncü klinik şekil olarak kabul edilmiştir (1, 2).

Kala-Azar ve Deri Leishmaniasis'i eski ve yeni dünyada görülmekte ancak ayrı Leishmania türleri tarafından oluşturulmaktadır. Espundia ise sadece Amerika Kıtası'nda görülmektedir (2) .

Hastalık etkeni, omurgalılarda hücre içi paraziti olarak, kamçısız ve hareketsiz amastigot şeklinde, vektör vücudunda ve kültür ortamında ise kamçılı ve hareketli promastigot şeklinde bulunur. Her iki tip hücre de boyuna ikiye bölünmeyle çoğalır. Leishmania türleri memelilerin zorunlu hücre içi paraziti olup, infekte *Phlebotomus* cinsi tatarcıklar (yakarca) tarafından kan emme sırasında bulaştırılmaktadır. Parazit kaynağı hasta insan, hayvan ve rezervuarlardır (1).

Leishmaniasis, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından altı önemli tropikal hastalıktan biri olarak kabul edilen, 88 ülkede endemik olarak gözlenen bir hastalıktır. 5 kıtada 350 milyon insan risk altındadır. Her yıl yeni hasta sayısının VL için 50.000, KL için 1.500.000 olduğu tahmin edilmektedir (2).

Eski dünya Leishmaniasis'i daha çok endemik karakterlidir. Hindistan ve Afrika ülkelerinde epidemilere yol açmıştır. Ülkemizde *L. infantum*'un etken olduğu VL, Ege ve Akdeniz bölgelerinde; *L. tropica*'nın etken olduğu KL, Doğu Akdeniz ve Güney Doğu Anadolu bölgelerinde gözlenmektedir (3).

KL yıllardır başta Şanlıurfa olmak üzere Güneydoğu illerinde ve son 10–15 yıldır Çukurova yöresinde endemik olarak görülmektedir. KL'e bilinen endemik bölgelere ek olarak Mersin'in Anamur, Mut ve Gülnar ilçelerinde de sık olarak rastlanılmaya başlanmıştır (4, 5).

Bu alışmada Mersin İli Mut ilçesinde yaşayanlar arasında bulunan KL vakalarına ulaşmak, bu vakalardan lezyonel örnek olarak bölgeye ait leishmania suşlarını üretebilmek, bu suşlardan hazırlanan antijenlerle hasta kişilerde ve toplumda değişik yaş gruplarında Indirekt Fluoresan Antikor (IFA) yöntemi ile yapılacak tarama sonrası Leishmania IgG antikor varlığını ve titresini göstermek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Leishmania ilk kez 1900 yılında Leishman tarafından Hindistan'da dizanteriye yakalanarak İngiltere'ye gönderilen bir hastanın dalak preparatında görülmüştür. Aynı yıl Donovan, Madras'ta Kala-Azar vakalarında dalaktan elde edilmiş materyalden hazırlanan preparatlarda paraziti görmüş ve 1903 yılında bulgularını yayınlamıştır. Yine aynı yıl Ross tarafından parazit *L. donovani* olarak isimlendirilmiştir (6, 7).

1904 yılında Catoire, 1905 yılında Pianese Akdeniz bölgesinde dalak büyüklüğü ile birlikte anemisi olan çocuklarda etkeni bulmuşlardır. 1908 yılında Nicolle, E.G. Novy ve W.J. Mac Neal'in tarif ettikleri besiyerine benzer bir besiyerinde paraziti üretmiş ve Akdeniz bölgesinde VL'in rezervuarının memeliler, özellikle köpek olabileceğini ileri sürmüştür. Yine 1908 yılında Nicolle ve Compte köpekte Leishmania bulmuşlar ve bu parazite Nicole tarafından *L. infantum* adı verilmiştir (1).

KL Akdeniz havzası ve Ortadoğu'da yüzyıllardır bilinen bir hastalıktır. KL ile ilgili ilk yazılı bilgiye 1050 yılında Ebu Bekir Muhammed bin Zekeriya El Razi'nin bir eserinde rastlanmış olup o tarihten itibaren hastalığın özellikle kliniği konusunda önemli bilgi birikimi oluşmuştur. Bununla birlikte KL'nin epidemiyolojisi, etkeni ve bulaşma şekli hakkındaki ilk ciddi bilgiler 18. yüzyıldan sonraki araştırmalarla elde edilebilmiştir. Celal Muhtar ve Hulusi Behçet başta olmak üzere çok sayıda araştırmacı KL ile ilgilenerek hastalığın her yönü ile anlaşılmasına katkılarda bulunmuşlardır. Ülkemizin önemli bir kısmında epidemilerle seyreden hastalığın insidansı 1950'li yıllardan itibaren uygulanan sıtma eradikasyonu çalışmaları ile birlikte azalma göstermiştir. Ancak özellikle 1980'li yıllardan itibaren başta Güneydoğu Anadolu ve Çukurova bölgesi olmak üzere ülkemizin belirli bölgelerinde ciddi bir halk sağlığı problemi olarak tekrar gündeme gelmiştir (1, 6, 7, 8).

Türkiye'den VL'li ilk hasta Karadeniz Bölgesi'nde Trabzon'dan rapor edilmiştir. 20. yüzyılın başında 1916'da Leishmania amastigot formları Bağdat'taki 11 Osmanlı askerinin karaciğer ve dalak biyopsilerinden identifiye edilmiştir (1, 6, 7, 8).

Leishmaniasis ülkemizde özellikle Şanlıurfa başta olmak üzere Güney Doğu Anadolu'da ve Çukurova bölgesinde endemik olarak bulunmaktadır (1, 6, 7, 8).

Mersin ilinde özellikle Anamur, Mut, Bozyazı ilçe merkezlerinde sporadik olgular halinde görülen KL'in son yıllarda artma eğilimi göstermeye başladığı bildirilmektedir (4, 5).

Ülkemizde Sağlık Bakanlığı, Şark Çıbanı'nı Grup A bildirim zorunlu hastalıklar listesine almıştır. Ayrıca bu hastalık için Sağlık Bakanlığı tarafından özel bir tanı ve tedavi programı yürütülmektedir (9).

Sağlık Bakanlığı'nın verilerine göre ülkemizde 1988–2004 yılları arasındaki 16 yıllık dönemde 39.494 KL olgusu ve 1989–2004 yılları arasında 15 yıllık dönemde 5.389 VL olgusu bildirilmiştir. Türkiye genelinde 2004 yılında toplam 4.187 KL olgusu bildirilmiştir. İllere göre dağılıma bakıldığında hastalık 2.305 olgu ile en fazla Şanlıurfa ilinde görülürken; bunu 876 olgu ile Diyarbakır, 472 olgu ile Osmaniye, 197 olgu ile Hatay, 118 olgu ile Adana, 80 olgu ile Mersin, 56 olgu ile Kahramanmaraş, 22 olgu ile Antalya, 20 olgu ile Aydın, 14 olgu ile Kayseri, 10 olgu ile Niğde, 5 olgu ile Gaziantep, 4 olgu ile Muğla, 2 olgu ile İzmir ve birer olgu ile Afyon, Denizli, Kars, Konya, Muş ve Nevşehir illeri izlemiştir. Aynı zamanda 2004 verilerine göre Türkiye genelinde toplam 30 Kala-Azar olgusu bildirilmiştir. İllere göre dağılıma bakıldığında Adana'da 9 olgu ile en fazla vakaya rastlanırken bunu 3'er olgu ile Antalya ve Kastamonu, 2'şer olgu ile Ankara, Balıkesir ve İzmir, 1'er olgu ile Afyon, Amasya, Aydın, Bursa, Mersin, İstanbul, Manisa, Samsun ve Yalova illeri izlemiştir (10).

2.2. Morfoloji

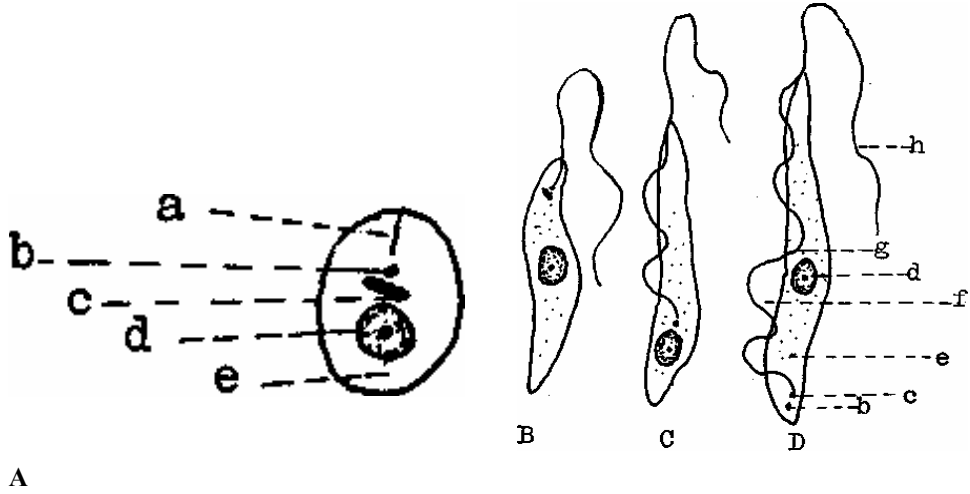
Leishmania cinsine ait türlerde tatarcıklarda bulunan kamçılı (Promastigot, Leptomonas), insan ve diğer memelilerde bulunan (Amastigot, Leishmania) olmak üzere iki ayrı evrim şekli görülür (1, 6, 7, 8,11).

Bu cinste tıbbi önemi olan 4 tür ve çok sayıda alt tür bulunur.

