

T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
MİKROBİYOLOJİ ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
PARAZİTOLOJİ BİLİM DALI

**DERİ LEYİŞMANİYOZLU OLGULARDAN ALINAN  
ÖRNEKLERDEN ETKENİN ÜRETİLMESİ,  
TRIMETHOPRİM-SULPHAMETAXOZOLE VE  
OFLOKSASİN'İN PROMASTİGOTLARA İN VİTRO  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ


Dr. ALİ ÇELİKSÖZ

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ: PROF. DR. GÜLENDAME SAYGI

90115  
ŞUBAT - 1997

SİVAS

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**



Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 5.1.1984 tarih ve 84/1 No'lu kararıyla kabul edilen tez yazma yönergesine ve Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Yönetim Kurulu'nun 15.4.1993 tarih ve 93/115 sayılı kararına göre hazırlanmıştır.

.....DEKANLIğINA,

Bu alışma, jürimiz tarafından Parazitoloji bilim dalında TIPTA  
UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŐKAN .....

ÜYE .....

ÜYE .....

ÜYE .....

ÜYE .....

Yukardaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

.../.../1997

DEKAN

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
GİRİŞ ve AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
GEREÇ ve YÖNTEM	19
BULGULAR	24
TARTIŞMA	33
SONUÇ	43
ÖZET	44
SUMMARY	46
KAYNAKLAR	47

## TABLÖLAR

	Sayfa
<b>Tablo 1:</b> Leishmania'ların sınıflandırılması	6
<b>Tablo 2:</b> Olgulara ait bulgular	25
<b>Tablo 3 :</b> Trimethoprim - sulphametaxozole içeren NNN besiyerinde 3. gündeki üreme durumları	29
<b>Tablo 4 :</b> Trimethoprim - sulphametaxozole içeren NNN besiyerinde 7. gündeki üreme durumları	30
<b>Tablo 5:</b> Ofloksasin içeren NNN besiyerinde 3. gündeki üreme durumları	31
<b>Tablo 6:</b> Ofloksasin içeren NNN besiyerinde 7. gündeki üreme durumları	32

## ŞEKİLLER

	Sayfa
<b>Şekil 1.</b> Leishmania amastigotunun ince yapısı	7
<b>Şekil 2.</b> Leishmania promastigotunun şematik ince yapısı	8
<b>Şekil 3.</b> Leishmania'nın evrim şeması	11

## RESİMLER

<b>Resim 1.</b> Hasta lezyonlarından alınan örneklerde amastigotların görünümü	26
<b>Resim 2.</b> Hasta lezyonlarından alınan örneklerde amastigotların görünümü	26
<b>Resim 3.</b> NNN besiyerinde promastigotların görünümü.	27
<b>Resim 4.</b> NNN besiyerinde promastigotların görünümü.	28

## GİRİŞ ve AMAÇ

Deri leyişmaniyozu *Leishmania* cinsinden *L. tropica* ve *L. major* adı verilen protozoonların neden olduğu paraziter bir hastalıktır. Bu hastalık Eski ve Yeni Dünya'da farklı *Leishmania* türleri ile oluşmakta ve klinik durumlarına göre değişik isim almaktadır (1).

Yurdumuzda Antep Çıbanı veya Şark Çıbanı olarak da adlandırılan deri leyişmaniyozu özellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesinde endemik, Orta Anadolu'da ise sporadik olgular halinde görölmektedir. Bu hastalık bildirim zorunlu hastalıklar kapsamına alınmamıştır. Bu nedenle yurdumuzdaki yaygınlığı tam olarak bilinmemektedir. Şanlıurfa Sağlık Müdürlüğü'nden edinilen son bilgilere göre, Şark Çıbanı olgusu bu şehrimizde son birkaç yıl içinde 4000-5000 olguya ulaşmış, Adana'da ise 1993'de 868 ve 1994 yılında 1114 olguya çıkmıştır. Bu veriler yurdumuzda bir zamanlar yok olma aşamasına gelmiş olan bu parazitozun tekrar yayıldığını ve halk sağlığı sorunu yarattığını göstermektedir (2).

Şark çıbanının etkensel erken tanısı, hastalığın tedavisinin erken başlaması, komplikasyonların azalması, parazitin evrim zincirinin kırılması gibi nedenlerden dolayı çok önemlidir. Hastalığın tanı yöntemlerinin ve parazitin promastigot döneminin üretildiği besiyerlerinin çeşitliliği, bu konuda çalışan sağlık personelinin farklı uygulamalarına neden olmaktadır. Genellikle bölgelerimizin çoğunda hastalığın tanısı, deneyimli laboratuvar elemanının azlığı nedeniyle, lezyonun klinik görünümü ve hastanın hikayesine göre konulmaktadır (3).

Halbuki bu parazitozun klinik görünümünün kütanöz fungal enfeksiyonlar, yaws, sifiliz, lepra, kütanöz tüberküloz, atipik mikobakteriyel deri enfeksiyonları ve lupus vulgaris'le kolayca karıştırıldığı göz önüne alındığında etkenin laboratuvar tanısı daha da önem kazanmaktadır (4).

