



**T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**HATAY İLİ KRONİK KUTANÖZ LEYŞMANYAZIS
OLGULARINDA DİREK SMEAR, MİKROKÜLTÜR VE PZR
(POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU) TANI DEĞERLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Gökhan SARIKAYA
DERMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Asena Çiğdem DOĞRAMACI**

HATAY - 2012

**T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**HATAY İLİ KRONİK KUTANÖZ LEYŞMANYAZIS
OLGULARINDA DİREK SMEAR, MİKROKÜLTÜR VE PZR
(POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU) TANI DEĞERLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Gökhan SARIKAYA
DERMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Asena Çiğdem DOĞRAMACI**

**Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Uzmanlık Grubu tarafından 1005U0101/2010 sayılı
proje numarası ile desteklenmiştir.**

TEZ ONAY SAYFASI

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ
DERMATOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ ADI: HATAY İLİ KRONİK KUTANÖZ LEYŞMANYAZIS OLGULARINDA DİREK SMEAR, MİKROKÜLTÜR VE PZR (POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU) TANI DEĞERLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

TEZİ HAZIRLAYANIN ADI: Dr. Gökhan SARIKAYA

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

(İmza).....
Prof. Dr. Sadık BÜYÜKBAŞ
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

(İmza).....
Doç. Dr. Asena Çiğdem DOĞRAMACI
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

(İmza).....
Doç. Dr. Asena Çiğdem DOĞRAMACI
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

1.(İsim ve imza).....
2.(İsim ve imza).....
3.(İsim ve imza).....
4.(İsim ve imza).....
5.(İsim ve imza).....

I. İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK SAYFASI	
ONAY SAYFASI	
I. İÇİNDEKİLER.....	i
II.TABLO LİSTESİ.....	iv
III.ŞEKİL LİSTESİ.....	v
IV.RESİM LİSTESİ.....	vi
V. KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	vii
VI. İTHAF.....	x
VII.TEŞEKKÜR.....	xi
VIII. ÖZET.....	xii
IX. ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Hastalığın Önemi.....	4
2.2. Tarihçe.....	5
2.3. Epidemiyoloji.....	8
2.3.1. Dünyada KL Epidemiyolojisi.....	8
2.3.2. Türkiye’de KL Epidemiyolojisi.....	9
2.4. Leishmania Türlerinin Sınıflandırılması.....	11

2.5. Leishmania Morfolojisi.....	14
2.6. Leishmania Yaşam Döngüsü.....	16
2.7. Vektör ve Rezervuarlar.....	20
2.8. İmmünopatogenez.....	24
2.9. Klinik.....	30
2.9.1. Kutanöz Leişmanyazis.....	30
2.9.2. Atipik Form.....	38
2.9.3. Rekürren Leişmanyazis (Rezidivan Leişmanyazis).....	39
2.9.4. Dissemine Formlar.....	40
2.9.5. Diffüz Kutanöz Leişmanyazis.....	41
2.9.6. Mukozal Leişmanyazis (Espundia).....	42
2.9.7. Kronik Leişmanyazis.....	43
2.9.8. Post-Kala-Azar Dermal Leişmanyazis.....	44
2.9.9. Leişmanid.....	45
2.10. Ayırıcı Tanı.....	45
2.11. Tanı.....	45
2.11.1. Direk mikroskopik bakı.....	47
2.11.2. Kültür yöntemleri.....	49
2.11.3. Serolojik Yöntemler.....	49
2.11.4. Moleküler Yöntemler.....	50
2.12. Tedavi.....	56
2.12.1. İntralezyonel injeksiyon.....	58
2.12.2. Topikal Tedaviler.....	60
2.12.3. Fiziksel Tedaviler.....	61
2.12.4. Sistemik İlaç Tedavisi.....	63
2.13. Korunma.....	68
2.13.1. Vektör Kontrolü.....	69
2.13.2. Kutanöz Leişmanyazisde Aşı Çalışmaları.....	71

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	74
3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler.....	74
3.2. Kullanılan Cihazlar.....	75
3.3. Hasta Grubu.....	75
3.4. Direk Mikroskobi.....	76
3.5. Mikrokültür.....	77
3.6. DNA İzolasyonu (PZR).....	78
3.6.1. DNA Ekstraksiyonu.....	78
3.6.2. Genin Amplifiye Edilmesi İşlemi.....	78
3.6.3. Amplifiye Edilen Gen Ürünün Gösterilmesi.....	79
4. BULGULAR.....	80
5. TARTIŞMA.....	84
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	89
7. KAYNAKLAR.....	90
8. EKLER.....	101
9. ÖZGEÇMİŞ.....	104

II. TABLO LİSTESİ

<u>Tablo no</u>		<u>Sayfa no</u>
Tablo 1	<i>Leishmania</i> cinsinin sınıflandırması	12
Tablo 2	İnsanda primer tropizmine göre <i>Leishmania</i> parazitleri.....	13
Tablo 3	Türkiye’de leşmanyazis etkenleri.....	32
Tablo 4	KL’de tedavide kullanılan ilaç ve fiziksel yöntemler.....	58
Tablo 5	Sistemik tedavi gerektiren KL’li olgular.....	64
Tablo 6	Örnek alınan anatomik bölge dağılımı.....	80
Tablo 7	Örnek alınan hastaların yaş dağılımı.....	81
Tablo 8	Smear, mikrokültür ve PZR sonuçları.....	81
Tablo 9	Smear ve Mikrokültür yöntemi ile elde edilen sonuçların karşılaştırılması.....	82
Tablo 10	Smear ve PZR yöntemi ile elde edilen sonuçların karşılaştırılması.....	82
Tablo 11	Mikrokültür ve PZR yöntemi ile elde edilen sonuçların karşılaştırılması.....	82

III. ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil no</u>		<u>Sayfa no</u>
Şekil 1	<i>Leishmania</i> parazitinin yaşam döngüsü.....	19
Şekil 2	Eski Dünya Kutanöz Leyşmanyazisinde sınıflama.....	39
Şekil 3	PZR reaksiyonunun Şematik olarak gösterilmesi.....	54

IV. RESİM LİSTESİ:

<u>Resim no</u>		<u>Sayfa no</u>
Resim 1	Dünyada KL dağılımı.....	8
Resim 2	Türkiye ve Hatay ilinde leşmanyazis dağılımı.....	10
Resim 3	Giemsa ile boyalı örnekte <i>Leishmania</i> amastigotlarının görünümü....	15
Resim 4	<i>Leishmania</i> promastigotlarının görünümü.....	16
Resim 5	Tatarcık (<i>Phlebotomus papatasi</i> , <i>Lutzomyia longipalpis</i>).....	22
Resim 6	<i>L. infantum</i> 'un neden olduğu KL lezyonu.....	33
Resim 7	Kutanöz Leşmanyazisli bir olguda kurutun kaldırılması esnasında gözlenen boynuzsu uzantılar (pozitif çivi belirtisi) ve kanama odaklarının görünümü.....	37
Resim 8	Diffüz kutanöz leşmanyazis.....	42
Resim 9	Post-Kala-azar dermal leşmanyazis.....	44
Resim 10	KL lezyonundan smear alınışı.....	77
Resim 11	13A-13B Primerleri ile amplifiye olmuş smear örneklerinin PCR sonuçları.....	79

V. KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ

A	Adenin
ALT	Alanin aminotransferaz
AKL	Antroponotik kutanöz leşmanyazis
APC	Antijen sunucu hücre = Antigen-presenting cell
Anti-IgM	İmmün globulin M antikoru
ASH	Antijen sunan hücre
AST	Aspartat aminotransferaz
BCG	Bacillus Calmette-Guérin
BHC	Benzenheksaklorür
BSA	Bovin serum albumin
C	Sitozin
C'	Kompleman reseptörü
CO ₂	Karbondioksit
CPs	Sistein proteaz
Cu ⁺⁺	Bakır
DA	Direk aglütinasyon
DDT	Dikloro difenil trikloroethan
DH	Dentritik hücre
DKL	Diffüz kutanöz leşmanyazis
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleotit trifosfat
DMSO	Dimetilsülfoksit

DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
EKG	Elektrokardiografi
FA	Floresan antikor
FDA	U.S. Food and Drug Administration
G	Guanin
GIPL	Glikoinositol-fosfolipid
GPI	Glikozilfosfatidilinositol
gp63	Leishmanolizin
HIV	Human immun defieny virüs
HPV	Human parvo virus
H+E	Giemsa veya hematoksilen eozin
IFN- γ	İnterferon-gama
IgG	İmmün globulin G
IgM	İmmün globulin M
IL	İnterlökin
İL	İntralezyonel
İM	İntramusküler
İV	İntravenöz
KCL	Potasyum klorür
kDNA	Kinetoplast DNA
KL	Kutanöz leişmanyazis
L	<i>Leishmania</i>
LeIF	<i>L. braziliensis</i> 'in uzatma ve başlatma faktörü
LKL	Lokalize kutanöz leişmanyazis
LPG	Lipofosfo-glikan
LmSTI1	<i>L.major</i> stres-arttırıcı protein-1
PG	Fosfoglikan
PKC	Protein kinaz C
PKDL	Post Kala-azar Dermal Leişmanyazis
PPG	Proteo-fosfoglikanlar
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu

RPMI	Roswell Park Memorial Institute besiyeri
MAX	Maksadılan
MCP-1	Makrofaj kemotaktik protein-1
MKL	Mukokutanöz leşmanyazis
Mg	Magnezyum
MÖ	Milattan önce
MS	Milattan sonra
NaCl	Sodyum klorür
NK	Doğal öldürücü = Natural killer
NO	Nitrikoksit
NNN	Novy-MacNeal-Nicolle besiyeri
NTD	Önemi ihmal edilen tropikal hastalıklar = Neglected Tropical Diseases
SB	Sağlık Bakanlığı
T	Timin
TBE	Tris/borate/EDTA
Th	T-helper = yardımcı T lenfosit
TLR	Toll benzeri reseptör = Toll-like receptor
TNF- α	Tümör nekrotizan faktör alfa
Tm	Erime noktası
TSA	Tiyol-spesifik antioksidan
Tss	Zincir ayrışma ısısı
VL	Visseral leşmanyazis
ZKL	Zoonotik kutanöz leşmanyazis
Zn ⁺⁺	Çinko
ZnSO ₄	Çinko sülfat
ZVL	Zoonotik visseral leşmanyazis

VI. İTHAF

CANIM KIZIM, SEVGİLİ EŞİM VE AİLEME...

VII. TEŞEKKÜR

Dermatoloji uzmanlık eğitimim süresince bana yol gösteren, geniş bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her türlü konuda yardımlarını esirgemeyen, yetişmemde emeği geçen değerli hocalarım Sayın Doç. Dr. Asena Çiğdem DOĞRAMACI'ya, Sayın Doç. Dr. Gamze SERARSLAN'a, Sayın Doç. Dr. Didem Didar BALCI'ya, Sayın Yrd. Doç. Dr. Emine Nur RİFAİOĞLU'na, Sayın Yrd. Doç. Dr. Bilge Bülbül ŞEN'e ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Özlem EKİZ'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam ve asistanlığım süresince her konuda desteğini, teorik ve pratikte değerli bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Asena Çiğdem DOĞRAMACI'ya, tezime ilgili örneklerin alınmasında ve direk mikroskopik bakı ile mikrokültürün değerlendirilmesinde ve tezimin hazırlanma sürecinde katkıda bulunan ve emeğini esirgemeyen Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Gülnaz ÇULHA'ya ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Rotasyonlarımda bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Hasan KAYA başta olmak üzere tüm İç Hastalıkları Anabilim Dalı hocalarına, Plastik Cerrahi Anabilim Dalı hocamız Sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa ÖZKAN'a, Sayın Prof. Dr. Mehmet YALDIZ hocamız başta olmak üzere tüm Patoloji Anabilim Dalı hocalarına ve Sayın Doç. Dr. Yusuf ÖNLEN hocamıza ve tüm Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı hocalarına teşekkürlerimi sunarım.

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ve asistanlığım sürecinde emeğini, bilgisini ve desteğini esirgemeyen kıdemlim Dr. Julide Zehra YENİN'e teşekkürlerimi sunarım. Diğer asistan araştırma görevlisi arkadaşlarıma, Dermatoloji Anabilim Dalı'nın tüm çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Sınırsız sevgi ve desteklerini her an yanımda hissettiğim sevgili eşim Ayfer SARIKAYA'ya ve tez yazım sürecinde kendini birazcık ihmal ettiğim kızım Aysel Serin SARIKAYA'ya anlayışından (anlamayıştan) dolayı teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Dr. Gökhan SARIKAYA
HATAY- 2012

VIII. ÖZET

Hatay İli Kronik Kutanöz Leişmanyazis Olgularında Direk Smear, Mikrokültür ve PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Tanı Değerlerinin Karşılaştırılması

Amaç: Kronik kutanöz leişmanyazis hastalarının lezyonlarında direk smear, mikrokültür ve PZR (polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemlerinin duyarlılığı karşılaştırılarak, sensitivitesi en yüksek tanı yönteminin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmaya klinik olarak kronik kutanöz leişmanyazis (en az 6 ay süreli lezyonu bulunan) tanısı konan 60 hasta alındı. Çalışmaya katılan hastaların demografik verileri ve lezyon süreleri kaydedildi. Lezyondan direk mikroskopi, mikrokültür ve PZR için kazıntı örneği ve aspirasyon örneği alındı. Alınan örnekler direk mikroskobik inceleme, mikrokültür ve PZR yöntemleriyle değerlendirilerek sensitiviteyi karşılaştırıldı.

Bulgular: Çalışmamıza alınan 60 kronik KL hastasının 6-60 ay arasında değişen süregen lezyona sahip olduğu belirlendi. Çalışmaya alınan hastaların 32' si erkek, 28' i kadındı. Kronik KL olgularında direk mikroskobik incelemenin %85 (51 hastada pozitif), mikrokültürün %18.3 (11 hastada pozitif) ve PZR' nin %98.3 (59 hastada pozitif) sensitiviteye sahip olduğu belirlendi.

Sonuçlar: Kronik KL olgularında PZR en yüksek duyarlılığa sahip testdir. Ancak mikrokültür yönteminin, kronik KL olgularında diğer iki yöntemle göre çok daha düşük duyarlılığa sahip olduğu düşünülmektedir. Kronik KL olgularında direk mikroskobik inceleme ya da PZR yönteminin rutin tanıda kullanılabileceği ancak direk mikroskobik incelemenin negatif çıktığı şüpheli kronik olgularda, tanı değeri daha yüksek olan PZR ile değerlendirilmesinin gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar sözcükler: Kutanöz Leişmanyazis, Direkt Mikroskopi, Mikrokültür, PZR.

IX. ABSTRACT

Comparison of Diagnostic values of direct smear, microculture and polymerase chain reaction (PCR) in chronic Cutaneous Leishmaniasis in Hatay

Objective: In lesions of patients who have chronic cutaneous leishmaniasis comparison of sensitivity of direct smear, microculture and polymerase chain reaction (PCR) methods, and determination of the most sensitive diagnostic method are aimed.

Methods: Sixty patients who clinically diagnosed as chronic cutaneous leishmaniasis (duration of lesions > 6 months) were included to the study demographic data of patients and duration of lesions were recorded. Samples were taken from skin lesion for direct smear, microculture and polymerase chain reaction. Samples taken from patients were evaluated with and then sensitivity of the methods were compared.

Results: The duration of lesions were between 6 and 60 months in our 60 patients. Thirty-two of our patients were male and 28 of them were female. It was determined that the sensitivity of direct smear, microculture and PCR were 85% (positive in 51 patients), 18.3% (positive in 11 patients), and 98.3% (positive in 59 patients), respectively.

Conclusions: In chronic cutaneous leishmaniasis cases the most sensitive method is PCR. Microculture method is thought to have the lowest sensitivity when compared with the other two methods. Direct microscopy investigation and PCR methods can be used at routine diagnosis but it is concluded that in suspected cases with negative direct microscopy, evaluation with PCR, the most sensitive method, is necessary.

Keywords: Cutaneous Leishmaniasis, direct microscopy, microculture, PCR.

1- GİRİŞ VE AMAÇ

Leyşmanyazis, enfekte dişi tatarcıkların kan emme sırasında bulaştırdıkları *Leishmania* (L) cinsi protozoonların memeli konaklarda neden olduğu, lokalize kutanöz formlarından, ölümcül olabilen visseral formlarına kadar değişen ve farklı klinik belirtilerle ortaya çıkan hastalıkların genel adlandırılmasıdır (1-3). KL, iç organ tutulumu yapmayan, kendiliğinden iyileşmeye bırakıldığında başlıca deride, bazende mukoza yüzeyinde deprese skatris ve şekil bozukluğu bırakarak iyileşen bir deri hastalığıdır (3).

Kutanöz leyşmanyazis (KL); 88 ülkede yaygın olarak, yılda 1-1.5 milyon insanı etkileyen tropikal ve subtropikal bölgelerin major sağlık problemidir. KL'nin görüldüğü 88 ülkenin 82'sinde endemiktir ve yoksul nüfusu etkilemektedir (4,5). Hatay İl Sağlık Müdürlüğü verilerine göre Hatay ilinde 1994-2004 yılları arasında bildirim yapılmış olan toplam 1079 olgu bulunmaktadır. Ancak hastalığın 2002-2004 yılları arasında sayıca artış gösterdiği bildirilmiştir. Hatay ve çevresinde en fazla İskenderun, Altınözü, Kırıkhan'dan KL olguları bildirilmekle birlikte hastaların bazılarının henüz bildirim olmayan yerleşim merkezlerinden olması, KL odaklarının artmakta olduğunu düşündürmektedir (6).

Genellikle vücudun giysi ile örtülmeyen açık olan kısımlarındaki deriye lokalize, uzun süredir (en az 1 ay) iyileşmeyen, ağrısız, viyolese eritemli papül, nodül, nodülo-ülseratif plak, ülser plak şeklinde lezyon ve endemik bölgede yaşama yada seyahat tanıya yaklaşım açısından önemli bir yer tutar. KL taklitçi hastalıklardan biridir. Bu nedenle klinik olarak KL düşünülen bütün olgular, mutlaka

bir laboratuvar yöntemi ile doğrulanarak tanı kesinleştirilmelidir. Duyarlılığı ve özgüllüğü en üst düzeye çıkarmak için, direk mikroskopi, histopatoloji, kültür ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) gibi testlerin yapılması gerekebilir (7-9).

Allahverdiyev ve arkadaşları (10) ile Ihalamulla ve arkadaşları (11) mikrokültür yönteminin Eski Dünya leşmanyazisinin teşhisinde kullanılan geleneksel kültür tekniklerinden daha ekonomik ve duyarlı olduğunu belirtmişlerdir. Faber ve arkadaşlarının (12) 2003'de yaptığı çalışmada, PZR sensitivitesi %96, smear sensitivitesi %54 ve kültür sensitivitesi %70 olarak belirlenmiştir. Ancak PZR sensitivitesinin, smear ve kültür sonuçlarının kombinasyonu ile karşılaştırıldığında farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirtilmiştir. Al-Hucheimi ve arkadaşlarının (1) 2009'da lezyon süresi 4-18 hafta arasında değişen 57 hasta ile yaptığı çalışmada, PZR %92.5, direk smear %66.7 ve histopatolojik incelemenin %59.6 sensitiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Boggild ve arkadaşlarının (13) lezyon süresi 3 hafta ile 9 yıl arasında değişen 62 hasta ile yaptığı çalışmada smear, PZR ve mikrokültür sensitivitesini sırasıyla %84.9, %94.3 ve %71.7 olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmayla PZR yönteminin daha duyarlı olmasının yanında kültür besiyerleri arasındaki farka dikkat çekilmektedir. Geleneksel kültür metodları %33-71, mikrokültür %85 ve smear %42-84 sensitiviteye sahipken, PZR'nin %92-98 sensitiviteye sahip olduğu daha önceki birçok yayında bildirilmiştir. Kutanöz leşmanyazis lezyonlarından alınan örneklerde, parazitlerin PZR temelli belirlenmesi kutanöz ve mukozal leşmanyazisin tanısında en duyarlı metod olarak kabul edilmektedir (1,10,12-18).

Amastigotların varlığı lezyon süresine göre değişir, bu sebeple kronik lezyonlarda parazit saptanamayabilir (9). Bundan dolayı bu çalışmada akut KL tanısında kullanılan yöntemlerin sensitivitesinin kronik KL olgularında değişebileceği düşünülmüştür. Bu çalışmada lezyon süresi 6 aydan uzun olan, klinik olarak kronik KL tanısı konan 60 hastanın lezyonlarından alınan örneklerde direk smear, mikrokültür ve PZR ile tanı doğrulaması yapılarak, yöntemlerin sensitivitesi karşılaştırılmıştır. Bu çalışma ile kronik KL hastalarında sensitivitesi en yüksek tanı yönteminin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2- GENEL BİLGİLER

Leyşmanyazis, enfekte tatarcıkların kan emme sırasında bulaştırdıkları *Leishmania* cinsi protozoonların memeli konaklarda neden olduğu, lokalize kutanöz formlarından, ölümcül olabilen generalize visseral formlarına kadar değişen ve farklı klinik belirtilerle ortaya çıkan hastalıkların genel adlandırılmasıdır. Leyşmanyazis; tatarcığın ısırıldığı alanda gelişen ülseratif deri lezyonlarıyla karakterize lokalize kutanöz leyşmanyazis, multipl nonülseratif nodüllerle karakterize diffüz kutanöz leyşmanyazis (DKL), destrüktif mukozal inflamasyonla karakterize mukokutanöz leyşmanyazis (MKL), yaygın visseral infeksiyonla karakterize visseral leyşmanyazis (VL) ve visseral leyşmanyazis tedavisi sonrası görülebilen post kala-azar dermal leyşmanyazis (PKDL) olmak üzere 5 farklı klinik tabloda görülebilir (2).

Leyşmanyazis ekoepidemiolojik açıdan sadece insandan-insana bulaşımı niteleyen antroponotik kutanöz leyşmanyazis (AKL), hayvandan insana bulaşımı niteleyen zoonotik kutanöz leyşmanyazis (ZKL) ve zoonotik visseral leyşmanyazis (ZVL) olarakta ayrılabilir (19).

Dünyada endemik olarak yaygın bir şekilde görülen kutanöz leyşmanyazis; ülkemizde ‘Şark çıbanı’, ‘yıl çıbanı’, ‘Antep çıbanı’ gibi farklı isimlerle bilinirken Ortadoğu’nun çeşitli tropikal ve subtropikal bölgeleri, Afrika, Hindistan ve Asya’da ‘Halep çıbanı’, ‘Bağdat çıbanı’, ‘Delhi çıbanı’, ‘Delhi Ülseri’, ‘Doğu Yarısı’ ve ‘Aleppo’ gibi farklı adlarla anılmaktadır. Visseral leyşmanyazis ‘Kala-Azar’, ‘kara hastalık’ ve ‘Dumdum ateşi’ olarak bilinirken, mukokutanöz leyşmanyazis ‘Espundia’, ‘Uta’ ve ‘Chiclero ülseri’ olarak adlandırılır (3,20).

Hastalığın risk faktörleri arasında cinsiyet (vektör maruziyetine neden olan davranış kalıpları nedeniyle), yaş, evin tasarım ve yapı durumu, evcil hayvanların varlığı ve endemik bölgede yaşamak ya da endemik bölgeye seyahat sayılabilir (2).

2.1. Hastalığın Önemi

Leyşmanyazisin önemli bir halk sağlığı sorunu olduğu yıllarca göz ardı edilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) belirlediği 6 önemli tropikal hastalık listesinde, sıtmadan sonra en önemli 2. hastalık olarak yerini korumaktadır. Dünyada 12 ile 40 milyon arasında kişinin *Leishmania* parazitleri ile enfekte olduğu, 350 milyona yakın kişinin ise bu hastalığa yakalanma riski altında olduğu bildirilmiştir. Her yıl 1-1,5 milyon kişi kutanöz leyşmanyazise, 500.000 kişi ise visseral leyşmanyazise yakalanmaktadır. Küresel ısınmaya bağlı olarak hastalığın giderek artması beklenmektedir. Hastalığın yaygın olmasının nedenleri; hastalığın etkenlerinin kullanılan ilaçlara, vektörlerinin ise kullanılan insektisitlere karşı dirençliğin gelişmesidir. Ayrıca HIV (Human immun deficiency virüs) ve diğer immün yetmezliklerin giderek artması, seyahatler, savaşlar ve laboratuvar tanısındaki problemler de hastalığın yayılmasında önemli rol oynamaktadır (21).

Dünya Sağlık Örgütü tarafından, önemi ihmal edilen tropikal hastalıklar (Neglected Tropical Diseases=NTD) kapsamında olan leyşmanyazis, öncelikle tropikal ve subtropikal bölgelerde yaşayan yoksul nüfusu etkilemektedir. Yoksul halkı etkileyen leyşmanyazis, malnütrisyon, göç, kötü konut, cehalet, immün sistemin zayıflığı gibi faktörlere eşlik eder. Aynı bölgelerde yaşayan çocuklar diğer tüm tropikal hastalıklarda olduğu gibi hastalığın etkisine en açık ve savunmasız olan gruptur (4).

KL'nin öldürücü bir hastalık olmamasından ötürü, birincil halk sağlığı problemi olarak önemi ihmal edilmiştir. Vakaların sadece %20'si kamu kuruluşlarından bildirilmektedir. KL ölümcül olmadığından dolayı yeteri ilgiyi görmeyerek gözardı edilmektedir (5). Ancak aşağıdaki bilgilerin bir kez daha hatırlanmasında yarar vardır;

- KL, leyşmanyazisin en yaygın şeklidir,

- Ülserler kendiliğinden iyileşmekle birlikte, kol, bacak ve yüzde ciddi şekil bozukluğu ve yetersizliğine yol açabileceği gibi, psikolojik ve sosyolojik sorunlara da yol açabilmektedir,
- Tahminen 12 milyon insan enfekte ve her yıl yaklaşık 2 milyon insanın enfekte olduğu leşmanyazis olgularının 1,5 milyonu KL' dir,
- Dünyada leşmanyazis bulaşının olduğu 88 ülkeden 82'sinde KL endemiktir ve 350 milyon insan risk altındadır,
- Sosyoekonomik, politik (savaş ve göçler) ve çevresel faktörler yeni vakaların artmasına yol açmaktadır (5).

2.2. Tarihçe

Şark çıbanı olarak bilinen Eski Dünya kutanöz leşmanyazisi, çok eski tarihlerden beri bilinen bir hastalık olup; lezyonlarına özgü bilinen en eski betimlemeler Kral Asurbanipal'e ait kütüphanenin Milattan önce (M.Ö.) 650 yılına ait tabletlerinde tarif edilmiştir (22,23). Bununla birlikte Güney Amerika'da, özellikle de Peru ve Ekvator'da Milattan sonra (M.S.) 1. yüzyıla ait çömlerle, pre-Kolombiya dönemine ait çömlerinin üzerine çizilmiş desenlerde, Peru'daki "Moche" çanaklarında, binlerce yıl öncesine ait bazı insan kafataslarında o dönemlerde de KL'nin var olabileceğini düşündüren bir takım kanıtlarda rastlanmıştır. Onuncu yüzyılda, aralarında İbn-i Sina'nın da bulunduğu bazı Arap hekimler tarafından hastalığın lezyonlarına özgü detaylı betimlemeler yapılmıştır (22-24).

KL ile ilgili ilkyazı 1050 yılında Ebu Bekir Muhammed bin Zekeriya El-Razi tarafından "Hülasat-el Tegarip" adlı eserde yayınlanmış olup, yazar Bağdat'ta sık görüldüğünden bahsetmiştir. Bu tarihten sonra hastalığın özellikle kliniği konusunda önemli bilgi ve deneyim birikimi oluşmasına rağmen epidemiyolojisi, etkeni ve bulaşma şekli konusunda ilk ciddi bilgilere ancak 18. yüzyıldan sonra ulaşılabilmektedir (25).

Onbeş ve onaltıncı yüzyıllardan kalma İnka yazıtlarında And Dağlarından dönen mevsimlik İspanyol işçilerinde görülen ve "Valley sickness" veya "Andean

sickness” olarak isimlendirilen hastalıktan bahsedilmektedir. İyileşmeyen burun ve ağız lezyonlarıyla lepraya olan benzerliğinden dolayı hastalığa “beyaz cüzzam” adı da verilmiştir (23).

KL ile ilgili ilk ve en önemli açıklamayı 1756’da Alexander Russel tarafından bir Türk hastayı değerlendirmesinin ardından yapmıştır. O zamanlar bölgede “Halep çıbanı” olarak bilinen hastalığı aynen şöyle tarif etmiştir: “Skatrizasyonun ardından aylar boyunca morumsu renkte görünmekte ve sonra hayat boyu kaybolmayan bir skar oluşturmaktadır; eğer sürekli irritasyona maruz kalmıyorsa, nadiren ağrılı olabilmektedir”. Hastalık Milattan sonra (M.S.) 18. yüzyılda Bağdat ve Halep çıbanı isimleriyle insanlar tarafından bilinmekle birlikte nedeni hakkında bilgi sahibi değillerdi (23,24).

Delhi çıbanı olarak bilinen KL lezyonlarından alınan biyopsi materyalinde parazitin varlığını ilk kez 1885 yılında Kalkuta’da Hindistan tıbbi hizmet başçavuşu Binbaşı David Cunningham bildirmiştir. Cunningham Delhi çıbanı kesitinde kümelenmiş eşit büyüklükte nükleoid cisimlerin üzerinde durmuştur. Ancak bu cisimleri mantar sporu olarak yorumlayıp, Delhi çıbanı nedeninin mantar olduğunu öne sürmüştür. Rus Askeri Doktoru Peter Fokitsch Borovsky 1898’de benzer bildirilerde bulunarak organizmanın anatomisini tariflerken, kinetoplast dikkatini çekmiştir (22-24).

Bu çok eski tarihlere dayanan ve nedeni bilinmeyen hastalık ilk kez 1900 yılında İskoç ordu doktoru William Leishman ve Madras üniversitesinde fizyoloji profesörü olan Charles Donovan tarafından VL’li vakalarında dalaktan hazırladığı yayma preparasyonlarda ufak oval cisimler görmesiyle ortaya konulabilmiştir (23,24). Major Ross 1903 yılında bu parazitlerle Kala-azarı ilişkilendirerek, *Leishmania* cinsini ortaya koymuş ve Kala-azar etkenine *Leishmania donovani* ismini vermiştir. KL’den sorumlu parazit etkenlerinin keşfi ile ilgili konu tartışmalıdır. Etken parazitin 1885’de Cunningham ve 1898’de P.F. Borovsky tarafından görüldüğü şüphesiz olmakla birlikte, Eski Dünyada ki 1903 yılında Massachusetts’de bir hastanede Ermeni bir hastayı tedavi eden Amerika’lı James Homer Wright’ın hastalığı klinik olarak ilk tanımlayan kişi olduğu kabul edilmektedir (22-24).

Nicolle 1908'de *L. tropica*'nın kültürünü yapmayı başarmış ve parazite *L. wrighti* adını vermiştir. Nicolle ve Comple 1908 yılında VL'li köpekte buldukları hastalık etkeni ile enfeksiyon rezervuarı olarak evcil ve yabani hayvanların rolünü belirlemişlerdir (23,25).

Hastalığın nasıl bulaştığı ve yayıldığı uzun süre bir sır olarak kalmıştır. 1905'de Sergent ve arkadaşları tarafından ilk kez KL'nin *Phlebotomus* cinsi sineğin ısırmasıyla bulaştığı görüşü ortaya atılmıştır. Brezilya'da 1922 yılında Aragao infekte ezilmiş sineklerin köpeğe enjeksiyonuyla ülserasyon yapmayı başarmıştır (23). Irishman John Sinton Hindistan'da kala azar hastalığının dağılımı ile tatarcığın (*Phlebotomus argentipes*) dağılımının aynı zamana denk geldiğini belirledi. Bundan 14 yıl sonra Knowles tarafından bu sineğin parazitin yayılımında doğrudan rol oynadığının gösterilmesi, 25 yıl sonrada promastigotun ilk kez *Phlebotomus* içinde gösterilmesi gerçekleştirilmiştir (26). Promastigotları *Phlebotomus Papatasi*'den izole edilerek hastalığın söz konusu sineklerden insana geçişini ilkkez Adler ve Theodor tarafından 1925 yılında deneysel olarak gösterilmiştir (25).

Manson 1910 yılında Kala-azar'ın antimonlu ilaçlarla tedavisini tavsiye etmiştir (27). *L. Brasiliensis* Montenegro tarafından 1923 yılında insana inoküle edilmiş ve bu çalışmalara dayanılarak, 1926 yılında halen kullanılabilen intradermal test tanıtılmıştır (23).

Yurdumuzda 1910 yılında Dr. Servet Tevfik Bey ve Reinhart'ın beraber yaptıkları çalışmaları 24 sayfalık bir broşür halinde yayınladıkları 'Şark çıbanı ve Amili marazi' halkı aydınlatıcı ilk basılı materyal olarak kayıtlara geçmiştir (20,24,25). Deri Hastalıkları alanında Ordinaryus Prof. Dr. Hulusi Behçet, 1916'da ülserin altındaki epitel hücresi tabakasını 'stub sign' olarak tanımlayarak tanıdaki önemini göstermiştir. Ayrıca 1922'de hastalığın diyatermi ile tedavisini önermiş ve aldığı sonuçları Almanca ve Fransızca olarak 1923'de yayınlamıştır. Behçet KL için yaklaşık 70 isim kullanıldığını belirterek 'Wright çıbanı' isminin kullanımını önermiştir (24,25).

Sudan'da görülmektedir. MKL olgularının %90'ı Bolivya, Brezilya ve Peru'da görülürken, VL olgularının %90'ı Bangladeş, Brezilya, Hindistan, Nepal ve Sudan'da görülmektedir. KL birçok ülkede halk sağlığı sorunu, aynı zamanda sosyal bir sorundur. KL görüldüğü 88 ülkeden 82'sinde endemiktir ve yoksul nüfusu etkilemektedir (4,5).