Yaptıkları hastalık bakımından,

- *L. donovani* kompleksi alt türleri; İç Organ Leishmaniasisi,
- *L. tropica* alt türleri; Deri Leishmaniasisi,
- *L. mexicana* kompleksi ve *L. brasiliensis* kompleksi alt türleri ise;

Mukokutanöz Leishmaniasis etkenidirler (6).



Şekil 2. 1. Leishmania Formları (6).

A- Amastigot (*leishmania*)

B- Promastigot (*leptomonas*)

C- Epimastigot (*Critidia*)

D- Trypomastigot (*Trypanasoma*)

a- axonem

b- blepharoplast

c- rizoplast

d- çekirdek

e- sitoplasma

f- dalgalı zar

g- dalgalı zar kamçısı

h- serbest kamçı

2.2.1. Amastigot Formlar:

Büyüklüğü 2–5 µm olan amastigot formlar, yuvarlak veya oval şekillidir. Bu formlar omurgalı konakta Retiküloendotelyal Sistem (RES) makrofajlarının fagolizozomları içinde çoğalmaktadır. Kamçısız ve hareketsizdir. Giemsa ile boyalı preparatlarda sitoplazma soluk mavi, içerde pembe ve koyu kırmızı boyanan arka uca yakın büyük bir nükleus ve ona bitişik kinetoplast görülür. Kinetoplast nükleustan daha koyu boyanır. Nükleus yuvarlak veya oval 1–1.2 µm çapındadır. Oval, çubuk, yuvarlak gibi değişik şekillerde olabilir. Çapı 2.5 nm'dir. Nükleus ve kinetoplastın her ikisi de Deoksiribonükleik Asit (DNA) içerir. Sitoplazmada ayrıca mitokondri, vakuoller, lizozom ve golgi cihazı da bulunur (6, 7, 8, 12).

2.2.2. *Promastigot Formlar:*

Phlebotomus'ların bağırsaklarında ve besiyerinde bulunan tipik formlardır. 12–20 µm uzunlukta 1.5–2.5 µm genişliktedirler. Mekik şeklinde vücudu ve aynı uzunlukta ön uçtan çıkan serbest bir kamçısı bulunmaktadır.

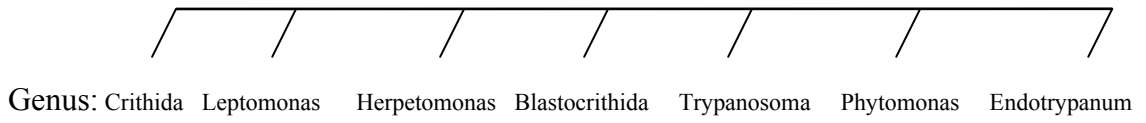
Kamçı karakteristik axonemal yapıdadır. Axonem 2 merkezi, 9 periferel fibril çifti içermektedir. Kamçının bağlantı noktasında kamçı paketi adı verilen ve sitostoma benzeyen bir invaginasyon vardır. Blefaroplast kinetoplastın önünde kamçının dip kısmındadır. Membranla izole edilmiştir. Kamçıdan ayrı olarak 3 periferel fibrilin 9 grubundan oluşmaktadır. Ön uçtan yaklaşık 2 µm içerde yuvarlak veya at nalı şeklinde bir kinetoplasta sahiptir. Nükleus parazit gövdesinin ortasında bulunur. Nükleusun 7 nm kalınlığındaki nükleer membranında 60–80 nm çapında porlar vardır. Merkezde 0.6–1 µm çapında bir nükleolus vardır. Sitoplazma içinde endoplazmik retikulum ve golgi cihazı bulunur (6, 7, 8,12).

2.3. Sınıflandırma

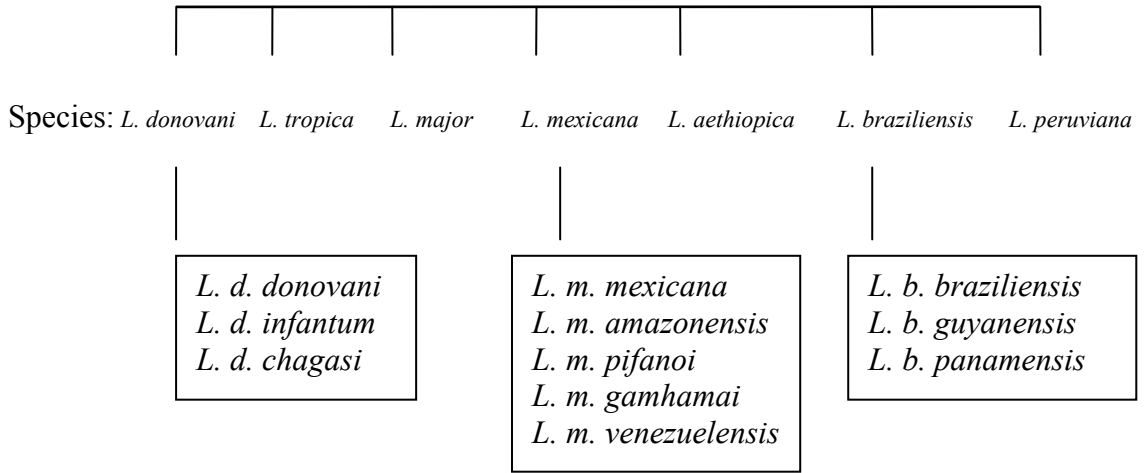
Leishmania türleri için taksonomide DSÖ tarafından aşağıdaki sınıflandırma uygun görülmüştür:

Leishmania türlerinin taksonomik yerleri

Regnum	:	ANIMALIA
Superphylum	:	PROTOZOA
Phylum	:	SARCOMASTIGOPHORA
Subphylum	:	MASTIGOPHORA
Clasis	:	ZOOMASTIGOPHOREA
Ordo	:	KINETOPLASTIDA
Subordo	:	TRYPANOSOMATINA
Familya	:	TRYPANOSOMATIDAE



Leishmania



Çizelge 2. 1. Leishmania türlerinin taksonomik yerleri (2, 6).

2.4. Klinik

2.4.1. Kala-Azar (VL);

Etken, *L. donovani*'dir. Hastalığın kuluçka süresi genelde 2–4 ay arasındadır. Bu süre bir yıla kadar uzayabilir. İnfekte tatarcığın konağı soktuğu yerde 2–3 mm büyüklüğünde bir nodül oluşur. Soluk pembe renkteki bu nodülün ortası daha sonra kabuklanmaktadır. Hastalık çoğunlukla sinsi başlar, bazen aniden de ortaya çıkabilir. Başlangıçta kırıklık, baş ağrısı, zayıflama ve hafif ateş görülür. Daha sonra ateşin artması ile birlikte dalak da büyür. Hastalığın ilerlemesi ile ateş Kala-Azar'a özgü bir eğri çizer. Bu, günde iki kez yükselen aralıklı bir ateştir. Genelde 39–40°C olmakla beraber bazen 40–40.5°C'ye çıkabilir (6, 11,13,14).

İç Organlar Leishmaniasisi'nin çeşitli coğrafi tipleri vardır:

- A. Hindistan tipi (*L. donovani* var. *donovani*)
- B. Akdeniz tipi (*L. donovani* var. *infantum*)
- C. Çin tipi (*L. donovani* var. *donovani*)
- D. Sudan tipi (*L. donovani* var. *infantum*)
- E. Güney Amerika tipi (*L. donovani* var. *chagasi*)

2.4.2. Şark Çıbanı (*Deri Leishmaniasisi, Aleppou, Yıl Yarası, KL*);

Deri leishmaniasisi'nin Türkiye'deki başlıca etkeni *L. tropica*'dır. Hastalığın bulaşmasından dişi tatarcıklar sorumludur. Kuluçka süresi ortalama 3–6 aydır. Bu formlar tatarcık tarafından sokulan yerden derinin retikuloendotelial hücrelerine girer ve amastigot şekline dönüşürler. Vektör tarafından ısırılan yerde küçük kırmızı bir papül gelişir, sonra nodül haline döner. Daha sonra ülserleşerek kabuklanır. Lezyonlar siğilimsi, karnabahar veya sert ve lipoid görünümünde, değişik yapıda olabilir (1, 6, 7, 8, 11, 15, 16).

KL düşünülen lezyonların klinik özellikleri:

Genellikle vücudun giysi ile örtülmeyen açık olan kısımlarındaki deriye lokalize, uzun süredir (en az 1 ay) iyileşmeyen, sekonder olarak bakterilerle infekte olmadıkça ağrısız, eritemli papül, nodül, nodülo-ülseratif plak, ülser plak şeklinde, ülserleşmiş lezyonların üzerinde alta sıkıca yapışık krutlu, kenarları lastik, silgi kıvamında endurasyon gösteren (merkezinde krateri olan volkan biçiminde) lezyonlardır.

Lezyonlar, yaz aylarında ve geceleri aktif olan tatarcık sineğinin beslenmek için kan emdiği deri bölgesinde, 4–8 aylık inkübasyon döneminden sonra ortaya çıkan, ağrısız, eritemli bir papül şeklinde başlar. Lezyon, 1–2 ay içerisinde büyüyerek 1–2 cm çaplı nodüle dönüşür. Nodüler lezyon zaman içerisinde merkezden ülserleşerek krutla kaplanır. Tedavisiz olgularda lezyon doğal seyri genellikle 1–1.5 yıllık süreç içinde ömür boyu süren depresif skar bırakarak iyileşir. İyileşmeden sonra kişiyi ömür boyu reinfeksiyonlara karşı koruyan doğal bir bağışıklık gelişir. Non-endemik bölgelerde de yukarıdaki klinik tanımlamaya uyan lezyona sahip olgularda, özellikle yaz aylarında endemik bölgelere (Örneğin, Güneydoğu Anadolu ve Doğu Akdeniz Bölgelerine) seyahat öyküsü açısından ayrıntılı anamnez alınmalıdır (1, 6, 7, 8, 11, 16, 17).