Çalışmamızda, deri leyişmaniyozlu olgulardan örnekler alarak bunları hem direkt boyalı preparatlarda hem de iki ayrı besiyerine ekim yaparak inceledik. Ekimler için NNN besiyeri ile Sığır Kanlı Besiyeri (SKB) kullandık. SKB daha önce anabilim dalımızda Leishmania türünün pasajlarla laboratuvarda üretilmesinde başarıyla kullanılmış fakat klinik örneklerden izolasyon çalışmalarında kullanılmamıştı. Bu çalışmaları yaparken de gözlemlerimize dayanarak örnek almada sonucu olumlu yönde etkileyen bir manipulasyon yöntemi belirledik.

Çalışmamızın ikinci aşamasında, bazı kaynaklarda leyişmaniyoz tedavisinde kullanıldığı bildirilen trimethoprim-sulphametaxozole (38) ve ofloksasinin (39), in vitro koşullarda Leishmania'ların promastigot formlarına herhangi bir etkisinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.



## GENEL BİLGİLER

Deri leyişmaniyozu bazı Leishmania türleriyle oluşan, deride papül, nodül ve yara gibi belirtilerle kendini gösteren bir parazitozdur. Bu hastalık Batı ve Doğu yarım kürelerinde yani Eski Dünya ve Yeni Dünya’da farklı Leishmania türleriyle oluşmaktadır. Yurdumuzda çoğunlukla Leishmania tropica’nın neden olduğu kuru tip, daha az olarak ise L. major’un etken olduğu yaş tip lezyonlu deri leyişmaniyozuna rastlanmaktadır (1,2).

### Tarihçe

Deri leyişmaniyozunun tarihçesi hakkında Unat, Kean ve arkadaşları tarafından ayrıntılı bilgi verilmiştir (1,3). Buna göre hastalık çok önceden beri bilinmektedir. Ebu Bekir Muhammed bin Zekeriya El-Razi 1050 yılında yazdığı eserinde Bağdat’ta Şark Çıbanı’na çok sık rastlandığını belirtmiştir. 15 yıl yurdumuzda (o zamanki Osmanlı Devleti sınırları içinde) kaldıktan sonra İngiltere’ye dönen Dr. Russell 1856 da yayımlanan eserinde “Aleppo Evil” adı altında bu parazitozu ve tiplerini tanımlamıştır. Aynı araştırmacı Türkçe’de bu hastalığa “Haleb Choban” veya “Aleppo Ulcer” dendiğini ve “Antab” da, “Sejour” ve “Coick” nehirleri kıyısındaki köylerde de yaygın olduğunu vurgulamıştır (3). Ghilow ise 1833 de Paris’te hazırladığı bir tezde bu parazitoz hakkında geniş bilgi vermiş ve Türkiye’nin Asya bölgesinde ve İran’da çok yaygın olduğunu bildirmiştir (1).

Hastalığın etkeni hakkında ilk doğru tanımı askeri hekim olarak Hindistan’da çalışan Cunningham 1885’de yapmıştır. Cunningham’ın bu yayını

dermatolojik bir lezyonda parazit bulunduğuna dair ilk rapordur. Rus askeri hekimi Borovsky ise etkenle ilgili olarak yaptığı ayrıntılı çalışmaları 1898 de Rusça olarak yayımlamıştır. Borovsky'den 5 yıl sonra Dr. Wright o zamanki Ermenistan'dan Massachusetts'e gelen 9 yaşındaki bir Ermeni kız çocuğunun sol yanağında, ağza yakın bir bölgede bulunan lezyondan aldığı örneklerde etkeni görmüş ve tanımlamıştır (3). Wright'ın Helicosoma tropica diye isimlendirdiği bu paraziti 1906 da Luhe Leishmania cinsine katmıştır.

Parazitin ilk kültürü 1908 de Nicolle tarafından yapılmış, tatarcık vücudundaki evrimi ise sonraki yıllarda çeşitli araştırmacılar tarafından açıklığa kavuşturulmuştur.

Yurdumuzda ise bu konu üzerinde 1907 de Gülhane Tababeti Askeriye Tatbikat Mektep ve Seririyatı Laboratuvar sorumluluğuna getirilen Reinhart ve Dr. Servet Tevfik bey araştırmalar yapmışlardır. Bulgularını da 1910 yılında "şark çıbanı ve Amili Marazi" adıyla yayımlamışlardır. 1911'de Dr. Menahim Hodar ve Fuat bey bu parazitozun tedavisinde 606 yı denemişler. Fakat bu çalışmalar yeterince duyurulamadığı için bu konudaki çalışmaların onuru Von Peterson ve Jeanselme'ye (1914) ıkarılmaktadır.