2.3.2. Türkiye'de KL Epidemiyolojisi: Türkiye Sağlık Bakanlığı (SB) verilerine göre 1989-1995 yılları arasında bildiri yapılan KL olgu sayısı toplamı 20063'dür. Bildirim yapan bölgeler Güneydoğu Anadolu, Akdeniz ve İç Anadolu bölgeleri olup, çoğunluğunu Şanlıurfa'dan yapılan bildirimler oluşturmaktadır. Bu 7 yıllık sürede diğer bölgelerden bildiri olmamıştır. Ancak bildirim yapılmaması ise olgu görülmemesinden ziyade bildiri zorunlu olmasına rağmen, bildirilmemesinden dolayıdır (3). 1994-2000 yılları arasında 18216 vaka bildirilmiş olup bununda %61,6'sı Güneydoğu Anadolu bölgesi ve %33'ünü Akdeniz bölgesi oluşturmaktadır (29). Bu düşüşte 1996 yılında Şanlıurfa'da ev ve hayvan barınaklarının yoğun biçimde ilaçlanması şeklinde uygulanan flebotom kontrol programı etkili olmuştur.

Sağlık Bakanlığı'nın 2003 yılında yayınladığı genelgeye göre; Türkiye'de KL, özellikle Şanlıurfa, Osmaniye, Adana, Hatay, Diyarbakır, Kahramanmaraş ve Mersin illerinde endemiktir. Resim 2'de Türkiye ve Hatay ilinde leşmanyazis dağılımı gösterilmiştir. Son yıllarda bu illerimize Aydın'da yeni bir odak olarak katılmıştır. Sağlık Bakanlığı verilerine göre hastalık son 10-12 yıl içerisinde giderek artış göstermektedir (7,30).

Hatay İl Sağlık Müdürlüğü verilerine göre Hatay ilinde 1994-2004 yılları arasında bildiri yapılmış olan toplam 1079 olgu bulunmaktadır. Ancak hastalığın 2002-2004 yılları arasında sayıca artış gösterdiği bildirilmiştir. Hatay ve çevresinde en fazla İskenderun, Altınözü, Kırıkhan'dan KL olguları bildirilmekle birlikte hastaların bazılarının henüz bildiri olmayan yerleşim merkezlerinden olması, KL odaklarının artmakta olduğunu düşündürmektedir (6).



Resim 2. Türkiye ve Hatay ilinde leşmanyazis dağılımı (31)

Türkiye'deki *L.tropica*'nın etken olduğu AKL zaman zaman epidemilerle karakterize olacak şekilde 1833 yılından beri bildirilmektedir. 1950'li yıllardan önce Güneydoğu Anadolu bölgesi başta olmak üzere bütün yurttan çok yüksek insidans hızına sahipti. 1950'den sonra sıtmaya karşı sivrisinek mücadelesi için uygulanan DDT (dikloro difenil trikloroethan)'nin flebotomları da öldürmesinden dolayı KL insidansı bu tarihten sonra düşmüştür. Enfekte rezervuarların azalmış olması, vektör yoğunluğunun eski düzeyine ulaşamaması ve toplumun sosyo-ekonomik düzeyinin yükselmiş olması gibi nedenlerle hastalık Güneydoğu Anadolu'da sınırlanmış ve diğer bölgelerde de sporadik bir görünüm almıştır. Ancak 1960'dan sonra sıtma kontrol çalışmalarındaki yetersizlik sonucu tekrar olgu sayısının arttığı bildirilmektedir (3).

Kentler arası ulaşımın kolaylaşması, yolculukların artması, göçlerin artması (buna paralel olarak yetersiz alt yapı ve sağlıksız konutlarla kentlerin köyleşmesi), ülkemizde özellikle antroponotik türde KL yaygın olması nedeni ile ana kaynak olan

hastaların tedavi edilmemesinin yanısıra, tatarcığın kullanılan insektisidlere direnç kazanması veya kalıcı insektisit uygulamasının yeterli ve kalıcı yapılamaması gibi faktörler nedeniyle hastalığın insidansında son yıllarda artış olmuştur (3).

Özellikle 1980'li yılların başında Şanlıurfa'daki epidemik patlamadan sonra, daha önceleri sporadik olguların görüldüğü Çukurova bölgesi gibi yerlerde endemik bir durum gösterirken, daha önceleri son derece nadir olguların bildirildiği Ege, Marmara, Orta Anadolu, Batı Akdeniz gibi bölgelerimiz düzenli olarak olguların görüldüğü yerler haline gelmiştir. Ne yazık ki bildirim mekanizmalarının yeterince işletilememesi nedeni ile (bildirimi zorunlu bir hastalık olduğu halde) gerçek sayılar bilinmemektedir (32).

Leşmanyazis konusunda enzimatik ve moleküler epidemiyolojik çalışmalar, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de yapılmakta olup burdan elde edilen verilere göre (30);

-VL etkeninin *L. infantum* MON-1 olduğu, köpeklerde de aynı tür bulunduğu için ülkemizde rezervuarın köpekler olduğu,

-Şanlıurfa'da KL etkeninin *L. tropica* MON-55 olduğu ve *L. tropica*'nın genetik olarak farklı varyantlarının değişik bölgelerimizde bulunabileceği,

-KL'nin diğer etkeni *L. major*'un da ülkemizde bulunma olasılığı,

-VL etkeni *L. infantum*'un da KL'ye sebebiyet verebileceği gibi sonuçlar bildirilmiştir (30).

2.4. Leishmania Türlerinin Sınıflandırılması

Bugün için bilinen 30 *Leishmania* türünün, 21'i leşmanyazis enfeksiyonu için patojendir (33). *Leishmania* türlerinin ayırım ve sınıflandırmasında; yaptığı hastalıklar, coğrafik yayılımı, spesifik rezervuarları enfekte etmesine ve çeşitli vektör sineklerle taşınmasına, biyolojik, immünolojik, biyokimyasal ve enzimatik özellikler gibi verilerden yararlanılmaktadır. Bu farklı türler arasında küçük ultrastrüktürel değişiklikler olmasına karşın 'promastigot' ya da 'amastigot' formlarına bakılarak morfolojik olarak ayırım yapılamamaktadır. Ancak izoenzim analizleri, monoklonal

antikorlar ve PZR'ye dayalı moleküler yöntemler kullanılarak *Leishmania* varlığı gösterilmekte ve kesin tür ayırımına gitmek mümkün olmaktadır (20,24,32,34).

Moleküler yöntemlerin kullanılmasıyla birlikte elde edilen veriler ışığında Dünya Sağlık Örgütü (34) bir taksonomi şeması yayınlamıştır. DSÖ'ye göre *Leishmania* türlerinin sınıflandırılması tablo 1'de gösterilmiştir (34).

Tablo 1. *Leishmania* cinsinin sınıflandırması (34).

Aile	Cins	Alt Cins	Kompleks Tür	Tür			
Trypanosomatidae	<i>Crithidia</i>						
	<i>Leptomonas</i>						
	<i>Herpetomonas</i>						
	<i>Blastocrithidia</i>						
	<i>Sauroleishmania</i>						
	<i>Trypanosoma</i>						
	<i>Phytomonas</i>						
	<i>Endotrypanum</i>						
	<i>Leishmania</i>		<i>Leishmania</i>	<i>L. donovani</i>	<i>L. chagasi</i> <i>L. donovani</i> <i>L. infantum</i>		
				<i>L. tropica</i>	<i>L. killicki</i> <i>L. tropica</i>		
				<i>L. majör</i>	<i>L. majör</i>		
				<i>L. aethiopica</i>	<i>L. aethiopica</i>		
				<i>L. mexicana</i>	<i>L. amazonensis</i> <i>L. garnhami</i> <i>L. mexicana</i> <i>L. pifanoi</i> <i>L. venezuelensis</i>		
				İnsan için patojen olmayanlar	<i>L. arabica</i> <i>L. gerbilli</i> <i>L. aristidesi</i> <i>L. enriettii</i> <i>L. deanei</i> <i>L. hertigi</i>		
				<i>Viannia</i>		<i>Viannia</i>	<i>L. braziliensis</i>
<i>L. guyanensis</i>							<i>L. guyanensis</i> <i>L. panamensis</i>
							<i>L. lainsoni</i>

Leishmania, protozoanların *Mastigophara* alt şubesindeki *Trypanosomatidae* ailesinde yer alan ve insanların kan ve dokularında yerleşerek leishmanyazis

enfeksiyonuna neden olan kamçılı bir parazittir. *Leishmania* türü genellikle organizmaya olan tropizmiyle ilişkilidir; *L. tropica*, *L. aethiopica*, *L. infantum* ve *L. mexicana* ile deriye sınırlı tutulum, *L. braziliensis* ile mukozal tutulum ve *L. donovani* ile visseral tutulum yapmaktadır (35).

Oluşan klinik tabloya göre, DSÖ'nün (34) Leişmanyazis etkenlerini sınıflandırması şu şekildedir: *L. infantum*, *L. tropica*, *L. major*, *L. aethiopica* ve *L. donovani* Eski Dünya KL etkenleri arasında yer alırken immüsuprese hastalarda *L. infantum*, *L. major* ve *L. tropica* bukkal mukoza ya da larenks tutulumu ile Eski Dünya MKL nedeni olabilir. DKL *L. aethiopica* nedeni olmakla birlikte immüsuprese ve HIV ile enfekte hastalarda diğer *Leishmania* etkenleri de neden olabilir. Eski Dünya VL *L. donovani* ve *L. infantum* nedeni olmakla birlikte, birkaç olguda *L. tropica* rapor edilmiştir. Yeni Dünya VL *L. infantum* nedenlidir. *L. mexicana*, *L. braziliensis*, *L. panamensis*, *L. guyanensis* ve *L. peruviana* Yeni Dünya KL etkenleri arasındadır. Ancak *L. infantum* VL ile birlikte ya da atipik olarak Yeni Dünya KL etkeni olabilir. *L. braziliensis* ve *L. panamensis* direk olarak Yeni Dünya MKL etkeni olabilir. Yeni Dünya DKL sadece *L. mexicana* ve *L. amazonensis*'e eşlik eder. Ayrıca insanlarda leişmanyazis etkeni olan parazitler primer tropizmine göre tablo 2'de gösterilmiştir (34).

Tablo 2. İnsanda primer tropizmine göre *Leishmania* parazitleri (34)

Alt Cins	<i>L. (Leishmania)</i>	<i>L. (Leishmania)</i>	<i>L. (Viannia)</i>	<i>L. (Viannia)</i>
Eski Dünya	<i>L. donovani</i> <i>L. infantum</i>	<i>L. majör</i> <i>L. tropica</i> <i>L. killickia</i> <i>L. aethiopica</i> <i>L. infantum</i>		
Yeni Dünya	<i>L. infantum</i>	<i>L. infantum</i> <i>L. mexicana</i> <i>L. pifanoia</i> <i>L. venezuelensis</i> <i>L. garnhamia</i> <i>L. amazonensis</i>	<i>L. braziliensis</i> <i>L. guyanensis</i> <i>L. panamensis</i> <i>L. shawi</i> <i>L. naïffi</i> <i>L. lainsoni</i> <i>L. lindenbergi</i> <i>L. peruviana</i> <i>L. colombiensisb</i>	<i>L. braziliensis</i> <i>L. panamensis</i>
Başlıca Tropizm	Visserotropik	Dermotropik	Dermotropik	Mukotropik

Leishmania cinsi tatarcıklardaki gelişim sürecine göre *Viannia* ve *Leishmania* olarak iki alt sınıfa ayrılmıştır. *Viannia* alt sınıfı vektörün orta ve arka barsağının her ikisinde peripiloriyan gelişim gösterirken, *Leishmania* alt sınıfı parazitler orta ve arka barsağın birleşim yerinde suprapiloriyan gelişim gösterir (34).

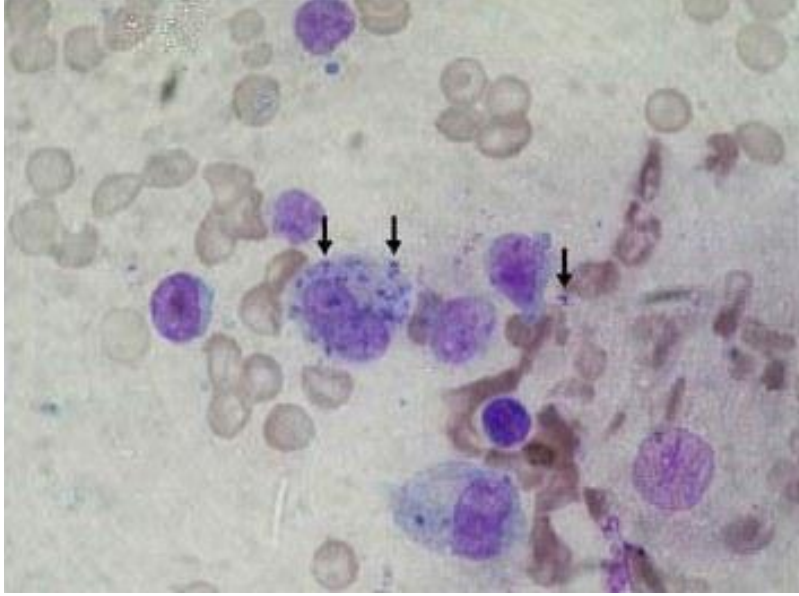
2.5. *Leishmania* Morfolojisi

Leishmania cinsi parazitler aeorop canlılardır. Çoğalma büyük makrofaj hücreleri içinde aseksüel olarak boyuna ikiye bölünmeyle olur. *Leishmania* cinsine ait türlerin yaşam döngüsünde morfolojik olarak, memeli konakta görülen “amastigot” (Resim 3) ve vektörde görülen “promastigot” (Resim 4) şekli olmak üzere iki farklı şekli bulunmaktadır (36).

Amastigotlar (kamçısız şekli) 2- 5 µm boyunda yuvarlak veya oval görünüme sahip hareketsiz morfolojik şekillerdir. Omurgalı konakta genellikle monositler, polimorf çekirdekli lökositler ve endotel hücreleri içinde kümeler halinde ve bu hücrelerin parçalanmasıyla da tek tek dağılmış şekilde bulunurlar. Makrofajların içindeki amastigotlar hücrenin asidik fagolizozomlarınca alınmalarına rağmen bunların içinde yaşamlarını devam ettirebilir ve çoğalabilirler. Parazit makrofajlarda parazitofor vakuolun içindedir (37).

Amastigot formundaki bir *Leishmania*'nın sitoplazmasında arka uca yakın büyük bir nükleus ve nükleusa bitişik kinetoplast bulunmaktadır. Sitoplazmada ayrıca vakuoller, nokta şeklinde bir bleforablast (kamçı kökü) ve bleforablasttan çıkıp ön kısımda sonlanan bir aksonem (kamçının sitoplazmada kalan kısmı) bulunmakta, ancak kamçı hücre dışına serbest olarak çıkamamaktadır. Bütün *Leishmania* türlerinde sitoplazmada tek bir mitokondrium yer almakta, golgi aygıtı ve lizozomlar çeşitli enzim aktiviteleri ile parazitin beslenmesine yardımcı olmaktadır (19,32,36). Organizma çok iyi gelişmiş bir golgi aygıtı, lizozom ve mitokondri içermektedir. Birkaç nükleol içeren çift membranlı geniş bir nukleous vardır. Wright veya Giemsa ile boyanmış preparatlarda; sitoplazma ve kamçı soluk mavi, nükleus pembe veya koyu kırmızı ve nükleusa çok yakın kinetoplast koyu kırmızı renkte görülür. Elektron mikroskopunda; çift membrandan oluşan bir tabaka,

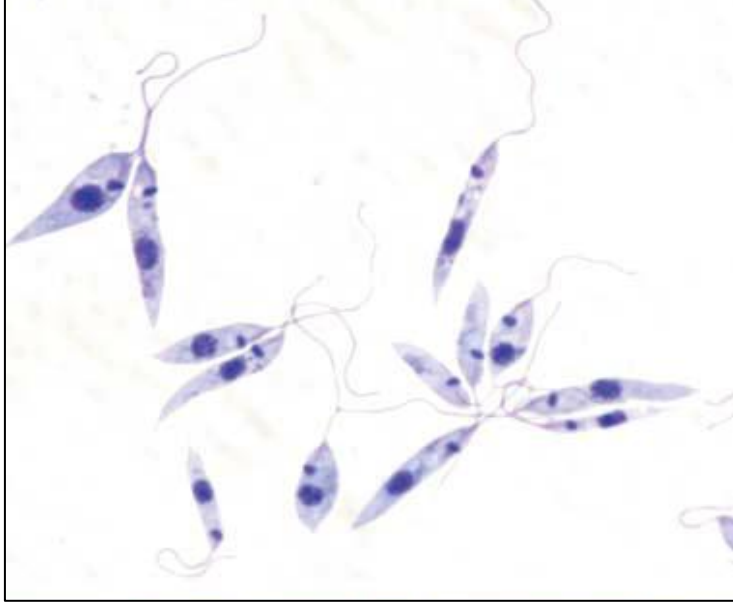
sekiz adet bir merkezi iplikçiği çevreleyen toplam dokuz iplikçikden oluşan hücre zarının invajinasyonu ile çevrili bir flajel ve flajelluma komşu ve dik açıyla yerleşen çubuk şeklinde kinetoplast görülmektedir (35).



Resim 3. Giemsa ile boyalı örnekte *Leishmania* amastigotlarının görünümü (6).

Leishmania'nın omurgasız vücudunda bulunan promastigot (kamçılı şekli) 22-26 °C'de NNN (Novy-MacNeal-Nicolle) besiyerinde ve *Phlebotomus*'un bağırsaklarında görülen hareketli morfolojik şekildir. 15-26 µm boyunda, 2-3 µm genişlikte, mekik şeklinde ve bir ucu küt olup vektörde 27 °C'de uzunlamasına bölünerek çoğalmaktadır. Ön uçtan çıkan 15-28 µm uzunluğunda serbest bir kamçısı ve kamçı kökünde yerleşmiş 9 çift periferik ve 1 çift merkezi fibrilden oluşmuş bir aksonemi bulunmaktadır. Sitoplazma içinde golgi aygıtı, lizozomlar ve endoplazmik retikulum bulunmaktadır. Elektron mikroskopik incelemesinde; sitoplazma içinde golgi aygıtı, lizozomlar, endoplazmik retikulum ve ortada nukleus, nukleus içinde nukleolus, parabazal cisim ve kinetoplastik kitle gözlenmiştir. Kinetoplastın ön kısmında ve kamçının dip kısmında bleforoplast bulunmaktadır. Ön uçta yuvarlak

veya at nalı şeklinde bir kinetoplast, merkezi bir nukleus, nukleolus ve nukleus membranında da porlar bulunmaktadır. (32,38).



Resim 4. *Leishmania* promastigotlarının görünümü (39)

2.6. *Leishmania* Yaşam Döngüsü

Bu organizmalar iki temel yaşam döngüsü evresine sahip digenetik parazitlerdir. Parazit omurgasız konakta promastigot (leptomonas), omurgalı konakta ise amastigot formunda bulunmaktadır. Karmaşık yaşam döngüsünde, omurgalı ve omurgasız olmak üzere iki tür konakta evrimini tamamlayan *Leishmania* parazitleri değişik ekstrasellüler ve intrasellüler ortamlara maruz kalırlar. Promastigot, Eski Dünya’da omurgasız bir konak olan *Phlebotomus*, Yeni Dünya’da ise *Lutzomyia* cinsinde yer alan tatarcıklardaki ekstrasellüler evredir. Amastigot ise insan, köpek, köpekgil ve daha önemsiz olarak kemiriciler gibi omurgalı konaktaki intrasellüler evredir (33,37,40).

Phlebotomus veya *Lutzomyia* cinsi dişi tatarcıklar, *Leishmania* ile enfekte bir omurgalı konaktan kan emerken makrofajlar içinde bulunan parazitin amastigot

şeklini almaktadır. Emilen kan, orta midede “peritrofik membran” adı verilen bir membran ile sarılmakta ve vektör sineğin sindirim enzimleri ile bu membran içine salgılanmaktadır. Amastigotların bir kısmı makrofajların lizisi esnasında sindirilirken, kalanların vücudu uzamakta ve kamçı gelişerek enfektif olmayan promastigot şekline dönüşüp bölünerek çoğalmaya başlamaktadır (19,32).

Promastigot şekline dönüştükten sonra peritrofik membranın ön kısmını kitinaz enzimi yardımıyla eriterek torasik mideye geçerler. Özel bir tropizm ve kemotaksis ile göç ederek özofagus ve farenks duvarına tutunurlar. Özofagustan ayrılarak ağız parçalarına gelir ve 4-7. günde ağız parçaları ve hortumda görülürler. Sayıları arttıkça öne doğru ilerlemektedirler. Enfekte kanın alınmasından 3-7 gün sonra yutağa varırlar ve burada farenksi tıkayacak kadar çoğalırlar. Tatarcıkların kan emmesinden 1 saat sonra, abdominal midede amastigotlar, 12-24 saat sonra abdominal midenin peritrofik zarının içinde promastigotlar görülmektedir (24,32,41).

Vektörde başlayan gelişme döneminde son zamanlara kadar morfolojik olarak homojen olduğu sanılmaktaydı, ancak yapılan çalışmalarla bu gelişme sırasında 3 farklı morfolojik dönemin ayırt edildiği bildirilmiştir. Midede 36- 48 saat sonra nektomonadlar, 3. günde torasik midede haptomonadlar, 6. günde bütün sindirim kanalında promastigotlar görülmeye başlar (32).

Parazitin döngüsünün sağlanması için kan emmenin ardından sineğin gastrointestinal kanalında yeterli zamanın geçmesi gerekmektedir, aksi takdirde bu döngü imkansızlaşır. Emilen enfekte kanın ardından sinek doğada başka yerlerde bitki özsularıyla beslenmeye devam ederken bu arada parazit çoğalmak için gereken zamanı bulur. Eğer sinek, hasta rezervuardan kan emdikten hemen sonra başka bir memeliden de kan emerse, parazit gelişmeye zaman bulamaz ve bunların hepsi sadece sindirilir. Tatarcıklarda ki evrim sürecinde, *Leishmania* türüne ve çevrenin sıcaklığına bağlı olmakla birlikte, emilen enfekte kanın tatarcık tarafından taşınarak enfeksiyon nedeni olabilmesi için 7-10 günlük süre gereklidir (26).

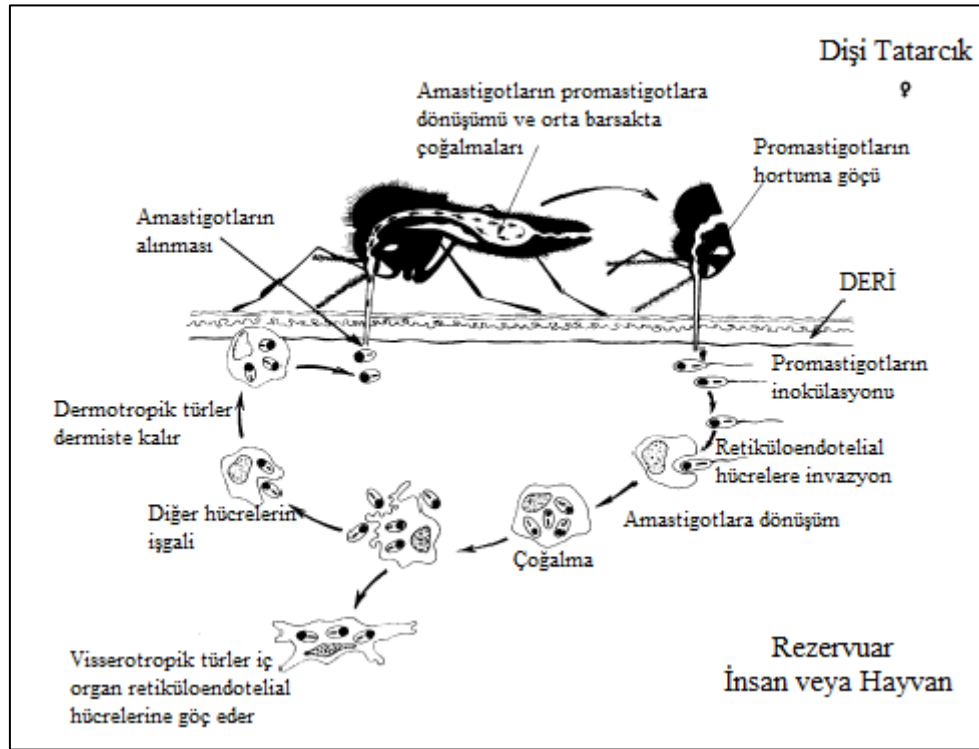
Parazitin yaşam döngüsündeki promastigot evresi sineğin orta bağırsak ve toraks bölümünde gerçekleşir. Bitki özsularıyla beslenmeye devam eden sineğin orta bağırsağında parazitler öylesine yüksek bir sayıya ulaşırlar ki, sonunda sineğin

gastroözofageal sfinkterini felce uğrattılar ve bunun ardından regürjitasyon başlar. Buralardaki promastigotlar sineğin farenksine ve yanak kavitesine göç etmeye son derece meyillidirler ve bu bölgelerde yerleşirler. Kan emmenin 6-9. günleri arasında sinek ağır bir farenjit geçirmektedir. Bu esnada bir sonraki kan emme sırasında promastigotların regürjite edilmeleri sürmektedir. Enfekte kanın alınmasından 3-7 gün sonra ilk metasiklik (enfektif) safhalar orta bağırsakta, hortumda ve az sayıda cibarium ve farenksde görülür. Bu safhada artık bölünmezler, çok hareketli, küçük ve zayıf görünürler (10 µm), kamçıları vücutlarının yaklaşık 2 katı uzunluğundadır (24).

Tatarcık kan emmek için omurgalı konağı sokunca tükrük salgısı ile birlikte metasiklik promastigotları dermise enjekte eder. Leşmanyazis oluşumunda sadece metasiklik promastigotun enjekte edilmesi yeterli değildir. Promastigotun, mekanik hareketle dermisen derin tabakalarına itilmesi gereklidir, aksi halde hedeflediği dermal kapillere ulaşması zordur. Çok daha önemli bir nokta, inokülasyon bölgesindeki doğal immün engellerin aşılması gerekliliğidir. Vektörün tükrüğündeki hyalüronidaz-maksadılan gibi vazodilatatör etkili salgılar, enjeksiyon bölgesinde hızlı bir şekilde hareket ederek temel immün engellerin aşılmasını sağlar ve enfeksiyonun başlamasına yardımcı olur (24,42).

Isırık yerinden temel immün engelleri aşarak vücuda giren ve ekstrasellüler alanda toplanan promastigotların ilk hedefi makrofajlardır. Metasiklik promastigot, makrofajdaki C' (kompleman) reseptörü 1-3, mannoz-fukoz reseptörü ve Fc reseptörünü kullanarak tutunmayı gerçekleştirir. Anti-leşmanial antikorlar ve C' parazitin yüzeyinde birikmeye başlar. Bu noktada parazitin yüzeyinde bulunan LPG (lipofosfo-glikan) ve gp63 (leishmanolizin) çok önemli rol oynar. C3 molekülü aktif litik formu olan C3b ile LPG ve gp63'ün yüzeyine tutunur ve klasik yoldan C' aktivasyonu yapar. *Leishmania*'lar C3bi ile opsonize olmaları sayesinde CR1-3'ü kullanarak reseptöre bağlı endositozla makrofaj içine girer. Ancak yüzeylerinde eksprese ettikleri kalın LPG ve gp63, parazitleri C5-9 litik kompleks etkisinden korur. Enfektif promastigotlar, vektör tarafından kana verildikten sonrada omurgalı konağın çeşitli savunma mekanizmalarına karşı koymaktadırlar. Özellikle komplemanın, sitotoksik ve eritici etkilerine karşı koymanın yanında, bu etkileri kendi lehine kullanarak konağın makrofajlarını işgal ederler (24,42).

Vücut savunma mekanizmalarından kurtulan parazitler hücre dışı sahada tutunan makrofajlar tarafından alınır. Enfeksiyonun bundan sonraki seyrini *Leishmania*'nın türü belirlemektedir. Parazit içeren bu makrofajlar o bölgede kalmaya devam edebileceği gibi mukokutanöz bileşke ya da retiküloendotelial dokuya giderler. Promastigotlar parazitoforus vakuolünde her üç durumda da hücre içinde süratle kamçısını kaybederek amastigot formuna dönüşüp replikasyonunu başlatır. Bu replikasyon konak hücrenin tamamen amastigotlarla dolup en sonunda patlamasıyla son bulur. Serbest kalan amastigotlar başka makrofajları infekte etmeye hazırdırlar. Bu şekilde kanda veya lezyonun hemen altında hem serbest amastigotlar, hem de infekte makrofajlar görünmektedir. Tatarcık tekrar kan emmek için soktuğunda hem bu serbest amastigotları, hem de tekrar infekte makrofajları alır. Şekil 1'de şematize edilen bu döngü tatarcığın beslenmek için bir başka konak bulmasıyla devam eder. Tüm bu döngü özellikle çevre ısısına bağımlı olarak 4–25 gün (ortalama 7–12 gün) sürer (24). Parazitin yaşam döngüsünde vektörsüz taşınım ise (laboratuvar kazası gibi) nadirdir (2).



Şekil 1. *Leishmania* parazitin yaşam döngüsü (40).

Parazitin makrofajları işgal etmesi sonrasında ki seyrini *Leishmania*'nın türü belirlemektedir. Ya deride sınırlı bir enfeksiyona yol açmakta (Ör; *L.tropica*) ya da iç organların tutulumuyla sistemik enfeksiyona yol açmaktadır (Ör; *L.infantum*). Enfekte makrofajlar kan yoluyla deriden öncelikle dalak, karaciğer ve kemik iliği olmak üzere diğer dokulara doğru hareket etmekte ve bu organlarda çeşitli patolojilere neden olabilmektedirler. Ancak bu hareket parazitlerle karşılaşan konağın immün sisteminin durumuna göre değişiklikler gösterebilmekte ve parazitler türüne uygun olmayan yerlerde göç edebilmektedirler. Bu durum tablo 2'de gösterilen türlerin visserotropizm / dermatropizm karakterlerine bağlı olarak meydana gelmektedir (19,32).

2.7. Vektör ve Rezervuarlar

Hastalığın vektörü olan flebotomlar halk arasında tatarcık, yakarca, üvez, yapıyakan, çetisineği, kum sineği vs. olarak bilinirler. *Diptera* takım, *Nemotocera* alt takımında yer alan tatarcıkların *Psychodidae* ailesinde ve *Phlebotominae* alt ailesinde sınıflandırılması genel kabul görmektedir. Tatarcıkları oluşturan yaklaşık 700 türün 70 kadarı 20'den fazla *Leishmania* türüne ve diğer patojenlere vektörlük yapmaktadır (27).

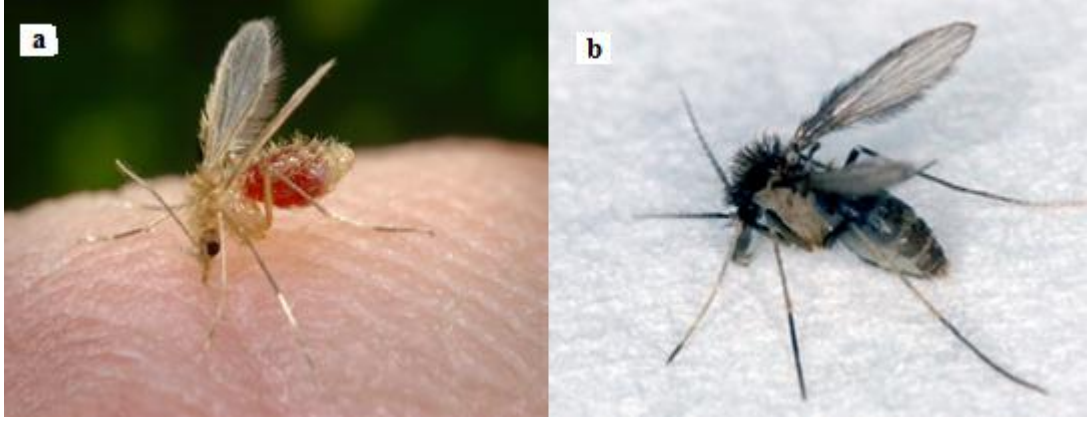
Leishmania parazitinin türüne ve bölgesine göre vektörleri değişmekte olup flebotomların sınıflandırılması ve jenerasyonu üzerinde genel bir görüş birliği yoktur. Genelde kabul gören düşünceye göre; Yeni Dünya'da (Arjantin'in kuzeyinden Amerika Birleşik Devletleri'nin güneyine kadar) üç cins *Lutzomyia*, *Brumptomyia* ve *Warileya*; Eski Dünya'da (Avrupa, Kuzey Afrika, Orta Doğu ve Asya) üç cins *Phlebotomus*, *Sergentomyia* ve *Chinius* olmak üzere toplam 6 cins jenerasyonu kabul edilmiştir. Sadece *Phlebotomus* ve *Lutzomyia*'nın türleri ve alt türleri *Leishmania* vektörü olarak kanıtlanmıştır (2,20,34).

Flebotomların konak seçimi türlere göre değişmektedir. *Phlebotomus*, *Lutzomyia* ve *Sergentomyia* gibi cinsler omurgalılarından beslenmekle birlikte; *Phlebotomus* (13 altcins) cinsine ait olan türler memelilerden beslenirken, *Sergentomyia* (9 altcins) ise reptil (kertenkele vb) ve amfibiler üzerinde nadiren

memelilerden beslenmektedirler. Yeni Dünya’da yaşayan ve tıbbi önemi olan grubu oluşturan *Lutzomyia* (14 altcins, 11 tür) cinsi ise hem memelilerden hem de sürüngenlerden beslenmektedirler (24)

Bazı türler sadece memeli hayvanlardan kan emerken (zoofil), bazı türler hem hayvan hem insanlardan (zoo-antropofil), bazı türler ise sadece insanlardan (antropofil) kan emmektedirler. Eski Dünya türlerinden olan *P. papatasi*’nin antropofilik olmasına rağmen sığır, köpek ve kuş üzerinden de beslendiği tespit edilmiştir (24). Eski Dünya deri leşmanyazisinde zoonotik olan şekle yarı kurak bölgelerde rastlanır, rezervuarı et yiyen gündüzcü ve koloni halinde bulunan kemirgenlerdir. Etken *L. major*, vektör *P. papatasi* gibi tatarcıklardır. Eski Dünya deri leşmanyazisinin antropotik olan şeklinde rezervuar insandır. Etken *L. tropica*, vektör *P. sergenti* adı verilen tatarcıklardır. Yeni Dünya deri ve mukozal leşmanyazisi genellikle zoonotiktir. Etken *L. braziliensis* ve *L. mexicana* alt türleri ve vektör orman tatarcıklarıdır. Bazı leşmanyazis formlarında ise hyrax ve rhombomis denilen tarla farelerine benzer kemirgenler kaynak olarak rol oynarlar (20).