Kutanöz Leishmaniasis klinik olarak iki tipte tanımlanır;

a. Kuru Tip Deri Leishmaniasisi: Bu tipten sorumlu *L. tropica minor*'dür. Kuru tipte çıbanın büyümesi yavaştır.

b. Yaş Tip Deri Leishmaniasisi: Etken *L. tropica major*'dür. Bu tip leishmaniasisde yara izi kuru tipe göre daha derindir. Kuluçka süresi kısadır.

Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yakın zamanda yapılan çalışmalar sonucu yakalanan tatarcıkların *L. major*'ün kanıtlanmış vektörü olan *Phlebotomus sergenti* veya *Phlebotomus papatasi* olduğu görülmüş, bu bölgede Kutanöz Leishmaniasis'in primer vektörünün *Phlebotomus sergenti* olduğu düşünülmüştür. Ancak yapılan çalışmalarda hiçbir tatarcıkta Leishmania promastigotları izole edilememiştir (6, 18).

2.4.3. Mukokutanöz Leishmaniasis;

Etken *L. braziliensis*'tir. Deri ve mukozaların birleştiği yerde ülser ve kabuklaşma meydana gelir. Güney Amerika'da "Espundia" adı verilir. Kuluçka dönemi 10 gün – birkaç aydır. Tatarcığın soktuğu bölgede nodül-papül-vezikül-ülser (10 cm'den büyük) meydana gelir. Komplikasyon gelişmezse lezyon 6 ay – 2 yılda kendiliğinden iyileşir. Skatris bırakır. İlk lezyon mukozalara yayılabilir. En ciddi semptomlar bu ülserlerin burunda, ağız boşluğunda, yutakta, bronşlarda, bazen genital organ membranlarında gelişmesidir. Burun septumu yıkıma uğrar (6, 11).

2.4.4. Acquired Immuno Deficiency Syndrome (AIDS) ve Leishmaniasis;

Visseral Leishmaniasis'in son yıllarda özellikle AIDS hastalarında sekonder bir enfeksiyon etkeni olarak ortaya çıktığı görülmektedir. Hastalarda klinik bulgular tipik Kala-Azar kliniğinden farklılıklar göstermekte, hastalık normalden çok daha hızlı vücuda yayılmakta ve tanı güçleşmektedir (19, 20, 21, 22).

AIDS ile birlikte klinik önemi artmasına rağmen günümüze değin leishmaniaya karşı aşı geliştirilememiştir. Parazitin yaşam siklusunun iki farklı konakta olması nedeni ile aşı çalışmalarında başarılı olunamamıştır (23, 24).

2.5. Tanı Yöntemleri

2.5.1. Kala-Azar (VL);

Kala-Azar'ın tanısı, tedavi edilmemiş olgularda oldukça kolay, nükslerde ve yetersiz tedavi görmüş hastalarda daha zordur. Tanı için kanda lökositler içinde leishmanialar aranabilir. Parazit kanda bulunmadığında kemik iliği, dalak, karaciğer, lenf bezi ponksiyonu ile alınan materyal incelenir. Burun mukozasının kazınması ile materyal alınıp, incelenerek tanıya gidilebileceği de bildirilmiştir. Ponksiyondan önce lökosit tabakasından kültür yapılabilir ve deney hayvanına inokülasyon uygulanabilir. Kültürde 10–20 günde, deney hayvanı olarak kullanılan hamsterde haftalar sonra sonuç alınır (1, 6, 7, 8, 11, 12).

Direkt Tanı:

Kan ve kemik iliği yaymasının Giemsa, Romanovski boyası ile %60, dalak ponksiyon materyalinin Giemsa, Romanovski boyası ile %98 tanı konmaktadır. Bu materyal Novy, Nicolle, Mac Neal (NNN) besiyerine ekilerek ya da sincap, hamster veya köpekte üretilerek de tanı konulabilir(1, 6, 7, 8, 11, 12).

İndirekt Tanı:

- ELISA
- IFA kullanılır.

Endemik bölgelerde

- *Trypanosoma spp.*
- *Plasmodium spp.* ve
- *Schistoma spp.* ile çapraz reaksiyon ve yalancı pozitiflik görülebilir.

2.5.1.1. Chopra'nın Antimon Testi:

Beş değerli antimon bileşiğinin % 4'lük eriyiği 10 kez sulandırılmış 2 ml hasta serumu üzerine birkaç damla konur, tüp iki el arasında yuvarlanarak karıştırıldığında çökelek oluşur. Bu test erken pozitifleşir, ancak splenomegali olan başka durumlarda da pozitif olabilir (8).

2.5.1.2. Formol-gel Deneyi:

Kala-Azar'da yükselen serum globülin düzeylerini gösteren nonspesifik bir testtir. 1 ml kadar hasta serumu üzerine birkaç damla formalin damlatılarak, serumda bulanıklaşmanın gözlenmesi esasına dayanır. Oluşan bulanıklığın meydana geliş süresinin kısalığı, testin tanı değerini yükseltir (8).

2.5.1.3. Kompleman Birleşmesi Testi:

Erken pozitifleşen bir antikor testidir, ancak yalancı pozitiflik görülebilir(8).

2.5.1.4. IHA, IFA, ELISA;

Tanıda spesifik antikorları araştıran testler de kullanılmaktadır. Ancak duyarlılığın düşük olması ve çapraz pozitiflik gibi dezavantajları vardır.

Enzim Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi ile elde edilen sonuçlar; kullanılacak olan antijenin iyi şekilde hazırlanıp hazırlanmadığına bağlıdır. Promastigot ve amastigotlardan elde edilen eriyik antijenlerden başka son yıllarda daha spesifik olan rekombinant leishmanial antijenler kullanılmaktadır (1, 6, 7, 8, 11, 25, 26, 27).

Rekombinant Leishmanial Antijenler;

- Antijen gp63
- Antijen rK39
- Antijen gp70–2
- Antijen dp72

Dot ELISA yönteminde bu antijenlerle Kala-Azar şüpheli kişilerde %84 ile %100 oranında antikor cevabı alınmış ve güvenilir bir yöntem olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (1, 6, 7, 8, 11).

Son yıllarda hızlı ve pratik olmaları nedeni ile tanıda serolojik testlerin önemi artmıştır (28).

2.5.2. Şark Çıbanı (KL):

2.5.2.1 Direkt Tanı:

Lezyondan alınan materyalde paraziti görmekte veya Penisilinli NNN besiyerinde kültür yapılarak konur. Direkt preparatta Giemsa yöntemiyle yapılan boyamada leishmanialar, kültürde ise leptomonas şekilleri saptanır (12, 29, 30).

Direkt mikroskopik bakıda kullanılacak materyalin elde edilmesi:

Lezyon % 70 'lik alkol ile iyice temizlenir. Lezyon kenarı iki parmak arasında sıkılır ve bir bistüri (tercihen 15 numaralı bistüri) ile yaklaşık 0.5 cm uzunluğunda ve 2–3 mm derinliğinde bir insizyon yapılır (6, 7, 9).

Gazlı bez yardımı ile insizyon üzerindeki kan damlası alınır, bu süre içerisinde lezyon kenarına iki parmak ile yapılan basıya devam edilerek kanama önlenir. Bistüri ucu ile insizyonun iç kısmına insizyona dik olacak şekilde kazıma işlemi yapılır ve mümkün olduğunca kansız seröz bir materyal elde edilmeye çalışılır (9).

Elde edilen bu materyal lam üzerine nazıkçe yayılır. Havada kurutma işleminin ardından fikse edilen materyal Giemsa ile boyanır. Boyama sonrasında mikroskopik inceleme 100'lük immersiyon objektifi ile dikkatli bir şekilde yapılır. Hücre içerisinde veya dışarısında Leishmania amastigot şekillerinin görülmesi ile parazitolojik tanı konur (9).

2.5.2.2. İndirekt Tanı:

Kala Azar tanısında kullanılan serolojik testlerin (formol-gel vb.) KL tanısında kullanımı olmamakla birlikte araştırma amaçlı çalışmalarda uygulanmaktadır. Geçmiş yıllarda tanı amaçlı kullanılan Leishmanin Deri Testi veya Montenegro testi günümüzde kullanılmamaktadır (8, 29).

2.5.2.3. Deneysel Tedavi:

Hastadaki lezyon Şark Çıbanını düşündürüyorsa, direkt preparat ve kültürle etken saptanmadıysa, antimon tedavisi uygulanır ve ülserin iyileşmesi ile tanı konur (8).

2.5.3. Moleküler Biyolojik Yöntemler:

Leishmania parazitlerinin, tanısı, tiplendirilmesi, serolojik tetkikler için özgül antijenlerin geliştirilmesi ve hastalarda hücrel immün yanıtın incelenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (6, 7, 8).

2.5.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu:

Leishmaniaların tanısında ribozomal DNA (rDNA) gibi hedefler amplifiye edilmiş olmasına rağmen kinetoplast DNA'sı (kDNA), her hücrede birçok kopya içermesi nedeniyle, tercih edilen sekans olarak bildirilmiştir (31, 32).

Costa ve arkadaşları Human Immunodeficiency Virus (HIV) ile infekte Kala-Azar'lı hastalarda leishmaniasis tanısı için, (rRNA alt grup gen sekansından seçilen primerler kullanarak) kemik iliği aspiratlarında ve kan örneklerinde direkt inceleme yöntemleri ve kültüre göre daha hassas olan PZR ve ELISA yöntemleri geliştirmişlerdir (33).