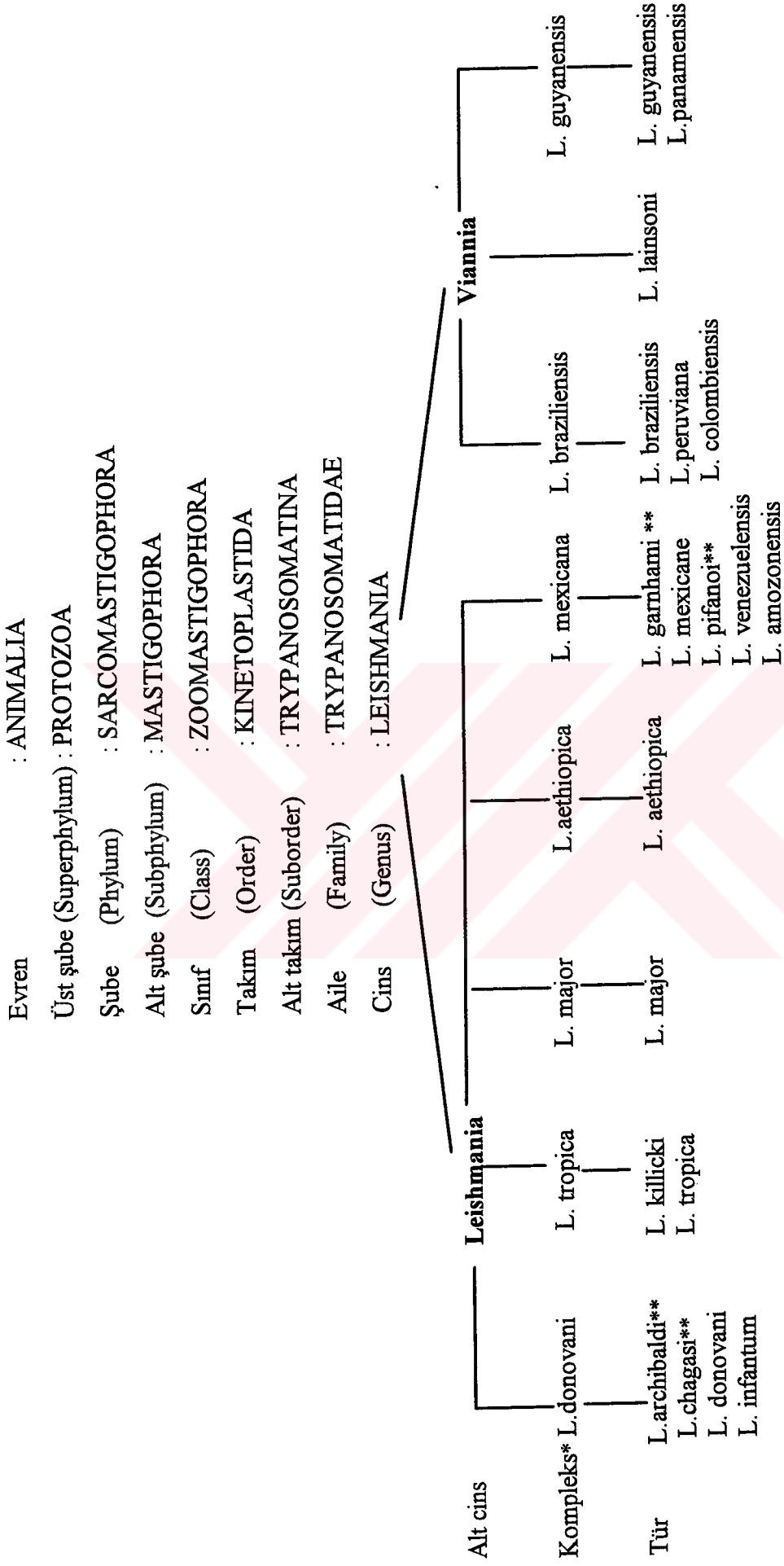
Dr Hulusi Behçet Edirne Merkez Hastanesi'ne gelen Halepli erlerde grdüğu lezyonların kabuklarını kaldırıncaya alt yüzeyinde grdüğu epitel uzantılarını "ivi belirtisi" olarak tanımlamıştır. Aynı ıkıntılarını Montpellier (1925) orağa benzetmiştir. Bu parazitozun diatermi ile ilk tedavisi de yine Hulusi Behçet tarafından gerçekleştirilmiştir (1).

Daha sonraki yıllarda hastalığın tanısı, tedavisi, etkenin kültürü, ince yapısının açıklığa kavuşturulması konularında ki çalışmalar devam etmiştir.

### **Sınıflandırma**

*Leishmania* cinsi ilk defa Ross tarafından Kala-azar etkeni *L. donovani*'yi kapsamak üzere oluşturulmuştur. Bu cins içinde yıllarca 3 türün varlığı kabul edilmiştir. Bunlar *L. donovani*, *L. tropica* ve *L. braziliensis*'dir. Fakat özellikle son 20 yılda bu basit sınıflamanın yeterli olmadığı anlaşılmış ve yeni sınıflamalar önerilmiştir. Adi ışık mikroskopunda bütün türler morfolojik olarak aynı görünüme sahiptirler. Bu nedenle, neden oldukları hastalıklar, coğrafik dağılım, epidemiyolojik, serolojik, biyokimyasal, immunolojik ve biyolojik özelliklerine dayanarak sınıflamaya yönelinmiştir. Son yıllarda ise sınıflamada izoenzimlerin araştırılması, monoklonal antikolar ya da parazitin DNA yapısının incelenmesi de kullanılmaya başlanmıştır. Fakat konu hala tartışmalıdır. Dünya Sağlık Örgütü'nün benimsediği sınıflamanın şeması Tablo 1'de verilmiştir (1,2).