Flebotomların erişkinleri (Resim 5) kahverengimsi, küçük ve dar vücuda sahip, uzun bacaklı, vücudun üzerinde dik duran kanatları olan, uzun antenli, vücutları fazla tüylü, 5 segmentli, sarkık palplı 2-5 mm civarında büyüklüğü olan sineklerdir. Erişkinlerin başları vücutları ile takriben 45 derecelik bir açı yapar. Baş vücuda oranla küçük olup bal peteği görünümündeki gözler geniş yer tutar. Antenler ince uzun tesbih gibidir. Flebotomların ağız boşluğu, karın plağındaki ve ayrıca farenks plaklarındaki dişlerin şekil ve sıralarının, cinslerin ve türlerin tanınmasında önemi vardır. İstirahat halindeyken kanatlarını karın üzerinde “V” harfi şeklinde tutmaları, kıllı olmaları ve kan emmek için yöneldikleri konakçısına konmadan önce çevresinde kısa sışramalarla uçmaları gibi tipik davranış özellikleri sayesinde kolayca tanınırlar (20,27,43).



Resim 5. Tatarcık, a: *Phlebotomus papatasi* (44), b: *Lutzomyia longipalpis* (2)

Sivrisineklere benzemelerine rağmen, onların aksine, konaklarına sessizce ve zigzag çizerek, küçük zıplamalarla yaklaşımları karakteristiktir. Flebotomlar iyi bir uçucu olmayıp, kısa aralıklarla konarak ve sessiz olarak uçarlar. Uçuş mesafeleri genelde 80-200 m civarındadır, fakat sıcak ve durgun havalarda bu mesafe 1 km'ye kadar çıkabilmekte. Flebotomların 10 m'den daha uzaktaki insanları seçemedikleri belirtilmektedir. Dinlenerek her uçuşta bir öncekinden daha yükseğe çıkan flebotomlar yaklaşık 25-30 m yüksekliğe kadar çıkabilmektedirler. Rüzgar aktivitelerinde önemli rol oynamaktadır. En aktif oldukları zaman durgun havalardır. Suni ışığın flebotomların aktivitesinde rolü vardır ve bazı türlerde suni ışığa karşı pozitif fototaksi bulunmaktadır (24,43).

Flebotomların yoğunluğu yağış gibi doğal olaylarla alakalı olup, aktivitelerinde meteorolojik koşulların etkili olduğu ispatlanmıştır. Erişkin flebotomların en aktif oldukları ısı derecesi 25-28 °C'dir. İdeal nem oranı ise %50'nin üstündedir, ancak bazı türlerde bu oran %75-85'e kadar çıkabilmektedir (24).

Flebotomlar, sıcak ve nemli iklim koşullarında üreyip çoğalabilirler. Larva ve pupalar karada yaşam göstermelerine rağmen kuruluğa çok duyarlıdır. Pupa evrimini tamamladıktan sonra erişkin dışarı çıkmaktadır. Yumurtadan çıkan larvalar yaprak küfü, böcek parçaları ve hayvan dışkısı ile beslenirler. Dört larva ve bir pupa safhası geçirerek 1-2 ay içinde ergin hale gelirler (24,27). Gündüzleri kiler, duvar çatlakları, bodrum gibi kuytu gölgelik, kulübe, hayvan barınağı, kümes, mağara, ağaç kovuğu, kuş yuvası ve ahır gibi karanlık, serin, nemli ve rüzgarsız yerlerde

saklanan bu sinekler aktivasyonlarını özellikle sıcak ve durgun yaz gecelerinde gösterirler. Akşamları alaca karanlıkta saklandıkları yerlerden çıkarak beslenmek için kan emecek hayvan ve insan ararlar (20,43). Erişkin dişi tatarcıklar 3 hafta yaşayabilirken erkeklerin yaşam süresi ortalama 2 haftadır. Dişi tatarcıklar, yumurtalarını bina yıkıntıları, duvarlardaki çatlaklar, hayvan barınakları, ev atığı yığınları gibi gelişmekte olan larvanın organik gıda bulabileceği, sıcak ve nemli yerlere bırakmaktadır (24).

Erkek ve dişi tatarcıklar genellikle şeker içeren bitki özleriyle beslenmektedir. Sadece dişi tatarcıklar yumurtalarını olgunlaştırmak için her gonadotropik siklusta insan ve hayvanlardan kan emmek zorunda kalmaktadırlar. Erkek tatarcıklar sadece bitki özuları ile beslendiğinden ya da son aldıkları larva gıdasıyla yetindikleri için hastalığın yayılımında rol almazlar (20,27).

Tatarcıkların tekrar tekrar kan emmeleri, enfeksiyon bulaştırmaları açısından önem taşımaktadır ve bu konuda türler arasında değişiklikler bulunmaktadır. *P. longipes* gibi bazı türlerin yumurtaları kan olmadan gelişmemektedir. *P. perniciosus* bir kez kan emdikten sonra yumurtalayana kadar tekrar kan emmemektedir. *P. papatasi* ise yumurtalama ile ilişkili olmadan birçok kez kan emebilmektedir (24).

Ülkemizdeki yayılışlarının saptanması üzerine yapılan çalışmalarda Akdeniz, Ege, İç Anadolu, Güney Anadolu Bölgelerinde toplam 20 tür *Phlebotominae* varlığı bildirilmiştir (19,24). Yurdumuzda görülen flebotomlar *Phlebotomus* ve *Sergentomyia* cinslerinde iken *Lutzomyia* flebotomları Amerika kıtasında görülmektedir.

Türkiye'nin de içinde bulunduğu Eski Dünya'da, *Leishmania* türlerinin vektörleri 40'tan fazla *Phlebotomus* türünden oluştuğu ve parazit ile vektörleri arasında açık bir ilişki bulunduğu bildirilmektedir. Etkeni *L. major* olan ZKL'nin vektörleri *Phlebotomus* alt cinsinde yer alan *Phlebotomus duboscqi*, *P. papatasi* ve *P. salehi* türleridir. *Leishmania infantum*'dan kaynaklanan VL'nin kesin vektörleri *Larroussius* altcinsinde yer alan *P. neglectus*, *P. tobbi*, *P. syriacus*, *P. perniciosus* ve *P. ariasi* türleridir. Akdeniz ülkelerinde *L. tropica*'nın etken olduğu AKL'nin kesin vektörü ise *P. sergenti*'dir. Şimdiye kadar Türkiye'de, dokuz tanesi Eski Dünya'da

vektör olduğu bildirilen 20 *Phlebotomus* türü saptanmıştır. Bunlardan *P. papatasi* (ZKL), *P. sergenti*, *P. halepensis* (AKL), *P. neglectus*, *P. syriacus* ve *P. tobbi* (VL) vektör olduğundan şüphelenilen türlerdir. Bunlar dışında *P. brevis*, *P. perfiliewi*, *P. transcaucasicus*, *P. galilaeus*, *P. mascittii*, *P. alexandri*, *P. similis*, *P. jacusieli*, *P. caucasicus*, *P. kyreniae*, *P. simici*, *P. balcanicus*, *P. burneyi* ve *P. kandelakii* Türkiye'den bildirilen diğer türlerdir (27). Akdeniz Ülkeleri ve Türkiye'de ki şehirlerde KL vektörü sıklıkla *P. sergenti*'dir. şanlıurfa'da yapılan bir çalışmada *P. sergenti* % 77.6, *P. papatasi* % 21.92, *P. major* % 1.39 ve *P. perfiliewi* % 0.09 oranında tespit edilmiştir (20).

Tatarcıklar genellikle Avrupa'nın güneyi, Asya, Afrika, Avusturalya ve Orta ve Güney Amerika gibi tropik ve subtropik bölgelerde görölmekle birlikte dağılımları tam olarak 50° kuzey enleminin hemen altından, Kanada'nın güneybatısından başlar ve Fransa'nın kuzeyinde sona erer. Güney yarı küre dağılımları yaklaşık 40° güney enlemine kadar gelir. Ancak Yeni Zelanda ve Pasifik kıyılarında görölmezler (43,45).

2.8. İmmünopatogeneze

Tatarcık kan emmek için deri ile temasa geçtiğinde, metasiklik promastigotu dermise enjekte eder. Leyšmanyazis oluşumunda sadece metasiklik promastigotun enjekte edilmesi yeterli değildir. Promastigotun, mekanik hareketle dermisin derin tabakalarına itilmesi gereklidir, aksi halde hedeflediği dermal kapillerlere ulaşması zordur. Çok daha önemli bir nokta, inokölasyon bölgesindeki doğal immün engellerin aşılması gerekliliğidir (42). Antienflamatuar ve immunomodulatör özelliklere sahip tatarcık tükruğu sokulan yerde konakçının fizyolojisini modifiye etmekte ve patojenin invazyonunu kolaylaştırmaktadır (27). Vektörün tükruğündeki hyalüronidaz-maksadılan gibi vazodilatatör etkili salgılar, enjeksiyon bölgesinde hızlı bir şekilde hareket ederek temel immün engellerin aşılmasını sağlar ve enfeksiyonun başlamasına yardımcı olur (42). *Lutzomyia longipalpis* tükruğündeki kuvvetli vazodilatatör gen kodlanarak klonlanmış ve bu genin (maxadılan veya MAX) protein üretim aktivitesi incelenmiştir. Tatarcık MAX'ı, NO (Nitrikoksit) ve TNF- α 'nın (Tümör nekrotizan faktör α) makrofajlardaki üretimini kısıtlamak ve

konakçı immun cevabının *L. major*'u öldürmesini önlemek suretiyle bu parazitin enfeksiyonunu şiddetlendirmektedir. Tükürük bezi lizatlarının da, makrofajlar üzerinde MAX'inkine benzer etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (27).

Leyşmanyazise karşı direncin T hücre aracılı immünite ile sağlandığı bilinmektedir. T hücre hasarı görmüş olan farelerde *Leishmania* ile enfeksiyon sonrası direnç oluşmazken, T hücrelerinin transferi ile bu hayvanlarda direnç oluştuğu gözlenmiştir. Ayrıca B lenfositleri eksik olan hayvanlarda, enfeksiyonun gidişatının etkilenmediği görülürken, anti-IgM (İmmün globulin M antikor) ile antikorların baskılanmasının herhangi bir etki yaratmadığı da belirlenmiştir. Yüksek düzeyde IgG (İmmün globulin G) ve IgM (İmmün globulin M) seviyelerinin enfeksiyona karşı bir koruyucu etki göstermemesi de bağışıklığın tamamen hücrenel bağışıklığa bağlı olduğunun göstergesidir (21).

Konakla etkileşimlerinde, doğal bağışık yanıtı aşmaları en temel ve hastalığın gidişatını belirleyen en önemli basamaktır. Humoral efektör mekanizmalardan (kompleman sistemi gibi) kaçmaları ve hücrenel toksik metabolit ve lizozomal enzimlere dayanmaları gerekmektedir. Bu nedenle, fagozomal kompartmanlarda yeniden şekillenmeye sebep olmaları ve hücrenel sinyal yolları ile interferenste bulunarak antijen sunumunu ve dentritik hücrelerin immün regülasyonunu bozmaları da adaptif immüniteyi ele geçirmeleri açısından çok önemlidir. Tüm bu modifikasyon ve interferens mekanizmaları 2 farklı tipte immünopatogenez şemasına yol açmaktadır (42):

1. VL'de ortaya çıkan, efektör hücrenel immün yanıtın baskılanması,
2. KL'de ortaya çıkan, Th yanıtının parazitin yararına olan Th2'ye polarize olması (42).

Her ne kadar immünopatogenezde, memeli konağın genetik alt yapısı doğrultusunda oluşturduğu immün yanıt ile vektörün çevresel ve genetik faktörleri rol alıyor olsa da; pek çok mikroorganizma ile enfeksiyon sırasında da olduğu gibi ilk ve anahtar görevi gören elemanlar *Leishmania* türlerinin moleküler determinantlarıdır. Bu determinantlar; enfeksiyon için gereken invazif determinantlar ve immünopatolojiden sorumlu determinantlar şeklinde ikiye ayrılabilir (42).

İnvazif Determinantlar: Parazit için primer konak hücre olan makrofajların enfekte edilmesi, fagolizozomlar veya parazitofor vakuollerde başarılı hücre içi yaşam için gereken virülans faktörleri ile gerçekleşir. Bunlar arasında; glikozilfosfatidilinositol (GPI), glikozil-fosfolipid (GIPL), LPG, fosfoglikan (PG), proteo-fosfoglikanlar (PPG), gp63 ve sistein proteaz (CPs) sayılabilir (42).

Promastigotların, makrofajları enfeksiyonu çok çalışılmış olmakla birlikte, moleküllerin enfeksiyondaki rolleri hala tam aydınlatılmış değildir. Bu moleküllerden özellikle gp63 ve LPG en çok çalışılan moleküller olup, parazitin bulunduğu hayat döngüsüne göre farklı düzeylerde eksprese edilen determinantlardır. Makrofaja tutunma ve C' dan korunmada rol oynarlar. Benzer şekilde her iki molekül fagosit içinde yaşamın devamından sorumludur. Promastigot-amastigot değişimi ve amastigotun replike olarak diğer hücrelere yayılımında da rol oynamaktadırlar (42).

İnoküle edilen promastigotun ilk hedefi makrofajlardır. Metasiklik promastigot, makrofajdaki C' reseptörü 1-3,mannoz-fukoz reseptörü ve Fc reseptörünü kullanarak tutunmayı gerçekleştirir. Anti-leyişmanial antikorlar ve C' parazitin yüzeyinde birikmeye başlar. Bu noktada parazitin yüzeyinde bulunan LPG ve gp63 çok önemli rol oynar. C3 molekülü aktif litik formu olan C3b ile LPG ve gp63'ün yüzeyine tutunur ve klasik yoldan C' aktivasyonu yapar. *Leishmania*'lar C3b ile opsonize olmaları sayesinde CR1-3'ü kullanarak reseptöre bağlı endositozla makrofaj içine girer. Ancak yüzeylerinde eksprese ettikleri kalın LPG ve gp63, parazitleri C5-9 litik kompleks etkisinden korur (42).

Benzer biçimde IgM'ye bağlı immünoaderans mekanizmaları da, C' bağlı lizis gelişmeden çok önce Fc reseptörü yolu ile fagositoza olanak sağlamaktadır. Burada dikkat çeken bir başka nokta, çok az sayıda parazitin makrofajlarda olmasıdır. Diğer birçok mikroorganizma için sorun olacak bu durum *Leishmania*'lar için avantaj olarak kullanılmaktadır, çünkü "ignorance" tetikleme yolu ile doğal bağışıklığın ilk basamaklarında konağa üstün gelebilmektedirler. Chang ve McGwire'in ortaya koyduğu şekilde, LPG ve gp63 invazyon sonrası "down" regüle edilmektedir ki bu regülasyon da parazitin hedeflediği gözden kaçma ve düşük

immünojenite olgularını desteklemektedir. Promastigotların fagositozunu takiben, tutunma ve bağlanmada önemli rol oynayan parazit ürünleri ve virülans faktörleri tekrar devreye girer. Hücre içi öldürme ve degradatif makrofaj yolları ile interfere olarak parazitin zarar görmeksizin makrofaj içinde yaşamasını ve çoğalmasını sağlarlar (42). Glikoinositolfosfolipid (GIPL) ve inozitolsüz glikosifingolipid'ler parazitin yüzeyi boyunca LPG ve gp63'ün hemen yanında yoğun bir glikokaliks oluşturur. GIPL protein kinaz C (PKC) aktivitesini 'down' regüle etmektedir ve güçlü bir şekilde NOS₂ salınımını inhibe etmektedir (37).

LPG molekülünün fonksiyonları şu şekilde özetlenebilir (37,42):

1. Adezyon moleküllerini (ICAM ve VCAM) ve makrofaj kemotaktik protein-1'i (MCP-1) inhibe ederek makrofaj göçünü engeller.
2. Oksijen radikalleri ile NO üretimi ve NOS2 salınımının inhibisyonu ve protein kinaz C (PKC) sinyal yolunun inhibisyonu üzerinden oksidatif yıkımı engeller.
3. Fagozom-endozom füzyonunu geciktirir (37,42).

Gp 63'ün fonksiyonları ise şöyledir:

1. Makrofaj içi oksidatif yıkım inhibisyonu yapar.
2. Proteaz aktivitesi ile lizozomal sitoliz ve degradasyondan korunma sağlar (37,42).

Bu etkilere, tükrüğün makrofaj anti-leişmanial aktivite baskılama etkisi ve vazodilatasyon etkisi eklendiğinde, parazit promastigottan, dirençli olan amastigot formuna dönüşecek zamanı kazanır (immün yanıt oluşumunu erteleyerek ve geçici olarak baskılayarak zaman kazanır) ve yeterli derecede çoğalarak asıl hedefi olan yeni hücreleri enfekte edecek kapasiteye ulaşır. Bu kapasite sağlandıktan sonra fagozom-sekonder lizozom füzyonu gerçekleşir ve parazitofor vakuol oluşur. Bunu takiben makrofajlar parazit tarafından lizise uğratılır. Enfeksiyon bölgesine gelen diğer mononükleer fagositler ve antijen sunan hücre (ASH) kapasitesine sahip hücreler -özellikle dentritik hücre (DH) sekonder enfeksiyon hedefi haline gelir (42).

Leishmania enfeksiyonlarına direnç ya da duyarlılıktan sorumlu olan immünolojik yolların açığa çıkarılması, immün sistemin Th1/Th2 dengesine bağlı

olan, hücresel-hümmoral polarizasyon farklılığını ortaya koymuştur. Th1/Th2 dengesi, patojenin tipine ve virülans faktörlerine, ASH'lerin "naïve" T hücreleri ile etkileşimlerine ve salgılanan sitokinlere bağlı olarak gelişmektedir. Th1/Th2 dengesinin Th2 yönüne kayması veya Th1 yanıtının baskılanması leşmanyazisden sorumlu olarak düşünölmektedir (42).

İnsanda KL'e karşı direncin, yardımcı T hücre cevabı ile orantılı olduğu gösterilmiştir. İyileşen KL olgularında genelde interferon-gama (IFN- γ) üreten hücrelerinin yoğun olduğu görülürken, kronik kutanöz ve mukozal lezyonlarda interlökin (IL)-4 ve IL-10 üreten Th1 ve Th2 hücrelerinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir. VL'de ise IL-4'ün artışı ile hastalığın seyri arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Hastalığın aktif döneminde dalakta IFN- γ ve IL-4 üretim miktarının arttığı, iyileşme sonrası ise anlamlı ölçüde azaldığı belirlenmiştir (21). KL'ye duyarlılık IL-4 artışı ile oluşan Th2 yanıtı ile ilişkilidir ve hastalıkla sonuçlanır. IL-12 ile yönlendirilen ve IFN γ 'nın dominant olduğu Th1 yanıtı da hastalığın çözölmesi ile sonuçlanmaktadır. Hastalık progresyonundan sorumlu olan Th2 yanıtı, erken dönemde sentezlenen IL-4 ile sağlanır. IL-4, temel olarak IFN γ 'yı ve IL-12'yi baskılayarak Th1 yanıtını baskılar (42).

Leyşmanyazis sırasında, doğal öldürücü (NK=Natural killer) hücrelerin de rol oynadığı bilinmektedir. Salgıladıkları IFN γ üzerinden makrofaj aktivasyonu yapmaları, DH'lerden IL-12 salgısını optimize etmeleri ve aktive T hücrelerinden IL-12 reseptör ekspresyonunu artırmaları suretiyle Th1 yanıtının kurulmasında görev alırlar. Ancak NK'lerin hem kurulum hem idame dönemde varlıkları şart değildir (42).

Leishmania'lara primer konaklık yapan hücre grubu makrofajlardır. Parazitin yüzeyinde eksprese edilen özgül peptitler "Toll benzeri reseptör" (TLR) bağlantısını takiben beklendiği şekilde aktivasyon gerçekleştirmezler. Bu aktivasyon bozukluğu çeşitli mekanizmalarla açıklanabilir (42):

1. Enfekte makrofajlarda aktivasyon ve MHC class I-II artışı başta LPG olmak üzere diğer antijenik determinantlar ile inhibe edilir.

2. Makrofajların bölgesel lenf noduna göçleri inhibe edilir. Bu sayede parazit aktivasyonu engellenmiş makrofajlarda başlangıçtaki sessiz fazı yaşar.

3. Belirli bir süreden sonra sekonder faz başlar. Lezyon oluşumu, inflamatuvar hücre toplanması, DH'lerin enfeksiyonu ve IFN γ artışı ile karakterize olan bu dönemde viseralizasyon için gerekli parazit yükü sağlanmış olur.

4. Parazitin yüzeyinde bulunan bazı peptit ve antijenler TLR'e bağlandığında ya da C ile opsonizasyon sonrası Fc reseptörüne tutunur ve en önemli sitokin olan IL-12'nin salgılanması engellenir. Yapılan çalışmalar parazit antijenlerinin Fc reseptörüne bağlandıktan sonra makrofajın IL-10 salgılamasını tetiklediklerini göstermiştir. IL-12, Th1 tipi immün yanıtta geçişte olduğu kadar, NK hücreleri ve diğer T hücrelerinden IFN γ salgılanması ve makrofajların hücre içi öldürme işlevleri açısından da önemlidir. Bunun nötralizasyonu, hem *L.donovani* hem *L.major* enfeksiyonlarında hastalık gelişimine neden olur. Dolayısıyla tüm *Leishmania* türleri potansiyel ve seçici olarak makrofajlardan sentezlenen IL-12'nin inhibitörü olarak hareket eder. Diğer pro-inflamatuvar sitokinler üzerinde benzer inhibitör etkiye rastlanmamıştır. *Leishmania*'lar, JAK-2 ve STAT-1 fosforilasyon inhibisyonu üzerinden IFN γ veya CD-40 bağımlı IL-12 oluşumunu engellerler. IFN γ 'nın baskılanması, makrofajların temel fonksiyonu olan oksidatif yıkımın da baskılanmasına neden olur. Kostimülatör ekspresyonu da enfeksiyonu takiben parazitin yararına değişmektedir.

5. Makrofaj apoptozunun inhibe edilmesi de parazitin kronikleşmesine olanak sağlamaktadır (42).

Leishmania enfeksiyonu sırasında, öncelikle monosit/makrofajlar ve daha sonra DH'lerin enfeksiyonu, yani sıralı bir parazitizm gözlenmektedir. Bu mekanizma tam olarak açıklanamamakla beraber, DH'lerin promastigotlardan ziyade amastigotları doğal olarak tanıyıp alabildiğine dair bulgular vardır. Dolayısıyla DH'lerin enfeksiyonu daha geç dönemde, amastigotlar makrofaj ve nötrofiller tarafından işlenip dokuya salındıktan sonra gerçekleşir. Yukarıda da bahsedildiği gibi, makrofajların IL-12 sentez yeteneklerinin parazit tarafından inhibisyonu, *Leishmania* enfeksiyonu sırasında aktif olarak bu kilit sitokini sentezleyen ve CD4+ T hücrelerini Th1'e yönlendirme ve primer immün yanıtı indükleme rolünü tamamen DH'lere vermiş olur. DH'ler *Leishmania*'ya özgü T hücre cevabının başlatılması, regülasyonu ve sürdürülmesinde en kritik role sahiptirler (42).

2.9. Klinik

Leyşmanyazis, tatarcıkların çeşitli türlerinin küçük bir ısırığıyla taşınan *Leishmania* cinsi intrasellüler protozoon parazitlerin etken olduğu bir grup hastalıktır (46,47). Kutanöz leyşmanyazisin farklı klinik şekilleri konak-ilişkili faktörlerden konağın immün yanıtı ve konağın yaşına, ısırılma sayısı, inokülasyonla alınan promastigat sayısı ve enfeksiyona neden olan türlere bağlı olarak değişir. Bazen, tek bir *Leishmania* türü, aynı kişide bile farklı özelliklere sahip lezyonlar üretebilir. Deri, mukoza ve mononükleer fagositik sistem değişen derecelerde etkilenebileceğinden dolayı farklı klinik sonuçlar ortaya çıkabilir (3,48,49). Nodüller, yama / plaklar, ülseratif deri lezyonları ve yıkıcı mukozal inflamasyondan visseral leyşmanyazise (kala azar) geniş klinik bulguları oluşturmaktadır (47). İnsanda bu hastalığın 4 paterni vardır. Bunlar; kutanöz leyşmanyazis, diffüz kutanöz leyşmanyazis, mukokutanöz leyşmanyazis ve visseral leyşmanyazisdir (46).

Kala-azar olarak da bilinen VL hastalık tablosu kompleksin en ciddi formudur. Tedavi sağlanamadığı sürece %99 oranında ölümcül seyreden hastalığın en tipik belirtileri, ondülan ateş, hepatosplenomegali, kilo kaybı ve anemidir (42).

2.9.1. Kutanöz Leyşmanyazis: KL çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir. Yaygın bir sınıflama şekline göre; Kutanöz leyşmanyazis ve mukozal leyşmanyazis, coğrafi olarak ve parazitin türüne göre Eski Dünya ve Yeni Dünya kutanöz leyşmanyazis olarak ikiye ayrılır. Eski Dünya KL'de *Phlebotomus*'lar vektör olarak rol oynamakta ve Afrika, Asya, Orta Doğu ve Akdeniz'de endemik kabul edilmektedir. Yeni Dünya KL Güney Amerika'da endemiktir ve *Lutzomyia* cinsi sinekler vektör olarak rol oynamaktadır. Avustralya ve Güney Pasifik leyşmanyazis için endemik bölgeler olarak kabul edilmezler (47,50). Eski Dünya türü en iyi huylu KL'ye neden olurken, hafif deri hastalığından ciddi mukoza lezyonlarına değişen çeşitli lezyonlar Amerikan türleri arasında görülür (47). Eski Dünya kutanöz leyşmanyazisi genellikle açık yarı-kurak hatta çöl şartlarında oluşurken, Yeni Dünya kutanöz leyşmanyazisi çoğunlukla ormanlarla ilişkilidir (2). Eski Dünya KL etkenleri *L. major*, *L. tropica*, *L. aethiopica* ve nadiren, *L. infantum*'dur. Eski Dünya KL, sıklıkla *L. major* (zoonotik KL) nedenlidir ve 2-4 ay içinde iyileşme eğilimindedir. *L. Tropica* tamamen AKL olarak sınırlanmış ve lezyonları 6-15 ay gibi daha uzun süre

kalabilmektedir. *L. infantum* lokalize KL olarak daha az sıklıkla görülmektedir. Yeni Dünya KL'de çoğunlukla *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Viannia) guyanensis*, *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, *Leishmania (Viannia) panamensis*, *Leishmania (Leishmania) mexicana* ve *Leishmania (Viannia) peruana* neden olan ana etkenlerdir (48,51). Eski Dünya ve Yeni Dünya KL klinik alt tiplerinin kliniği, tedavi endikasyonları ve prognozları gibi epidemiyolojisi, neden olan parazitleri, vektörleri, rezervuarları yanı sıra klinik, tedavi endikasyonları ve prognozu da oldukça farklı olduğundan dolayı iki ayrı hastalık olarak değerlendirilmelidir (52).

Eski Dünya kutanöz leşmanyazisinde zoonotik olan şekle yarı kurak bölgelerde rastlanır. Rezervuarı, gündüzcü ve koloni halinde bulunan et yiyen kemirgenlerdir. Etken *L. major*, vektör *P. papatasi* gibi tatarcıklardır. Eski Dünya antroponotik olan KL şeklinde rezervuar insandır. Etken *L. tropica*, vektör *P. sergenti* adı verilen tatarcıklardır. Yeni Dünya'da KL ve MKL genellikle zoonotiktir. Etken *L. braziliensis* ve *L. Mexicana* alt türleriyken, vektör orman tatarcıklarıdır. Bazı leşmanyazis formlarında ise hyrax ve rhombomis denilen tarla farelerine benzer kemirgenler kaynak olarak rol oynarlar (20).

Etkeni *L. tropica* olan kentsel tip KL lezyonlarında belirgin bir eksudasyon oluşmadığı için kuru tip olarak değerlendirilir. Enfeksiyonları "antroponotik ya da kentsel kutanöz leşmanyazis" olarak adlandırılmaktadır. *L. tropica* Orta Asya, Pakistan, Hindistan, Orta Doğu'nun büyük yerleşim yerlerinde endemiktir. Lezyonları genellikle 'kuru' tipte ve üzeri krutludur. Köpek ve insanlar primer rezervuarları arasında olan parazitin *P. sergenti*, *P. papatasi* ve *P. chabaudi* vektörleridir. İnkübasyon süresi, genellikle 2- 4 ay iken, 2 yıla kadar uzayabildiği ve lezyonun 8-12 ayda 1-2 cm'lik boyuta ulaşır, 10-14 ayda genellikle iyileşme ile sonuçlandığı tespit edilmiştir. Lezyonları daha yavaş ilerler ve daha sakin seyredir. *L. tropica*'nın neden olduğu lezyonlar, ısırma yerinde kırmızı, küçük ağrısız bir papül halinde başlar. Papülün dibi kanlanmış görünür. Bazı hallerde papül düz fakat üzeri pullu halde kalır. Çoğunlukla yavaş yavaş büyür, çevresine yayılır, tüberkül veya nodül haline geçer. Lenfanjit ve piyodermi gibi enfeksiyonlar eklenmezse lezyon ağrısızdır ve komşu lenf bezlerini şişirmez (3,24,32,49).

Ülkemizde Eski Dünya KL görülmektedir. Leşmanyazis etkenleri arasında *L.tropica* ve *L. infantum* yer almakta olup tablo 3’de ülkemizde görünen leşmanyazis etkenleri, klinik, vektör ve rezervuar gruplandırılarak gösterilmiştir (34).

Tablo 3. Türkiye’de leşmanyazis etkenleri (34).

Etken Tür	Klinik Form	Vektör	Rezervuar
<i>L. infantum</i>	ZVL, KL	<i>P. neglectus</i> , <i>P. syriacus</i> , <i>P. tobbi</i> , <i>P. Alexandri</i>	Köpek
<i>L. tropica</i>	AKL	<i>P. sergenti</i>	İnsan

L. infantum, genellikle VL nedeni olmakla birlikte Eski Dünya ülkelerinde sporadik KL etkeni olarak bildirilmektedir. Genellikle 0,5–1 cm çapında küçük ve tek ülserle bir nodül oluşturmakta ve sıklıkla yüzde yerleşmektedir. Lezyonlar yavaş iyileşmekte olup yaklaşık bir yılda spontan iyileşir ya da bazen kronik KL ile sonuçlanmaktadır. Avrupa’nın güney kesimlerinde KL’nin en sık nedenidir (32,34,53). Resim 6’da *L. infantum*’un neden olduğu KL lezyonu görülmektedir.

L. major enfeksiyonu; kırsal bölgelerde daha fazla görülmektedir. Enfeksiyonları “zoonotik kutanöz leşmanyazis” olarak adlandırılmaktadır. Orta Asya, Kuzey Afrika ve Orta Doğu’da endemiktir. Kuluçka dönemi bir haftadan iki aya kadar değişebilmekte ve sıklıkla 4 aydan kısadır. Lezyon hızla gelişip, enflamasyonlu ve eksudalı bir yapı kazanır; 2-3 ayda 3- 6 cm boyutlarına ulaşır, 3- 5 ayda iyileşebilir. Lezyon genellikle bacaklarda görülür. Tatarcığın ısırma yerinde ıslak, ülser benzeri bir deri lezyonuna sebep olmakta, papülle başlayan enfeksiyon hızlı akut bir seyir ile 1-3 hafta içinde etrafı iltihaplı olan bir ülserle dönüşmektedir. Dudak ve burundaki lezyonların mukozalara yayılmadığı halde bölgesel lenf nodüllerine yayıldığı bildirilmiştir. *L. tropica* sadece kendi reinfeksiyonlarına karşı

başıklık sağlarken, *L. major* hem kendi reinfeksiyonlarına, hem de *L. tropica* infeksiyonlarına karşı başıklık sağlamaktadır (3,24,32).



Resim 6. *L. infantum*'un neden olduğu KL lezyonu (28)

L. aetropica, Etiyopya, Kenya ve Güneybatı Afrika'da KL etkenidir. Lezyonları, yavaş gelişimi, geç ülserasyonu ve 1-3 yıl veya daha fazla sürede iyileşmesi ile karakterizedir. Enfeksiyonu, bazen deri, bazen mukoza bazen ise yaygın deri leşmanyazisleri şeklinde kendini gösterir. Genellikle lezyonlar ağızda ve burunda görülmektedir. Burun ve ağız mukozasına yakın yerde yerleşenler mukokutanöz yayılım gösterme eğilimindedir ve genellikle organlarda ciddi bir yıkım yapmazlar. Güney Amerika'da görülen mukokütanöz hastalığa benzer. Ancak bundan önemli bir farkı asla oronazal kaviteye atlamamasıdır. Lezyonlar tektir ve çok yavaş gelişmektedir. Satellit oluşursa nodüllerle etrafa yayılarak ilerler. Ülserasyon çok geç oluşmakta veya hiç olmamaktadır (3,32,53).

L. braziliensis ile oluşan hastalığa "Espundia" adı verilmektedir. Orta ve Güney Amerika'da endemiktir. Genelde ekstremitelerde yerleşen, tek, derin ve kenarları yüksek bir ülser yapma eğilimindedir; bu olguların % 80'inin bir yılda

iyileştiği, geri kalan olgularda ise 10 yıla kadar uzayabilen bir süreçte lezyonun devam edebileceği bilinmektedir. *L. braziliensis*'in yol açtığı enfeksiyonların daha sonra mukokütanöz leşmanyazise dönüşme ihtimali yüksektir. Metastatik lezyon, burun ve ağız mukozasını tutarak kıkırdak ve yumuşak dokuların harabiyeti ve şekil değişikliğine neden olmaktadır (24,32,49).