Parafine gömülmüş deri biyopsi örneklerinde *L. braziliensis* saptanması amacıyla uygulanan PZR ile Leishmania'ya özgü kDNA sekansının amplifikasyonu ve *L. braziliensis*'in kDNAsı ile hibridizasyonu, mukozal formlarda direkt bakı ve kültüre oranla daha hassas ve özgül sonuçlar elde edilmiş, bu yöntem özellikle parazit sayısının az olduğu kronik hastalarda deri leishmaniasisi tanısında değerli bulunmuştur (34).

2.5.3.2 Leishmaniasis Tanısında IFA:

Özellikle Visseral Leishmaniasis olgularının tanısında yararlanılmaktadır. Antijenler 5 günlük NNN veya Tobie ortamlarından izole edilen Leishmania promastigotlarından hazırlanmaktadır. Antijenli lamalar oda ısısında kurutulduktan sonra -20°C de uzun süre saklanabilmektedir. Sıtmal hastalarda testin çapraz reaksiyonlar verebildiği bildirilmektedir. Kuvvetli pozitif hastalarda testin pozitifliğinin 1/800 dilüsyonun üzerinde olduğu bulunmuştur. Leishmaniasis tanısında, zayıf pozitif hastalarda IFA sonuçlarının diğer serolojik yöntemlerle desteklenmesi önerilmektedir (7, 8, 14, 28).

IFA ile Leishmanialar tarafından infekte edilen insanlarda antikorların oluşmaya başladığı tarihi belirlemenin zor olduğu, ancak tedaviden sonra antikor seviyesinin ilk iki ay içinde 1/100 seviyesine düştüğü ve bu düzeyde bir yıldan fazla varlığını koruduğu bildirilmektedir. IFA testinin duyarlılığı ve özgüllüğü % 100 olarak bildirilmiştir (7, 8, 14, 28).

2.5.3.3. *Western Blot:*

Western Blot analizi ile yapılan çalışmalarda, Kutanöz veya Visseral semptomatik Leishmaniasis'li hasta serumları birçok bant oluşturan birçok antijenle reaksiyon vermişlerdir. Bu bantlarda 18–21–23–31 kDa molekül ağırlığına sahip olanlar, diğer infeksiyonlarla daha az çapraz reaksiyon vermesi, klinik leishmaniasislilerin tümünde reaksiyon vermesi ve asemptomatik hasta serumlarının hepsi ile birlikte reaksiyon vermemesi nedeniyle *L. infantum* için spesifik bantlar olarak belirlenmişlerdir (6, 7).

Birçok çalışmada bazı Leishmania türlerinde gp63 olarak adlandırılmış bir major yüzey glikoproteini tanımlanmıştır. Gp63'ün konak parazit arasında hücreden hücreye etkileşimde, hücrel infektivitede, spesifik tanıda ve immün korunmada önemli role sahip olduğu tanımlanmıştır (7, 25, 26, 27).

2.6. Tedavi Uygulamaları

2.6.1. *Sistemik Tedavi:*

Beş değerlikli antimon, 10–20 mg/kg/gün (tek dozda) uygulanır. 12–15 gün süreyle parenteral olarak uygulanır (7, 9, 16).

Pentostam® sodyum stiboglukonat ticari preparatının 1 ml'sinde 100 mg'a eşdeğer sodyum stiboglukonat bulunurken, Glucantime® (meglumine antimonate) ticari preparatının 1 ml'sinde 85 mg'a eşdeğer sodyum stiboglukonat bulunmaktadır (9).

Glucantime® İM derin enjeksiyon şeklinde, Pentostam® İntramuscular (İM) veya İntravenöz (IV) uygulanabilir. IV uygulama beş dakika içerisinde yavaş infüzyon şeklinde olmalıdır. Birinci kür tedaviden sonra 1 ay ara verilir ve lezyon bu süre sonunda tekrar değerlendirilir. Gerekirse ikinci kür tedavi uygulanabilir (7, 9, 16).

Sistemik Antimon Tedavisi Gerektiren Olgular:

Mukozal ve yarı mukozal tutulumu olan tüm olgular, lokalizasyon itibariyle iyileştiğinde fonksiyon bozukluğuna yol açma riskine sahip lezyonu olan olgular (Örneğin eklem bölgelerine veya göz kapağı gibi alanlara yerleşmiş olanlar), burun ve kulak sayvanı gibi altında kıkırdaklı dokunun bulunduğu deri bölgelerinde gelişmiş ülser ve inflamatuvar lezyonlu olgular, belirtilen bölgeler dışında yerleşmiş çapı 5 cm'nin üzerinde olan inflamatuvar ve/veya ülser lezyonlu olgular, rezidivan (nüks) ya da kronik (süresi 2 yıldan uzun) formda lezyonu bulunan olgular, yara iyileşmesini geciktiren kronik (Diabetes Mellitus DM gibi) veya immün yetmezlikle seyreden hastalığı olan (AIDS gibi) ve immün supresif tedavi alan tüm olgulara sistemik antimon tedavisi uygulanabilir. Belirgin kardiyak, renal, hepatik ve hematolojik hastalığı bulunan olgularda intralezyonel enjeksiyon tedavisi tercih edilmelidir (7, 9).

2.6.2. Intralezyonel Tedavi

Insulin enjektörü veya tüberkülin enjektörü ile uygulanır, ilaç doğrudan enjektöre çekilir, ilaç lezyonun içine intradermal olarak, lezyon tamamen beyazlaşana kadar enjekte edilir. Subkutan dokuya veya damar içerisine kaçırmadan uygulanmalıdır. Kullanılacak en uygun doz lezyonun tamamını beyazlatan dozdur. Büyük lezyonlarda, lezyonun tamamını beyazlatabilmek için birden fazla noktadan enjeksiyon yapılması gerekebilir. Lezyon ülser ise, ilacın dışarı kaçmasını önlemek için enjeksiyon ülser kenarına, ülserle paralel olarak uygulanır. Haftada 1 veya 2 kez olmak üzere toplam 5 doz enjeksiyon genellikle yeterlidir (9).

Bu tedavinin tamamlanmasından 1 ay sonra yapılan kontrollerde lezyonda tam iyileşme sağlanamamış ise ikinci kür tedavi uygulanabilir (16).

Tedavisi tamamlanan olguların, relapslar açısından üç ayda bir ve bir yıl boyunca kontrol edilmesi uygundur (9, 16).

2.7. Ayırıcı Tanı:

Ayırıcı tanıda, sıklıkla karşılaşılan ve Leishmaniasis'le benzer semptomları olabilen hastalıklar göz önüne alınmalıdır (1, 6, 7, 8).

- Sıtma
- Brucella
- Tifo
- Sepsis
- Histoplazmoz
- İnfeksiyöz Hepatit
- Hodgkin
- Chagas
- Splenik Schistosomioz

2.8. Kontrol Önlemleri:

• Çalışma amaçlı kitlesel yer değiştirmelerde (örneğin mevsimsel işçiler), gidilen yerlerdeki İl Sağlık Müdürlüğü tarafından, kişilerin Şark Çıbanı açısından kontrolden geçirilmesi,

• Şüpheli olguların incelemesinin yapılması ve gerekirse tedaviye alınması, ince delikli cibinlik veya insektisitli cibinlik kullanımının teşvik edilmesi,

• Ev ve hayvan barınaklarının fiziksel koşullarının iyileştirilmesi (ahırların sıvanması ve kireçle badana yapılması, kalıcı insektisit uygulanması),

• Hastalığın görüldüğü illerde şark çıbanı merkezleri oluşturulması ve buralarda çalışan sağlık personelinin teorik ve pratik eğitimlerinin yapılması, ayrıca bu eğitimlerin sürekliliğinin sağlanması,

• Halk eğitimlerinin yapılması,

• Tatarcığın yaşama alanlarının ıslahına ilişkin çalışmalar yapılması,

• İlgili kurum ve kuruluşlarla iş birliği yapılması ve diğer kurumların da konuya gereken hassasiyeti göstermelerinin sağlanması gerekmektedir (9, 10).

• Pek çok kutanöz leishmaniasis vakasında anksiyete, depresyon, kendine güvensizlik, intihar eğilimi gibi psikolojik sorunlar gözlenmiş olması nedeni ile hastalara tıbbi psikolojik destek verilmesi sağlanmalıdır (35).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Mersin İli Mut ilçesinde yaşayan 2 yaşın üzerinde, değişik yaş gruplarında, leishmaniasis lezyonu bulunmayan 212 erkek ve 196 kadın olmak üzere toplam 408 kişiden alınan serum örneklerinde IFA yöntemi ile leishmaniasis IgG antikor varlığı araştırılmıştır. Serum örneği alınan kişilerin yaş dağılımları Çizelge 3. 1.'de gösterilmiştir.

YAŞ ARALIĞI	KADIN	ERKEK	TOPLAM
2-12 YAŞ	13	11	24
12-25 YAŞ	22	27	49
25-35 YAŞ	46	50	96
35-45 YAŞ	61	66	127
45 YAŞ ÜSTÜ	54	58	112
TOPLAM	196	212	408

Çizelge 3.1. Serum Örneği Alınanların Yaş Grubu Dağılımı

Bu kişiler Mut İlçe Devlet Hastanesine başvuran, ateşli hastalık dışında şikayetleri olanlarla, ilçe merkezinde ve köylerinde oturanlar arasından ev ziyaretleri yapılarak, her mahalleden serum örneği alınabilmesini sağlayacak şekilde seçilmiştir. Bu kişilerden alınan 5 ml'lik venöz kan örnekleri 5000 devirde 3 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıştırılmıştır. Bu serumlar da -20°C de saklanmış ve soğuk zincir kurallarına uygun olarak Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına nakledilmiştir.