Tablo 1. Leishmania'ların Sınıflandırılması (1, 2)

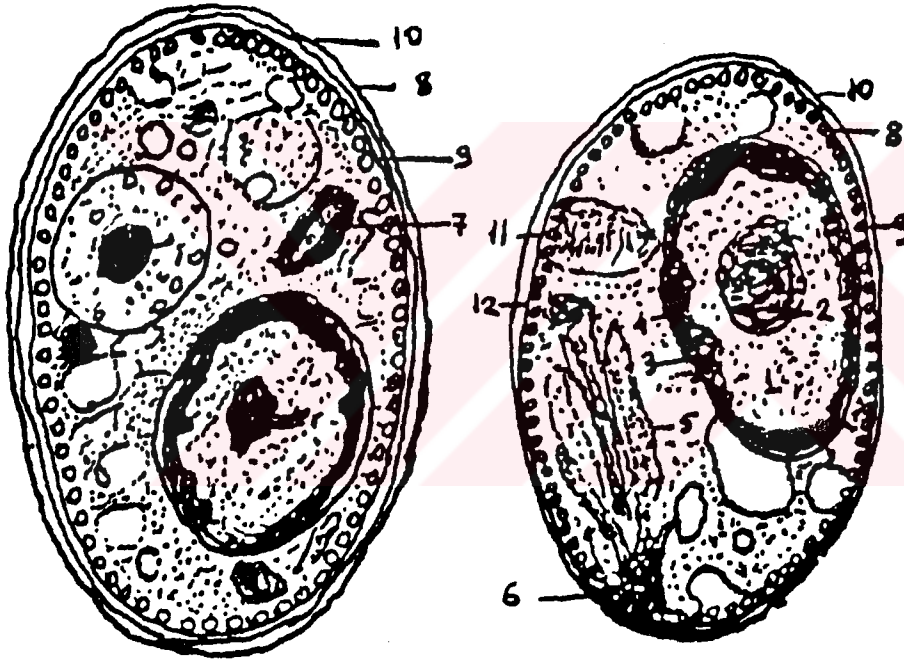


\* : Kompleksler biyokimyasal ve moleküler özelliklere göre belirlenmiştir.

\*\* : Aynı bir tür olup olmadıkları tartışmalıdır.