L. mexicana enfeksiyonunda kulaktaki lezyonlar hariç genelde birkaç ayda iyileştirmektedir. Daha çok yüzün yan kısımlarında tek lezyon yapmaktadır ve yaklaşık %60'ı kulak yerleşimlidir. Kulakta tutulumu kıkırdak doku harabiyeti ile birlikte, düzgün sınırlı ve komplikasyonsuzdur. Eğer vektör, kulak kepçesinden ısırırsa "Siklero yarası (Chiclero's ulcer)" adı verilen kronik lezyon ile sonuçlanmaktadır. Kulak kepçesinin kıkırdağında damarlanma az olduğu için bağışık yanıt zayıftır ve olguların %40'ında kulak kepçesi kaybedilmektedir. Deri lezyonları ülser, vejedatif, verrüköz veya nodüler karakterdedir. En sık görülen ülser şekildir (19,20,24).

L. guyanensis enfeksiyonu; açık, sızıntılı ve düzleşmiş ülserli plaklar halinde, gövde veya ekstremitelerde birden fazla sayıda oluşan lezyonlar bulunmakta ve genelde lenfatik yayılım göstermektedir. Bu enfeksiyona Uruguay ve Venezuela'da "pian bois" denilmektedir. Çok sık olarak mantar enfeksiyonları ile karıştırılarak yanlış tanı almaktadır (24,54).

L. amazonensis, nadiren kendiliğinden iyileşen tek ya da çok sayıda lezyonlara neden olur. Orman kemirgenlerinde enfeksiyon yaygın olarak bulunmakta ve insanlar daha az enfekte olmaktadır. *L. amazonensis* enfeksiyonlarının üçte biri DKL ile sonuçlanmaktadır (32).

L. peruviana enfeksiyonu, genelde çocuklarda, yüzde tek veya birkaç ağrısız lezyon şeklinde kendini göstermektedir. 4-5 ay içerisinde kendiliğinden iyileşmekte olan bu enfeksiyona "uta" adı verilmektedir (24,32).

L. panamensis, kendiliğinden iyileşemeyen ülserli lezyonlara sebep olmaktadır. Lenfatik yayılım ve lenf nodlarının tutulumuyla seyretmektedir. Rezervuarı köpek ve maymunlardır. *L. venezuelensis*, genellikle tek ağrısız nodüler

lezyonlara sebep olmaktadır. *L. garnhami* genellikle altı ayda kendiliğinde iyileşebilen tek veya çok sayıda lezyonlara neden olmaktadır (2,24).

Akut KL 10-15 yaş arasında en yüksek prevalansa sahip olup, çocuklarda daha yaygındır. Enfeksiyon, enfekte bir tatarcığın ısırığı sonrası, subklinik olarak kalır ya da 1-12 haftalık bir kuluçka dönemi sonrası ülserasyona ilerleyen bir papül gelişir. Tatarcığın ısırmasından sonra deri lezyonları çıkana kadar ki inkübasyon süresi haftalar ya da aylar arasında değişir. İnkübasyon süresi *L. major* vakalarında 2–8 hafta ve *L. tropica*, *L. aethiopica*, *L. infantum* vakalarında 8–9 ay kadar devam edebilir (2,8,39,40,46,49).

KL enfeksiyonunun ilk belirtisi tatarcığın ısırıldığı yerde küçük bir eritemdir. Isırık yerinde 3-5 mm çapında, tek, asemptomatik, pembe veya kırmızı papül şeklinde başlar. Lezyonlar genellikle yuvarlak ve sınırları kabarıktır. Papül inflame, koyu viyolese ve 'buz dağı' görünümünde yavaş yavaş büyür. Bazen periferik sinir tutulumu sonucu hipoestezi gelişir. Eritemden gelişen papül yada nodül büyürken 2-6 hafta içinde lokalize KL (LKL) için karakteristik merkezinde kabuk bulunan ülsere dönüşür. Bu aşamada, iki fiziksel belirti her zaman mevcuttur: yüzeysel yumuşaklık ve "volkan" işareti. Palpasyonla şiş ve sert olan alttaki dermal lezyonun üzerinde yüzey mobil ve yumuşak hissedilir. Lezyonun ülser ya da kabuğunun kenarı volkan görünümü verecek şekilde yukarı doğru eğilim gösterir. Böylece, lezyonun ortası sığ, kenarı hafif eleve ve indüre görünümü ile karakteristik volkanik krater şeklini alır. Tipik lezyon sıklıkla kuru eksudalı, yapışık bir kabukla kaplı kenarı yükselmiş, ağrısız, indüre ve nekrotik tabanlı bir ülserdir. Hastalar sıklıkla 0,5-3 cm çapında değişen ve genellikle görünen kısımlarda, bir ya da iki lezyona sahiptir (2,8,39,40,46,49).

Bununla birlikte bazı farklılıklar bulunabilmekte olup, bazı lezyonlar ülsere değildir. Genellikle *L. tropica* nedenli Eski Dünya KL lezyonları ülsere olmaz ancak belirgin hiperkeratotik lezyon oluşur. Lenfatik yayımlı satellit lezyonlar sıklıkla oluşur. LKL lezyonlarının şiddeti (örneğin lezyon boyutu), klinik görünümü (örneğin klasik LKL, dissemine ve rezidivan leyşmanyazis gibi) ve spontan iyileşme zamanı değişebilir. Lezyon gelişimi öncesinde lenfatik yayılım ve lenf bezi tutulumu olabilir, bazen sporotrikoid nodüler lenfanjit gelişir. Yaş lezyonlar eksuda ile kaplıdır

ve lezyonlar sekonder bakteriyel veya mantar enfeksiyonları ile yüzeysel olarak komplike olabilir, diğer lezyonlar ise kurudur ve santralı krutludur. Lezyonların yaklaşık %10'unda süperenfeksiyon oluşmaktadır. Primer lezyon ağrısız olmakla birlikte, sekonder bakteriyel enfeksiyonların ağrıya yol açabilmesi yaygındır. Orta Amerika'nın yağmur ormanlarında endemik KL varyantı olan 'Chiclero ülseri' sadece aurikulaı etkiler (2,8,39,40,46,49).

Lezyonun periferik uzantısı genellikle 2 ay sonra durur. Nodül yavaş yavaş spontan iyileşme sürecinde fibrozisle makrofaj granülomlarının yerini gösteren, şiş ve sert klinik bulgusunu kaybeder. Ülsere nodüller 3-6 ay daha bu şekilde devam eder. İlk görünümünden 5-12 ay sonra noduloülseratif lezyon merkezinden gerilemeye başlar ve zaman içinde hiperpigmente ve şekil bozukluğu olan atrofik skar düzensiz ve keskin bir sınır bırakarak kendiliğinden tamamen rezolve olur (39). Hastalığın başlangıcından itibaren spontan iyileşme süresi yaklaşık olarak 2-6 ay (örneğin *L. majör*), 3-9 ay (örneğin *L. mexicana*) veya 6-15 ay (örneğin *L. tropica*, *L. braziliensis*, *L. panamensis*) olmak üzere değişkendir. Spontan iyileşme genellikle aynı *Leishmania* türü ile sınırlı olabilir ya da olmayabilir. Hastalık yaşam boyu koruma ile sonuçlanır. KL'nin spontan olarak iyileşeceği kabul edilsede hem ZKL hem de AKL hastaların yaşamını olumsuz etkileyebilir. Ülseratif dönemde, ZKL iş ve ücret kaybına yol açabilen organ fonksiyon kaybına neden olabilir. Ayrıca spontan iyileşmeye bırakıldığında ömür boyu kalıcı skarlara neden olabilir. Genellikle AKL lezyonları daha kroniktir ve tedavisi daha zor olduğundan rezidivan leşmanyazis olarak bilinen, yıkıcı ve uzun süreli şekil bozukluğuna neden olabilir (2,40,46).

Eski Dünya KL'de klinik olarak hastalığın kuru ve yaş olmak üzere 2 formu bulunmaktadır. "ıslak" ve "kuru" lezyonlar genellikle aynı epidemiyolojik odaklar içinde hatta aynı hastada bir arada olabilir (39).

2.9.1.1. Kentsel Kuru Tip Kutanöz Leşmanyazis; Genellikle *L. tropika* nedenli olup antroponotik, kuru, kentsel veya geç ülseratif form olarak bilinir. İnkübasyon süresi birkaç ay olabileceği gibi bir yıldan daha fazla sürebilir. İnkübasyon süresi sonrası sert, eritematöz bir papül gelişir. Hasta tarafından basit bir böcek ısırması şeklinde algılanan lezyon kaybolmayıp 6 ayda 1-2 cm çapa kadar

ulaşır. Deriden kabarık, sert kıvamlı ve kırmızı lezyonun ortasında zamanla ülserasyon başlar ve üzerinde kaldırılması zor olan bir kabuk oluşur. Kurut kaldırıldığında alt yüzünde pek ince olmayan uzun çıkıntılar görülür (Resim 7). Buna Hulusi Behçet'in "Çivi belirtisi (Signe de clou)" adı verilir. Çivi belirtisi folliküler tıkaçların klinik karşılığıdır. Uzun ve arkadaşlarının (50) 2012 yılında yaptığı 412 olguluk bir çalışmada çivi belirtisi %10 pozitif olarak belirlenmiştir. KL'de %10 pozitif olan çivi belirtisi KL'ye özgü bir bulgu olmamakla birlikte KL tanısında önemli bir klinik bulgudur. Bu uzantılarda paraziti bulmak kolaydır. Çivi belirtisi hastalığın başlangıcından 3-4 ay sonra belirgin olur. Hastaların %63'ü tek ülserle sahipken, % 95'inde lezyon sayısı üçden azdır. Lezyonlarda bol miktarda parazit bulunur. Lezyonların primer yerleşim yeri tatarcığın ısırabileceği vücudun açık bölgeleri (Baş (% 60), ekstremiteler ve gövde) olup yöresel giyim tarzları lezyonların lokalizasyonunu belirleyen faktörlerdir. Ülserlerin %73'ü 2 yıl içinde kendiliğinden iyileşir. *L. aethiopica* nedenli kutanöz leishmaniyazis yavaş seyir, geç ülserasyon, ve 1-3 yıl gibi bir sürede geç iyileşmesi ile karakterizedir. *L. infantum* küçük ülserasyonlu papül ve nodüllere neden olur. Lezyonlar yavaş iyileşirken, bazen kronik iyileşmeyen yaralarla sonuçlanır (3,33,46,50,53,55).

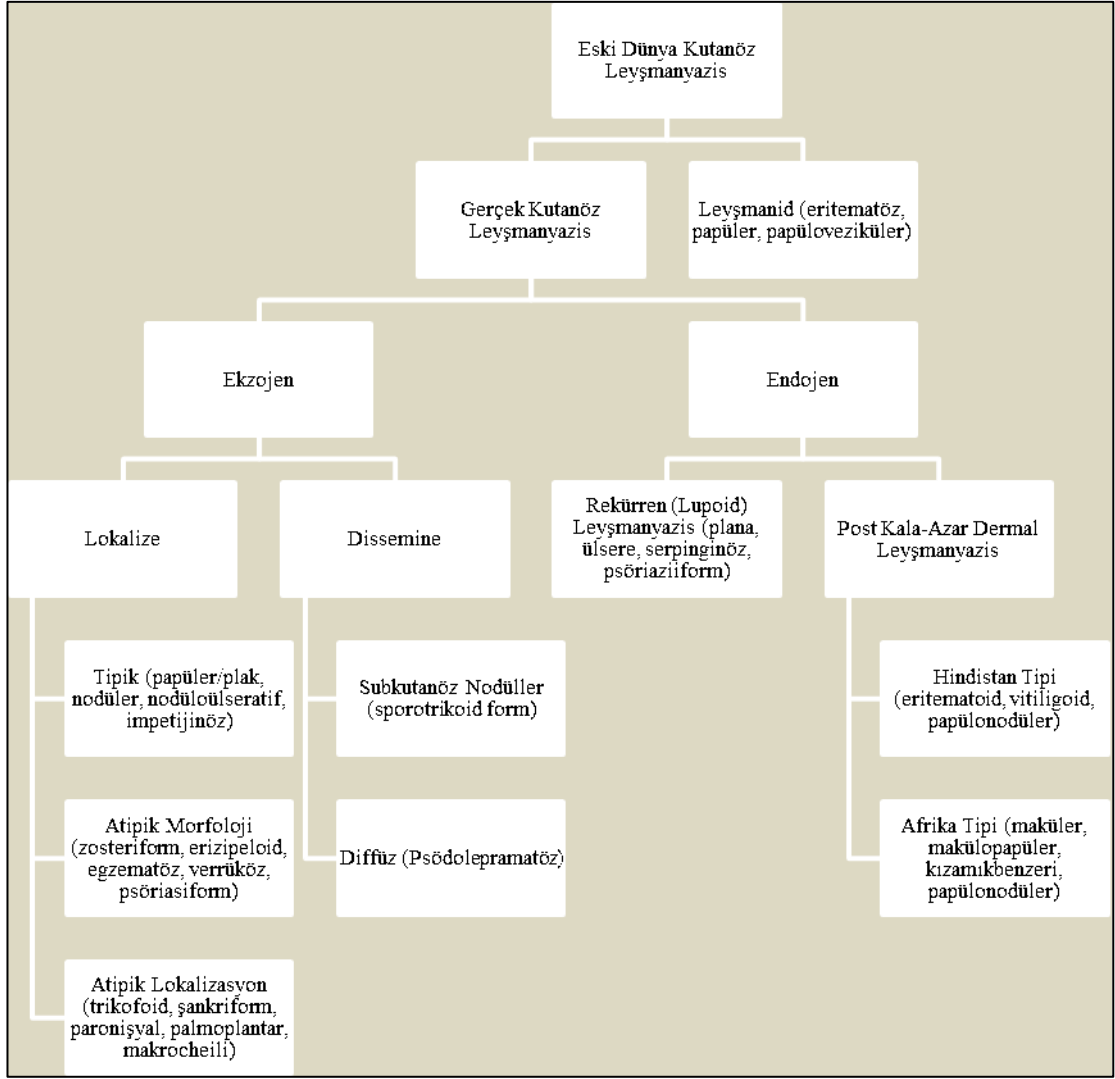


Resim 7. Kutanöz leishmaniyazisli bir olguda kurutun kaldırılması esnasında gözlenen boynuzsu uzantılar (pozitif çivi belirtisi) ve kanama odaklarının görünümü (50).

2.9.1.2. Kırsal Islak Tip Kutanöz Leyşmanyazis; *L. major* enfeksiyonuna sekonder olan yaş tip KL, ıslak ülser, ZKL, kırsal veya erken ülseratif form olarak da bilinir. İnkübasyon süresi genellikle 1-4 hafta iken nadiren 2 aydan daha uzundur. İnkübasyon süresi sonrası fronkül benzeri bir lezyon oluşur. Daha sonra lezyonun etrafında çok sayıda küçük sekonder uydu papüllerin geliştiği lezyonlar (100'den fazla) karakteristik klinik bulgularını oluşturur. Kısa sürede ortadan ülserleşen, deriden hafifçe kabarık ve 3-6 cm çapa kadar ulaşan lezyonun çevresi belirgin fakat düzensiz, eritematöz, sert ve ağrılıdır. Lezyonlarda parazit sayısı az olup iyileştiğinde derin skatrisler bırakır. Yakın bölgelerde lenfanjit ve lenfadenopati gelişebilmekte olup, olguların %70'inde lenf bezleri tutulur. *L. tropica* enfeksiyonundan daha şiddetli olsa da, kendi kendini sınırlayan bir hastalıktır ve genellikle lezyonlar bir yıl içinde düzelir (3,33,46,53,55).

Bir diğer sınıflama ise lezyonun özelliklerine göredir (Şekil 2). Papüler, plak, nodüloülseratif, nodüler, ve impetijinöz formlar KL'nin tipik klinik varyantlarını oluşturmaktadır. Bu tipik formlar KL'nin klinik varyantlarının %86'sını oluşturur. Alışılmadık görünümüler histopatolojik veya parazitolojik testlerle teyit edilebilir, oysa çoğu KL lezyonu tipik olup mevcut herhangi bir tanı zorluğu bulunmamaktadır (39).

2.9.2. Atipik Form: Lezyonlar bazen olağandışı lokalizasyonlar ya da atipik bir morfoloji sergileyebilir. KL bazen atipik form olarak; ekzematöz (56), erizepoloid (57-59), psoriatik (60), verrüköz (61), suçıçeği benzeri zostesiform (57,62,63) ya da sporotrikoid (64-66) morfolojik görünümüleriyle karşımıza çıkabileceği gibi eritema nodosum (67), postoperatif granulom (68), kutanöz miyazis (69), sebaceöz kist (70), şalazyon (71), miçetoma (72,73), kutanöz tüberküloz (74), lenfoproliferatif malignensiler (74), sarkoidoz (74) ve piyodermi (74) benzeri atipik klinik görünümülerle karşımıza çıkabilir. KL genellikle tatarcık sokmasına maruz olan vücudun örtülmeyen alanlarında görülmekle birlikte parmaklar (paronişyal KL), avuç içi ve ayak tabanı (palmoplantar KL), dudaklar, göz kapakları ve genital bölge gibi vücudun atipik lokalizasyonlarında da görülebilir (39).



Şekil 2. Eski Dünya kutanöz leişmanyazisinde sınıflama (39).

2.9.3. Rekürren Leişmanyazis (Rezidivan Leişmanyazis): Antroponotik KL'nin kronik formudur. Nadir görülen (insidans %3-10) bu klinik form ve lupus vulgarise benzer bu yüzden "lupoid leişmanyazis" ya da "geç leişmanyazis" de denir. KL'nin rezidivan formu Ortadoğu'da en sık *L. tropica* enfeksiyonunun bir komplikasyonudur. Yüz ya da maruz kalınan ekstremitelerde yavaşça genişleyen, merkezden iyileşme eğiliminde olan ve uzun yıllar devam eden kronik bir sendromdur. Bu iki hastalık da diyaskopide sıklıkla görülen "elma jölesi" nodül görünümüyle benzerdir. Rezidivan form, eski skarların periferinde aylar ya da yıllar sonra tekrar etmesiyle oluşur. Sıklıkla fasial alanda yer alan bu lezyonlar genellikle

soğuk havalarda oluşur ve sıcak mevsimlerde ülserleşir. Psoriasiform şekilleri olabilir. Nadiren keloidal ve verrüköz formları alt ekstremitelerde görülebilir. Biyopsi örneklerinin incelenmesinde kronik inflamatuvar değişiklikler görülürken, amastigot sayısı azdır. Lezyonlarda parazit nadir olarak bulunduğundan ancak çok dikkatli inceleme ile bulunabilir. Kültürde zor da olsa paraziti üretmek mümkündür. Histopatolojik olarak hem akut, hemde kronik formun ortak özelliklerini taşır. Rezidivan lezyonlar parazitin türlerine karşı özel bir reaksiyon olmayıp, konağın reaksiyonuna bağlıdır. Kronik bir seyir gösterip bazı vakalarda 20-30 yıla kadar uzadığı bildirilmiştir. Tedaviye direnç ve kalıcı kırmızısı-kahverengi papüller bu hastalığın karakteristiğidir (20,39,49,53,55).

2.9.4. Dissemine Formlar; Hastalığın akut formu karakteristik bir soliter lezyon olarak tanımlansa da, endemik bölgelerdeki Eski Dünya KL’de multipl lezyonlar sık görülmektedir. Multipl lezyonlarda öncelikle multipl lezyon mu yoksa dissemine mi olduğu tedavilerinin farklı oluşu nedeniyle ayırt edilmelidir. Dissemine ise sistemik antiparaziter tedavi gerektirirken, multipl lezyonlar topikal tedavi ile tedavi edilebilirler. Multipl lezyonlar enfekte tatarcığın tarafından birkaç kez ısırması sonucu oluşabilir. İnkübasyon süreci içerisinde ki bazı haftalarda tatarcığın tekrar tekrar sokması sonucu da multipl lezyonlar oluşabilir (39).

Bölgesel lenfadenit (% 8.4), *L. major* nedenli KL’nin bir devamıdır. Bölgesel lenfadenit, lezyonların sayısı ile ilişkilidir ancak klinik varyantları ile orantılı değildir. Epitrokleal (% 68), aksiller (% 15) ve servikal (% 11) lenf nodları tercihen tutulur. Etkilenen lenf nodları tek (nadiren 2-3 adet), büyüklüğü 1-2 cm, sert, düzgün, hareketli ve ağrısızdır. Lenf nodları tedavi sırasında küçük değişiklikler gösterir ve deri lezyonları klinik olarak iyileştiğinde her zaman kaybolmazlar (39).

Lokal disseminasyon, önceki antiparaziter tedavi (özellikle kriyoterapi, termoterapi, ve intralezyonel enjeksiyonlar gibi lokal iritanların kullanımı sonrası) ile uyarılmış olabilir. *L. major* ile enfekte hastaların % 5’inin KL lezyonları çevresinde görüntülenen lenfatik damarlarda ‘boncuklu kablo’ görünümünde lenfatik yayılım görülebilir (39).

2.9.5. Diffüz KL; Diffüz kutanöz leşmanyazis KL'nin nadir görülen anerjik formudur. DKL, Güney ve Orta Amerika, Etiyopya ve Kenya bölgelerinde nadiren görülür. Bugüne kadar, DKL Eski Dünya vakalarındaki tüm izolatlarda *L. aethiopica* suşları elde edilmiştir. Afrika'da *L. aethiopica*, Güney Amerika'da *L. amazonensis*, Latin Amerika dışında *L. mexicana* ve Dominik Cumhuriyetinde farklı *Leishmania* türleriyle ilişkilidir. *L. major*'un izole edildiği Etiyopya'lı bir DKL tek bir rapor halinde bulunmaktadır. *L. amazonensis* infeksiyonları %30 olasılıkla DKL ile sonuçlanır. İmmün sistemi baskılanmış kişilerde etyolojik olarak herhangi bir türe bağlı olmaksızın DKL meydana gelir. Bu anlamda en sık HIV-*Leishmania* koinfeksiyonlu olgularda rastlanır. Montenegro antijenine spesifik anerji hali saptandığı, parazit yüklü, ülseratif olmayan nodüller lezyonların başlangıç yerinden yayılarak tüm vücudu kaplayabilir. DKL, LKL ile karşılaştırıldığında spontan iyileşme yoktur ve tedavisi daha zordur. Yaygın deri lezyonlarının görüldüğü multipl nonülseratif papülonodüler ya da lepramatöz lepraya benzer özelliklere sahip infiltratif kutanöz lezyonlar vardır. Lepramatöz lepra benzerliği nedeniyle DKL ilk tanımlandığı vakalarda lepra basilinin şaşırtıcı yokluğu ile dapson-dirençli lepra olarak kabul edildi (2,8,39,49,51).

Yeni Dünya KL'si *L. mexicana* türü ve alt türleri ile ilişkilidir. Papüller yavaş yavaş gelişerek infiltre plaklara ve multipl nodüllere dönüşürler. Oluşturduğu lezyona 'Chiclero's ülseri' denir. Olguların % 40'ı kulaktadır. Kulaktaki enfeksiyonlar dışında birkaç ay içinde kendiliğinden iyileşebilir. Deri lezyonları ülser, vejedatif, verrüköz veya nodüler karakterdedir. En sık görülen ülser şekildir (20,24,33,40,48,51).

DKL, diğer benzeri lezyonlarla çevrili şekilde, genellikle tek nonülser lokalize papül şeklinde başlar. Daha sonra etrafında satellit lezyonlar gelişir. Sonunda yüz ve ekstremitelerde multipl kutanöz nodüller oluşur. Nodüller genellikle parlak ve hafif kırmızı ve sınırları normal deriden belirgin bir şekilde ayrılmaktadır. Lokal yayılım vakaların %30'unda tek olarak başlar ve yavaş ilerler ancak yeni lezyonlar 4 ay ile 11 yıl arasında değişen bir periyod sonrası uzak bölgelerde görülmeye başlar. Bu süreç, simetrik nonülseratif nodüllerle yüz, bacaklar ve kalçalarda uzun yıllar boyunca tekrarlanır. Resim 8'de görüldüğü gibi ekstansör

alanlar en sık ve en yoğun olarak tutulur. Daha proksimalde olan lezyonlar daha yeni ve farklıdır. Daha distal lezyonlar birleşerek el ve ayakları örten bir eldiven şeklinde olup, el ve ayak parmaklarının hareketlerini kısıtlayacak şekilde kalın olabilir ya da kontraktür görünümü verebilir. Hastalık genellikle progresif olup, tedavi etkisizdir. Amastigotlar, deride makrofajlar içinde mevcuttur (39,49).

Bazen Eski Dünya KL'si lokalize kalmaz yada kendiliğinden iyileşmez. Eski Dünya KL'li bir vakada genellikle Yeni Dünya KL'de görülen sporotrikoid lenfatik yayılım bildirilmiştir. Eski Dünya'da nadir görülen DKL, *L. aethiopica* nedenlidir. Bu durum yaygın deri tutulumu ile ağrısız nodüler lezyonlardan oluşur. Lezyonlar verrüköz veya ksantamatöz görünür ve yüze karakteristik bir aslan görünümü verebilir. Mukoza tutulmaz. Tedavi gereklidir ancak çok zaman hayal kırıklığı yaratır(53).



Resim 8. Diffüz kutanöz leişmanyazis (75)

2.9.6. Mukozal Leişmanyazis (Espundia): Mukozal leişmanyazise *L. panamensis*, *L. guyanensis*, *L. amazonensis*, *L. major*, *L. tropika*, ve *L. infantum*

neden olabilmekle birlikte, en yaygın olarak *L. braziliensis* ile ilişkilidir. Genellikle Güney Amerika bölgesiyle sınırlıdır. Mukozal tutulum *L. braziliensis* enfeksiyonlarının en ciddi komplikasyonudur. ML (ayrıca espundia olarak da bilinir) değişen bir oranda yaşamı tehdit edebilir ve şekil bozukluğuna yol açabilir. Sıklıkla endemik bölgelerde LKL enfeksiyonlarının %1-10'u iyileştikten 1-5 yıl sonra ML ile sonuçlanır (2,49).

Latin Amerika'da *L. braziliensis* ile enfekte kişilerin küçük bir yüzdesinde, primer deri lezyonunun iyileşmesinden aylar yada yıllar sonra burun, ağız, farenks ve larenks mukozası lezyonları gelişir. Genellikle burun inflamasyonu ve tıkanıklığı ile başlar ve nazal mukoza ülserasyonu ve septum perforasyonu ile devam eder. Şiddetli ML'de dudaklar, yanaklar, yumuşak damak, farenks ve larenksde tutulum olabilir. Ender durumlarda trakea veya genital bölge etkilenebilir. ML'de asla spontan iyileşme görülmez. Sekonder bakteriyel enfeksiyonlar nedeniyle tedavisi zordur ve potansiyel olarak fetaldir. Doku yıkımı hipererjik bir immün yanıtla bağlı olduğu düşünülmektedir. ML mortalitesi düşüktür, fakat şekil bozukluğu oluşur ve morbidite önemli olabilir. *L. braziliensis* enfeksiyonu olan kişilerde deri lezyonu belirgin hale gelmeden önce lokal lenfadenopati, ateş, ve konstitüsyonel belirtiler olabilir. Amastigotlar muhtemelen enfeksiyonun erken döneminde uzak mukozal odaklara yayılmaktadır (2,49).

Mukoza tutulumu bazen, diğer *Leishmania* türleriyle oluşan enfeksiyonun sonucu olarak ortaya çıkar fakat bu enfeksiyonların patofizyolojisi aynı *L. braziliensis* enfeksiyonunda olduğu gibi açık değildir. Örneğin, mukozaya bitişik lezyondan patojenin yayılmasına sekonder mukoza tutulumu, *L. tropica* nedenli rezidivan leşmanyazis bazı kişilerde görülmektedir (49).

2.9.7. Kronik Leşmanyazis: Bir yıldan uzun süreli KL olguları kronik KL olarak tanımlanır ve KL hastalarının %5-10'unda gelişir. İmmün yanıtın yetersizliği sonucu oluşmaktadır. Sıklıkla yaşlı hastalarda ve belirli *Leishmania* türleri (özellikle *L. tropica*) ile ilişkilidir. Morfolojik olarak kuru tipe benzemekle birlikte lezyonlar iyileşmez ve eritematöz nodül yada plaklar şeklinde birkaç yıl devam eder. Klinik olarak iyileşmeyen, kurutlu, küçük, eritematöz plaklar şeklindedir. Lezyonlar sıklıkla yüzde görülür. Kronik KL birkaç yıl sürer ve düşük parazit yüküne sahip olduğundan

smear ve histopatoloji ile tanı koymak ve diğer granüloamatöz hastalıklardan ayırmak zordur. Genellikle ülserle olmaz ve antileişmaniyal tedaviye orta derecede dirençlidir (3,39).

2.9.8. Post-Kala-Azar Dermal Leişmanyazis: PKDL, visseral leişmanyazisin bir komplikasyonudur. Vakaların çoğu Hint yarımadasında (Hindistan, Nepal, Bangladeş) ve Doğu Afrika'da (Sudan, Etiyopya, Kenya) görölmektedir ve etken ajan *L. donovani*'dir. Bu bölgelerde VL hastalarının %5-60'ında tedavi sürecinde ya da sonrasında PKDL gelişir (Resim 9). *L. infantum* ve *L. archibaldi*'nin PKDL'de etken ajan olarak rolü sorgulandığı literatürlerde tartışma konusu olarak günümüzde aktif yerini korumaktadır (39).



Resim 9. Post-Kala-Azar dermal leişmanyazis (PKDL) (76)

PKDL ekzojen olmayıp, hematojen olduğundan dolayı erken makuler lezyon, subpapiller pleksus etrafında izole perivasküler infiltrasyon ile başlar. Lezyonların büyümesiyle epidermis incilir ve hipopigmentasyon gelişir. Daha ileri lezyonlarda eritematöz papül ve nodül oluşur. Lenfosit ve plazma hücrelerinin yoğun

infiltrasyonu PKDL için ayırt edici bir özelliktir. Diğer karakteristik özellikleri arasında erken lezyonlarda dermal papilla ödemi ve epidermiste küçük Pautrier benzeri apseler yer alır (39).

2.9.9. Leşmanid: KL'nin nadir görülen bir klinik sonucudur. Erüpsiyonlar primer KL odağından farklı odaklarda oluşur. Leşmanid akut leşmanyazisde tanımlanmıştır ancak rekürren leşmanyazisde de görülebilir. Bazen eritematöz, papüler ya da papüloveziküler ani başlangıçlı lezyonlar tedaviyle ilişkilidir. Her zaman 2-8 hafta içinde düzelir ve tedaviyi kesmeyi gerektirmez. Sistemik bir hipersensivite reaksiyonu olan leşmanidde lezyonlar, deri rengi ya da pembemsi, asemptomatik, simetrik ve yaygındır. Leşmanın deri testi kuvvetli pozitifdir. Histolojik olarak amastigotların görülmediği, lenfosit hakimiyeti bulunan spongiotik dermatit görülür (39).

Küçük satellit papüller lezyonun periferinde gelişebilir. Bunlar genellikle primer leşmanial lezyonların enflamatuvar bileşenlerine karşı oluşan alerjik reaksiyonu temsil eder. 'Berlin' tarafından bu lezyonlar için tüberkülid gibi diğer id reaksiyonlarına paralel olarak 'leşmanid' terimini önerildi (39).

2.10. Ayırıcı Tanı

Kutanöz leşmanyazis ayırıcı tanısında impetigo, erizipel, ektima, paronişi, ekzema, diskoid lupus eritematozus, sarkoidoz, lupus vulgaris, nonspesifik tropikal ya da travmatik ülser, venöz staz ülseri, blastomikoz, kromomikoz, sporotrikoz, lepra, yavs, miyazis, sifiliz, böcek ısırığı reaksiyonu, kutanöz şarbon ve neoplazmlar yer alır (9,49,77).

2.11. Tanı

KL tanısı için klinik öntanı önemli bir yer oluşturmaktadır. Hastanın anamnezi, KL öntanısı için hastanın yaşadığı coğrafik bölge öntanıda önemli bir ipucu olabilir. Çünkü hastalık belli bölgelerde endemik olarak görülmektedir. Özellikle Güneydoğu Anadolu ve Doğu Akdeniz bölgeleri endemik bölge olmakla

birlikte şehirleşme ve göçler nedeniyle diğer bölgelerimizde de sporadik vakalar görülebilmektedir. Bu nedenle endemik bölgede yaşama ve endemik bölgeye olan seyahatler sorgulanmalıdır. Endemik bölgede yaşayan yada endemik yerleşim birimine seyahat hikayesi olan ve özellikle vücudun açık bölgelerine yerleşmiş, uzun süredir iyileşmeyen, eritemli papül, nodül veya ülser şeklinde deri lezyonu olan tüm olgularda mutlaka KL akla getirilmelidir.

Sağlık Bakanlığı'nın organizasyonunda Parazitoloji ve Dermatoloji uzmanları tarafından hazırlanan 'Şark çıbanı konulu' yayınında "KL olgularında klinik yaklaşım" aşağıdaki şekilde tarif edilmiştir (7):

-Genellikle vücudun giysi ile örtülmeyen açık olan kısımlarındaki deriye lokalize

-Uzun süredir (en az 1 ay) iyileşmeyen,

-Sekonder olarak bakterilerle enfekte olmadıkça ağrısız,

-Eritemli papül, nodül, nodülo-ülseratif, plak, ülsere plak şeklinde lezyon,

-Ülserleşmiş lezyonların üzerinde alta sıkıca yapışık krutlu, kenarları lastik silgi kıvamında endürasyon gösteren (merkezi krateri olan volkan biçiminde) lezyon,

-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 giderek büyüyerek 1-2 cm çaplı nodüle dönüşür. Nodüler lezyon zaman içerisinde merkezden ülserleşerek krutla kaplanır. Tedavisiz olgularda lezyonun doğal seyri, genellikle 1-1,5 yıllık süreç içinde ömür boyu süren depresif skar bırakarak iyileşme şeklindedir. İyileşmeden sonra kişiyi ömür boyu reenfeksiyonlara karşı koruyan doğal bir bağışıklık gelişir (7).