3. 1. Örneklerin Toplanması, Taşınması ve Saklanması

Bu çalışmada kullanılacak Leishmania antijenlerinin elde edilebilmesi amacı ile Mut İlçesi'nde yaşayan, aktif leishmaniasis lezyonu klinik olarak gözlenmiş hastaların ilk başvurularında lezyon bölgesinden, deri ile lezyonun birleşim sınırından örnek alınarak NNN besiyerine ekim yapılmıştır.

Lezyon saptanan bu kişilerden ileride IFA çalışmasında kontrol preparatları oluşturmak amacı ile 5 ml venöz kan alınarak santrifüjde 5000 devirde 3 dakika çevrilmiş ve serumun kandan ayrılması sağlanmıştır. Bu serum steril ependorf tüpüne alınarak -20°C de saklanmış ve soğuk zincir şartlarında laboratuvara nakledilmiştir.

KL lezyonu bulunmayan 408 kişiden alınan venöz kan örnekleri de aynı şekilde 5000 devirde 3 dakika santrifüj edilerek serumu ayrılarak ependorf tüplerine alınmış ve -20°C de saklanarak soğuk zincir şartlarında laboratuvara nakledilmiştir.



Şekil 3.1. Yüz bölgesinde lokalize Kutanöz Leishmaniasis lezyonu

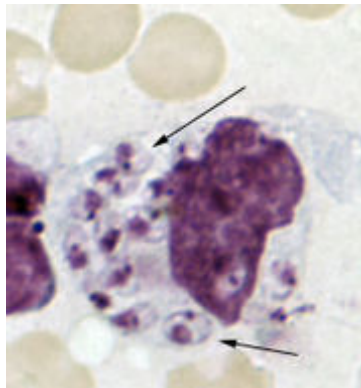
3.1.1. Kutanöz Leishmaniasis Düşünülen Hastalardan Örneklerin Alınması, Mikroskopik İncelenmesi Ve Kültürü:

Klinik bulgulara göre kutanöz leishmaniasis düşünülen hastaların deri lezyonlarından iğne aspirasyon yöntemi ile örnekler alınmıştır. Alınan örneklerin NNN besiyerinde kültürü yapılarak leishmania promastigotlarının üremesinin sağlanması amaçlanmıştır. Lezyon % 70 'lik alkol ile iyice temizlendikten sonra, lezyon kenarı iki parmak arasında sıkılarak ve bir bistüri yardımıyla yaklaşık 0.5 cm uzunluğunda ve 2–3 mm derinliğinde bir insizyon yapılmıştır. Gazlı bez yardımı ile insizyon üzerindeki kan damlası alınmış, bu süre içerisinde lezyon kenarına iki parmak ile yapılan basıya devam edilerek kanama önlenmiştir. Bistüri ucu ile insizyonun iç kısmına insizyona dik olacak

şekilde kazıma işlemi yapılarak ya da lezyondan çıkan kansız seröz materyal lam üzerine alınmıştır. Lam üzerine yayılan materyal havada kurutularak, %96'lık metanolle 1 dakika tespit sonrası 20 dakika Giemsa boyası ile boyanmıştır. Daha sonra preparat 100X immersiyon objektifi ile incelenerek değerlendirilmiştir. Hücre içerisinde veya dışarısında leishmania amastigot şekillerinin görülmesi ile parazitolojik tanı konmuştur. Giemsa boyama yöntemiyle parazitin nükleusu büyük, koyu mor veya koyu kırmızı renkte, sitoplazmaları ise soluk mavi renkte görülmektedir. Kinetoplast, nükleusun yan tarafında parlak kırmızı veya menekşe renginde görülür (6, 7).



Şekil 3.2. Lezyondan mikroskopi için örnek alınması (36)



Şekil 3.3. Giemsa ile boyama sonrası amastigotların görünümü (37).

3.1.2. Kültürde Üreme Saptanan Örneklerdeki Parazitlerin Subkültürlerinin Yapılması:

Daha sonraki aşamada NNN besiyerinde üreyen parazitin tüplerde bulunan RPMI 1640 sıvı saklama besiyerine alınıp uygun süre saklanması sağlanmıştır.

NNN Besiyeri Hazırlanması

- 5 gr bakteriyolojik agar
- 2 gr bakteriyolojik pepton
- 1 gr tuz
- 200 ml distile su eklenerek otoklavda 120°C'de 20 dakikada sterilize edilmiştir.
- 50-55°C ye soğutulmuştur (el ve alını yakmayacak kadar ısı).
- 30-35 ml defibrine tavşan kanı içerisine 0.5 ml kristalize penisilin (1.000.000 IU / 2 ml) ve 0.5 ml streptomisin (1.000 mg / 2 ml) eklenmiş ve soğuyan besiyerine karıştırılmıştır.

• Besiyerinin döküleceği her bir tüpe 2.5-3 ml konularak 45° eğimde soğutulmuştur.

• Seçilen bir kaç tüp 24 saat 37°C de bekletilerek kontaminasyon kontrolü yapılmıştır.

- +4°C de 1-2 ay saklanmak üzere buzdolabına yerleştirilmiştir.
- Kullanılacağı zaman içerisine 1-2 ml steril Serum Fizyolojik eklenmiştir.
- Kullanmadan önce oda sıcaklığına gelinceye dek beklenmiştir.

RPMI Besiyeri Hazırlanması

200 ml besiyeri için:

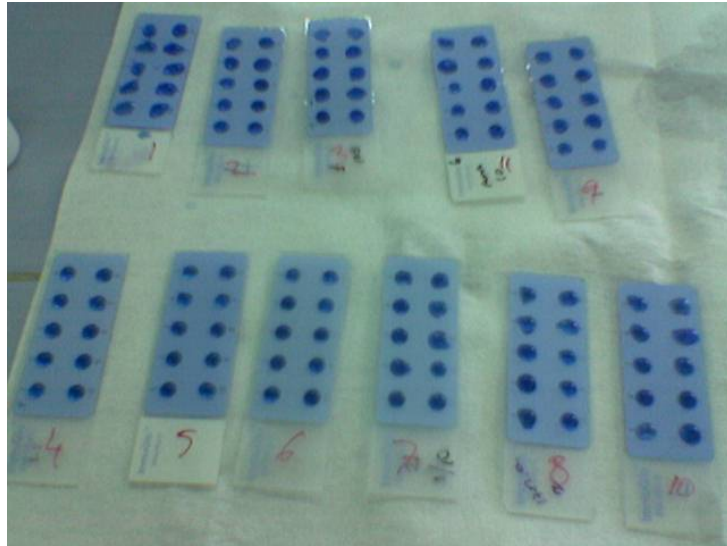
- 175 ml RPMI 1640 ve 25 ml fetal bovine serumu karıştırılmıştır.
- Karışıma 20µg streptomisin ve 20.000 IU kristalize penisilin eklenerek kontaminasyonun önlenmesi sağlanmıştır.

• Hazırlanan karışımdan alınan numune 37°C de 24 saat bekletilerek kontaminasyon kontrolü yapılmıştır.

3.2. Antijenin Hazırlanması

Mut İlçesinde yaşayan hastalardan izole edilerek NNN besiyerinde üretilen leishmania suşları RPMI 1640 besiyerine alınarak parazitlerin zenginleşmesi sağlanmıştır. 5–7 gün sonunda kültür mikroskobu ile besiyerinde parazit yoğunluğu değerlendirilmiş ve pH 7.6 olan Phosphate Buffer Saline (PBS) solüsyonu ile 4 kez 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek yıkanmıştır. Sonuçta dipte kalan sıvıdan 1 ml'si lam üzerine yayılarak ışık mikroskobunda 40'luk büyütmede her sahada en az 5'er tane parazit görülmesi ile hazırlanan PBS solüsyonundan 0.05 ml, her seferinde karıştırılarak üzerinde 10 adet kuyucuk bulunan teflonlu özel lamlara konulmuştur. Lamlar oda ısısında kurutulularak pelür kağıda sarılmış ve -20°C de saklamaya alınmıştır.

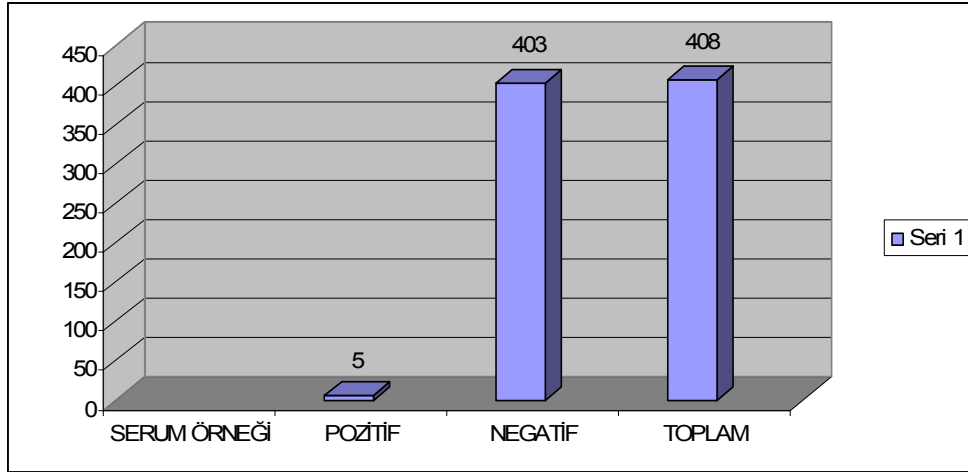
Popülasyondan elde edilen serum örnekleri, derin dondurucudan çıkarılıp oda ısısına gelmesi beklendikten sonra 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 ve 1/128 oranlarında dilüe edilmiş, hazırlanan antijenli lamların her bir kuyucuğuna 20µl serum gelecek şekilde eklenmiştir. 30 dakikalık inkübasyon süresi sonunda lamlar, içinde PBS bulunan şalede 10 dakika bekletilerek yıkanmıştır. Lamlarda bulunan kuyucukların üzerine Fluorescein isothiocyanate (FITC) işaretli anti-human globulin (IgG) eklenmiş ve oda ısısında 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Kuyucuklara 1–2 damla kaplama solüsyonu damlatılarak üzerine lamel kapatılmış ve Floresan mikroskobunda (Olympus BX50) 30'luk büyütmede incelenmiştir.