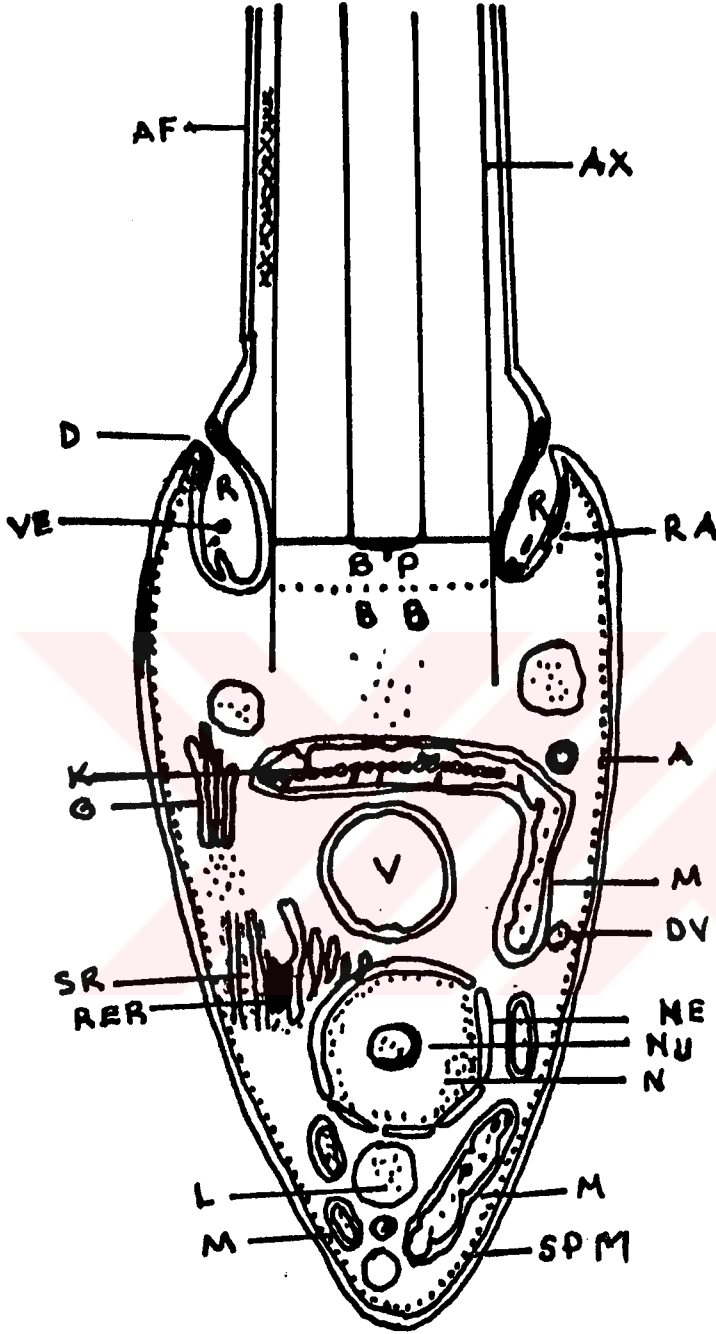
## Leishmania'ların Morfolojisi

Evrimlerini biri omurgalı diğeri omurgasız olmak üzere iki konakta tamamlayan Leishmania cinsinde farklı morfolojiye sahip iki evrim şekli görülür. Bunlardan amastigot şekli omurgalı konak vücudunda, promastigot (eski adı leptomonas) şekli ise omurgasız konak vücudunda ve kültürlerde görülür (Şekil 1,2).



Şekil 1. Leishmania amastigotunun ince yapısı (1).

- |                 |   |
|-----------------|---|
| 1 Çekirdek      | 7 Mitokondrium                                    |
| 2 Karyozom      | 8 Zar   |
| 3 Kromatin      | 9 Zar altı fibrilleri                             |
| 4 Çekirdek zarı | 10 Leishmania çevresinde konak hücre sine ait zar |
| 5 Kamçı vakuölü | 11 Kinetoplast                                    |
| 6 Rizoplast     | 12 Blefaroplast                                   |



Şekil 2. Leishmania promastigotunun ince yapısının şematik görünümü (7).

A= acanthosome; AF= Aksesuar iplik; AX= axoneme; BB= bazal cisim; BP= bazal yüzey; D= desmosome; DV= saydam inklüzyon kesesi; G= golgi aygıtı; K= kinetoplast; L= lipid; M= mitokondrium; N= çekirdek; NE= çekirdek kılıfı; NU= nukleolus; RA= rezervuar ilişkili mikrotübül'ler; RER= granüllü endoplazmik retikulum; C= düz endoplazmik retikulum; V= çekirdek ilişkili vakuol; VE= kesecik; SPM =subpeliküler mikrotübül'ler.

Amastigot şekli oval veya yuvarlak ve 2-6 µm büyüklüğündedir. Giemsa yöntemiyle boyanan preparatlarda amastigotun sitoplazması soluk mavi, çekirdeği ise koyu kırmızı renkte görülür. Çekirdek hücrenin üçte birini kaplayacak büyüklükte ve kese şeklindedir. Çekirdeğin yanında parlak kırmızı veya menekşe renginde boyanan kinetoplast bulunur. Kinetoplast koyu boyanan parabazal cisim ve yanında nokta şeklindeki blefaroplasttan oluşmuştur.

Amastigotun ince yapısı elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalar sonucunda aydınlatılmıştır. Buna göre hücre zarı üç katlıdır. Hücre zarının iç katı altında birbirine ince lateral köprülerle bağlı, uzunlamasına duran, içi boş ve 20-22 nm kalınlığında olan mikrotübüler (subpelliküler mikrotübüller) bir tabaka vardır. Bu mikrotübüllerin organizmanın görünümünü belirlediği ve organizmaya esneklik kazandırdığı sanılmaktadır. Subpelliküler mikrotübüllerin sayısının, kalınlıklarının ve birbirlerine olan uzaklıklarının türlere göre değişmekte olduğu ve bunların taksonomide tanı değeri taşıdığı ileri sürülmüştür. Yuvarlak ve düz diziler halinde DNA moleküllerinden oluşan ve boyutu 0.4-0.8 µm arasında değişen kinetoplast elektron mikroskopunda disk biçiminde ve nükleoid ipliklerden yapılmış olarak görülmektedir.

Çekirdek zarının kalınlığı 7 nm, yapısında bulunan porlar ise 60-80 nm kadardır. Çekirdeğin merkezinde 0.5-1µm çapında, DNA içeren bir çekirdekçik vardır. Tek olan mitokondrium çekirdek ve kinetoplastın yakınındadır. Bu organellerin dışında, sitoplazma içinde, kamçı kesesi yakınında küçük kesecikler ve kanallardan oluşan, primer lizozom olarak kabul edilen golgi aygıtı; kamçı cebi ile

çekirdek arasında, parazitin beslenmesi ve salgı kontrolü ile ilgili lizozomlar, peroksizomlar, suda erimeyen polifosfat asidi ve RNA içeren volutin tanecikleri bulunmaktadır (7).