Hastalığın bu özellikleri tanıya yaklaşımı kolaylaştırması bakımından önemli bir yer tutar. Ancak KL lezyonlarına benzeyen diğer deri hastalıkları (özellikle uzun anamnezleri olan deri kanserleri ve deri tüberkülozu gibi) da yanlışlıkla KL tanısı alabilir. Bu nedenle klinik olarak KL düşünülen bütün olgular mutlaka bir laboratuvar yöntemi ile doğrulanarak tanı kesinleştirilmelidir. Amastigotların varlığı lezyon süresine göre değişir bu sebeple kronik lezyonlarda parazit saptanamayabilir. Bu nedenle duyarlılığı ve özgüllüğü en üst düzeye çıkarmak için, direkt mikroskopi,

histopatoloji, kültür ve PZR gibi testlerin yapılması gerekebilir. Ancak Kronik lezyonlarda parazit saptanamayabilir. Bu nedenle endemik bölgelerde 6 aydan daha uzun süredir var olan, klinik olarak KL düşündürülen ancak parazitolojik tanı yöntemleriyle tanı konamayan olgularda tedaviden de tanıya gidilebilir. İntalezyonel antimon bileşikleri ile 3-5 injeksiyon sonrası klinik düzelme oluyorsa tanı da doğrulanmış olacaktır (8,9).

2.11.1. Direk Mikroskopik İnceleme; Mikroskopik inceleme smear, biyopsi ve ince iğne aspirasyonunu içerir. KL tanısında en sık kullanılan yöntemlerdir (2).

Smear Yöntemi; KL düşünülen lezyon öncelikle %70'lik alkol ile temizlenir. Daha sonra lezyonun sağlam deriyle birleştiği sınır çizgisi iki parmak arasında sıkılarak bir bistüri (tercihen 15 numaralı) yardımıyla yaklaşık olarak 0,5 cm uzunluğunda ve 2-3 mm derinliğinde küçük bir insizyon yapılır. İnsizyon yerinde ki kan temizlenirken aynı zamanda iki parmak arasında sıkılarak kanaması önlenir. İnsizyon yeri bisturiyle kazınarak ya da lezyon ülserine ise ince bir pipet yardımıyla lezyondan kansız seröz örnek alınır. Lezyondan alınarak nazik bir şekilde lama yayılan örnek metanol ile fikse edilme işlemi sonrası Giemsa ya da Wright boyasıyla boyanarak mikroskopta (x100'lük imersiyon objektifte) incelenir. İncelenen preparatta hücre dışında veya içinde amastigotların görülmesi ile klinik tanı doğrulanır. Tek preparat tanıda yeterli olabilmekle birlikte, 5 smear yapmak testin duyarlılığını artırır. Genellikle lezyon süresi 3 aydan kısa lezyonlarda parazit daha kolay gösterilebilirken, 6 aydan sonra paraziti göstermek güçleşmektedir (3,6,7).

“*Leishmania* cisimcikleri” de denilen amastigotlar; bir kenarında koyu mor renkli nükleosu ve hemen yanında kinetoplastı görülen, sitoplazması soluk mavi-mor renkli oval ya da yuvarlak yapılar şeklinde görünür. Leishmanyazisin bütün tiplerinde olduğu gibi KL enfeksiyonunda da mononükleer fagositik hücrelerin içinde 2–5 µm boyutundaki amastigotların varlığını saptamak oldukça güç olmaktadır. Amastigotların etrafını çeviren plazma membranı, koyu boyanan ve daha büyükçe bir çekirdek ile nispeten küçük yine koyu boyanan ve DNA içeren çubuk şekilli kinetoplast ile ayırt edilebilmektedir (3,32).

Biyopsi; Örnek alınan yer parazitolojik duyarlılığı etkilemektedir. En üst düzeyde duyarlılık için, insizyonel biyopsileri lezyonun tabanı ya da merkezinden ziyade lezyonun aktif kenarından alınmalıdır (8). Ülser kenarından alınan biyopsi materyali kültür ekimi için kullanılabileceği gibi fikse edilerek Giemsa veya Hematoksilen eozin (H+E) ile boyanabilir. Giemsa ile parazitler araştırılır, H+E yöntemi ile histolojik inceleme yapılabilir. Biyopsi materyalinden hazırlanacak preparatlar yine Giemsa ile boyanabilirler. Smear yöntemine göre duyarlılığı daha düşük olan bu yöntemle histolojik olarak leşmanyaya granümları gösterilebilir. Ancak kronik ve rezidivan olgularda leşmanyazis, tüberküloz ve sarkoidoz gibi diğer diğer tüberküloid patolojilerden ayırt edilemeyebilir. Akut formlarda gözlenen granülom yapılarının duyarlılığı ise daha yüksektir (25). Amastigotlar dermal makrofajlar içerisinde ve kinetoplastlarının varlığıyla kolayca ayırt edilir.

Histopatolojik İnceleme; Dermis boyunca yoğun ve diffüz inflamasyon vardır. Nadiren, inflamasyon ve epidermis arasında bir Grenz bölge görülebilir. İnfiltrat ağırlıklı olarak çok çekirdekli dev hücreler ve lenfositlerden oluşur. Plazma hücreleri değişken miktarlarda bulunabilir ve immünglobulin ürünü içeren eozinofilik Russel cisimcikleri içerebilir. Nötrofil ve eozinofil değişken miktarlarda mevcuttur ama genellikle az sayıdadır. Dermis infiltrasyonca doldukça adneksiyal yapılarda kayıp görülebilir. Parazit öncelikle olarak makrofajların içinde bulunmakla birlikte, çok sayıda olduğunda, ekstraselüler alanda da görülebilir. Erken akut bir lezyon içerisinde nadiren granülom oluşumu görülebilir. Lezyon ilerledikçe, epitelooid granümlar üst dermiste görünür ve dermisin tamamı dolabilir. Langhans dev hücreler bulunabilir. Granümlar histiyosit ve lenfositleri infiltrasyonu ile hafif-orta düzeyde çevrilidir. Çok sayıda plazma hücrelerinin akut KL lezyonlarının geç dönemlerinde görülebilir. Bu evrede akut KL vakalarının yaklaşık yarısında Leşman cisimleri (makrofajların içindeki amastigotlar) tanımlanabilir. Nadiren dermal kollajen nekrozu vardır. Elastik lifler ve adneksiyal yapıları kaybı, klinik olarak atrofik skar şeklinde görünür (33,40).

Epidermal değişiklikler oldukça değişkendir. Parakeratoz bulunan veya bulunmayan hiperkeratoz olabilir. Hem atrofi ve hemde epidermal akantoz görülebilir. Zaman zaman, akantoz psödoepitelyomatöz epidermal hiperplaziye

yaklaşabilir. Bazal hücre tabakasının folliküler tıkaçları ve hidropik dejenerasyonu bulunabilir. İntraepidermal mikroabseler ya da epidermis içinde bulunan *Leishmania* parazitleri nadirdir (33,40).

2.11.2. Kültür yöntemleri; Türlerin belirlenmesi ve tanımlanmasında bilgi sağlayan yöntemler olmasına rağmen teknik uzmanlık gerektirmesi, zaman alıcı ve pahalı olması dezavantajını oluşturur. Bu tekniklerin duyarlılığı düşük olma eğiliminde olmakla birlikte, biyopsi örneklerinde parazit sayısı ve dağılımına, teknik uzmanlık ve kültür ortamlarına bağlı olarak çok değişken olabilir (2). *Leishmania* organizmaları güç üreyen parazitler olup, ancak Novy-MacNeal-Nicolle besiyeri (NNN), modifiye Evan'ın besiyeri ve Schneider'in insect besiyeri gibi özel kültür ortamlarında üretilebilir. Kültürlerde çoğalma için genellikle 3-8 gün gerektirir, ancak kültür negatif olarak değerlendirilmesi için örneklerin 4 hafta boyunca saklanması gerekir (53). Lezyonun bulunduğu bölgeden, lezyonu kanatmadan alınan materyal N.N.N, RPMI (Media Designed at Roswell Park Memorial Institute) modifikasyonları RPMI 1629, RPMI 1630, RPMI 1640 ve Schneider'ın besiyeri başta olmak üzere çeşitli besiyerlerine ekim yapılarak amastigotların promastigotlara dönüşüp dönüşmediği kontrol edilir (32).

Duyarlılığı %30-40 olan bu yöntem, mikrokültür tekniğiyle duyarlılığı oldukça yükselmiştir. Özellikle yaymanın negatif olduğu olgularda klasik kültür yöntemlerine göre daha hızlı, daha duyarlı ve daha ucuz olması nedeniyle KL tanısında öne çıkan bir yöntem olmuştur (25).

2.11.3. Serolojik Yöntemler; KL tanısında Floresan antikor (FA), direk aglütinasyon (DA), kompleman birleşmesi ve western blot analizi gibi pek çok serolojik test kullanılmaktadır (32). Hassasiyet ve duyarlılığındaki değişkenlikten dolayı serolojik tanı KL tanısında nadiren kullanılır. Yüksek duyarlılık ve hassasiyete sahip, basit bir yöntem olan Montenegro testi (Leişmanın deri testi) zaman zaman epidemiyolojik çalışmalarda kullanılmaktadır (2,26).

Montenegro testi, fenolize edilmiş promastigot içeren test solüsyonunun önkol iç yüzüne 0,1 ml intradermal olarak enjekte edilmesini takiben 48-72 saat sonra oluşan endürasyon değerlendirilir. Gelişen endürasyon 5 mm ve üzerinde ise

pozitif kabul edilir. KL'de serolojik yöntemlerle çok düşük titrede saptanabilen veya hiç saptanamayan antikorlar oluştuğu için tanıda serolojik test tercih edilmemektedir. Montenegro testi hücresele bağışıklığı göstermekte olup lezyon kabuklanmaya başlar başlamaz pozitif olmakta ve süresiz olarak öyle kalmaktadır. Ancak bu testler eski ve yeni enfeksiyonu ayırt edememektedir. Aynı zamanda 1 aydan daha kısa süreli KL hastalarında ve anejik durumlarda yanlış negatiflik olabilir (19,32,53).

2.11.4. Moleküler Yöntemler; KL için moleküler parazitolojik tanı yöntemleri son 10-20 yılda yoğun olarak geliştirilmiş ve yakın zamanda gözden geçirilmiştir. PZR tabanlı yöntemler düşük parazit yükü bulunan olgularda (örneğin mukozal leşmanyazis) tercih edilir. Özellikle kutanöz leşmanyazisli hastalarda tedavi monitörizasyonunu sağlar. Klasik parazitolojik tanı yöntemleriyle karşılaştırıldığında özgüllüğü %100 iken duyarlılığı lokalize KL'de %20-30, ML'de %55-70'dir. Moleküler tanı yöntemleri alanında önemli gelişmeler olmasına rağmen önemli bir laboratuvar altyapısı, teknik uzmanlık ve maliyet gereksinimi nedeniyle hala yaygın kullanımı engellenmektedir. Bu engeller aşılana kadar, sadece referans tanı yöntemleri olarak kullanımı sınırlı olacaktır (2). Bu yöntemde, çeşitli moleküler yöntemler ile enfeksiyonun tanısı için *Leishmania* DNA'sını bulma ve türlerin tanımlanması hedeflenmiştir. Son yıllarda hastalığın tanısında kinetoplast DNA'sının yapısı, antijen incelemeleriyle türlerinin tanımlanması yoluna gidilmiştir. *Leishmania*'ya özgü olarak belirlenen primerler ile PZR amplifikasyonu yapılarak (nükleer veya minicircle kinetoplast DNA, subunit suRNA veya miniekson DNA sekansları) tür tayini tespit edilmektedir. *Leishmania* türlerini tiplendirmek için kullanılan metodlar multipleks PZR, rastgele amplifiye polimorfik DNA (RAPD), single-strand konformasyon polimorfizimi, restriksiyon fragment length polimorfizm (RFLP) ve DNA dizi analizi kullanılmaktadır. DNA'ya dayalı bu genotipik moleküler teknikler diğer tanı yöntemlerine oranla daha güvenilir ve spesifiktir (32).

2.11.4.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR); Polimeraz zincir reaksiyonu, herhangi bir organizmaya ait dizisi bilinen bir DNA özgül bölgesinin in vitro koşullarda çoğaltılarak (amplifikasyonu) DNA molekülünün milyonlarca, hatta milyarlarca kopyasını kısa zamanda yapmaya olanak sağlayan basit, özgün ve güvenilir bir DNA sentez yöntemidir. İlk olarak Kary Mullis tarafından 1985'de

bulunmuş ve 1993 yılında bu çalışma ile Nobel Kimya ödülü'nü kazanmıştır. Dizisi bilinen iki bölge arasındaki gen parçasını özgü primerler kullanılarak in vitro koşullarda genomik DNA'nın milyonlarca hatta milyarlarca kopyasını kısa zamanda yaparak, konsantrasyonunun moleküler açıdan değerlendirilebilir düzeye çıkartılması esasına dayanır (20,32,78,79).

PZR uygulamaları için ilgili gen bölgesine ait baz dizisinin bilinmesi gereklidir. Metod basitçe tüpte nükleik asitlerin uygun koşullarda çoğaltılması esasına dayanır. Bu yöntem hücre içinde gerçekleşen doğal replikasyonun bir tüp içinde taklit edilmesidir. PZR ile DNA'nın çoğaltılabilmesi için tepkime karışımında; çoğaltılacak olan kalıp DNA, bu DNA da çoğaltılması planlanan bölgedeki DNA dizisini özgül olarak tanıyıp bağlanacak olan primerler, enzim olarak Taq polimeraz, sentezde kullanılacak deoksinükleotid trifosfatlar, polimerazın çalışması için tampon görevi yapacak maddeler bulunmalıdır. Bu yöntemle RNA çoğaltılmak istenirse bunun önce reverse transkriptase kullanılarak DNA kopyası çıkarılır ve PZR ile bu DNA molekülü çoğaltılır (20).

Polimeraz Zincir Tepkimesinin Bileşenleri; Polimeraz zincir tepkimesinin kesin koşulları ve döngünün her bir basamağının zamanı; örnek, amplifiye olacak bölgenin uzunluğu ve primerlerin dizisi tarafından belirlenir. Tepkime koşulları değişken olup en yüksek duyarlılık için dikkatlice yönetilmeye ve en verimli hale getirilmeye gereksinim duyar. Bu nedenle en uygun koşullar aşağıda sıralanmış PZR bileşenlerinde yapılacak düzenlemeler ile sağlanır (32,78):

- 1- Çoğaltılacak DNA bölgesini içeren DNA kalıbı,
- 2- Çoğaltılacak bölgenin başını ve sonunu belirleyen iki primer,
- 3- Çoğaltılacak bölgeyi kopyalayacak olan DNA polimeraz enzimi,
- 4- Yeni zincirin yapımında kullanılacak olan nükleotid trifosfatlar,
- 5- DNA polimeraz enzimi için gerekli olan kimyasal ortamı sağlayan tampon sistemi.
- 6- Magnezyum Derişimi
- 7- Isılar ve Döngü Sayısı (32,78)

Magnezyum (Mg) Derişimi: Mg iyonu, primer ile DNA arasındaki bağlanmayı ve DNA polimerazın kalıp-primer kompleksi ile birleşerek oluşturduğu

replikasyon kompleksini stabilize eder. Taq DNA polimeraz kalıp DNA, primerler ve dNTP'ler (Deoksinükleotit trifosfat) ile bağlanışın üzerinde serbest magnezyum gerektirmektedir. Önerilen konsantrasyon aralığı 1-4 mM'dır (32,78).

Kalıp DNA miktarı: Hedef diziler doğrusal DNA'lardan çok kapalı dairesel DNA'ları da taşıdığından belirgin şekilde daha az etkin olarak amplifiye edilir. Bundan dolayı polimeraz zincir tepkimesinde kalıp olarak kullanılmadan önce plazmit DNA'ları doğrusal hale getirmek gerekir. PZR oldukça etkili bir teknik olduğu için çok küçük DNA miktarları yeterlidir. Kalıp DNA'daki hedef dizilerin derişimi belirgin olarak koşullara göre değişir ve sıklıkla araştırmacının kontrolü altında değildir. Genellikle 50 µL reaksiyon karışımı için 0.1-1 µg genomik DNA kullanılır (32,78).

Enzim: En çok kullanılan DNA polimeraz *Thermus aquaticus* adı verilen termofilik bakteriden izole edilir ki buna Taq DNA polimeraz adı verilir. Taq polimeraz enziminin hata yapma oranı oldukça yüksektir. Çünkü bu enzimin 3'-5' hata tamiri (proofreading) aktivitesi yoktur. Eğer yüksek oranda doğruluk gerekiyorsa "proofreading" aktivitesi olan enzimler tercih edilmelidir. Kullanılan enzim miktarının artırılması PZR etkinliğini artırır. 50 µL reaksiyon karışımı için 1-1.5 U taq polimeraz kullanılır. Taq polimeraz enzim derişimi yüksek ise jel görüntüsünde özgül olmayan arka plan ürünler oluşabildiği gibi düşük olduğu durumlarda istenilen PZR tepkime ürünleri elde edilemez (32,78,79).

Deoksinükleotit Trifosfatlar (dNTP): Reaksiyon karışımında her bir dNTP'nin konsantrasyonu genelde 200 µM'dır. Reaksiyon karışımında her bir dNTP'den eşit miktarda bulunması oldukça önemlidir. PZR'nin hem özgülüğü hem de doğruluğu düşük dNTP derişimleri kullanılarak artırılır. Düşük dNTP derişimleri hedef olmayan yörelerde hatalı kullanımı en aza indirger ve hatalı birleşmiş nükleotitlerin uzama olasılığını azaltır. Büyük PZR fragmanlarının amplifikasyonu için daha fazla dNTP kullanılması gerekir (32,78).

Oligonükleotitler (Primerler): Bir PZR'de başarılı bir amplifikasyon için oligonükleotitler (primerler) doğru tasarlanmalıdır. Primerlerin konsantrasyonu 3 µM'a kadar artırılabilir. Ancak yüksek primer/kalıp oranı spesifik olmayan

amplifikasyonlara ve primer dimerlerinin oluşumuna neden olur. Primerin 0,1–0,5 µM arasındaki derişimi genellikle en elverişli olanıdır. Daha yüksek primer derişimleri hatalı dizilimlemeye neden olabilmektedir (32,78).

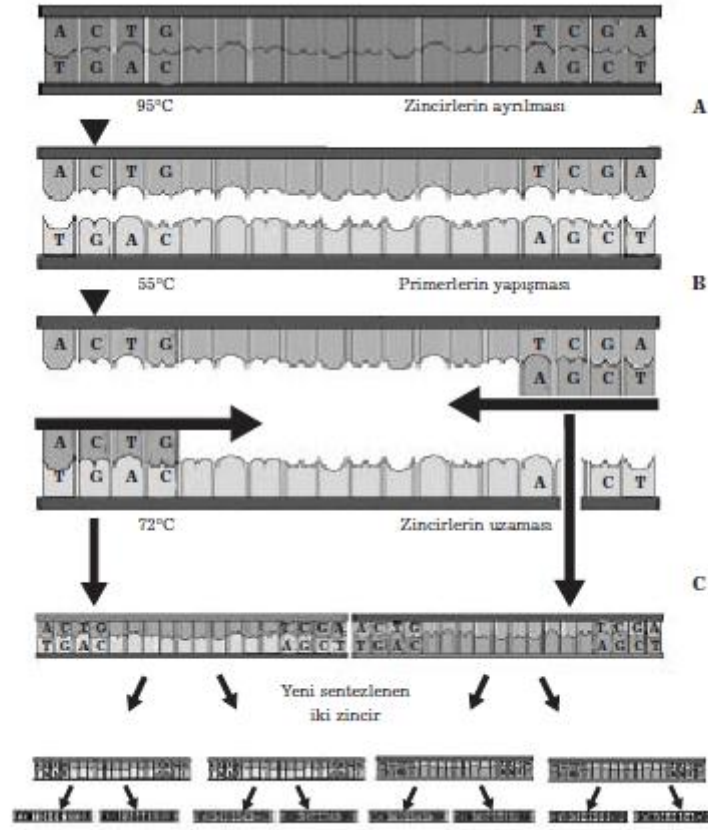
Tipik olarak primerler %50–60 Guanin+Sitosin (G+C) bileşimine sahip 18–28 baz uzunluğundaki nükleotitlerdir. Bir primer çiftinin hesaplanmış primer yapışma sıcaklığı (Tm) dengelenmiş olmalıdır. Bu amaç için pratik olarak Adenin (A) veya Timin (T) için 20C, Guanin (G) veya Sitosin (C) için 40C’lik hesaplama kullanılabilir. Uygulamaya bağlı olarak 550C ile 800C arasında Tm istenilir. Primer-dimer kalıntılarının oluşumuna neden olması ve istenilen ürün verimini azaltması nedeniyle primer çiftlerinin 3’ uçlarındaki eşleşmeden sakınılmalıdır. Ayrıca primerlerin 3’ uçlarında C ve G’lerin serbestçe kullanımı (3 ya da daha fazla) G+C’den zengin dizilerde hatalı dizilimlemeler oluşturulabilir. Olası ise primerler içinde palindromik diziler olmasından sakınılmalıdır (32).

Tampon İçeriği: PZR için önerilen tampon 10–50 mM derişimdeki 20 °C’de PH 8,3 ile PH 8,8 arasındaki Tris HCl’dir. Tamponun içerisine primer yapışmasını kolaylaştırdığı için potasyum klorür (KCl) veya sodyum klorür (NaCl) eklenebilmektedir. NaCl ve KCl 50 mM üzerindeki derişimlerde Taq polimeraz enziminin etkisini engellemektedir. Jelatin ve Bovin serum albumin (BSA, 100 µg/ml) ve Tween 20 veya Laureth 12 (%0.05–0.1) gibi iyonik olmayan deterjanlar enzimi kararlı kılmada yardımcı olurlar (32).

Isılar ve Döngü Sayısı: Tipik denatürasyon koşulları 95 °C de 30 saniye veya 97 °C de 15 saniyedir. Zincir ayrışma ısısında (Tss) DNA’yı denatüre etmek yalnızca birkaç saniye sürmektedir (32).

PZR işlemi şekil 3’de şematize edildiği gibi tekrarlayan 3 aşamadan oluşur;

1. Denatürasyon: Çoğaltılacak DNA denatüre edilerek tek zincirli hale getirilir. Çift zincirli DNA tek zincirli hale gelene kadar ısıtılır. Alternatif olarak denatürasyonu kolaylaştırmak için reaksiyona gliserol, dimetilsülfoksit (DMSO) ve formamid gibi kimyasallar eklenebilir (90-95°C de yaklaşık 5 dk) (20,78).



Şekil 3. PZR reaksiyonunun şematik olarak gösterilmesi (78).

2. Hibridizasyon (Annealing): Sıcaklık 50 ile 70 °C arasında bir değere düşürülür ve primerlerin tek zincirli hale getirilmiş DNA'ya bağlanması sağlanır. Bu primerler yapay oligonükleotitlerdir (15-30 nükleotitlik). Bunlar çoğaltılacak DNA kısmının uçlarındaki tamamlayıcı dizilere özgül olarak bağlanır. Bu primerler, kalıp DNA'nın sentezi için, başlangıç noktası olarak görev yaparlar. Primerlerin ayrılmış DNA zincirleri üzerinde komplementer oldukları bölgelere eşleşip kalıp DNA zinciri ile primer arasında hidrojen bağlarının oluşmasının sağlanacağı bir sıcaklık derecesi vardır. T_m (erime noktası = melting temperature) adını alan bu sıcaklık derecesi primer dizisinin baz içeriğine göre değişir. Primerdeki G (guanin) ve C (sitozin) sayısı arttıkça T_m derecesi de artar. $T_m = 4 (G + C) + 2 (A + T)$. Optimal "annealing" sıcaklığı T_m derecesinden 5°C daha düşüktür. 0.5-2 dakika "annealing" için yeterlidir. Eğer spesifik olmayan PZR ürünleri elde ediliyorsa her defasında "annealing" derecesi 1-2°C artırılarak optimize edilebilir (20,78).

3. Zincir uzaması-polimerizasyon (extention): Zincir uzaması taq polimerazın aktivitesinin en yüksek olduğu 70-75°C arasında, primerlere bağlanmış olan enzim molekülleri 3' ucuna kalıp DNA'ya uygun nükleotidleri ekleyerek gerçekleştirilir. 2 kb'a kadar olan PZR ürünlerinin oluşturulması için bir dakika süre yeterlidir. Daha uzun DNA fragmanlarının çoğaltılabilmesi için bu süreye her kb için bir dakika eklenmelidir (20,78).

Bu üç basamak bir ısı değişimi döngüsünü oluşturur, her tekrarlanışında iki primer arasında kalan özgül DNA parçasının her iki zincirinin birer kopyası çıkarılmış olur. Ardı ardına tekrarlanan bu ısı değişimi döngüsünde (denatürasyon, primerlerin bağlanması ve primerlerin uzaması evreleriyle) DNA zincirlerinin sayısı her döngüde 2 katına çıkar ve bu tekrarlanan her döngü ile DNA geometrik olarak artmış olur (20,79).

Sentezlenen DNA ürününün saptanması, çoğaltılan DNA parçalarının gösterilmesi için en yaygın olarak kullanılan yöntem, agaroz veya poliakrilamid jel elektroforezidir. Elektroforez ile boylarına göre ayrıştırılan DNA zincirleri etidyum bromür ile boyanarak ultraviyole ışığı altında floresans vererek görünür hale getirilir. Elektroforez de PZR ürünlerinin büyüklüğü daha önceden bilinen DNA molekülleri ile karşılaştırılarak belirlenir. Reaksiyonun özgüllüğü çok iyi tanımlanmış primer oligonükleotidlerin seçilmesiyle sağlanır (20,79).

PZR' nin etkinliği; özgüllüğü, verimliliği ve doğruluğu ile ölçülür. Yüksek oranda özgül PZR, tasarlanmış hedef dizisi olan bir amplifikasyon ürünü oluşturur. Daha verimli amplifikasyon birkaç döngü ile daha çok ürün oluşturur. İdeal bir PZR, yüksek özgüllük, verim ve doğruluğa sahip olmalıdır. Çalışmalar bu üç değişkenin her biri tampon şartları, PZR döngü rejimi (Örneğin her bir basamağın ısı ve süresi) ve DNA polimerazı çeşitli PZR bileşenleri tarafından etkilenir (32).

Primer yapışması için gerekli zaman uzunluğu ve ısısı amplifikasyon primerlerinin baz içeriğine, uzunluğuna ve derişimine bağlıdır. Uygulanabilir yapışma ısısı amplifikasyon primerlerinin gerçek Tm'nin 5 °C altındadır. Taq DNA polimeraz ısıların sınır aralıkları üzerinde etkin olduğundan primer uzaması yapışma basamağını da kapsayan düşük ısılarda oluşacaktır (32).

Polimeraz zincir tepkimesinde diğer değişkenlerin en elverişli olduğu koşullarda döngü sayısı, hedef DNA'nın başlangıç derişimlerine bağılı olacaktır. Bir tek kopya geni amplifiye etmek amacıyla 40 döngüden daha fazla döngü yapıyor ise PZR ile ilgili önemli hatalar olduğu anlamına gelmektedir (32).

2.12. Tedavi

KL de tedavi iyileşmeyi hızlandırır, relaps, lokal yayılım ve mukozal hastalığı önler, skar riskini azaltır. KL tanısı parazitolojik olarak doğrulanmış tüm olgular tedavi edilmelidir. Ancak baş, boyun lokalizasyonu dışında 1 cm'den küçük ve tek lezyonlu olguların belli aralıklarla takip edilmek şartı ile yaşam boyu immünite bırakabilmeleri nedeniyle tedavisiz bırakılabileceğı görüşünü savunanlar vardır (9).

Spontan iyileşmeye karşı mutlaka tedavi edilmesi gereken hastalar (80);

- İki den fazla lezyonu bulunan hastalar
- Lezyon genişliği 2,5 cm'den fazla olan hastalar
- Lezyon lokalizasyonu yüz, el, ayak ya da eklem üzerinde bulunan hastalar
- İmmün sistemi baskılanmış hastalardır (80).

Leyşmanyazise karşı kullanılan ilaçlar oldukça toksik ve pahalı olup, bugüne kadar FDA (U.S. Food and Drug Administration) tarafından kabul gören herhangi bir aşısı da geliştirilmemiştir. Ayrıca tedavide yaygın olarak kullanılan 5 değerli antimon gibi ilaçlara karşı parazit direnç geliştirdiğine dair kanıtlar da vardır (81-83).

Tedavide primer seçenekler; Leyşmanyazisin tedavisinde beş değerli antimon bileşiklerinin etkisi kanıtlanmıştır. Tedaviye dirençli olan *L. aethiopica*'nın neden olduğu leşmanyazisler hariç tüm leşmanyazis enfeksiyonlarında ilk seçenek beş değerli antimon bileşiklerinin kullanımınıdır. Meglumine antimonat (*Glucantime*®) ve sodyum stiboglukonat (*Pentostam*®) olarak iki ayrı terapötik eşdeğerli antimon bileşiğı kullanılır. Leyşmanyazisin diğer türleri sodyum stiboglukonat veya meglumine antimonat gibi beş değerli antimon bileşikleri ile uzun süreli enjeksiyonlar şeklinde tedavi gerektirir (3,34).

Sodyum stiboglukonat veya meglumine antimonat gibi antiparazitik beş değerli antimon bileşikleri tedavide intravenöz (İV), intramusküler (İM) ya da intralezyonel (İL) olarak kullanılırlar. Ancak yüksek yan etki oranları, uzun tedavi süresi ve relapsların %25'in üzerinde olması bu ilaçların kullanımını kısıtlamaktadır (84). Bu ajanların lezyona enjeksiyon şeklinde uygulanmaları pek çok geniş seride başarılı bulunmuştur. Bu nedenle zaten kendiliğinden iyileşme eğiliminde olan Eski Dünya KL'de ilaçların toksik etkilerini kısıtlamak amacıyla intralezyonel kullanımları önerilmektedir (3). Antimon ile ilk KL tedavisi 1913 yılında Viyana'da tartar emetik kullanılarak uygulanmıştır. Pentavalan tartar emetikten daha az toksik olan *Salustibosan* 1937 yılında kullanılmıştır. Savaş yıllarında İngiltere ve Fransa'da *Pentostam* ve *Glucantime*, *Salustibosan* yerine geliştirilmiştir. Halen *Leishmania*'ya karşı daha etkili ve daha az toksik başka ilaç geliştirilememiş olup DSÖ tarafından *Pentostam* ve *Glucantime* halen ilk ilaç olarak önerilmektedir (55).

İkinci seçenek ilaç olarak allopurinol, rifampisin, dapson, klorokin ve nifurtimoks gibi ilaçların kullanımı öne sürülmüşse de tedavi yanıtı ya tam olarak memnuniyet verici değil ya da tecrübeler kısıtlıdır (77). Sistemik kemoterapide ikinci seçenek ilaç olarak önerilen ketekonazol, amfoterisin-B, allopurinol, pentamidin ve rifampin gibi ilaçların potansiyel toksisiteleri ve kısıtlı klinik deneyimleri nedeniyle ancak diğer tedavilerden yanıt alınamayan olgularda kullanılmaktadır (3,85). KL'de insan ve hayvanlarda kullanılmaya başlanan immün düzenleyici imikimod, rekombinant interferon, monoklonal antikolar, siklosporin ve fotodinamik tedaviler umut vericidir (77,86-90). Seçilmiş olgularda ilaç tedavilerinin dışında lazer, kriyoterapi, elektrokoterizasyon ve cerrahi eksizyon gibi invaziv yöntemler alternatif tedavi oluşturabilir (3).

KL' de tedavi; Tablo 4'de gösterildiği gibi topikal tedaviler ile intralezyonel enjeksiyonlar, fiziksel tedaviler ve sistemik tedaviler şeklinde incelenebilir (9).

Tablo 4. KL’de tedavide kullanılan ilaç ve fiziksel yöntemler (9)

Topikal ve İntralezyonel Tedaviler	Oral Tedaviler	İntramusküler veya İntravenöz Tedaviler
<ul style="list-style-type: none">• İntralezyonel beş değerli antimon injeksiyonu• Paromomisin merhem• İmikumod• Topikal Amfoterisin B• Kriyoterapi• Lokalize kontrollü ISI• CO₂ Lazer• Fotodinamik tedavi	<ul style="list-style-type: none">• Azoller• Azitromisin• Miltefosin• Oral Cinko Sülfat	<ul style="list-style-type: none">• Sistemik antimonaller• Antimonaller ile diğer ilaç kombinasyonları• Pentamidin• Amfoterisin B

KL’nin çoğunlukla yüzeysel bir skarla kendiliğinden bir yıl içerisinde iyileşmesi nedeniyle, hastaya en uygun tedavi seçilmelidir. Yukarıda belirtildiği gibi çok sayıda, büyük lezyonlarda skarın riskli olduğu lokalizasyonlarda ve mukozal tutulumda sistemik tedaviler seçilirken, tek ve küçük lezyonlarda en ideal tedavi fiziksel tedavi, topikal veya intralezyonel tedavidir. Tedavide ki amaçlardan birisi skar oluşumunu engellemek olduğuna göre; fiziksel tedavi yöntemlerini uygularken oluşacak skar veya hiper-hipopigmentasyon gelişimi değerlendirilerek tedavi seçimi yapılmalıdır. Deri tipi 4 olan bir hastada kriyoterapi sonrası gelişebilecek hipopigmentasyonun KL’nin oluşturacak skardan daha dikkat çekici olabileceği göz önünde tutulmalıdır (9).

2.12.1. İntralezyonel injeksiyon

2.12.1.1. İntralezyonel beş değerli antimon injeksiyonu: İntralezyonel tedavide yaygın olarak kullanılan beş değerli antimon injeksiyonu tek ve küçük

lezyonların tedavisinde altın standarttır (9). Birkaç beş değerli antimon ilaç mevcuttur; sodyum stibogluconate (Pentostam®, Gloxa Smith Klein, ABD) ve meglumin antimoniate (Glucantim®, Aventis, Fransa) KL tedavisinde kullanılan beş değerli antimon bileşikleri olup, İM ve İV kullanımları VL'de uzun yıllar kullanıldığından dolayı ilaç yan etkileri, kullanım rejimleri ve cevapsızlıkları iyi bilinmektedir (51).