Şekil 3.4. İnkübasyon sürecindeki serum örneklerinin bulunduğu lamlar

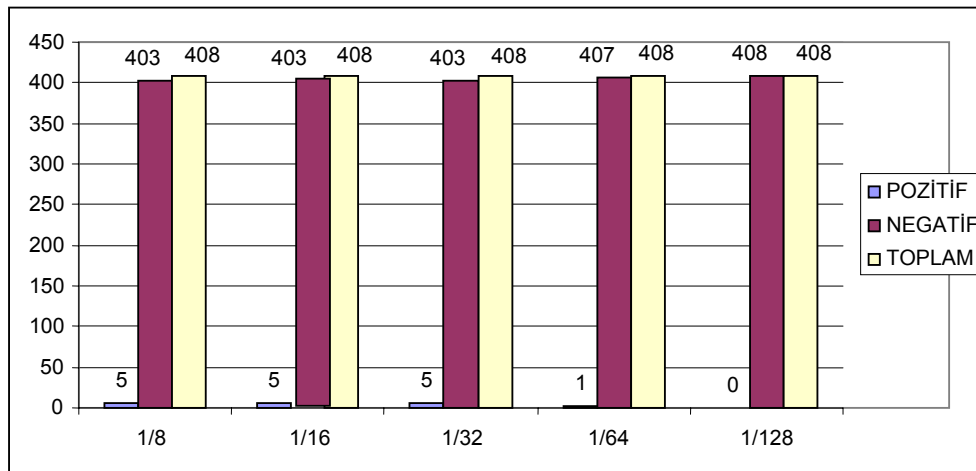
4. BULGULAR

Değişik yaş gruplarında leishmania antikor düzeylerinin saptanması çalışmasında, rastlantısal olarak toplanan, Mut ilçesi ve köylerinde ikamet eden 2 yaş üzeri kişilerden alınan 408 serum örneğinde IFA yöntemi ile serumlarında Leishmania IgG antikorları araştırılmıştır (Çizelge 4.1.).



Çizelge 4.1. Pozitif ve Negatif Serum Örneklerinin Dağılımı

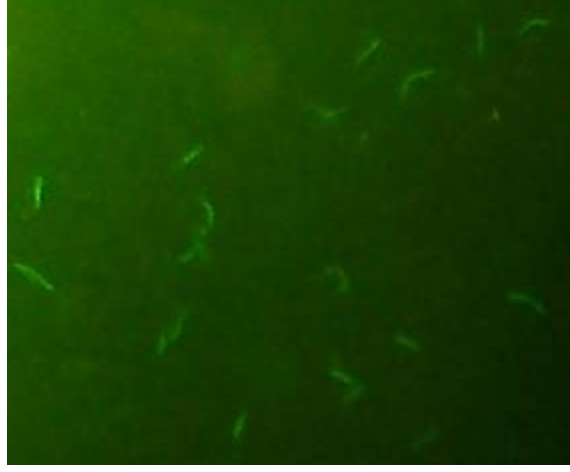
Çalışma örneklerinin 5'inde (%1.2) Leishmania IgG tipi antikor varlığı tespit edilmiş, örneklerin 4 ünde 1/32 titre düzeyinde 1'inde ise 1/64 titrede pozitiflik saptanmıştır (Çizelge 4.2.).



Çizelge 4.2. Pozitif Serum Örneklerinin Farklı Titrelerde Dağılımı

IgG antikor pozitif olguların tümünün Mut ilçesinde ikamet ettiği 3'ünün erkek (yaşları 9, 28, 33), 2'sinin ise kadın (yaşları 11, 24) olduğu belirlenmiştir.

Fluoresan mikroskobunda (Olympus BX50) 30'luk büyütmede leishmania IgG antikor pozitif olan serum örneği şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Leishmania IgG antikor pozitifliğinin Fluoresan mikroskopta görünümü

5. TARTIŞMA

Bu araştırma, Kutanöz Leishmaniasis açısından düşük endemisite gösteren Mut ilçesinde çeşitli yaş gruplarında rastlantısal olarak alınan serum örneklerinde, leishmania IgG antikor varlığını ve titresini belirlemek amacıyla planlanmıştır.

Yapılan çalışmalar sonucunda 1/8 ve üzerindeki leishmania IgG antikor titreleri pozitif kabul edilmiştir. Deri Leishmaniasis'inde kültürden hazırlanan promastigot formlarının IFA tekniğinde kullanılmasının oldukça basit ve ekonomik olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bazı araştırmacılar da Deri Leishmaniasisi'nde IFA tekniğinin ELISA'dan daha güvenilir bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir. Ancak IFA ve diğer serolojik testlerin tanı ve tedavinin izlenmesinde kullanılması Kala-Azar için önerilmektedir (7, 28).

Bizim çalışmamızda Mut ilçesinden alınan 408 (212 erkek, 196 kadın) serum örneğinin 5'inde (%1.2) 1/64 ve üzeri titrede seropozitivite saptanmıştır. Çalışma sonucu bize bu bölgede Leishmaniasis vakalarının %1 civarında olduğunu göstermektedir. Her ne kadar bu sayı az gibi görünse de gerek ilimizin Güneydoğu Anadolu bölgesine yakın olması, gerekse bu bölgeden çalışmamızın yapıldığı bölgeye göçlerin olması vaka sayısını arttırabilecektir.

Şanlıurfa'da Merkez Harrankapı Sağlık Ocağına başvuran Leishmaniasis şüpheli deri lezyonu bulunan olgularda, lezyondan yayma preparatlar yapılmış ve incelemelerde, amastigot şekil saptanan yaşları 12–25 arasında değişen 21 kadın, 31 erkek 52 olgudan ve Leishmania lezyonu bulunmayan aynı yaş grubunda 10 kontrolde Leishmania'ya karşı IgG ve IgM antikorları araştırılmıştır. İncelenen 52 olgunun 4'ünde 1/4, 3'ünde 1/16 ve 5'inde 1/64 titrelerde IgG tipi antikor bulunurken IgM bulunamamış, kontrol grubunda pozitifliğe rastlanmamıştır. Çalışmada deri leishmaniasisli olguların sadece %23.1'de pozitiflik saptanması, IFA ile saptanabilecek düzeydeki antikor yanıtın geç gelişebileceği şeklinde yorumlanmıştır (38).

Pappas ve arkadaşları Leishmania amastigot ve promastigot şekillerinden ayrı ayrı hazırlanan ve Leishmania antijenlerini kullanarak yaptıkları bir çalışmada, deri leishmaniasisli 34 hastadan alınan serumlarda IFA ile %92 promastigot, %76 amastigot antikor pozitifliği saptandığını bildirmiştir (1).

Şanlıurfa ilinde Akkafa ve arkadaşları İl Sağlık Müdürlüğü'nün Ocak 1991 ile Temmuz 2001 tarihleri arasındaki verilerini retrospektif olarak değerlendirmişlerdir. Bu yıllar arası toplam 14.467 olgunun değerlendirildiği epidemiyolojik çalışmada, 1993–1996 yılları arasındaki olgu sayısında anlamlı bir yükselmenin 1997–2000 yılları arasında ise anlamlı bir düşüşün olduğu bildirilmiştir. Ancak 2001 yılının ilk altı ayındaki olgu sayısının 1999 ve 2000 yıllarına göre daha fazla olduğuna ve olguların %72.5'inin Ocak ile Temmuz ayları arasında bildirildiğine dikkat çekmişlerdir. Olguların ilin daha çok güney ve güneybatı yerleşim yerlerinde yoğunlaşması araştırmacılar tarafından bu bölgede yaşayan insanların hem sosyo ekonomik düzeylerinin düşük olmasından hem de eski yerleşim yerlerinin bulunduğu ve gecekonduların bulunduğu mahallelerinin olduğu bölge olmasından kaynaklandığı şeklinde yorumlanmıştır (39).

Yapılan çalışma sonuçlarına göre elde edilen verilerin mevcut tam olgu sayısını yansıtmayı yansıtmadığı bilinmemektedir. Verilerin toplandığı kayıt sisteminin güvenilir olması bölgedeki olgu sayısının tam olarak yansıtılabilmesi bakımından önemlidir (39).

Töz ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise insan ve köpeklerde serolojik tanının yanı sıra direkt mikroskopik tanı ile PZR'ın karşılaştırılması amaçlanmıştır. Kala-azar şüphesi olan 6 hastadan kemik iliği örnekleri alınmış, şark çıbanı şüphesi olan 2 hastadan ise yara kabuğu ve lezyon aspirasyon örnekleri alınarak incelenmiştir. Bunların yanı sıra serolojik olarak pozitif olduğu saptanan 7, eşik değerin altında ($<1/128$) pozitif olan 1 köpekten alınan lenf aspirasyon örnekleri ve nekropsisi yapılan 2 köpeğin de dalak ve karaciğer örnekleri çalışmaya dahil edilmiştir. Altı şüpheli Kala-Azar hastasından bir tanesi tüm testlerle pozitif, üçü ise PZR ve serolojik testlerle pozitif bulunmuş ancak bu hastaların yapılan direkt kemik iliği bakılarında amastigota rastlanılamamıştır. İki hastanın ise tüm testlerle negatif olduğu bildirilmiştir (40).