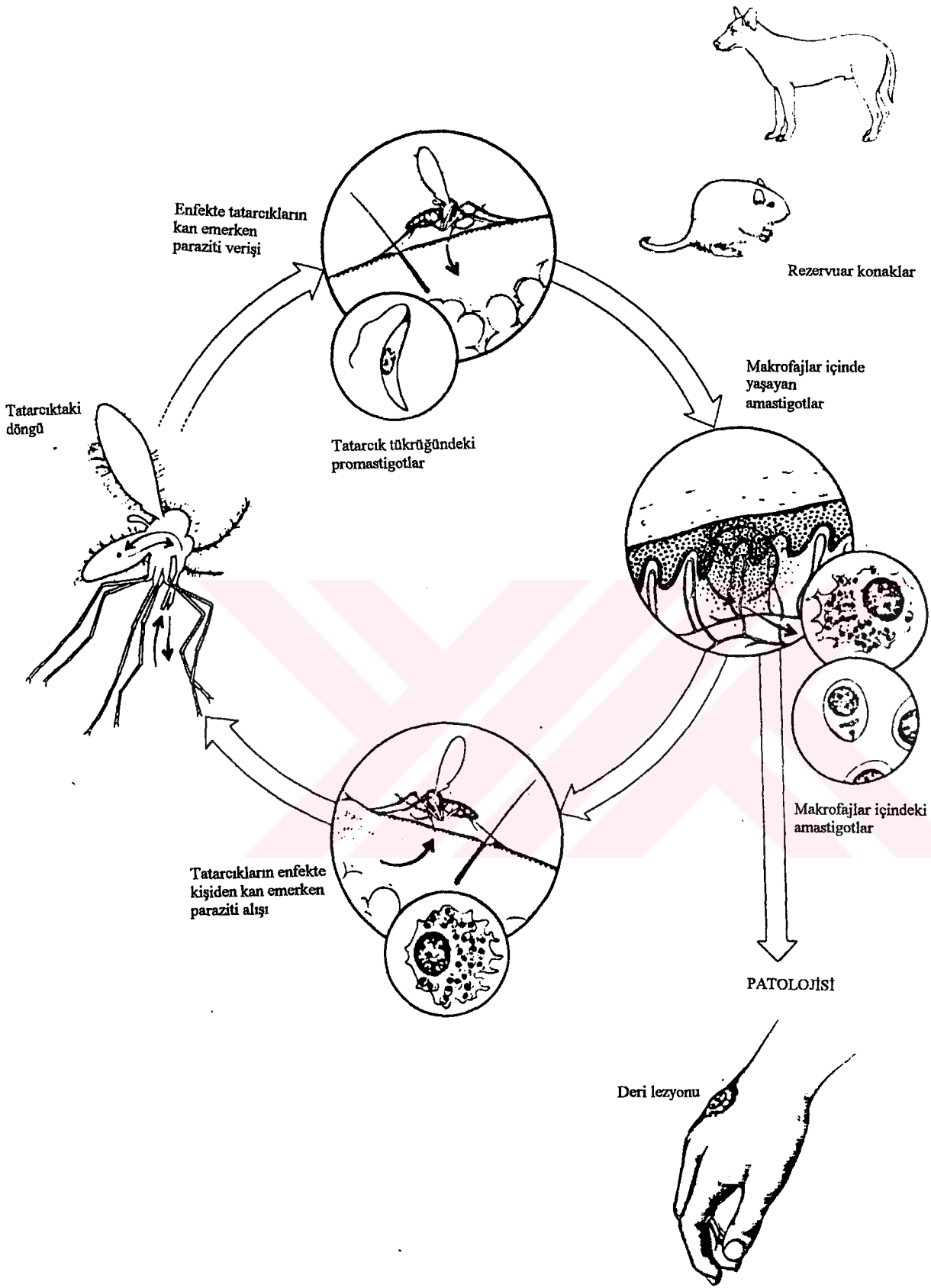
Promastigot mekik biçimindedir ve 12-20 µm uzunluğunda, 1.5-2.5 µm genişliğindedir. Ön uçtan dışarı çıkan bir kamçısı vardır. Kamçı kesesinin dibindeki bazal cisimden (blefaroplast) çıkan kamçı; bir çift merkez, dokuz çift periferik fibril çiftinden oluşur. Çekirdek mekik şeklindeki parazitin orta kısımlarındadır (Şekil 2) (7).

Leishmania promastigot yüzeyinde glikolipid yapısında iki farklı makromolekül bulunmaktadır. Bunlardan birisi lipofosfoglikan (LPG) (8) diğeri de gp63 adı ile bilinen promastigot yüzey proteazı (PSP) (9) dir. Gp63 ya da (PSP) makromolekülü, promastigotun makrofaj yüzey reseptörlerine yapışmasını sağlayarak promastigotun makrofaj içine girişini kolaylaştırır. Ayrıca proteaz aktivitesine sahip olduğundan, makrofaj içindeki asidik fagozomdan amastigotu korur. Promastigotların virulan ve avirulan şekillerindeki gp63 mRNA'larında anlamlı farklılıklar vardır. Enfeksiyonla savaşta immün sistemi desteklemede, tedavide, aşıda, gelişmiş bir tanı yöntemi bulmada lipofosfoglikan ve PSP (gp63) yüzey antijenleri önem taşımaktadır (9).