Yaklaşık 10 yıl önce kısa bir dönem Sağlık Bakanlığı sodyum stiboglukonat buldurmuşsa da, günümüzde KL tedavisi için ülkemizde meglumin antimonat Sağlık Bakanlığınca temin edilmektedir. Hastalığın endemik olduğu bölgelerde il Sağlık Müdürlükleri veya kurulan merkezlerden meglumin antimonat (Glucantim) ücretsiz temin edilebilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü KL'de hastalığın kliniğine göre tablo 5'de belirtilen olgular dışında kalan hastalarda intralezyonel beş değerli antimon bileşikleri tedavisini önermektedir. Aynı zamanda sistemik antimonların kontrendike olduğu durumlarda (belirgin kardiyak, renal, hepatik ve hematolojik hastalığı bulunan olgular) intralezyonel beş değerli antimon bileşikleri ile tedavi önerilmektedir. Her 5-7 günde bir, toplam en az 2-5 kez olmak üzere 4-8 hafta, lezyon kenarından lezyon içine, lezyon beyazlaşana kadar yaklaşık 1-3 ml ilaç injeksiyonu önerilir (7,9,91).

Sağlık Bakanlığı'nın 2003 yılında yayınladığı genelgeye göre; haftada 1-2 kez olmak üzere lezyon beyazlaşana kadar, toplam 5 doz injeksiyon yeterli olup, tedavinin tamamlanmasından 1 ay sonra yapılan kontrollerde lezyonda tam iyileşme yoksa ikinci kür uygulanır (7). Bazı araştırmacılar ise lezyon iyileşene kadar injeksiyonu (20 haftaya kadar) önermektedirler (9,92). Tedavi etkinliği için doğru injeksiyon tekniği uygulanmalıdır. PPD veya insulin enjektörü gibi ince uçlu bir iğne ile lezyon içine uygulama yapılmalı ve subkutan ya da damar içine kaçırmadan uygulanmalıdır. Büyük lezyonlarda, lezyonun tamamını beyazlatabilmek için birden fazla noktadan injeksiyon yapılması gerekebilir. İnjesiyon yerinde geçici bir eritem, ödem ve ağrı gözlenebilir. Çok sayıda intralezyonel injeksiyon sonrası injeksiyon yerinde milia gelişimi siktir (7,9,93).

Yapılan çalışmalarda *L. tropika* ile oluşan KL'de intralezyonel meglumin antimonat tedavisinin etkinliğinin daha az olduğu ve daha fazla injeksiyon gerektiği

gösterilmiştir. Uzun süreli tedavi ile relaps olasılığı da azalmaktadır. Uzun ve arkadaşları (94) KL olgularının %86,4'ünü intralezyonel meglumin antimonat (85mgSb/ml, lezyon büyüklüğüne göre 0,2-1 ml, tam iyileşme olana kadar veya 20 haftaya kadar) ile tedavi etmişler ve %97,2'sinde etkili bulmuşlardır. Yapılan çalışmalarda *L.major* etkenli lezyonlarda intralezyonel antimonlarla %72-97 oranında kür sağlandığı belirlenmiştir. *L. Major*'un etken olduğu KL olgularında, lezyon içi enjeksiyonları meglumin antimoniate (0,2-0,8 ml / lezyon, 30 gün süreyle her gün) intralezyonel uygulanmasıyla, intramuskuler enjeksiyonu (15 mg / kg / gün, 2 hafta 6 gün / hafta) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmemektedir. Ancak uzun süreli tedavilerde, kısa süreli tedavilere göre relaps oranı daha azdır (94-97).

2.12.1.2. Diğer intralezyonel enjeksiyonlar: Hipertonik sodyum klorür ve %2 çinko sülfat intralezyonel enjeksiyonunun az sayıda Iraklı hasta serilerinde yapılan çeşitli çalışmalarda sodyum stiboglukonat kadar etkili olduğu bildirilmiştir (98-100).

2.12.2. Topikal Tedaviler

2.12.2.1. Topikal paromomisin (aminosidin); Paromomisin 1985'den beri KL tedavisinde klinik kullanımı olan bir aminoglikozittir (46). Parazitlere karşı olan etkinliğiyle amebiyazis, barsak helmintleri ve VL'de kullanılmıştır (51). KL için kullanılan %12 metil benzotenyum klorid veya %10 üre ile yumuşak beyaz parafin içinde eritilmiş %15'lik paromomisin şeklinde iki topikal preparatı bulunmaktadır. Son yıllarda yapılan bir çalışmada paromomisinin sülfat ile %12 metil benzotenyum klorid ve paromomisinin sülfat ile %10 üre günde iki kez 30 gün süreyle kullanımı ve 20 mg/kg/gün 10 gün süreyle sistemik meglumin antimonat kullanımı karşılaştırılmıştır. İyileşme oranları 12. haftada sırasıyla %79,3, %70 ve %91,7 (önemli bir fark yok) olarak saptanmıştır. İntralezyonel meglumin antimonatın gün aşırı kullanımı ile üre içerisinde paromomisin merhemine günde iki kez 20 gün süreyle kullanımı karşılaştırılmış ve KL'de iyileşme üzerine benzer etkileri gözlenmiştir (9,101). Yapılan çalışmalarda 2 haftalık tedavi rejimiyle %16-78, 4 haftalık tedavi rejimiyle %80'in üzerinde yanıt alınmıştır. Genellikle günde 2 kez, 2 hafta süreyle kullanımı önerilmektedir. *L.major*'un neden olduğu KL'de 10-30 gün

süreyile, günde iki kez kullanımı sonucunda etkinliği %74-86 gibi değişkenlik gösterirken tekrarlanan uygulamalarda daha yüksek etkinliğe sahiptir. *L.tropica*'da ise etkinliği daha düşük gözükmetedir. Topikal paromomisin kullanımı ile % 20-40 lokal yan etkiler gözlenmiş olup, yan etki olarak nadiren eritem, yanma, ödem ve hassasiyet görülebilir. En büyük avantajı ucuz ve güvenilir olmasıdır (9,46,51,101-103).

2.12.2.2. Topikal azoller; Momeni ve arkadaşlarının (104) yaptığı plasebo kontrollü bir çalışmada %2'lik ketokonazol kremin plasebodan üstünlüğü olmadığını rapor edilmiştir. Larbi ve arkadaşları (105) ise %1 klotromizol kremin %2 mikonazol kremden daha etkili olduğunu rapor etmişlerdir.

2.12.2.3. Çinko sülfat solüsyonları; Oral ZnSO₄ (çinko sülfat) lezyonlarda dramatik bir düzelme sağladığı bahsedilmekte (106), ancak bu konuda yeterli çalışma yoktur. Meglumine antimonu göre %2 ZnSO₄ solüsyonlarının daha az efektif olduğu gösterilmiştir (107).

2.12.2.4. İmikumod; HPV (Human parvo virus) ile ilişkili deri hastalıkları, genital verrü ve premalin deri lezyonlarında kullanılan immün cevabı modifiye eden bir ilaçtır. *L. tropika* ve *L. major* nedenli Eski Dünya KL'de haftada 3 kez 8 hafta süreyile kullanılmış ve etkisiz olduğu saptanmıştır. *L. braziliensis* ve *L. peruviana* nedenli Yeni Dünya KL'de 20 mg/kg/gün sistemik meglumin antimonatla kombine kullanıldığında, baz ile kombinasyona göre daha etkili olduğu saptanmıştır (9,46,51).

2.12.2.5. Topikal amfoterisin B; İsrail'de *L. major* ile infekte KL'li olgularda koloidal amfoterisin B ve kolesteril sülfatın %5 etanol içerisindeki eriyiği başarılı olarak bazı hastaları tedavi etmiştir (51).

2.12.3. Fiziksel Tedaviler

Bu yöntemler küçük ve erken tesbit edilen KL lezyonlarında kullanılabilmekte olup, önerilen birinci basamak tedavilerin yan etki ya da maliyetinden kaçınmak için, sistemik tedavilerin kontrendike olduğu, gebelik, kalp rahatsızlığı, karaciğer veya böbrek fonksiyonlarında bozukluk durumlarında

alternatif oluşturabilmektedir (77). Keskin bir alet veya koterizasyon ile lezyonun kazınması çok eski yıllardan beri uygulanan bir tedavi yöntemidir. Ancak bu metotların tekrarlama olasılıkları yüksektir. Kriyoterapi, ısı uygulama, radyoterapi, lazer, küretaj ve cerrahi eksizyon KL'de uygulanan diğer fiziksel yöntemlerdir (24).

2.12.3.1. Kriyoterapi; Sadece Eski Dünya KL'de denenmiştir. Ülkemizde Uzun ve arkadaşlarının (108) yaptığı çalışmada, *L. Tropica*'nın etken olduğu düşünülen 461 KL hastasının %90'unda tek seansla kür elde edildiği bildirilmiştir. Olgularda %68 oranında hipopigmentasyon bildirilirken, çoğunlukla 2-3 ay içinde repigmentasyon olduğu bildirilmiştir. Koyu tenlilerde kalıcı hipo-depigmentasyon gelişim riski akılda tutulmalıdır. Kriyoterapi uygulama süre ve aralıkları tam olarak tanımlanmamıştır (9). İran'da yapılan çalışmalar da göstermiştir ki antimonların ya da kriyoterapinin tek kullanımına göre kombine kullanımı daha etkindir. Ürdün'de yapılan bir çalışmada 15-20 saniye donma, 1 dakika erime süreleriyle 1-3 uygulama kullanılmıştır. *L. major* veya *L. tropika* ile oluşan KL'de intralezyonel antimon ile kombinasyonunda %90 tedavi etkinliği saptanmıştır (51).

2.12.3.2. Lokal ısı uygulaması; Willard ve arkadaşları (109) Irak savaşından dönen *L.major* nedenli KL'li 26 askerde başarıyla uygulandığını bildirmişlerdir. *Leishmania* amastigotları 39 °C ve üzeri ısıda ölmesi nedeniyle, KL'de 50 °C ısı 30 saniye süreyle kontrollü olarak uygulanabilir. Parçalanan parazitlerden çıkan antijenlerle lokalize immün cevap uyarılarak iyileşme hızlanmaktadır. Amerika'da FDA 2003 yılında KL'nin radyo frekansı ve deriye ısıveren alet (Thermomed: Thermosurgery Tecnonologies) ile tedavisine onay vermiştir. Uygulama hafif ağrılı olabilir ve bazen lokal anestezi gerektirebilir. Uygulama sonrası lezyon çevresinde eritematöz bir halka, bazen bül oluşumu ve hafif bir sızıntı olabilir. Sekonder infeksiyon gelişimini engellemek için, uygulama sonrası antibiyotikli bir krem kullanılabilir (9). KL'de lokalize kontrollü ısı ile iyileşme süresinin intralezyonel ve sistemik antimonial tedaviye göre daha kısa (sırasıyla 53 gün, 75 gün ve 100 gün) olduğunu gösteren bir çalışma vardır. *L. tropika* ile oluşan KL'de tek bir uygulama ile 3. ayda %69 etkinlik bildirilmiştir. *L. mexicana* nedenli KL'de antimonlar kadar etkili olduğu belirtilmektedir (9,51).

2.12.3.3. Karbondioksit (CO₂) lazer; Kısıtlı çalışmalar olmakla birlikte *L.major* ve *L.tropica* nedenli KL'de kür oranları oldukça yüksektir. CO₂ lazer 30W (maksimum 100W) güçte 0,5-5 saniyelik atımlarla ülser zemini kahverengileşip hemostaz sağlanana kadar uygulanmış ve olguların %94'ünde iyileşme sağlanmıştır. Aynı çalışmada diğer grup 50 mg/kg glukantim ile 15 gün ve 15 günlük ara sonrası ikinci bir kür şeklinde tedavi edilmiştir. Lazer uygulamasıyla, kriyoterapi ve cerrahi eksizyona göre daha çabuk iyileşme, daha iyi kozmetik cevap alındığı ve daha etkin olduğu saptanmıştır. Özellikle lupoid tip KL'de iyi sonuçlar vermiştir (9,51,110). Karbondioksit lazer ve meglumin antimonat ile yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada da karbondioksit lazerin oldukça etkin olduğu rapor edilmiştir (46).

2.12.3.4. Fotodinamik tedavi; Malign lezyonlarda ve HPV ile oluşan verrülerde kullanılır. *L. major* ile infekte KL'li hastalarda da fotodinamik tedavi kullanılmış ve iyi sonuçlar elde edilmiştir. Bu durum tedavinin etkinliğinden çok hastalığın kendiliğinden iyileşmesine bağlanmıştır. Deneysel bir çalışmada, aminolevulinik asit yerine fenotiyazinyumun iki farklı bileşiğinin fotosensitize olarak kullanıldığı fotodinamik tedavi uygulanmış ve özellikle *L. major* olmak üzere KL'de etkili olduğu gözlenmiştir (9,51,88).

2.12.4. Sistemik İlaç Tedavisi

Sağlık Bakanlığının Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Bulaşıcı ve Salgın Hastalıklar Daire Başkanlığı Zoonoz ve Paraziter Hastalıklar Şube Müdürlüğü tarafından oluşturulan bir bilimsel kurul tarafından hazırlanarak 24.10.2003 tarihinde 16130 sayı ile yayımlanarak, hastalığın görüldüğü illerdeki sağlık kuruluşlarına gönderilen genelgeye göre sistemik antimon tedavisi gerektiren olgular (7);

-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 kırıldaklı dokunun bulunduğu deri bölgelerinde gelişmiş ülser ve enflamatuvar lezyonlu olgular,

-Yukarıda belirtilen bölgeler dışında yerleşmiş çapı 5 cm'nin üzerinde olan enflamatuvar ve/veya ülsere lezyonlu olgular,

-Rezidivan (nüksi) ya da kronik (süresi 2 yıldan uzun) formda lezyonu bulunan olgular,

-Altta yara iyileşmesini geciktiren kronik (Diabetes mellitus gibi) veya immun yetmezlikle seyreden hastalığı olan ya da immun supresif tedavi alan olgular,

-Multipl lezyonlu (ondan fazla) olgular (7).

DSÖ'de SB önerilerine benzer şekilde KL'de hastalığın kliniğine göre tablo 5'de belirtilen olgular dışında kalan hastalarda intralezyonel beş değerli antimon bileşikleri tedavisini önerilmektedir (9). Sistemik ilaç tedavisi tablo 5'de belirtilen nedenlerde ve mukozal tutulum riski olan Yeni Dünya kutanöz leşmanyazisinde (*L. mexicana* lezyonları hariç) sistemik ilaç tedavisi tercih edilir. Sistemik tedavi Eski Dünya kutanöz leşmanyazisinde ikinci basamak tedavi olarak kabul edilmektedir. Yeni Dünya KL'de ise topikal tedaviler mukozal leşmanyazise ilerleme riski çok düşük olan *L. mexicana* dışında önerilmez. Sistemik tedavide ilk tercih edilen ilaç beş değerlikli antimon bileşikleridir. Antimon bileşiklerinin etkisiz olduğu durumlarda ikinci tercih edilen ilaç amfoterisin B'dir (9,34,51,77,91).

Tablo 5. Sistemik tedavi gerektiren KL'li olgular (9)

- Kozmetik olarak kabul edilemeyen lezyonlar
- Multipl (5'den fazla) lezyonlar
- Çapı 5 cm'den büyük lezyonlar
- Ülsere ve/veya enflamatuvar lezyonlar
- Diabetik veya immünsüprese hastalardaki lezyonlar
- İyileştiğinde fonksiyon bozukluğu oluşturabilecek bölgeler (eklemler üzerindeki, göz kapağındaki lezyonlar gibi)
- Mukozal hastalık
- Noduler lenfanjit varlığı
- Rezidivan veya kronik (2 yıldan uzun) lezyonlar
- Topikal, intralezyonel tedavi ile lezyonlarda kötüleşme

2.12.4.1.Oral Tedaviler

Azoller; *Leishmania* parazitlerinin ergosterol biyosentezini baskılar. Ketokonazol, flukonazol ve itrakonazolün KL’de oral kullanımı ile ilgili genellikle küçük hasta serilerinden oluşan bildirimler mevcuttur. Her üç ilacında *L. major*’de etkili olabileceğini gösteren çalışmalar olmakla birlikte diğer leişmanyazis etkenleri için aynı başarıdan bahsedilememektedir (9,85,109). Momeni ve arkadaşları (111) ile Nassiri-Kashani ve arkadaşlarının (112) yaptıkları çalışmalara göre oral itrakonazol kullanımının plasebodan üstünlüğü pek yoktur. Alrajhi ve arkadaşları (113) *L.major* ile infekte olgularda flukonazol ile ümit verici sonuçlar rapor etmiştir.

Azitromisin; Özellikle *Leishmania* paraziti ile infekte makrofajlar olmak üzere dokudaki azitromisin düzeyi serum konsantrasyonlarının 100-200 kat daha fazlasına ulaşır. Yarı ömrünün uzun olması ve çocuklarda da kullanılabilmesi avantajları arasındadır. Hücre kültürlerinde *L. major*’un azaltılmasında etkili bulunmuştur. Ayrıca yapılan çalışmalarda *L. braziliensis*’le infekte hastalarda her ayın 2-10 günü 500-1000 mg/gün maksimum 4 ay tedavi ile %85 kür elde edilmiştir. Ancak etkinliğinin zayıf olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (9).

Miltefosin; 2,5 mg/kg/gün oral dozunda 28 gün süreyle uygulanır (114). HIV ile infekte DKL’li olgularda başarıyla kullanılmış oral antitümör ajandır. Özellikle ülkemiz dışında görülen diğer KL tiplerinde etkilidir (9). Sundar ve arkadaşları (115) tarafından yapılan faz 3 çalışmasında, Hindistan’daki VL olgularında başarılı sonuçlar bildirilmiştir. Faz 3 çalışmasında dişi hayvanların üreme kapasitesinde toksik etkisi olduğu belirtilmiştir. Bu sebeple doğurganlık yaşındaki bayanlarda, ilaç kullanımı ve devamındaki 2 aylık sürede sıkı kontrasepsiyon önerilmektedir. Aynı zamanda 12 yaş altında etkinlik ve toksisiteye yönelik faz çalışması yoktur. Yaygın yan etkileri arasında karaciğer enzimlerinde ve amilazda artış, kusma, ishal, adale ve eklem ağrıları rapor edilmiştir. Sık olmayan yan etkileri arasında aritmi, ciddi lökositopeni ve trombositopeni rapor edilmiştir (115).

Oral çinko sülfat; Leişmanyazisli olgularda serum Zn⁺⁺ (çinko) düzeylerinin kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük olduğu saptanmıştır (116). Ülkemizde yapılan bir çalışmada da düşük Zn⁺⁺ ve artmış Cu⁺⁺ (bakır) düzeyleri saptanmıştır

(117). Düşük serum Zn^{++} düzeylerinin selektif Th1 eksikliğine yol açtığı gösterilmiştir. İnvitro çinko sülfata sensitivitenin *L. tropika* ve *L. major*'da beş değerli antimon bileşiklerine göre daha fazla olduğu saptanmıştır. İntralezyonel tedavide başarıyla kullanılmıştır. Irakta akut KL'li 104 hastaya 2,5 mg/kg, 5 mg/kg ve 10 mg/kg oral çinko sülfat kullanılmış ve 45 günlük takip sonrasında sırasıyla %83,9, %93,1 ve %96,9 iyileşme saptanmıştır (106). Plasebo veya diğer bir ilaçla karşılaştırma olmaması nedeniyle daha geniş ve kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır. Özellikle Zn^{++} eksikliği olan şiddetli klinik gösteren KL'li hastalarda Zn^{++} replasmanı ile iyileşme hızlanmaktadır (9).

Diğer Oral Tedaviler; Allopurinol leşmanyazis için kullanılmıştır ancak Yeni Dünya KL'de yapılan kontrollü çalışmalarda çelişkili sonuçlar vardır. Eski Dünya KL'deki parazitler allopurinole daha duyarlı olmakla birlikte randomize çalışmalar bulunmamaktadır (85). Rifampisin'de ümit verici sonuçlar için KL'de kullanılmıştır. Hindistan'da yapılan bir plasebo-kontrollü çalışmada, rifampin kullanan hastalarda iyileşme şansının daha iyi olduğu belirtilmiştir (85,118). Hindistan'da yapılan iki çalışmada akut Eski Dünya KL tedavisinde oral dapsone kullanımının etkili olabileceği bildirilmiştir (46,119).

2.12.4.2. İntramusküler veya İntravenöz İlaçlar

Beşdeğerli Antimonaller; Primer sistemik tedavide, genellikle kabul gören Sodyum stiboglukonat ve meglumine antimonların tek dozda 10-20 mg / kg / gün (üç ampülden fazla kullanılmaması önerilir) antimon dozu 12-15 gün süreyle parenteral olarak uygulanması yeterlidir (7,9). Ancak Wortmann ve arkadaşları (120) 10 günlük bir tedavi kürünün, 20 günlük kullanım kadar etkili olduğunu vurgulamışlardır. Meglumine antimon (Glucantim) İM derin injeksiyon şeklinde, Sodyum stiboglukonat (Pentostam) İM veya İV olarak uygulanabilir. İV uygulama, beş dakika içerisinde yavaş infüzyon şeklinde olmalıdır. Birinci kür tedaviden sonra 1 ay ara verilir ve lezyon bu süre sonunda tekrar değerlendirilir; belirgin düzelme olmayan hastalarda 2. hatta bazen 3. küre gereksinim olabilir. Mukozaya yakın ve ekstremitelerde lezyonlarında tedavi süresi uzatılmalıdır (7,9).

KL'li 151 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, 10 mg/kg'dan az ve 10 mg/kg'dan daha yüksek dozda meglumin antimonat kullanılan hastalar değerlendirilmiş ve her iki grup arasında iyileşme açısından anlamlı bir fark görülmemiştir (9). Çoğu olguda 10 mg/kg sistemik antimon dozu yeterli iken bazı olgularda 30 mg/kg dozunda kullanmak gerekebilmektedir. Beş değerli antimon bileşiklerine direnç gelişimini azaltmak için çok düşük doz tedavi vermekten kaçınılmalıdır (9). Genellikle kür oranı %60-80 olarak belirtilmiştir. İM uygulamayla intralezyonel uygulama arasında önemli bir fark yoktur (46). Tunus'da intralezyonel antimon tedavisine yanıtızsız, beşten fazla lezyonu bulunan çocuk hastalar veya kartilaj üzerinde lokalizasyonu olan hastalarda 7-15 gün süreyle 20 mg/kg/gün dozunda başarıyla uygulanmıştır (121).

Antimonların sistemik kullanımında doza bağımlı olarak; fetal kardiyotoksite ve elektrokardiyografik değişiklikler (T negatifliği, QT intervalinde uzama), kemik iliği supresyonu (lökositopeni, trombositopeni, hematokritin düşmesi), herpes virüs reaktivasyonu, myalji, artralji, pankreatit, serum amilaz, lipaz, AST (aspartat aminotransferaz) ve ALT (alanin aminotransferaz) de artış gibi yan etkiler görülebilir. Fakat genellikle bu yan etkiler geri dönüşlü olup, ilaç kesildiğinde toksik görünüm geriler (9,46,92,120,122). Antimon kullanılırken EKG (Elektrokardiografi) değişiklikleri, karaciğer, böbrek fonksiyonları, tam kan sayımı takip edilmelidir. İntralezyonel uygulamada ise en sık yan etki uygulama alanında ağrıdır (46). Renal ve hepatik bozukluğu olan, kardiak aritmi ve uzamış QT aralığı olanlarda, küçük çocuklarda, gebelerde, emziren bayanlarda, şişman yaşlı ve immüsuprese kişilerde daha fazla yan etkiler gözleendiği için kullanımları önerilmez. Tedaviden sonra 1-2 ay içerisinde gebelik önerilmez. Travma hastalığı reaktive edebilir. Bu nedenle bir yıl sonrasına kadar elektif cerrahi veya dövme yaptırma kontrendikedir (9).

Sistemik antimonial ve diğer ilaç kombinasyonları; Beş değerli antimon bileşikleri intralezyonel ve sistemik olarak kombine uygulandığında tek başına uygulamaya göre daha etkili olduğu belirtilmekte olup uygun hastalarda kombine olarak kullanılabilirler (123). Yeni Dünya KL'de allopurinol ve beşdeğerli antimon bileşiklerinin kombine kullanımı ile beş değerli antimonların tek başına kullanımı karşılaştırıldığında kür oranı %36-39 dan %71-74'e çıkmıştır (9,77). Antimona cevap

vermeyen bir olguda bu kombinasyon ile iyileşme gözlenmiştir (9). Standart sistemik antimonial ile oral 40 mg/gün omeprazol ve düşük doz sistemik antimonial kullanımının karşılaştırıldığı üç haftalık bir çalışmada omeprazol ile kombine tedavi edilen grupta daha iyi iyileşme oranları saptanmıştır (9). Oral pentoksifilin 400 mg günde 3 kez ve 2 haftalık kür şeklinde İM meglumin antimonat kombinasyonu etkili olarak KL'de kullanılmış ve tek başına meglumine antimonat kullanımına göre daha etkili olduğu bildirilmiştir. Pentoksifilin, TNF- α gen transkripsiyonunu süprese eder. TNF- α 'nın özellikle mukozal leşmanyazis patogeneğinde önemli rolü nedeniyle pentoksifilin KL'de etkili olduğu düşünülmüştür (124).

Amfoterisin B; *L. guyanensis*, *L. braziliensis*, *L. Infantum* ya da *L. Aethiopica* nedenli KL'li bazı hastalar lipidik amfoterisin B ile tedavi edilmiştir. Ancak KL tedavisinde amfoterisin B kullanımı için daha kapsamlı çalışmalar gerekmektedir (51). Nefrotoksite, elektrolit dengesizliği, ateş, titreme ve nadiren hemodinamik kollaps gibi yan etkileri nedeniyle ancak antimon tedavisine alternatif olarak kullanılabilir. Yan etkileri nedeniyle nadir kullanılan bu ilaç Eski Dünya KL tedavisinde 0,5 mg/kg/gün dozunda 10-20 gün uygulanır (85).

Pentamidin; Sistemik antimon kullanımının yan etkilerini sınırlamak için leşmanyazis tedavisinde denenmiştir. Yeni Dünya KL'de yüksek kür oranına sahip olmakla birlikte Eski Dünya KL'de 4 mg/kg dozunda 3 intramusküler kullanım sonrası hastaların %73'ünde hızlı iyileşme elde edilmiştir. Henüz çalışmalar yetersiz olmakla birlikte antimonlara cevap alınmadığı durumlarda denenebilir. Yaygın görülen yan etkileri arasında enjeksiyon yerinde ağrı, ağızda metalik tat, baş ağrısı, dispne ve konjesyon yer alırken, nadiren ateş, fasial parestezi, gözlerde yanma, terleme, baş dönmesi ve yorgunluk görülebilir. Hastalar hipotansiyon ve hipoglisemi açısından izlenmelidir (85,114).

2.13. Korunma

KL'de primer morfolojik elementer lezyonun klinik önemi deriye inoküle edilen parazitlerin sayısı ile ilişkilidir. Tatarcıkların zorla-besleme deneylerinde elde edilen verilerde deri lezyonunun oluşturulabilmesi için yaklaşık 100 kadar

promastigot gerekmektedir. Daha az parazit sayısı sessiz bir klinik oluşturmakta olup bağışıklıktan sorumludur (39). Leşmanyazisden korunma vektör kontrolü ve aşılama çalışmaları şeklinde 2 başlık altında toplanabilir.

2.13.1. Vektör Kontrolü: Vektör kontrolü için öncelikli olarak bölgenin ve bölgedeki vektör türlerinin karakteristik özelliklerinin, taşıdıkları hastalıkların ve/veya rezervuarlarının olup olmadığı gibi hususların tespiti ile savaş yönteminin seçimi önem taşımaktadır. Flebotomların kontrolünde yapılabilecek başlıca yöntemler şu şekilde (27);

- Habitatlarının tahribi veya değiştirilmesi yoluyla savaş
- İnsan ve hayvan barınaklarına kalıcı insektisit püskürtme yoluyla savaş
- Bariyer spreyleme yöntemi
- İnsektisit emdirilmiş cibinlikler ve perdelerle savaş
- Tatarcıklara karşı aşı geliştirme çalışmaları (27)

Phlebotomus cinsi flebotomlardan en iyi ve etkili korunma yöntemi habitatların tahrip edilmesiyle sağlanmaktadır. Çevreyi tahrip etmek yerine modifiye ederek (özellikle ağaçların kireçle badana edilmesi, duvarlara süpürgelik yapılması, duvar çatlak ya da yarıklarının sıvanması gibi) tatarcıkların kontrol edilebildiğinin örnekleri de vardır (27).

Tatarcıklara (*P. papatasi*, *P. argentipes*, *Sergentomyia shorti*) karşı direnç geliştirdiği bildirilen tek insektisit DDT'dir. Türkiye'de ve dünyanın değişik yerlerinde sıtmanın eradikasyonu amacıyla 1950 ve 1960 yılları arasında evlerin DDT ile ilaçlanmasıyla leşmanyazis odaklarının sayısında ciddi düşmeler görülmüş, ancak ilaçlama durdurulduğunda bir önceki düzeye geri dönmüştür. DDT, Malathion, BHC (benzenhekzaklorür), permethrin, cyfluthrin ve propoxur gibi birçok insektisit bu amaçla başta Cezayir, Hindistan, Mısır, Brezilya olmak üzere birçok ülkede kullanılmış olup, buradan elde edilen veriler tatarcıkların belli durumlarda, evlerin ilaçlanmasıyla kontrol edilebileceğini kanıtlamaktadır. Bununla birlikte kalıcı insektisitleri evlere püskürtmenin etkinliği bu çevrenin özelliklerine ve ilaçların uygulandıkları yerlere tatarcıkların adaptasyon derecesine bağlıdır. Bu nedenle evlere insektisit püskürtülmesi sadece *P. papatasi* gibi peridomestik vektör türleri için başvurulabilecek bir seçenektir. Toplam vektör popülasyonunun oldukça küçük

oranda kaldığı kırsal ve ormanlık bölgelerde geniş araziye dağılım gösteren insan ve hayvan barınaklarında insektisit kullanımı tatarcıkların kontrolünde etkisizdir (27).

Leishmania bulaşması evlerin içinde ve çevresinde gerçekleşiyor ama tatarcıklar bu barınakları çevreleyen ormanlarda dinleniyor ve gelişıyorlarsa, bariyer spreyleme yöntemi peridomestik çevreyi ve evlerin içerisini ilaçlamaya alternatif olabilir. Bu yöntem nadiren konutlara giren tatarcıkların kontrolü amacıyla insan barınaklarının çevresinde belirlenen yarıçap içerisindeki bitkilere ve ağaç gövdelerine insektisit uygulamaktan ibarettir (125). Bu yöntemin olumsuz yanı yeterince insektisit sağlamanın güçlüğü, kullanılan insektisitlerin dış ortamda kalıcılığının az olması ve hedef olmayan organizmalar için tehlike arz etmesidir (27,126).

İnsektisit emdirilmiş perde veya cibinliklerin sağlık otoriteleri tarafından lokal olarak kolayca üretilmesi ve halkın eğitimini sağlamak yoluyla uygulanması mümkündür. Ayrıca uygulandıkları toplulukları etkili bir şekilde korumaları, barınaklara insektisit püskürtmeye kıyasla daha az insektisit kullanımı gerektirmeleri, hem endofilik, hem de eksofilik türlere etkili olmaları, evde yaşayan herkes tarafından kolayca uygulanabilmeleri gibi avantajlara sahiptir. Bu uygulama aynı zamanda sivrisinek, pire, tahtakurusu gibi diğer artropodlara karşı da iyi bir koruma sağlamaktadır. Cibinliklere uygulanan sentetik piretroidler memeliler açısından düşük toksisite ve uçuculuğa, yüksek insektisidal ve uzaklaştırıcı aktiviteye sahiptir. Konakçının vücut kokusuna ve nefesiyle dış ortama bıraktığı CO₂ gazına yönelerek ölen tatarcıklar için bu tür cibinlikler yem tuzağı görevi yapmaktadırlar. Ancak çoğu vektör türünde ısırma aktivitesi güneşin batmasından az sonra pik yapmakta, böylece insanlar henüz yataklarına girmediklerinden cibinliklerin etkisi az olmaktadır. Cibinliklere alternatif olarak insektisit emdirilmiş perdelerle yapılan deneyler de vardır. Cibinliklerin ve hatta perde tüllerini belirli aralıklarla insektisitle muamele etmek gerekir. Günümüzde daha uzun insektisit özelliğini koruyabilen bu tür cibinlikler kullanılmaktadır. Ancak bu tür uzun dayanan insektisitli tüller oldukça pahalı olduğundan, endemik bölgelerde kullanım açısından sorun oluşturmaktadır (24,27,43,126).

Hastalığın hem köpeklerde hem de insanlarda birlikte bulunduğu odalarda, köpekleri imha ederek ortadan kaldıran Çin dışında hastalığın kontrolüne ilişkin çalışmalar başarısızlıkla sonuçlanmıştır. ZVL kontrolüyle ilgili çalışmaların çoğu köpekler, özellikle de köpek aşılı üzerinde odaklanmaktadır. Bununla birlikte, deltamethrin emdirilmiş tasmalarla köpekleri tatarcıklardan korumanın en uygun seçenek olacağı düşünülmektedir. Bu etkiler tasmaların insektisidal etkilerini kaybetmeleriyle ortadan kaybolmaktadır. Hastalığın bulaşması yaz aylarıyla sınırlı olan Güney Avrupa'da köpek tasmaları ile bir yıl boyunca korunma sağlanmaktadır. Ancak sokak köpeklerinin yaygın olduğu ve ZVL'nin yıl boyu varlığını sürdürdüğü Brezilya gibi ülkelerde köpek tasmaları tek başına yeterli görülmemiştir (27,126).

2.13.2. Kutanöz Leşmanyazisde Aşı Çalışmaları: İnsanlarda kutanöz leşmanyazise karşı doğal bir direnç yoktur. Bununla birlikte leşmanyazis, endemik bölgelerde şark çıbanı çıkarmayan insanlarda görülmektedir. Yaş ve cinsiyetin etkisi olmamakla birlikte sıklıkla çocuklarda görülür. Bunun nedeniyse leşmanyazisin ömür boyu bağışıklık sağlaması nedeniyle erişkinlerde ki bağışık durumun ilerleyen yaşlarda leşmanyazisin görülmesini önlemesidir (20,32).