Şark çıbanı şüphesi olan her iki hasta da hem yayma preparatta hem de PZR ile pozitif saptanmıştır. On köpekten elde edilen 12 örnekten 9 tanesi her üç yöntemle de pozitif saptanmıştır, iki örnekte PZR ve serolojik testler pozitifken lenf nodu aspirasyonundan yapılan yayma direkt bakıda negatif bulunmuştur. Diğer bir örnekte serolojik testte eşik değerinin altında, direkt bakı negatif iken PZR'ı pozitif bulmuşlardır. Bu çalışmada, PZR yönteminin insan ve köpeklerde leishmaniasis tanısında kullanılmasının uygun olduğu saptanmıştır. Ancak, alınan örneklerin yeterli

olmaması durumunda sadece yayma preparatta değil PZR'da da sorun yaratabileceği düşünülerek diğer yöntemlerle birlikte uygulanmasının tanıda hassasiyeti arttıracacağı sonucuna varılmıştır (40).

Aydın ilinde 2001 yılında yapılan çalışmada, saptanan deri ve iç organ leishmaniasis olgularının yaş, cins, lezyonun saptandığı ay, yerleşim birimi ve klinik tipine göre dağılımlarının incelenmesi amaçlanmıştır. Aydın Sağlık Müdürlüğü ve Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kayıtları geriye dönük olarak incelenmiş, saptanan deri ve iç organ leishmaniasis olguları değerlendirilmiştir. Yaşları 1–81 arasında değişen 45 deri ve 1–6 yaşlarında arasında 4 iç organ leishmaniasis olgusuna rastlanmıştır. Olguların yerleşim merkezlerine göre dağılımı incelendiğinde, deri leishmaniasis olgularının 3'ünün (%6.7) il merkezinde, 42'sinin(%93.3) merkez ilçe ve köylerinde olduğu belirlenmiştir. İç organ Leishmaniasisi olgularının ise tamamının merkez ilçe ve köylerinde yaşadığı tespit edilmiştir. Deri Leishmaniasisi olgularında ise lezyon sayısı ve lokalizasyonları incelenmiş, 21 (%46.7)'inde bir, 11 (%24.4)'inde iki, 13 (%28.9)'ünde ise üç veya daha fazla sayıda lezyonun bulunduğu saptanmıştır. Lezyonların yerleşim yerine göre dağılımına bakıldığında; 24 (%53.3) olgunun sadece yüz bölgesinde geri kalan olguların ise yüze ilaveten kol bacak gibi vücudun açıkta kalan diğer yerlerinde olduğu görülmüştür (41).

Özbel ve arkadaşları Manisa bölgesinde yapmış oldukları çalışmada 4 Kala-Azar'lı hastadan aldıkları kemik iliği ve 2 köpeğin lenf aspirasyonu örneklerini Southern Blot yöntemiyle incelemeleri sonucunda *L. infantum*, bir Deri Leishmaniasis'li hastadan alınan lezyon örneğini ise *L. major* olarak tespit etmişlerdir (42).

Özkan ve arkadaşları Sakarya il merkezi, ilçe ve çevre köylerinden 69 köpekten aldıkları kan örneklerini IFA yöntemiyle VL antikorları araştırmak için incelemiştir. Değerlendirme sonucunda VL IgG antikorları bir köpekte 1/128 titrede pozitif, üç köpekte 1/64 titrede pozitif ve dört köpekte 1/16 titrede pozitiflik saptanmıştır. Ancak tespit edilen sonuçlara göre hiçbir örnek VL olarak değerlendirilmemiştir (43).

İzmir, Manisa ve çevresindeki bölgelerden gelen Visseral Leishmaniasis'li hastalardan alınan kan, dalak ve kemik iliği örnekleri PZR tekniği ile çalışılmıştır. Sonuçta 12 kemik iliğinden 7'sinde (%58.3), 12 kan örneğinden 2'sinde (%16.6) ve 3 Kala-Azarlı hastadan alınan dalak örneğinin hepsinde (%100) pozitif sonuç bulunmuştur. Aynı jele Southern Blot tekniği uygulanmış sonuç olarak 8 kemik iliği (%66.6) ve 7 kan örneğini (%58.3) pozitif bulunmuştur. Klinik olarak şüpheli, kültür ve yayma sonuçları negatif olan 29 örneğin 2 tanesi her iki yöntemle de pozitif bulunmuştur. Ayrıca 6 KL'li hastanın PZR sonuçları pozitif bulunurken Southern Blot'la tamamı negatif bulunmuştur (44).

Köktürk ve arkadaşlarının 2001 yılında İçel ilinde yapmış oldukları çalışmada ilimizdeki Kutanöz Leishmaniasis'in durumunun belirlenmesi amaçlanmıştır. İl Sağlık Müdürlüğü verilerine göre 1994–2001 yılları arasında İçel ili ve ilçelerinde toplam 627 olguya rastlanmıştır. Ayrıca İl Sağlık Müdürlüğü kayıtlarında bulunmayan 1991–1993 yılına ait 33 olguda değerlendirildiğinde ilçelere göre dağılım, Anamur'da 229 (%36.5), Mut'ta 164 (%26.1), Merkez ilçe'de 95 (%15.2), Bozyazı'da 74 (%11.8), Silifke'de 27 (%4.3), Erdemli'de 14 (%2.2), Gülnar'da 11 (%1.8), Tarsus'ta 10 (%1.6) ve Aydınçık'ta 3 (%0.5) saptanmış Çamlıyayla ilçesinde ise olguya rastlanmamıştır. Olgu sayısının çocuklarda daha fazla olduğu gözlenmiştir (4).

Baz ve arkadaşları tarafından yapılmış olan bir çalışmada Anamur'da KL'li 51 olgunun epidemiyolojik, klinik ve laboratuvar özellikleri ile tedavi parametreleri gözden geçirilmiştir. En fazla olguya Ekim - Aralık aylarında rastlandığı görülmekle birlikte Eylül ve Ocak aylarında da olgu sayısının diğer aylara göre yüksek olduğu tespit edilmiştir. Olguların %66.7'si 19 yaşın altında ve en fazla olgu 0–9 yaş grubunda olduğu bildirilmiştir. Deri lezyonlarının çoğunluğunun (%59.4) kuru tip olarak nitelenen papülonodüler tipte olduğu ve en sık yerleşim yerinin de yüz lokalizasyonu (%72.5) olduğu bildirilmiştir. Lezyonları yüzde lokalize olan hastaların yaşları diğerlerine oranla istatistiksel açıdan anlamlı derecede daha düşük ve tedavi süreleri daha kısa olarak tespit edilmiştir. Cinsiyet ile lezyon tipi ve lokalizasyonu arasında ayrıca lezyon tipi ile lezyon lokalizasyonu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmamıştır. Sonuçta kutanöz leishmaniasise bilinen diğer endemik bölgelerin yanı sıra Anamur'da da sık olarak rastlandığı bildirilmiştir (5).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bölgemizde leishmania IgG antikor pozitifliğinin %1 olduğu belirlenmiştir. Çalışmamız bulgularıyla, Anabilim Dalımız tarafından gerçekleştirilen, Mersin il merkezi ile ilçelerini bir arada değerlendiren ‘İlimizde Kutanöz Leishmaniasis Etkeninin İzolasyonu ve Seroprevalansı’ başlıklı Araştırma Projesi (45) sonuçları arasında anlamlı fark olup olmadığının araştırılması minitab R13 paket programında ‘İki Oran Karşılaştırma Testi’ ile yapılmış olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (p=0,591).

Mersin İl merkezinden alınan örneklerin yüksek endemisiteli bölgelerden yoğun göç alınıyor olması nedeni ile bu durumdan etkilenmiş olabileceği düşünülmüş, her iki bölgeden alınacak örnek sayılarının arttırılması ile yapılacak yeni çalışmalarda anlamlı farklılara ulaşılabileceği düşünülmüştür.

Bölgemizde öncelikle Anamur ve Mut ilçelerinde parazitin endemik olarak infeksiyon oluşturduğu ve bu olgu sayılarının artabileceği düşüncesiyle bu bölgelerde çalışan sağlık personeline gerekli eğitimin verilmesi ve tespit edilen olguların tedaviye alınmaları gerekmektedir.

Endemik bölgelerde parazitlerle mücadelede hastaların tespit ve tedavi edilmesi için gösterilen çabaların yanı sıra bunlar kadar önemli olan bölgede yaşayan insanların eğitimi ve bu kişilere koruyucu önlemlerin aktarılması, bölgemizde düşük endemi gösteren hastalığın yok edilebilmesi için gerekli görülmektedir.