### **Leishmania'nın Evrimi**

Parazitin yaşam döngüsü omurgalı konak ile ara konak olan tatarcık türleri arasında geçer (Şekil 3). Birincil konak her zaman insandır. Köpekler ve diğer rezervuar konaklar ancak epidemiyolojik yönden önem taşır. Güney Amerika'da





Şekil 3. *Leishmania tropica*'nın evrimi (46)

vektör *Lutzomyia*, Asya, Avrupa, Afrika ve yurdumuzda ise *Phlebotomus* (tatarcık) türleridir. Dişi tatarcık enfekte konaktan kan emerken amastigotları alır; vücuda giren amastigotlar tatarcığın orta bağırsağına gelir; burada boyları uzar, kamçı oluşur ve hareketli promastigotlara dönüşürler. Daha sonra ikiye bölünerek çoğalırlar ve üçüncü günde proventrikülü doldururlar. Dördüncü günde kardial ve farinksden geçerek ağız boşluğuna gelirler. Beşinci günde ise, enfeksiyonu bulaştıracak duruma gelirler. Paraziti taşıyan dişi tatarcığın omurgalı konaktan kan emerken vücuda verdiği promastigotlar, ilk saatler içinde deriye ait retikülohistiyositler ve lenfoid doku hücrelerince fagosite edilirler. Makrofajlar içinde promastigotlar amastigotlara dönüştükten sonra ikiye bölünerek çoğalırlar (Şekil 3). Daha sonra amastigotlar hücre çeperinin yırtılmasıyla serbest kalırlar, serbest kalan amastigotlar tekrar makrofajları enfekte ederek, bu olayın seyir ettiği bölgede patolojik değişiklikler oluşturarak hastalığın klinik belirtilerinin oluşmasına yol açarlar (2,7).

### **Deri Leyişmaniyozunun Epidemiyolojisi**

Deri leyişmaniyozunun Eski Dünya'daki etkenleri *L. tropica*, *L. major* ve *L. aethiopica*'dır. Vektörleri ise, *P. papatasi* ve *P. sergenti*'dir.

*L. tropica* Hindistan, Pakistan, Akdeniz sahilleri, Tahran, Bağdat ve Orta Doğu'nun kentsel bölgelerindeki insanları ve köpekleri enfekte ederek kuru tip lezyon oluşturur. Bu enfeksiyon epidemiler halinde görülebilir; çocuklarda daha sık rastlanır ve eşeyler arasında her hangi bir fark göstermez.

L. major çöl kemirgenlerinden başlıca gerbillerin ve Asya, Kuzey Afrika, Orta Doğu'nun kırsal bölgelerindeki insanlarda sulu tip deri leyişmaniyozuna neden olur. Epidemiyolojik olarak zoonotik özelliktedir ve kırsal bölgelerde yaygındır. Kenya, Güney Batı Afrika'da deri leyişmaniyozu etkeni L. aethiopica'dır. Parazitin primer rezervuarı bir kemirici olan Hytax türleridir (10).

Yeni Dünya deri leishmaniosis'i veya Amerikan deri leyişmaniyozu Latin Amerika'da yaygındır ve önemli sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Hastalık, tek ve lokalize deri ülserinden, ölüme yol açan mukokutanöz lezyonlar oluşturan klinik tablo oluşumuna kadar değişen şekilleri içerir. Etkenler; L. mexicana ve L. braziliensis'in alt türleridir. Bu parazitoz Güney ve Orta Amerika'da endemiktir. Amerikan deri leyişmaniyozu bir zoonozdur, rezervuarı küçük kemiriciler ve köpeklerdir. Vektörleri Lutzomyia ve Psychodopygus cinsindeki tatarcıklardır. Klinik belirtiler ve coğrafik yerleşime bağlı olarak bu parazitoz çeşitli lokal isimler almıştır (2,11).

Son yıllarda L. donovani'nin de basit deri leishmaniosis'ine neden olduğu bildirilmiştir (12, 13).

Yurdumuzda en sık olarak L. tropica'nın kuru tip lezyonlu deri leyişmaniyozuna rastlanır. L. major'un etken olduğu yaş tip lezyonlu olan daha az görülür (2).

### **Deri Leyişmaniyozunun Klinik Özellikleri**

Deri leyişmaniyozunda hastalığın seyri ve şiddeti, kişinin direncine, parazitin hastalandırma gücüne, daha önce hastalığın geçirilip geçirilmediğine, konağın