Bağışıklık KL'nin 3-4. ayından itibaren başlar. Lezyonlar iyileştikten sonra ömür boyu süren kalıcı bir bağışıklık bırakır. Bu olay *Leishmania* antijenlerine karşı hücresel aşırı duyarlılık olarak bilinmektedir. Bu bağışıklık türe özgüdür ve bir türe bağışık olanlar diğer türe duyarlıdır. Bundan dolayıdır ki; *L.donovani* enfeksiyonu *L.tropica* enfeksiyonuna karşı bağışıklık vermez, yalnız *L.major*'un *L.tropica*'ya karşı bağışıklık verebildiği, fakat *L.tropica*'nın bunu yapamadığı, yine *L.braziliensis* ile *L.mexicana* arasında böyle bir ilişki olduğu kabul edilmektedir (20,32).

Leishmania enfeksiyonuna immün yanıt esas olarak hücre aracılıdır. Anti leşmanial IgG'nin kronik ve iyileşmeyen hastalarda yüksek oluşu da göz önüne alınarak humoral bağışıklığın koruyuculukta işlev görmediği anlaşılmaktadır (127). Parazitin antijenik yapısı üzerinde yapılan çalışmalarda genellikle somatik yapıda olduğu ve 30 kadar somatik antijeninin bulunduğu saptanmıştır (20).

İlk aşı denemeleri gluteal bölgeye leşmanizasyon ile sağlanmıştır. Aşı çalışmaları 1970'li yıllarda başlamıştır. Bu güne kadar birçok aşı modeli denenmiş,

şu ana kadar yapılan insandaki etkisi kanıtlanmış tek *Leishmania* aşısı KL'e karşı leşmanizasyondur (92). Aşı çalışmaları birçok merkezde günümüzde de devam etmektedir ancak FDA onaylı bir aşı henüz geliştirilmemiştir (77). Buna karşın Özbekistan'da profilaktik canlı *leishmania* aşısı ve Brezilya'da antimonlara adjuvan olarak ölü *leishmania* aşısı klinik olarak tescil edilmiştir (128).

Ölü parazit aşıları, zayıflatılmış canlı aşı yöntemlerinden biri olan leşmanizasyon (önemli bir genin uzaklaştırılması ve parazitlerin en önemli yüzey molekülleri olan glikokonjugatların saflaştırılması), çeşitli spesifik moleküllerin kullanıldığı rekombinant antijen aşıları ve DNA (Deoksiribonükleik asit) aşıları ile ilgili yürütülen çok sayıda çalışma olmasına rağmen ya Faz III aşamasında bir çalışma yoktur ya da Faz III aşamasını geçememiştir (21,129-131).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda parazitik ancak patojen olmayan protozoan olan *L. tarentolae*'nin da leşmanyazise karşı aşı geliştirilmesinde umut verici olduğu ortaya çıkmıştır. Yapılan bir çalışmada *L.tarentolae* canlı aşı adayı olarak kullanıldığında aşı adayının dendritik hücreler ve lenfoid organlar tarafından etkili şekilde tanındığı, antijen sunumunu gerçekleştirdiği ve sonuç olarak T hücre yanıtını sağladığı tespit edilmiştir. *L. tarentolae* parazitleri ile enfekte olan BALB/c farelerinde *L.donovani*'ye karşı koruyucu bir immün yanıtın oluştuğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar canlı aşı adayı olarak *L. tarentolae* vektörlerinin kullanılmasının ümit verici bir yaklaşım olduğunu göstermektedir (21).

Antienflamatuar ve immunomodulator özelliklere sahip tatarcık tükrüğü sokulan yerde konakçının fizyolojisini modifiye etmekte ve patojenin invazyonunu kolaylaştırmaktadır. Buna karşın, bu moleküllere karşı oluşan konakçı cevabı artropod vektörlerin doğurganlığını ve beslenme yeteneğini olumsuz etkilemektedir. Tatarcıkların tükrük salgısına karşı konakçıda gelişen antikolların hareketlerini inhibe ederek özefagusa yönelen parazitlerin, tükrük bezinin antijen bulunduran kısımlarına bağlanarak tatarcığın ölümüne yol açabileceğine dikkat çekilmektedir. Bu nedenle, anti-tatarcık tükrük antikollarının hem vektörlerin kontrolünde hem de leşmanyazisin taşınmasının bloke edilmesinde kullanılması mümkün görülmektedir. *Lutzomyia longipalpis*, *L. intermedia*, *P. papatasi*, *P. ariasi*, *P. argentipes* ve *P. perniciosus*'tan sağlanan tükrük proteinlerinin şifreleri başarılı bir şekilde

kopyalanarak klonlanmıştır. Bunlar arasında *L. longipalpis*'in tükürük bezinden elde edilen maxadillan ve *P. papatasi* tükürüğünde bulunan PpSP15 proteinine karşı omurgalı konakçıda gelişen antikorlar yoluyla tatarcık tükürük bezi temelli aşı çalışmaları ümit vaat etmektedir (27).

Tatarcıkların yaşadığı yerlerde bulunan ve aylarca, hatta yıllarca bu sineklerin tükürük bezi proteinlerine maruz kalan insanların doğal olarak aşılандığı düşünülebilir. Leyşmanyazisin endemik olduğu yerlerde yaşayan insanlarda tatarcık tükürüğüne karşı doğal yolla gelişen antikorlar bu enfeksiyona karşı direnci artırmaktadır. Yaşla birlikte arttığı tespit edilen direncin *L. infantum*'a karşı oluşan bir bağışıklıktan değil, aksine tatarcık tükürüğüne karşı oluşan antikorların *Leishmania* enfeksiyonlarını baskılamasından kaynaklandığı, 5631 hasta üzerinde yapılan bir araştırmanın sonuçları ile ortaya konmuştur. İnfekte olmayan tatarcıkların tükürük salgılarına karşı çocuklarda gelişen antikorların, sonraları infekte tatarcıkların bulaştırdığı *Leishmania* enfeksiyonuna karşı Th1 hücre kaynaklı bir koruma geliştirdiği görülmüştür. Tersine, tatarcık tükürüğüne karşı antikor gelişmemiş çocuklarda *Leishmania* enfeksiyonuna karşı gelişen Th2 cevabının koruyucu olmadığı görülmüştür. Bu çalışmaların bulguları bize doğada sürüp giden anti-tatarcık aşılmasının laboratuvar çalışmalarıyla geliştirilmesinin gerekliliğini ortaya koymaktadır. Doğal anti-tatarcık antikorları gelişmeyen çocukların korunması açısından bu aşılmasının geliştirilmesi avantajlıdır. Bu şekilde sadece endemik bölgelerdeki insanları korumakla kalmayacak, aynı zamanda endemik bölgelere seyahat edecek kişileri de hastalıktan koruyabileceğiz (27).

3- GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler

RPMI-1640 (Roswell Park Memorial Institute)(Sigma)

DNA izolasyon kiti (Roche)

Primerler (0.2 umol /HPLC)

dNTP Set (Fermantes)

Taq DNA Polimeraz (Fermantes)

10 X PZR Tamponu (Fermentas)

Magnezyum klorür (Fermentas)

100 bp DNA Ladder Plus (Fermantes)

NaOH (Sigma)

EDTA (Sigma)

Tris-base (Sigma)

Borik Asit (Sigma)

Etiyum Bromür (Sigma)

Proteinaz K (Sigma)

Etil alkol (% 96) (Sigma)

Fenol (Sigma)

Kloroform (Sigma)

Loading Dye (MBI, Fermentas, Lithuania)

0.5 M EDTA (Ethylenediamine Tetraacetic Acid)

Na₂EDTA x 2H₂O (Sigma, USA) 186.1 g

Distile su 700 ml
Son hacim 1000 ml

Maddeler 700 ml distile su içinde eritildikten sonra 10 M NaOH (sodyum hidroksit) ile pH'sı 8'e ayarlandı ve distile su ile 1 litreye tamamlandı.

10x TBE (Tris/borate/EDTA) Elektroforez Tamponu

Trisma base (Sigma, USA) 108 g
Borik asit (Sigma, USA) 55 g
0.5 M EDTA (Sigma, USA) 40 ml
Distile su 1000 ml

Maddeler distile su içinde iyice çözüldükten sonra pH:8'e ayarlandı ve hacim 1000 ml'ye tamamlandı. Çalışmada, 1/10 sulandırması kullanıldı.

3.2. Kullanılan Cihazlar

Derin dondurucu (Indesit)
Minigel elektroforez tankı (Wealtec)
Termal Döngü Cihazı (Techne)
Düşük voltajlı güç kaynağı (Wealtec, Elite 300 plus)
Santrifuj (Nüve)
Hassas terazi (Pioneer, ohaus)
UV lamba (Heal Force)

3.3. Hasta Grubu

Çalışmamızdaki hasta grubu, Haziran 2009 - Aralık 2011 tarihleri arasında Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Dermatoloji polikliniğine başvuran ve klinik olarak kronik kutanöz leşmanyazis öntanısı konan hastalardan oluşturuldu. En az altı ay süreyle iyileşmeyen kutanöz leşmanyazis

lezyonu bulunan hastalar kronik kutanöz leşmanyazis olarak değerlendirildi. Poliklinik muayenelerinde kronik KL öntanısı almış olan 60 kişi çalışmamıza dahil edildi. Hasta grubunu oluşturan bireyler, farklı yaş grubunda ve cinsiyette olup, aralarında akrabalık bağı yoktu. Hasta grubunu oluşturan bireylerin tamamı, hastalığın endemik olarak görüldüğü Hatay ilindeki Antakya merkez ilçe, Altınözü, Kırıkhan, Reyhanlı, Yayladağı, İskenderun ilçeleri ve bu ilçelere bağlı köylerde ikamet eden bireyler arasından seçildi. Klinik olarak kronik KL tanısı konan hastalardan hastanemiz merkez Parazitoloji laboratuvarında direk mikroskopik inceleme, mikrokültür ve PZR için örnekler alındı.

3.4. Direk Mikroskopik İnceleme

Klinik olarak kronik KL tanısı konulan hastaların deri lezyonundan MKÜ Tıp Fakültesi Parazitoloji laboratuvarında smear yöntemi yapılarak mikroskopta *leishmania* amastigot cisimciği arandı. Smear yöntemi için; hastaların deri lezyonu ve kenarı % 70'lik etil alkolle silindi. Bu bölge iki parmakla sıkıştırılarak lezyonun kenarından 15 nolu bistüriyle 2-3 mm derinliğinde ve 0,5 mm uzunluğunda bir insizyon yapılarak (Resim 10), kanaması sağlandı. İnsizyon aralığından mümkün olduğunca bistüri sapı yardımıyla kansız olan seröz sıvı kazıntı materyali elde edildi. Elde edilen kansız seröz sıvı materyal bistüriyle lama nazıkçe yayıldı. Her hastadan 5 adet smear örneği alınarak 3 tanesi Giemsa ile boyandı. Her hastadan bir smear örneği boyanmadan ve alkolle tesbit edilmeden önce PZR çalışılmak üzere -20 °C ye kaldırılarak saklandı. Direk mikroskopik inceleme için lam oda ısısında kurutulduktan sonra üzerine metanol ilave edilerek tesbit işlemi yapıldı. Hazır Giemsa boyası solüsyonun her bir mililitresi için 9 mililitre distile su konularak sulandırma yapıldı. Hazırlanan Giemsa boyası lamın üzerinde 20 dakika kadar bekletildikten sonra yıkandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda x100'lük immersiyon objektifi ile incelendi.



Resim 10. KL lezyonundan smear alınışı (Fotoğraf; MKÜ Tıp Fakültesi Parazitoloji AD. Öğretim görevlisi Doç.Dr. Gülnaz ÇULHA'ya aittir.)

Hücre içerisinde veya dışarısında parazitin, giemsa ile boyanan preparatlarda pembe veya koyu kırmızı boyanan, oldukça büyük bir nükleus, hemen nükleus yanında yer alan parlak koyu kırmızı veya menekşe renginde çomak tarzında kinetoplast ve pembe renkli sitoplazma içeren *leishmania* amastigot cisimciğinin görülmesi ile direk mikroskopik inceleme pozitif olarak kabul edildi.

3.5. Mikrokültür

Mikrokültür yapmak üzere lezyon %70'lik etil alkolle silindi. Steril iki enjektör içine 0.1-0.2 mL steril serum fizyolojik çekildikten sonra lezyon kenarına enjekte edilerek tekrar aspire edip örnekler alındı. Alınan aspirasyon örneğine eşit derecede Roswell Park Memorial Institute-1640 (RPMI-1640) besiyerinden ekleme yapıldı (Kapiller tüpe ekim için %10 RPMI ile aspirat 1:1 oranında karıştırılarak steril bir eppendorf tüpünde karıştırıldı.) ve 1,5 mL lik mikrosantrifüj tüpüne alındı. Buradan mikrokültür tüplerine 50 mikrolitre eklendi. Tüplerin uçları parafilmle kapatıldıktan sonra 27 °C de bekletildi. Kültürler hasta bilgileri ve toplanma tarihi etiketlenerek, her gün invert mikroskopta incelendi ve hareketli promastigotlar arandı. Aktif hareketli promastigotlar mikrokültür tüplerinde görüldüğünde KL için tanı pozitif kabul edildi. Kültürler negatif sayılmadan önce 1 ay süreyle incelendi.

3.6. DNA İzolasyonu (PZR)

Genomik DNA, numunelerinden Roche High Pure PCR template preparation kit (Roche) ekstraksiyon kiti kullanıldı. Pozitif kontrol olarak MKÜ Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda pasajı devam eden ve bu bölgeden izole edilen *Leishmania* suşundan ekstrakte edilen DNA kullanıldı.

3.6.1. DNA Ekstraksiyonu: Bu amaçla, ticari kit prosedürüne göre hasta sürüntü örnekleri lam üzerinden alınmak suretiyle 5 ml distile suya alınarak 3500 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Supernatant atılarak izolat pelleti üzerine 0,5 ml lizis buffer ve 0.5 ml proteinaz K (10 mM Tris-HCl [pH 8], (1 mM EDTA, 100 mM NaCl) eklenerek 60 °C de 15 dk bekletilip sonra tekrar 3500 rpm'de 10 dk filitreli tüplerde santrifüj edildi. Atık olan kısım atılarak filtre ayrı temiz bir ependorfa alınıp üzerine 1 ml Wash Buffer eklenip DNA ekstraksiyonu için karışım üzerine, eşit miktarda phenol: 8000 rpm de 10 dk santrifüj edildi. Bu işlem 2 defa tekrarlandı. Filtreli kısım steril başka tüpe alınarak üzerine daha önceden 100 °C de tutulmuş Bunding Bufferdan 0.5 ml eklenerek 10 dk oda sıcaklığında bekletildi. Örnekler 10000 rpm de 15 dk santrifüj edilerek filtre kısımları atıldı. Elde edilen DNA örnekleri çalışmada kullanılmak üzere -20 °C de saklandı.

Primerler; PZR ile mikroskop bakısını karşılaştırmak amacıyla *Leishmania* kinetoplast DNA'sına ait olan ve en az 10 parazite karşı duyarlı olan 13A (5'- GTG GGG GAG GGG CGT TCT - 3') ve 13B (5'- ATT TTA CAC CAA CCC CCA GTT -3') (Alpha DNA) primerleri kullanıldı ve 120 bp lik segmenti, spesifik olarak amplifiye edildi.

3.6.2. Genin Amplifiye Edilmesi İşlemi: PZR karışımı 25 µl final hacimde, final konsantrasyonları her bir primerden 0.2 µM, 200 mM dNTP, 10x PZR buffer, 0.5 U Taq Polimeraz, 1.5 mM MgCl₂ ve 2 ml template DNA olacak şekilde yapıldı. Karışım termal döngü cihazına (Techne, England) konularak amplifikasyon işlemi uygulandı:

4- BULGULAR

Bu çalışmada kronik kutanöz leşmanyazis tanısında smear, mikrokültür ve Polimeraz Zincir Reaksiyonunun kullanılabilirliğinin belirlenmesi ve tanı değerlerinin karşılaştırılması amacıyla; kronik dönemde olan 32 erkek, 28 kadın olmak üzere toplam 60 kronik kutanöz leşmanyazis olgusundan alınan smear örneği ve aspirasyon sıvısı çalışıldı. Örnek alınan toplam 60 hastanın yaş, yaşadığı yer, lezyon yeri ve lezyon süresi Ekler bölümünde gösterilmektedir.

Hastaların çoğunluğunda lezyonlar fasial alanı (31 kişi) tutmaktaydı. Hastalardan bir kişide yüz ve üst ekstremitte, 1 kişide yüz ve alt ekstremitte, 1 kişide üst ve alt ekstremitte ve 1 kişide de alt ekstremitte ve gövde tutulumu birlikteydi. Örnek alınan hastaların lezyonlarının anatomik bölge dağılımı tablo 6'da, örnek alınan hastaların yaş dağılımı tablo 7'de gösterilmiştir.

Tablo 6. Örnek alınan anatomik bölge dağılımı

Bölge	Kişi sayısı
Yüz	31
Boyun	1
Üst ekstremitte	20
Alt ekstremitte	10
Gövde	2

Tablo 7. Örnek alınan hastaların yaş dağılımı

Yaş	Kişi sayısı	Yüzde
0-10	11	18.3
11-20	21	35
21-30	3	5
31-40	9	15
41-50	4	6.7
51 ve üzeri	12	20
Toplam	60	100

Alınan 60 smear örneğinin 51 tanesinin mikroskop bakışı pozitif (+), 9 tanesinin mikroskop bakışı negatif (-) olarak değerlendirildi (Tablo 8). Alınan 60 aspirasyon sıvısı örneğinin 11 tanesinin mikrokültürü pozitif (+), 49 tanesinin mikrokültürü negatif (-) olarak değerlendirildi (Tablo 8). Alınan 60 aspirasyon sıvısı örneğinden 59 tanesinin PZR incelemesi pozitif (+), 1 tanesinin PZR incelemesi negatif (-) olarak değerlendirildi (Tablo 8).

Tablo 8. Smear, mikrokültür ve PZR sonuçları

	Smear		Mikrokültür		PZR	
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
Sayı	51	9	11	49	59	1
Yüzde (%)	85	15	18.33	81.67	98.33	1.67

Smear pozitif (+) olan 51 örneğin 11 tanesinde mikrokültürde de pozitif (+) bulunurken (Tablo 9), 50 tanesinde PZR pozitif (+) (Tablo 10) bulundu. Smear negatif (-) olan 9 örneğin hepsinde mikrokültür negatif (-) bulunurken, PZR hepsinde pozitif (+) bulundu.

Tablo 9. Smear ve Mikrokültür yöntemi ile elde edilen sonuçların karşılaştırılması.

	Mikrokültür (+)	Mikrokültür (-)	Toplam
Smear (+)	11	40	51
Smear (-)	0	9	9
Toplam	11	49	60

Tablo 10. Smear ve PZR yöntemi ile elde edilen sonuçların karşılaştırılması.

	PZR (+)	PZR (-)	Toplam
Smear (+)	50	1	51
Smear (-)	9	0	9
Toplam	59	1	60

PZR pozitif (+) olan 59 örneğin 11 tanesinde mikrokültürde pozitif (+) (Tablo 11) bulunurken, 50 tanesinde smear pozitif (+) bulundu. PZR negatif (-) olan 1 örnekte ise mikrokültür negatif (-) bulunurken, smear pozitif (+) bulundu.

Mikrokültür pozitif (+) olan 11 örneğin 11'inde de hem smear hem de PZR pozitif (+) bulundu. Mikrokültür negatif (-) olan 49 örneğin 40 tanesinde smear pozitif (+), 9 tanesinde negatif (-) bulunurken, PZR 48 tanesinde pozitif (+), 1 tanesinde negatif (-) bulundu.

Tablo 11. Mikrokültür ve PZR yöntemi ile elde edilen sonuçların karşılaştırılması.

	PZR (+)	PZR (-)	Toplam
Mikrokültür (+)	11	0	11
Mikrokültür (-)	48	1	49
Toplam	59	1	60

Smear Hassasiyet (Sensitivite) = $51 / (51+9) \times 100 = \% 85$

Mikrokültür Hassasiyet (Sensitivite) = $11 / (11+49) \times 100 = \% 18.3$

PZR Hassasiyet (Sensitivite) = $59 / (59+1) \times 100 = \% 98.3$

5- TARTIŞMA

Ülkemizde çoğunlukla *Leishmania tropica*'nın etken olduğu ve antropoonotik tipteki epidemilerle özellenen kutanöz leşmanyazisin prevalansı 1950'li yıllardan önce başta Güneydoğu Anadolu Bölgesi olmak üzere bütün yurttan çok yüksekti (3). Ancak halen günümüzde Şanlıurfa, Osmaniye, Adana, Hatay, Diyarbakır, Kahramanmaraş ve Mersin illerinde endemik olarak görülen bir hastalıktır. Hastalık son zamanlarda endemik görüldüğü illerde artış göstermekle birlikte, endemik bölgeden endemik olmayan bölgeye seyahat gibi nedenlerle endemik olmayan bölgelerde de sporadik vakalar görülmektedir (7).

Kentler arası ulaşımın kolaylaşması, yolculukların artması, göçlerin çeşitli nedenlerle artması (buna paralel olarak yetersiz alt yapı ve sağlıksız konutlarla kentlerin köyleşmesi), ülkemizde özellikle antropoonotik KL yaygın olması nedeni ile ana kaynak olan hastaların tedavi edilmemesinin yanısıra vektörün kullanılan insektisidlere direnç kazanması veya kalıcı insektisit kullanımının yeterli ve etkin yapılamaması, savaşlar ve laboratuvar tanısındaki problemler gibi nedenler endemik bölgede sıklığının artmasının ve endemik olmayan bölgelerde sporadik vakaların görülmesinin diğer nedenlerini oluşturmaktadır (3,21).

KL, genellikle yüz ve el gibi elbiseyle örütülmeyen vücut bölgelerinde tek veya birkaç lezyonla karşımıza çıkabilir. Özellikle burun, göz ve oral mukoza yakınındaki lezyonlarda belirgin destrüksiyon oluşturabilen skarlar iyileşme olabilir. KL taklitçi bir hastalık olup, özellikle endemik bölgelerde impetigo, erizipel, paronişi, sporotrikozis, lepra, sifiliz, tüberküloz benzeri ve tümöral lezyonlar

şeklinde karşımıza çıkabileceği unutulmamalıdır (1,9). Bu yüzden şüpheli durumlarda tanıda kullanılan yöntemlerin hassasiyet ve duyarlılığı, yöntemin kullanılabilirliği ve ucuzluğu oldukça önem arz etmektedir. Geleneksel tanı yöntemlerinin (smear, histopatolojik inceleme ve kültür gibi) bilinenin aksine duyarlılığının çok değişken olduğu çeşitli çalışmalarla belirtilmiştir.

Çalışmamıza katılan hastalardan 32 (%53.3)'sinin erkek, 28 (%46.7)'inin kadın olduğu ve % 58.3'ünün 30 yaş ve altında olduğu belirlendi. Örnek alınan hastalardan %51.6'sının yüzünde ve %33.3'ünün üst ekstremitelerinde lezyon bulunmaktaydı. Klinik olarak bu 60 hasta 6-60 ay arasında değişen süregen lezyona sahiptiler. Ertem ve arkadaşlarının (132) 2004 yılında Diyarbakır bölgesinde KL'nin endemik olarak görüldüğü köylerde yaptıkları çalışmada, hasta bireylerin yaş ve cinsiyet grupları arasında anlamlı bir fark olmadığını tespit etmiştir. Bu tespit, çalışmamızın yaş ve cinsiyet gibi faktörlerden etkilenmediğini destekler niteliktedir.

Amastigotların varlığı lezyon süresine göre değişmektedir, bu sebeple kronik lezyonlarda parazit saptanamayabilir (8,9). Çalışmamızda kronik lezyona sahip 9 hastanın mikroskop bakılarının negatif olarak değerlendirilmesi, lezyonların süregen olmasından ve parazit sayısının bu tip lezyonlarda çok az olmasından ileri gelmektedir. Bu nedenle klinik olarak tanı konmasına rağmen giemsa ile boyalı preparatlarda parazit görülememekte ve hatta bu lezyonlardan alınan örneklerde kültür ortamında da parazitin üretilmesi güç olabilmektedir.

Lezyon örneklerinden aspirasyon sıvılarının alınıp kültürlerin yapılması özellikle bazı *Leishmania* suşları için oldukça zordur. Her suş aynı besiyerinde ürememektedir (32).

Serolojik tanı, KL tanısında hassasiyet ve duyarlılığında ki değişkenlikten dolayı nadiren kullanılır. Ayrıca serolojik testler eski ve yeni enfeksiyonu ayırt edememektedir. Bu sebeple KL tanısında kullanılmamaktadır. Yüksek duyarlılık ve hassasiyete sahip, basit bir yöntem olan Montenegro testi (Leyşmanın deri testi) zaman zaman epidemiyolojik çalışmalarda kullanılmaktadır (2).

PZR tabanlı yöntemler düşük parazit yükü bulunan olguları bile iyi analiz edebilmesinden dolayı özellikle düşük parazit yükü bulunan olgularda (örneğin

mukoza leşmanyazis ve kronik kutanöz leşmanyazis) tercih edilir. Klasik parazitolojik tanı yöntemleriyle karşılaştırıldığında özgüllüğü %100 iken duyarlılığı lokalize KL'de %20-30, mukoza leşmanyaziste %55-70'dir (2).

Son zamanlarda KL olgularında tanı yöntemlerinin karşılaştırılmasına yönelik pek çok araştırma yapılmıştır;

Faber ve arkadaşlarının (12) 46 hastayla yaptığı çalışmada PZR yöntemini smear, kültür ve histopatolojik tanı yöntemlerinin kombine ve tek kullanımları ile karşılaştırmıştır. Buna göre; PZR duyarlılığı %96, smear duyarlılığı %54 ve kültür duyarlılığı %70 olarak belirlenmiştir. Ancak PZR'nin smear ve kültür sonuçlarının kombinasyonu ile karşılaştırıldığında farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirtilmiştir.

Al-Hucheimi ve arkadaşlarının (1) lezyon süresi 4-18 hafta arasında değişen 57 hasta ile yaptığı çalışmada PZR %92.5, direkt smear %66.7 ve histopatolojik incelemenin %59.6 duyarlılığa sahip olduğunu belirtmiştir. Bu çalışma ile akut KL olgularında da PZR yönteminin duyarlılığının belirgin bir şekilde daha yüksek olduğu tesbit edilmiştir.

Boggild ve arkadaşlarının (13) lezyon süresi 3 hafta ile 9 yıl arasında değişen 62 hasta ile yaptığı çalışmada smear, PZR ve mikrokültür duyarlılığı sırasıyla %84.9, %94.3 ve %71.7 olarak belirtilmiştir. Aynı zamanda NNN ve RPMI besiyerlerindeki geleneksel kültür duyarlılığı %54,7 ve %35.8 olarak rapor edilmiştir. Bu çalışma ile PZR yönteminin duyarlılığı daha yüksek olmasının yanında, kültür besiyerleri arasındaki fark dikkat çekmektedir.

Rodriguez ve arkadaşları (18) tarafından 233 deri biyopsisi ile KL tanısı konan hastada direk mikroskopi, kültür, montenegro deri testi ve PZR yöntemleri karşılaştırılmış ve pozitiflik oranları sırasıyla, % 63, % 43, %100 ve % 97 olarak belirtmişlerdir.

Aviles ve arkadaşları (14) 24 hasta ile yaptığı çalışmada PZR, mikroskop bakısı, histopatolojik boyama ve IgG düzeylerine bakmışlardır. Elde ettikleri

sonuçlara göre PZR'de %92, mikroskop bakısında %42, histopatolojik boyamada %33 duyarlılığa sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Bensoussan ve arkadaşlarının (15) 92 hasta ile yaptığı çalışmada kültür ve smear duyarlılığı %62.8 ve %74.4 belirlenirken, kDNA PZR duyarlılığını %98.7 olarak bildirmişlerdir. Aynı çalışmada değişik PZR yöntemleri karşılaştırılarak kDNA PZR'nin KL tanısında *Leishmania* türlerinin tanımlanmasının gerekli olmadığı durumlarda en duyarlı tanı testi olduğunu ve rutin tanı için yeni bir standart olarak istihdam edilmesi gerektiğini rapor etmişlerdir. Ancak parazit karakterizasyonuna ihtiyaç duyulduğunda, ITS1 PZR'nin *Leishmania* türlerini tanımlamaya olanak sağlaması açısından çok daha hassas bir yöntem olduğundan bahsedilmiştir.

Pourmohammadi ve arkadaşları (16) 219 hasta ile yaptığı çalışmada direk mikroskopi, kültür ve PZR yöntemlerinin duyarlılığını sırayla %76.7, %50.7 ve %93.6 olduğunu rapor etmişlerdir.

Al-Jawabreh ve arkadaşları (17) 60 hastada PZR ve mikroskop bakısını karşılaştırdığı çalışmada; PZR'nin (%87) mikroskop bakısına (%37) göre çok daha duyarlı olduğunu rapor etmişlerdir.

Allahverdiyev ve arkadaşları (10) ile Ihalamulla ve arkadaşlarının (11) yaptığı çalışmalara göre mikrokültür Eski Dünya leşmanyazisinin teşhisinde kullanılan geleneksel kültür tekniklerinden daha ekonomik ve duyarlıdır.

Bizim çalışmamızda ise 60 kronik KL şüpheli olguda smear, mikrokültür ve PZR duyarlılıklarının değerlendirilmesinde, smear %85, mikrokültür %18.3 ve PZR %98.3 duyarlılığa sahip olduğunu belirledik. Daha önceki çalışmalarda ise özetle PZR %92-98, smear %42-84 ve kültür yöntemleri %33-71 duyarlılığa sahip olduğu bildirilmiştir. Belirlediğimiz sensivite oranları smear ve PZR için daha önce yapılan birçok çalışma ile uyumlu olduğu görülmektedir. Ancak mikrokültür duyarlılığı daha önceki yapılan çalışmalara kıyasla daha az duyarlı bulunmuştur.

Serin ve arkadaşları (133) 10 KL olgusunda *Leishmania* parazitini mikrokültür yöntemi ile üretilen Fme-Rme primerlerini kullanarak ITS I gen bölgesinde tiplendirme çalışması yapmışlardır. Çoğaltıkları ITS I gen bölgesini Hae

III ve Eae I enzimleri ile kesmişler %30 *L.infantum* ve %70 *L.tropica* türleri tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda mikrokültür duyarlılığının düşük olması, çalışmamızı yürütmüş olduğumuz Hatay bölgesinde görülen *Leishmania* suşu ile ilişkili olabilir. Toz ve arkadaşlarının (31) yaptığı çalışmada ülkemizde KL olgularının *L. Tropica* ve *L. Infantum* kaynaklı olduğu ve bizim çalışmamızı yürütmüş olduğumuz Hatay ilinde *L. Infantum*'un endemik olduğu tesbit edilmiştir. Aynı zamanda daha önceki yapılan çalışmalarda kültür yöntemleri genellikle kronik olmayan olgulardan oluşmaktadır. Bizim olgularımızda ise olguların 6-60 ay arasında değişen kronik olgular olduğundan dolayı amastigotların daha az görülmesiyle de ilişkili olabilir.

KL olgularında smear ve mikrokültür duyarlılığının PZR yöntemine göre daha düşük olduğu daha önceki yayınlarda belirtilmiştir, ancak çalışmamızda kronik olgularda bu farkın daha belirgin hale geldiği görülmektedir. Özellikle kronik olgular smear ya da mikrokültür gibi etken paraziti görmeye yönelik yöntemlerle değerlendirilmesi yanlış tanıya neden olabilir. Kronik olguların PZR yöntemi ile değerlendirilmesi kronik KL tanısında daha çok gereklilik arz etmektedir.

Kutanöz leşmanyazisin tanısında, alınan örneklerde parazitin sayıca çok az olması (kronik KL ve mukokutanöz leşmanyazis gibi), enfeksiyon süresinin uzun süreli olması ve kültür yönteminin yeterli duyarlılığa sahip olmaması gibi nedenlerle geleneksel tanı yöntemleriyle tanı konulamayan kutanöz leşmanyazisli hastalarda, kısa sürede güvenilirliği yüksek bir test sonucu alınmak istendiğinde ya da tedaviyi takip etme durumunda PZR gittikçe önemi artan bir test olarak karşımıza çıkmaktadır. Birçok araştırmacı PZR hassasiyetini %100 olarak belirlerken, duyarlılığını %92-98 belirlemiştir. Geleneksel yöntemler (kültür, smear, histopatolojik inceleme) %50-70 duyarlılığa sahiptir. Bu bulgular eşliğinde artık PZR yöntemi özellikle kronik KL tanısında altın standart olarak kabul edilebilir. Ancak PZR yönteminin uygulanabilmesi için teknik şartların yetersizliği, uzmanlık gerektirmesi ve pahalı bir yöntem olması dezavantajlarını oluşturmakta olup, rutin kullanımını kısıtlamaktadır.

6- SONUÇLAR VE ÖNERİLER

KL, kentler arası ulaşımın kolaylaşması, yolculuk ve göçlerin artışı ve AKL'de ana kaynak olan hastaların tedavi edilmemesinin yanı sıra, vektörle düzenli bir mücadele yürütülememesi ve sağlıklı kentleşmenin artması gibi pek çok faktör sonucu hastalığın insidansında artış görülebilmektedir (6). Ülkemizin bazı bölgelerinde geçmiş yıllarda olduğu gibi günümüzde de ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak varlığını sürdürmektedir. Klinik olarak KL düşünülen bütün olgular tedavi öncesi mutlaka bir laboratuvar yöntemi ile doğrulanarak tanı kesinleştirilmelidir. Amastigotların varlığı lezyon süresine göre değişir bu sebeple kronik lezyonlarda parazit saptanamayabilir.

Bu çalışmada kronik KL olgularında direk mikroskopik incelemenin %85, mikrokültürün %18.3 ve PZR'nin %98.3 duyarlılığa sahip olduğunu belirledik. Kronik KL olgularında smear ya da PZR yönteminin rutin tanıda kullanılabileceği ancak smear yönteminin negatif çıktığı şüpheli kronik olgularda yanlış negatiflik olabileceği düşünülerek, mutlaka PZR bakılması gerektiği sonucuna varıldı. Mikrokültür yöntemi ise kronik KL olgularında başarılı ve pratik bir yöntem olarak görülmüştür.