KAYNAKLAR

1. **Özcel MA.** GAP'ı Tehdit Eden Parazit Hastalıkları. 1. Baskı, İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi, **1995**: 97-131.
2. **World Health Organization.** Leishmaniasis: background information. Erişim:http://www.who.int/leishmaniasis/disease_epidemiology/en/index.html
3. **Ok UZ, Balcioglu IC, Ozkan AT, Ozensoy S, Ozbel Y.** Leishmaniasis in Turkey. *Acta Tropica*, **2002**; 84: 43–48.
4. **Köktürk A, Baz K, Aslan G, Kaya Tİ, Yazıcı AC, İkizoğlu G, Çamdeviren H.** İçel'de Kutanöz Leishmaniasis'in Durumu. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. **2002**; 26(4): 367–369.
5. **Baz K, Köktürk A, Türsen Ü, Kaya Tİ, İkizoğlu G, Kanık A.** Anamur'da Kutanöz Leishmaniasis. *Türkiye Klinikleri Dermatoloji Dergisi*. **2002**; 12(1): 5-10.
6. **Töre O.** Protozooloji, Kılıçturgay K. Editör. Temel Mikrobiyoloji ve Parazitoloji, 2. Baskı. İstanbul: Bursa Güneş&Nobel Tıp Kitapevleri, **1996**; 251–267.
7. **Özçelik S.** Kamçılı Protozoonlar ve Yaptıkları Hastalıklar, Ustaçelebi Ş. Editör. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitapevi, **1999**; 1191–1207
8. **Özcel MA.** Parazit Hastalıklarında Tanı 1. Baskı. İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi, **1997**.
9. **T.C Sağlık Bakanlığı.** Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, *Kutanöz Leishmaniasis 16130 nolu Genelge*. 24.10.2003
10. **T.C. Sağlık Bakanlığı.** Temel Sağlık İstatistikleri, Erişim:<http://www.saglik.gov.tr>
11. **Saygi G.** Temel Tıbbi Parazitoloji 1. Baskı Esnaf Ofset Matbaacılık. Sivas **1998**; 58–67.
12. **Frederic L, James J.** Cultivation of Clinically Significant Hemoflagellates, *Clinical Microbiology Reviews*, **2002**; **15(3)**: 374–389
13. **Kose S, Ozensoy S, Korkmaz M, Ozbel Y.** Visceral Leishmaniasis: A Rarely Diagnosed Adult Case in Turkey. *Acta Parasitologica Turcica* **2005**; 29(1):1–2.
14. **Özbel Y, Oksam L, Ozensoy S.** A Survey on Canine Leishmaniasis in Western Turkey by Parasite, DNA and Antibody Detection Assay, *Acta Tropica* **2000**; 74: 1-6.
15. **Allahverdiyev AM, Uzun S, Bağirova M.** A Sensitive New Microculture Method for Diagnosis of CL, *Am J Trop Med Hyg* **2004**; 70 (3): 294–297.
16. **Markele W, Makhoul K.** Cutaneous Leishmaniasis: Recognition and Treatment. *American Family Physician*. **2004**; 69(6): 1455–1460.
17. **Cope SE, Schultz GW, Richards AL.** Assessment of Artropod Vectors of Infectious Diseases in Areas of U.S. Trop Deployment in the Persian Gulf, *Am J Trop Med Hyg* **1996**; 54: 49–53
18. **Alptekin D, Kasap M.** Sandflies Associated with Epidemiccutaneous Leishmaniasis in Şanlıurfa Turkey. *J. Med Entomol*. **1999**; 36;277–281

19. **Lachaud L, Dereure J, Chabbert E.** Optimized PCR Using For Diagnosis and Follow-Up of Visceral Leishmaniasis, with Special Reference to AIDS Patients, *Journal of Clinical Microbiology*, **2000**; 38(1):236–240.
20. **Chatterjee JM, Hassan Q, Mukherjee S, Sen S.** Leishmania and HIV Coinfection: The First 10 Years, *Clinical Microbiology Reviews*, **1997**; 10: 298–319.
21. **Harms G, Schonian G, Feidmeiert H.** Leishmaniasis in Germany, *Emerging Infectious Disease*, **2003**; 9(7): 872–875.
22. **Desjeux P.** The Increase in Risk Factors for Leishmaniasis Worldwide, *Trans R Soc Trop Med Hyg*, **2001**; 95: 239–243.
23. **Handman E.** Leishmaniasis: Current Status Vaccine Development, *Clinical Microbiology Reviews*, **2001**; 14(2): 229–243.
24. **Abdelhak S, Louzir H, Timm J.** Recombinant BCG Expressing The Leishmania Surface Antigen Gp63 Induces Protective Immunity Against *L. Major* Infection in BALB/C Mice. *Microbiology* **1995**; 141:1585–1592.
25. **Ozensoy S, Ozbel Y, Turgay N.** Serodiagnosis and Epidemiology of Visceral Leishmaniasis in Turkey, *Am J Trop Med Hyg* **1998**; 59:363–369.
26. **Rosario EY, Genaro O, Silva J, Costa R.** Evolution of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Using Crude Leishmania and Recombinant Antigens as a Diagnostic Marker for Canine Visceral Leishmaniasis, *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **2005**; 100(2): 197–203.
27. **Costa S, D'Olivera A, Bacellar O, Carvalho EM.** T Cell Response of Asymptomatic *L. chagasi* Infected Subjects to Recombinant Leishmania Antigens. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **1999**; 94(3): 367–370.
28. **Handemir E, Kaya N, Şenlik B, Kamburgil K.** Askeri Personelde Visceral Leishmaniasis Seroprevalansı, *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, **2002**; 26(1): 31–33.
29. **Dilmeç F, Matur A, Uzun S, Karakaş M, Memişoğlu H.** Çukurova ve Şanlıurfa Bölgelerinde Deri Lezyonlarından İzole Edilen Leishmania spp. DNA'larının Restriksiyon Endonükleazlarla Karşılaştırılması, *Harran Üniv. Tıp Fak. Dergisi*, **2004**; 1(4): 21–27
30. **Tosun C, Handemir E, Çan Y, Öztapak K, Keskin O.** Bir Köpekte Visceral Leishmaniasis Olgusu ve Amfoterisin B ile Tedavisi, *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, **2001**; 25(2):115–122.
31. **Weigle KA, Labrada LA, Lozano C, Santrich C, Douglas C.** PCR-Based Diagnosis of Acute and Chronic Cutaneous Leishmaniasis Caused by Leishmania. *Journal of Clinical Microbiology*, **2002**; 40(2):601–606.
32. **Ikonomopoulos J, Kokotas S, Gazouli M, Zavras A.** Molecular Diagnosis of Leishmaniasis Comparative Application of Traditional Diagnostic Methods and The Proposed Assay on Clinical Samples, *Veterinary Parasitology*, **2003**; 113: 99–113.
33. **Costa JM, Durand R, Deniau M, Rivollet D, Izri M,** PCR Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Diagnosis of Leishmaniasis in Human Immunodeficiency Virus Infected Patients, *J Clin Microbiol* **1996**; 134 (7): 1831–1833.
34. **Lanus EC, Pinero JE, Gonzales AC.** Detection of Leishmania Braziliensis in Human Paraffin Embedded Tissues From Tucuman Argentina by PCR. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. **2005**; 100 (2): 187–192.

35. **Yanık M, Gurel S, Simsek Z, Kati M.** The Psychological İmpact of Cutaneous Leishmaniasis, *Clinical Dermatology*, **2004**; 29:464-467.
36. **Uzun S.** Kutanöz Leishmaniasis Tanı ve Tedavisi: Pratik Yaklaşımlar Erişim: http://www.dermatose.org/pdf/2002/4/KL%20dermatose_5.pdf
37. **Da Wikipedia, l'enciclopedia libera.** Amastigoti di Leishmania tropica (indicati con frecce) in un macrofago. Fonte: CDC Erişim: http://it.wikipedia.org/wiki/Leishmaniosi_umana
38. **Çulha G, Özcan K, Koltaş S, Tanrıverdi S, Beyazıt Y.** Şanlıurfa Bölgesindeki Deri Leyişmanyozu Olgularında İndirekt Floresan Antikor Tekniği (IFAT) İle Leishmania Antikorlarının Aranması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. **1997**; 21(3):217-219.
39. **Akkafa F, Şimşek Z, Dilmeç F, Bulut K.** Şanlıurfa İlinde Kutanöz Leishmaniasis Epidemiyolojisi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. **2002**; 26(2):34-37.
40. **Töz SÖ, Özbel Y, Atay MG, Aklar HE, Şakru N, Özkan AT, Hökelek M.** İnsan ve Köpeklerden Alınan Klinik Örneklere Leishmaniasis Tanısı İçin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Uygulaması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. **2002**; 26(3): 239-244.
41. **Ertuğ S, Aydın N, Gültekin B, Doçuran ES.** 2001 Yılında Aydın İl Sağlık Müdürlüğü'ne İhbar Edilen İç Organ Ve Deri Leishmaniasis Olguları. *Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. **2002**; 3(1): 9-12.
42. **Özbel Y, Aklan MZ, Özensoy S, Turgay N, Kron NC, Schoone GJ, Oksam L, Balcıoğlu İC, Özbilgin A, Özcel MA.** Kala-azar'lı Hastalardan ve Manisa Civarındaki Köpeklerden İzole edilen Leishmania Suşlarının Southern Blot Hibridizasyon Yöntemi ile İdentifikasyonu. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. **1998**; 22(1): 1-4.
43. **Özkan AT, Babür C, Kılıç S, Örgen C, Töz SÖ.** Sakarya Sokak Köpeklerinde Visseral Leishmaniasis'in İndirekt Floresan Antikor (IFAT) Yöntemi ile Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. **2003**; 27(2): 97-101.
44. **Özbel Y, Turgay N, Özensoy S, Kron NC, Schoone GJ, Oksam L, Aklan MZ, Özcel MA.** Klinik Materyallerde Leishmania Parazitlerinin PCR (Polymerase Chain Reaction) ve Southern Blot Hibridizasyon Teknikleri Yardımıyla Saptanması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. **1997**; 21(4): 350-356.
45. **Emekdaş G, Aslan G, Erhan H.** İlimizde Kutanöz Leishmaniasis Etkeninin İzolasyonu ve Seroprevalansı. *Mersin Üniversitesi BAB. TF. TTBB(GE) /2004-2 Sayılı Araştırma Projesi Sonuç Raporu*

ÖZGEÇMİŞ

1970 Yılında İzmir’de doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini İzmir’de tamamladı. 1996 yılında 19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi’nden Mezun oldu. 2002 yılında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı.

Halen Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrencisi olarak öğrenim görmekte ve Sağlık Bakanlığı kadrosunda Mut Devlet Hastanesi Acil Servisi’nde Pratisyen Hekim olarak görev yapmaktadır.