Kronik KL olgularındaki lezyondan alınan örneklerde amastigotların az bulunması nedeniyle yapılan klasik tanı yöntemleri tanıda yanlış negatifliklere neden olabilmektedir. Uygun tanı yönteminin kullanılması hem hastalığın morbiditesi açısından, hem de hastalığın insidansındaki artışın kontrolü açısından önem arz etmektedir. Yapılacak olan çalışmalarda hastadan elde edilecek örneklerde etkeninin tiplendirilerek tanı yöntemlerinin değerlendirilmesi ile daha yararlı bilgiler elde edilecektir.

7- KAYNAKLAR

1. Al-Hucheimi SN, Sultan BA, Al-Dhalimi MA. A comparative study of the diagnosis of Old World cutaneous leishmaniasis in Iraq by polymerase chain reaction and microbiologic and histopatologic methods. *International journal of Dermatology*. 2009;48:404-8
2. Reithinger R, Dujardin JC, Louzir H, Pirmez C, Alexander B, Brooker S. Cutaneous leishmaniasis. *Lancet Infect Dis*. 2007;7:581–96
3. Memişoğlu HR. Kutanöz Leishmaniasis. *ANKEM Dergisi*. 1997;11(3): 319-29
4. World Health Organization web sayfası. Erişim tarihi: 12.01.2012. www.who.int/leishmaniasis/burden/en/
5. World Health Organization web sayfası. Erişim tarihi: 16.02.2012. : Report Of The Consultative Meeting On Cutaneous Leishmaniasis Control Of The Leishmaniases Technical Report, Geneva, 2007;1-36. http://www.who.int/leishmaniasis/resources/Cutaneous_leish_cm_2008.pdf
6. ulha G, Akçalı C. Hatay ve çevresinde saptanan kutanöz leishmaniasis olguları. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 2006;30(4):268-71.
7. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü. şark çıbanı. 2003/126 sayılı genelgesi. Erişim tarihi 15.01.2012 <http://www.saglik.gov.tr/TR/dosya/1-12308/h/sarkcibanikitap.pdf>
8. Ameen M. Cutaneous leishmaniasis: advances in disease pathogenesis, diagnostics and therapeutics. *Clinical and Experimental Dermatology*. 2010;35:699–705
9. Aytakin S. Kutanöz layşmanyaziste tedavi yaklaşımları. *Türkderm*. 2009;43:44-7
10. Allahverdiyev AM, Uzun S, Durdu M, Memisoğlu HR. A sensitive new microculture method for diagnosis of cutaneous leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg*. 2004;70:294-97.

11. Ithalamulla RL, Rajapaksa US, Karunaweera ND. Microculture for the isolation of *Leishmania* parasites from cutaneous lesions—Sri Lankan experience. *Ann Trop Med Parasitol*. 2005;99:571-75.
12. Faber WR, Oskam L, Gool TV, Kroon NCM, Knegt-Junk KJ, Hofwegen H, et al. Value of diagnostic techniques for cutaneous leishmaniasis. *J Am Acad Dermatol*. 2003;49:70-4.
13. Boggild AK, Verastegui CM, Espinosa D. Evaluation of a microculture method for isolation of *leishmania* parasites from cutaneous of patients in Peru. *Journal of Clinical microbiology*. 2007 Nov;45(11):3680-84
14. Aviles H, Belli A, Armijos R, Monroy F, Harris E. PCR detection and identification of *Leishmania* parasites in clinical specimens in Ecuador: A comparison with classical diagnostic methods. *Journal of Parasitology*. 1999;85(2):181-7.
15. Bensoussan E, Nasereddin A, Jonas F, Schnur LF, Jaffe CL. Comparison of PCR assays for diagnosis of cutaneous leishmaniasis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006 Apr;44(4):1435–39
16. Pourmohammadi B, Motazedian MH, Hatam GR, Kalantari M, Habibi P, Sarkari B. Comparison of three methods for diagnosis of cutaneous leishmaniasis. *Iranian J Parasitol*. 2010;5(4):1-8
17. Al-Jawabreh A, Schoenian G, Hamarsheh O, Presber W. Clinical diagnosis of cutaneous leishmaniasis: A comparison study between standardized graded direct microscopy and ITS1-PCR of Giemsa-stained smears. *Acta Tropica*. 2006;(99) 55–61.
18. Rodriguez N, Guzman B, Rodas A, Takiff H, Bloom B, Convit J. Diagnosis of cutaneous leishmaniasis and species discrimination of parasites by PCR and hybridization. *J of Clin Microbiol*. 1994 Sept;32(9):2246-52.
19. Özbel Y, Töz ÖS, Leishmaniosis, Özcel MA. *Tıbbi Parazit Hastalıkları*. 1 ed. İzmir: Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri; 2007. p. 198-230.
20. Varışlı AN. *Kutanöz Leshmaniasis’li Hastaların Tanı Ve Takibinde Real Time PCR Kullanımı*. Yüksek Lisans Tezi, 2005.
21. Allahverdiyev A, Bağirova M, Koç ÇR, Öztel ON, Elçiçek S, Ateş SC, Karaca TD. Leishmaniasis’e karşı aşı geliştirilmesinde yaklaşımlar ve problemler. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 2010;34(2):122-3
22. Cox FEG. History of Human Parasitology. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:595–612.
23. Bari A. Chronology of cutaneous leishmaniasis: An overview of the history of the disease. *Journal of Pakistan Association of Dermatologists*. 2006;16:24-7.

24. Rezaei Azizi N. Bodrum yarımadasında leishmaniasis epidemiyolojisinin araştırılması. Doktora Tezi, 2008.
25. Uzun S. Kutanöz Leishmaniasis. Tüzün Y, Gürer M.A, Serdaroğlu S, Aksungur VL, et al. Dermatoloji. 3. Baskı; 2008;659-82
26. Van Den Enden, E. (2002). Leishmaniasis .
http://www.itg.be/itg/Distancelearning/LectureNotesVandenEndenE/Teksten/sylabus/05_Leishmaniasis.doc
27. Yaman M. Tatarcıklarla mücadele ve bu alandaki son gelişmeler. Türkiye Parazitoloji Dergisi. 2008;32(3):280-87
28. Bailey MS, Lockwood DNJ. Cutaneous leishmaniasis. Clinics in Dermatology. 2007;25:203–11
29. Ok ÜZ, Balcıoğlu IC, Özkan AT, Özensoy S, Özbel Y. Leishmaniasis in Turkey. Acta Tropica. 2002;84:43-8
30. Özbel Y. Leishmaniasis'in tanı ve tedavisindeki sorunları çözmeye yönelik çalışmalar. XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi (KLİMİK); 2005;53-4
31. Toz SO, Nasereddin A, Ozbel Y, Ertabaklar H, Culha G, Sevil N, Alkan MZ and Jaffe CL. Leishmaniasis in Turkey: molecular characterization of Leishmania from human and canine clinical samples. Tropical Medicine and International Health. 2009 Nov;14(11);1401–6
32. Eroğlu F. Kutanöz Leishmaniyozlu hastalarda etken türlerin PCR-RFLP yöntemi ile tanımlanması. Yüksek Lisans Tezi, 2008.
33. Darius R, Amır H, David A. Histologic Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis. Clinics in Dermatology. 1999;17:297–304
34. World Health Organization: Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the control of Leishmaniasis, Geneva, 22–26 March 2010. Control of the Leishmaniasis, WHO Technical Report Series. 2010; 949:1-202. Erişim tarihi: 02.04.2012
http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_949_eng.pdf
35. Banuls AL, Hide M, Prugnolle F. Leishmania and the Leishmaniasis: A parasite genetic update and advances in taxonomy, epidemiology and pathogenicity in humans. Advances in Parasitology. 2007;7:7–8.
36. Unat EK, Yücel A, Altas K, Samastı M. “Unat’ın Tıp Parazitolojisi” insanın Ökaryonlu Parazitleri ve Bunlarla Oluşan Hastalıkları. 5. Baskı İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları; 1995, 564-90
37. Alexander J, Satoskar AR, Russel DG. Leishmania species: models of intracellular parasitism. J Cell Sci. 1999;112(18):2993-3002.

38. Pearson RD, Sousa ADQ. Clinical spectrum of leishmaniasis. *Clinical Infectious Diseases*. 1996 Jan;22(1):1-11
39. Akilov OE, Khachemoune A, Hasan T. Clinical manifestations and classification of Old World cutaneous leishmaniasis. *International Journal of Dermatology*. 2007;46: 132–42
40. Hepburn NC. Cutaneous leishmaniasis. *Clinical and Experimental Dermatology*. 2000;25:363-70
41. Gramiccia M, Gradoni L. The leishmaniasis of Southern Europe. In: emerging pests and vector-borne diseases in Europe, Takken W and Knols B. G. J. (eds). Wageningen Academic Publishers, The Netherlands; 2007;75-95.
42. Yurdakul P. Leishmania enfeksiyonlarının immünopatogenezi. *Mikrobiyol Bül.* 2005;39:363-81
43. Killik-Kendrick R. The biology and control of Phlebotominae sand flies. *Clin Dermatol*. 1999;17:279-89
44. Wikipedia web sayfası. Erişim tarihi: 17.09.2012 .
[http://tr.wikipedia.org/wiki/Tatarc%C4%B1k_\(sinek\)](http://tr.wikipedia.org/wiki/Tatarc%C4%B1k_(sinek))
45. Ibrahim M E (2002). The epidemiology of visceral leishmaniasis in East Africa: hints and molecular revelation, *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2002;96(1): 25-9.
46. Khatami A, Firooz A, Gorouhi F, Dowlati Y. Treatment of acute Old World cutaneous leishmaniasis: A systematic review of the randomized controlled trials. *J Am Acad Dermatol*. 2007;57(2):335e1-29
47. Blum JA, DTM&H and Hatz CF. Treatment of Cutaneous Leishmaniasis in travelers 2009. *J Travel Med*. 2009;16:123–31
48. Tuon FF, Amato VS, Graf ME, Siqueira AM, Nicodemo AC, Neto VA. Treatment of New World cutaneous leishmaniasis – a systematic review with a meta-analysis. *International Journal of Dermatology*. 2008;47:109–24
49. Pearson RD, and Queiroz Sousa A. Clinical spectrum of Leishmaniasis. *Clinical Infectious Diseases*. 1996;22:1-13
50. Uzun S, Baba M, Acar MA, Memişoğlu HR. Hulusi Behçet'in çivi belirtisinin kutanöz leishmaniasisin klinik tanısındaki değeri. *Türkderm*. 2002;36:20-3
51. Minodiera P, Parolab P. Cutaneous leishmaniasis treatment. *Travel Medicine and Infectious Disease*. 2007;5:150–58
52. Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2004;27:305-18.

53. Samady JA, Schwartz RA. Old World cutaneous leishmaniasis. *International Journal of Dermatology*. 1997;36:161-66
54. Romero GAS, Guerra MVF, et al. Sensitivity of the polymerase chain reaction for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Viannia) guyanensis*. *Acta Tropica*. 2001;79:225-29
55. Ersöz Ş. Şark çıbanı hastalarında L-arginin NO yolunun incelenerek oksidan ve antioksidanlarla korelasyonunun araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, 2006.
56. Momeni AZ, Aminjavaheri M. Clinical picture of cutaneous leishmaniasis in Isfahan, Iran. *Int J Dermatol*. 1994;33:260-65.
57. Kubba R, Al-Gindan Y. Leishmaniasis. *Dermatol Clin*. 1989;7:331-51.
58. Karıncaoglu Y, Esrefoglu M, Ozcan H. Atypical clinical form of cutaneous leishmaniasis: Erysipeloid form. *Int J Dermatol*. 2004;43:827-29.
59. Salmanpour R, Handjani F, Zerehsaz F, et al. Erysipeloid leishmaniasis: an unusual clinical presentation. *Eur J Dermatol*. 1999;9:458-59.
60. Rubio FA, Robayna G, Herranz P, et al. Leishmaniasis presenting as a psoriasiform eruption in AIDS. *Br J Dermatol*. 1997;136:792-94.
61. Griffiths WAD. Old World cutaneous leishmaniasis. In: Peters W, Killick-Kendrick R, eds. *The Leishmaniasis in Biology and Medicine*, Vol. 2. London, Orlando: Academic Press; 1987;2:617-36.
62. Raja KM, Khan AA, Hameed A, et al. Unusual clinical variants of cutaneous leishmaniasis in Pakistan. *Br J Dermatol*. 1998;139:111-13.
63. Bienzle U, Ebert F, Dietrich M. Cutaneous leishmaniasis in Eastern Saudi Arabia. Epidemiological and clinical features in a nonimmune population living in an endemic area. *Tropenmed Parasitol*. 1978;29:188-93.
64. Iftikhar N, Bari I, Ejaz A. Rare variants of cutaneous leishmaniasis: whitlow, paronychia, and sporotrichoid. *Int J Dermatol*. 2003;42:807-9.
65. Kibbi AG, Karam PG, Kurban AK. Sporotrichoid leishmaniasis in patients from Saudi Arabia: clinical and histologic features. *J Am Acad Dermatol*. 1987;17:759-64.
66. Spier S, Medenica M, McMillan S, et al. Sporotrichoid leishmaniasis. *Arch Dermatol*. 1977;113:1104-5.
67. Youssef S, Hammami H, Cheffai S, Dhaoui MR, Jaber K, Doss N. Unilateral erythema nodosum and homolateral cutaneous leishmaniasis. *Med Mal Infect*. 2009;39(9):739-40

68. Grevelink SA, Lerner EA. Leishmaniasis. *J Am Acad Dermatol.* 1996;34:257-72
69. Schönian G, Akuffo H, Lewin S, et al. Genetic variability within the species *Leishmania aethiopica* does not correlate with clinical variations of cutaneous leishmaniasis. *Mol Biochem Parasitol.* 2000;106:239–48.
70. Jacobs B, Brown DL. Cutaneous furuncular myiasis: Human infestation by the botfly. *Can J Plast Surg.* 2006;14(1):31-2
71. Yaghoobi R, Maraghi S, Bagherani N, Rafiei A. Cutaneous leishmaniasis of the lid: a report of nine cases. *Korean J Ophthalmol.* 2010;24(1):40-3
72. Al-Gindan Y, Kubba R, El-Hassan AM, et al. Dissemination in cutaneous leishmaniasis. 3. Lymph node involvement. *Int J Dermatol.* 1989;28:248–54.
73. Alam K, Maheshwari V, Bhargava S, Anshu J, Uroos F, ErshadUH. Histological diagnosis of madura foot (Mycetoma): a must for definitive treatment. *J Glob Infect Dis.* 2009;1(1):64-7
74. Jombo GTA, Gyoh SK. Unusual presentations of cutaneous leishmaniasis in clinical practice and potential challenges in diagnosis: a comprehensive analysis of literature reviews. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.* 2010;9:17-21
75. Sinha S, Fernandez G, Kapila R, Lambert WC, Schwartz RA. Diffuse cutaneous leishmaniasis associated with the immune reconstitution inflammatory syndrome. *International Journal of Dermatology.* 2008;47:1263–70
76. Zijlstra EE, Musa AM, Khalil EAG, El-Hassan IM. Post-kala-azar dermal leishmaniasis. *Lancet Infect Dis.* 2003;3:87–98
77. Mitropoulos P, Konidas P, Durkin-Konidas M. New World cutaneous leishmaniasis: Updated review of current and future diagnosis and treatment. *J Am Acad Dermatol.* 2010;63(2):309-22
78. Birben E. Polimeraz Zincir Reaksiyonu [Polymerase Chain Reaction (PCR)]. *Astım Allerji immünoloji.* 2006;4(2):92-4
79. Bişkin Z, Yıldırım A, İnci A, Düzlü Ö. Parazitolojide teşhis amaçlı kullanılan moleküler biyolojik teknikler. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg.* 2011;8(1):43-51
80. Hepburn NC. Cutaneous leishmaniasis: an overview. *J Postgrad Med.* 2003;49:50-4.
81. Croft SL, Sundar S, Fairlamb AH. Drug resistance in leishmaniasis. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19:111-26.

82. Llanos-Cuentas A, Tulliano G, Araujo-Castillo R, Miranda-Verastegui C, Santamaria-Castrellon G, Ramirez L, et al. Clinical and parasite species risk factors for pentavalent antimonial treatment failure in cutaneous leishmaniasis in Peru. *Clin Infect Dis*. 2008;46:223-31.
83. Rojas R, Valderrama L, Valderrama M, Varona MX, Ouellette M, Saravia NG. Resistance to antimony and treatment failure in human *Leishmania (viannia)* infection. *J Infect Dis*. 2006;193:1375-83.
84. Schwartz E, Cristoph H, Blum J. New World cutaneous leishmaniasis in travelers. *Lancet Infect Dis*. 2006;6:342-9.
85. Alrajhi AA. Cutaneous Leishmaniasis of the Old World. Maddin S. (ed.) *Skin Therapy Letter*. 2003;8(2):1-4
86. Anjili C, Langat B, Ngumbi P, Mbatia PA, Githure J, Tonui WK. Effects of anti- *Leishmania* monoclonal antibodies on the development of *Leishmania major* in *Phlebotomus duboscqi* (Diptera: Psychodidae). *East Afr Med J*. 2006;83:72-8.
87. Zhai L, Chen M, Blom J, Theander TG, Christensen SB, Kharazmi A. The antileishmanial activity of novel oxygenated chalcones and their mechanism of action. *J Antimicrob Chemother*. 1999;43:793-803.
88. Akilov OE, Kosaka S, O'Riordan K, Hasan T. Photodynamic therapy for cutaneous leishmaniasis: the effectiveness of topical phenothiaziniums in parasite eradication and Th1 immune response stimulation. *Photochem Photobiol Sci*. 2007;6:1067-75.
89. Claes DE, Clemens F, Flory J, Abedelmajeed N, Ariei I, Charles JL, et al. Treatment of cutaneous leishmaniasis with photodynamic therapy. *Arch Dermatol*. 2003;139:432-4.
90. Vasquez RE, Soong L. CXCL10/gamma interferon-inducible protein 10-mediated protection against *Leishmania amazonensis* infection in mice. *Infect Immun*. 2006;74:6769-77.
91. Blum J, Desjeux P, Schwartz E, Beck B, Hatz C. Treatment of cutaneous leishmaniasis among travellers. *J Antimicrob Chemother*. 2004;53:158-66.
92. Murray HW, Berman JD, Davies CR, Saravia NG. Advances in leishmaniasis. *Lancet*. 2005;366:1561-77.
93. Beheshti M, Ghotbi Sh, Amirizade S. Therapeutic and adverse effects of glucantime used for treatment of cutaneous leishmaniasis. *Shiraz E-Medical Journal*. 2007;8: 155-61.
94. Uzun S, Durdu M, Culha G, Allahverdiyev AM, Memişoğlu HR. Clinical features, epidemiology, and efficacy and safety of intralesional antimony

- treatment of cutaneous leishmaniasis: Recent experience in Turkey. *Journal of Parasitology*. 2004;90:853-9.
95. Moskowitz PF, Kurban AK. Treatment of cutaneous leishmaniasis: retrospectives and advances for the 21st century. *Clin Dermatol*. 1999;17:305–15.
 96. Alkhawajah AM, Larbi E, Al-Gindan Y, Abahussein A, Jain S. Treatment of cutaneous leishmaniasis with antimony: intramuscular versus intralesional administration. *Ann Trop Med Parasitol*. 1997;91:899–905.
 97. Gurel MS, Ulukanligil M, Ozbilge H. Cutaneous leishmaniasis in Sanliurfa: epidemiologic and clinical features of the last four years (1997–2000). *Int J Dermatol*. 2002;41:32–7.
 98. Sharquie KE. A new intralesional therapy of cutaneous leishmaniasis with hypertonic sodium chloride solution. *J Dermatol*. 1995;22:732–7.
 99. Sharquie KE, Najim RA, Farjou IB. A comparative controlled trial of intralesionally administered zinc sulphate, hypertonic sodium chloride and pentavalent antimony compound against acute leishmaniasis. *Clin Exp Dermatol*. 1997;22:169–73.
 100. Iraj F, Vali A, Asilian A, Shahtalebi MA, Momeni AZ. Comparison of intralesionally injected zinc sulfate with meglumine antimoniate in the treatment of acute cutaneous leishmaniasis. *Dermatology*. 2004;209:46-9.
 101. Shazad B, Abbaszadeh B, Khamesipour A. Comparison of topical paromomycin sulfate (twice/day) with intralesional meglumine antimoniate for the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *L. major*. *Eur J Dermatol*. 2005;15:85-7.
 102. Faghihi G, Tavakoli-kia R. Treatment of cutaneous leishmaniasis with either topical paromomycin or intralesional meglumine antimoniate. *Clin Exp Dermatol*. 2003;28:13-6.
 103. Moosavi Z, Nakhli A, Rassaii S. Comparing the efficiency of topical paromomycine with intralesional meglumine antimoniate for cutaneous leishmaniasis. *Int J Dermatol*. 2005;44:1064–5.
 104. Momeni AZ, Aminjavaheri M, Omidghaemi MR. Treatment of cutaneous leishmaniasis with ketoconazole cream. *J Dermatolog Treat*. 2003;14:26-9.
 105. Larbi EB, al-Khawajah A, al-Gindan Y, Jain S, Abahusain A, al-Zayer A. A randomized, double-blind, clinical trial of topical clotrimazole versus miconazole for treatment of cutaneous leishmaniasis in the eastern province of Saudi Arabia. *Am J Trop Med Hyg*. 1995;52:166-8.
 106. Sharquie KE, Najim RA, Farjou IB, Al-Timimi DJ. Oral zinc sulphate in the treatment of acute cutaneous leishmaniasis. *Clin Exp Dermatol*. 2001;26:21-6.

107. Firooz A, Khatami A, Khamesipour A, Nassiri-Kashani M, Behnia F, Nilforoushzadeh M, et al. Intralesional injection of 2% zinc sulfate solution in the treatment of acute Old World cutaneous leishmaniasis: a randomized, double-blind, controlled clinical trial. *J Drug Dermatol*. 2005;4:73-7.
108. Uzun S, Uslular C, Yucel A, Acar MA, Ozpoyraz M, Memisoglu HR. Cutaneous leishmaniasis: evaluation of 3074 cases in the Cukurova region of Turkey. *Br J Dermatol*. 1999;140:347-50.
109. Willard RJ, Jeffcoat AM, Benson PM, Walsh DS. Cutaneous leishmaniasis in soldiers from Fort Campbell, Kentucky returning from operation Iraqi freedom highlights diagnostic and therapeutic options. *J Am Acad Dermatol*. 2005;52:977-87.
110. Asilian A, Iraj F, Hedaiti HR, Siadat AH, Enshaieh S. Carbon dioxide laser for the treatment of lupoid cutaneous leishmaniasis (LCL): a case series of 24 patients. *Dermatol Online J*. 2006;12(2):3.
111. Momeni AZ, Jalayer T, Emanjomeh M, Bashardost N, Ghassemi RL, Meghdadi M, et al. Treatment of cutaneous leishmaniasis with itraconazole. Randomized double-blind study. *Arch Dermatol*. 1996;132:784-6.
112. Nassiri-Kashani M, Firooz A, Khamesipour A, Mojtahed F, Nilforooshzadeh M, Hejazi H, et al. A randomized, doubleblind, placebo-controlled clinical trial of itraconazole in the treatment of cutaneous leishmaniasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2005;19:80-3.
113. Alrajhi AA, Ibrahim EA, De Vol EB, Khairat M, Faris RM, Maguire JH. Fluconazole for the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major*. *N Engl J Med*. 2002;346:891-5.
114. David CV, Craft N. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Dermatologic Therapy*. 2009;22:491-502
115. Sundar S, Thakur C.P, Engel J, Sindermann H, Fischer C, Junge K, et al. Oral Miltefosine for Indian Visceral Leishmaniasis. *N Eng J Med*. 2002;347(22);1739-46
116. Wegenberg JV, santana G, D'Plivia A, Santos AF, Costa CH, Carvalho EM, Barral A, Barral-Netto M. Zinc/copper imbalance reflects immune dysfunction in human leishmaniasis: an ex vivo and invitro study. *BMJ Infectious Diseases*. 2004;50:1-7.
117. Kocyigit A, Erel O, Gürel MS, Avcı S, Akteje N. Alterations of serum selenium, zinc, copper, and iron concentrations and related antioxidant enzyme activities in patients with cutaneous leishmaniasis. *Biol Trace Res*. 1998;65:271-81.

118. Kochar DK, Aseri S, Sharma BV, Bumb RA, Mehta RD, Purohit SK. The role of rifampicin in the management of cutaneous leishmaniasis. *QJM*. 2000;93:733-7.
119. Dogra J. A double-blind study on the efficacy of oral dapsone in cutaneous leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1991;85:212-3.
120. Wortmann G, Miller RS, Oster C, Jackson J, Aronson N. A randomized, double-blind study of the efficacy of a 10- or 20- day course of sodium stibogluconate for treatment of cutaneous leishmaniasis in United States military personnel. *Clin Infect Dis*. 2002;35:261-7.
121. Kharfi M, Benmously R, El Fekih N, Daoud M, Fitouri Z, Mokhtar I, et al. Chilhood leishmaniasis: report of 106 cases. *Dermatol Online J*. 2004;10:6.
122. Olliaro PL, Guerin PJ, Gerstl S, Haaskjold AA, Rottingen JA, Sundar S. Treatment options for visceral leishmaniasis: a systematic review of clinical studies done in India, 1980-2004. *Lancet Infect Dis*. 2005;5:763-74.
123. Munir A, Janjua SA, Hussain I. Clinical efficacy of intramuscular meglumine antimonate alone and in combination with intralezyonel meglumine antimonate in the treatment of old wold cutaneous leishmaniasis. *Acta Dermatovenereol Croat*. 2008;16:60-4.
124. Sadeghian G, Nilforoushzadeh MA. Effect of combination therapy with systemic glucantime and pentoxifylline in the treatment of cutaneous leishmaniasis. *Int J Dermatol*. 2006;45:819-21.
125. Herwaldt BL. Leishmaniasis. *Lancet*. 1999;354:1191-9
126. Alexander B, Maroli M. Control of phlebotomine sandflies. *Med Vet Entomol*. 2003;17:1-18.
127. Bilek H. Lokalize kutanöz leishmaniasis'ten korunma ve duyarlılıkta HLA Class II allellerinin rolü. *Uzmanlık Tezi*, 2009.
128. Palatnik-de-Sousa CB. Vaccines for leishmaniasis in the fore coming 25 years. *Vaccine*. 2008;26:1709-24.
129. Armijos RX, Weigel MM, Calvopina M, Hidalgo A, Cevallos W, Correa J. Safety, immunogenecity, and efficacy of an autoclaved *Leishmania amazonensis* vaccine plus BCG ad-juvant against New World cutaneous leishmaniasis. *Vaccine*. 2004;22:1320-6.
130. Coler RN, Reed SG. Second-generation vaccines against leishmaniasis. *Trends Parasitol*. 2005;21:244-9.
131. Handman E. Leishmaniasis: Current status of vaccine development. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14:229-43.

132. Ertem M, Aytekin S, Acemoglu H, Akpolat N, Aytekin N. Diyarbakır Dicle ilçesi Dedeköy ve Durabeyli’de kutanöz leishmaniasis olgularının incelenmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi. 2004;2:65–8
133. Serin MS, Daglioglu K, Bagirova M, Allahverdiyev A, and et al. Rapid diagnosis and genotyping of Leishmania isolates from cutaneous and visceral leishmaniasis by microcapillary cultivation and polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism of miniexon region. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2005;53:209-14.

8-EKLER

Hasta No	Cinsi yet	Yaş	Adres	Lezyon Lokalizasyonu	Lezyon süresi	Smear	Mikro kültür	PZR
1	E	4	Hassa- Yuvalı köyü	Burun	6 ay	+	-	+
2	E	51	Hassa	Yanak	9 ay	+	+	+
3	E	14	İskenderun-Helvalı köyü	Bacak	2 yıl	+	-	+
4	K	41	Kırıkhan-Kurtlu Soğuksu Beldesi	Kol	1 yıl	+	-	+
5	K	13	Yayladağı-Karaköse beldesi	Kol	2 yıl	+	-	+
6	E	17	Antakya Merkez	Çene	7 ay	+	-	+
7	E	38	Hassa- Güvenç köyü	Çene, sağ ve sol yanak	8-10 ay	+	-	+
8	K	14	Altınözü-Sarıbük köyü	Burun	1 yıl	+	-	+
9	K	13	İskenderun-Kara Hüseyinli köyü	Sağ bilek	3 yıl	+	-	+
10	K	46	Altınözü- Çetenli köyü	Kol	8 ay	+	+	+
11	E	54	Hassa	Kol	1 yıl	+	-	+
12	E	40	Serinyol-Tahtaköprü köyü	Ayak bileği	1yıl	+	-	+
13	E	5	Altınözü-Kıyığören köyü	Yanak	1yıl	+	-	+
14	E	9	İskenderun-Gözcüler beldesi	Çene altı	1 yıl	+	-	+

15	K	45	Altınözü- Büyükburç köyü	Yanak	8 ay	+	+	+
16	K	70	Samandağ Merkez	Burun	1 yıl	+	-	+
17	E	20	Arsuz- Konacık köyü	Yanak, kol	6 ay	+	+	+
18	K	39	Altınözü-Çetenli köyü	El bileği	4-5 yıl	+	-	+
19	K	11	Altınözü-Çetenli köyü	Alın	2 yıl	+	-	+
20	E	3	Altınözü- Hacıpaşa beldesi	Burun	2-3 yıl	+	-	+
21	K	14	Yayladağı- Çakıköyü	Alın	1yıl	+	-	+
22	K	20	Samandağ- Tekebaşı beldesi	Ayak	1 yıl	+	-	+
23	K	4	Kırıkhan- Yuvalı köyü	Dirsek	8-9 ay	+	+	+
24	K	15	Yayladağı- Sebenova köyü	Kol	2 yıl	+	-	+
25	E	17	Samandağı- Tekebaşı beldesi	Ayak	1 yıl	+	-	+
26	E	16	Antakya Merkez	Kol	2-3 yıl	+	-	+
27	K	10	Alahan köyü	Alın	1 yıl	+	-	+
28	K	63	Reyhanlı- Karahöyük köyü	El	1 yıl	+	-	+
29	K	55	Yayladağı- Karaköse köyü	Alın	7 ay	+	-	+
30	K	65	Kırıkhan- Dedeçınar köyü	El dorsali, el bileği ve ayak	1 yıl	+	+	+
31	K	4	İskenderun- Kara Hüseyin köyü	Yanak	1 yıl	+	-	+
32	K	49	Altınözü- Kıyığören köyü	El dorsali	1 yıl	+	-	+
33	K	71	İskenderun merkez	Kol	6 ay	+	-	+
34	K	36	Samandağı- Meydan köyü	Kol	2 yıl	+	-	+
35	E	16	Antakya Merkez	Sağ ve sol el bileği, sağ kol	1-2 yıl	+	-	+
36	K	58	Hassa- Yuvalı köyü	Burun	6 ay	+	+	+
37	K	15	Altınözü- Hacıpaşa beldesi	Burun	1 yıl	+	-	+
38	K	6	Hassa- Yuvalı köyü	Çene ve bacak	1.5 yıl	+	-	+

39	E	15	Alahan köyü	Yanak	1 yıl	+	-	+
40	E	6	Samandağ- Çörlü köyü	Alın	2 yıl	+	-	+
41	E	9	Hassa- Yuvalı köyü	Burun	1 yıl	+	-	+
42	E	39	Samandağ- Çörlü köyü	Bacak	1 yıl	+	-	+
43	K	38	Yayladağı- Gürışık köyü	Kol	8-9 ay	+	+	+
44	E	60	Altınözü- Kıyığören köyü	Kol	8 ay	+	+	+
45	E	38	Samandağı- Meydan köyü	Kol	1 yıl	+	-	+
46	K	22	Altınözü- Çetenli köyü	Burun	2 yıl	+	-	+
47	E	23	Reyhanlı merkez	Kol ve el parmağı	6 ay	+	+	+
48	E	22	Kırıkhan- Özsoğuksu köyü	Alın	2-3 yıl	+	-	+
49	K	11	Hassa- Deliçay köyü	Bacak	1 yıl	+	-	-
50	E	34	Kırıkhan Merkez	Alın	6 ay	+	-	+
51	K	12	Hassa-Ardıçlı köyü	Yanak	1 yıl	-	-	+
52	E	11	Harbiye	Bacak	6 ay	-	-	+
53	E	11	Yayladağı- Çakıköyü	Alın	3 yıl	-	-	+
54	E	14	Kırıkhan- Kurtlu soğuksu beldesi	Burun	5 yıl	+	+	+
55	E	75	Tanişma köyü	Burun ve yanak	6 ay	-	-	+
56	E	13	Hassa- Yuvalı köyü	Alın	1 yıl	-	-	+
57	E	55	Antakya merkez	Bıyık bölgesi	5 yıl	+	-	+
58	E	53	Reyhanlı Merkez	Heriki bacak ve sırtta	1 yıl	+	-	+
59	E	7	Antakya	El bileği	6 ay	-	-	+
60	E	34	Hassa- Küreci beldesi	Burun	1.5 yıl	-	-	+

9-ÖZGEÇMİŞ

Kayseri'nin Tomarza ilçesine bağlı Dağyurdu köyünde 1977 yılında doğdum. İlköğrenimimi 1983-1988 yıllarında Dağyurdu ilköğretim okulunun birleşmiş sınıflarında tamamladım. Kayseri'de 1991 yılında Kadı Burhanettin Ortaokulundan, 1994 yılında Kayseri Lisesinden mezun oldum. Aynı yıl Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde eğitime başladım. Tıp eğitimimi 1995 yılında yatay geçiş yaptığım Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde devam ederek 2001 yılında tamamladım. Pratisyen hekim olarak 2001-2007 yıllarında Nevşehir ilinin Hacıbektaş ilçesi merkez sağlık ocağında çalıştım. Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalında 2008 yılında araştırma görevlisi olarak uzmanlık eğitimime başladım. Evliyim ve bir kızım var.