başıklık sisteminin durumuna göre değişir. Kuluçka süresi 2 hafta ile birkaç ay arasında değişmekle beraber 3 yıla kadar uzayabildiği bildirilmiştir. Lezyon promastigotun vücuda girdiği yerde küçük ağrısız bir papül olarak başlar. Papül çoğunlukla yavaş yavaş büyür, kabuklanır ve sonuçta ülserleşir. Kabuk zorlukla kalkar, kaldırılınca alt yüzünde pek ince olmayan uzun çıkıntılar bulunur (Hulusi Behçet'in çivi belirtisi). Çıkıntılar hastalığın başlangıcından 3-4 ay sonra görülür ve bunların ucundan yapılan preparasyonlarda amastigotlar kolaylıkla saptanır. Sekonder enfeksiyon gelişmemişse ülserler ağrısızdır, genellikle normal yüzeyel deriden yükselmiş, etrafı eritemli, tabanı granülasyon tabakası ile kaplanmıştır. Parazitle enfekte olan veya olmayan fagositler, lenfositler, plazma hücreleri granülatöz reaksiyonu oluştururlar. Ülserin büyüklüğü 2 cm veya daha da büyük çaplara ulaşabilir. Parazitli mononükleer fagositler elimine edilir. Lenfositler baskın hale gelir ve epiteloid hücrelerle dev hücreler ortaya çıkar. Akut leyişmaniyozlu hastalarda, parazit gama interferon ve interlökin oluşumunu azaltır ve aktif makrofajın öldürücü mekanizmasını bozar, hastalık iyileşince bunlar da düzelir. Hastalığın iyileşmesinde gama interferonların önemli rol oynadığı bildirilmektedir. Lezyonlar genellikle yavaş ve düz atrofik bir skar bırakarak iyileşirler (1, 2, 14).

Hastalığın klinik görünümü türlere bağlı olarak değişiklik gösterir. *L. tropica*'nın etkeni olduğu kentsel veya kuru tipte lezyon tektir ve yavaş büyür. Bunun aksine *L. major*'un neden olduğu yaş tip deri leyişmaniyozunda birden fazla lezyon olabilir ve lezyonlar daha hızlı olgunlaşırlar. Birkaç hafta içinde iyileşme belirtileri başlar. Yaş tipin kuluçka süresi 4 aydan azdır ve sporadik olgular halinde

görülür, kuru tipe kıyasla bu tipte sekonder enfeksiyonlara ve lenfanjite daha sık rastlanır (2).

### **Deri Leişmaniyozunun Tanısı**

Deri leişmaniyozunun tanısı endemik bölgelerde genellikle klinik olarak yapılmaktadır. Klinik belirti ve semptomlara rağmen, hastalığın bilinmediği veya görülmediği yerlerde tanı konulamayabilir. Hastalıkta oluşan lezyon çeşitli deri hastalıkları ile karıştırılabilir (1, 4, 5). Bu nedenle kesin tanı lezyondan alınan örneğin direkt incelenmesi ve uygun besiyerlerinde kültürünün yapılmasıyla konur. Ayrıca Montenegro cilt (Leishmanin) testi de tanıda yardımcıdır. Yapılan tüm bu deneylerle sonuç alınmadığında hastaya uygulanan antimon tedavisiyle lezyonun iyileşmesi deri leişmaniyozuna delil olarak kabul edilir (14).

Lezyonlardan, aspirat, kazıntı, doku biyopsisi gibi yöntemlerle inceleme örneği alınabilir. Alınan örneklerde parazitin saptanması; lezyondaki amastigotların sayısına, konağın bağışıklığına, lezyonun durumuna (aktif veya iyileşmiş), sekonder bakteri enfeksiyonunun gelişip gelişmemesine bağlıdır (2).

Biyopsi örnekleri farklı yöntemlerle alınabilir. Bunlardan hem sürüntü ve ezme preparatlar hem de histopatolojik kesitler hazırlanır. Histopatolojik kesitlerde, parazitin küçük boyutlarda olması ve işlemler sırasında şekillerinin bozulması nedeniyle tanısı zor konulmaktadır. Halbuki sürüntü ve ezme preparatlarda morfolojileri daha iyi görülmektedir (15). Aspirasyon ve kazıma yolu ile lezyondan alınan örneklerden yayma preparatlar hazırlayıp, Giemsa boyası ile boyadıktan

sonra, direkt olarak incelenebildiği gibi, uygun besiyerlerine ekilerek kültürü de yapılabilir. Bu amaçla kullanılan besiyerlerinden NNN klasik kültür ortamıdır (3).

Örneklerin, bifazik, yarı katı ve sıvı özellikteki farklı besiyerlerine ekilerek kültürleri yapılmaktadır. Bu besiyerlerinin bifazik olanı NNN (Novy, Nicolle, McNeal), yarı katı olanları; Sloppy Evans Medium, Locke Blood Agar Medium, sıvı olanlardan bazıları ise; RPMI 1640, Medium 199, Schneider's Drosophile Medium, HO-MEM'dir. NNN Leishmania'ların kültürü için en uygun besiyeridir. İnceleme örnekleri NNN besiyerine ekildikten sonra, besiyerleri 22-26°C'de inkübe edilir. Birkaç gün ile 4 hafta arasında kültürlerin yoğunlaşma sıvısından hazırlanan preparatlarda promastigotlar görüldüğünde laboratuvar tanısı konulur (16).

Bir deri testi olan Montenegro testi deri leişmaniyozunda hızla pozitifleşir. Bu test, tipik lezyonu olan hastalarda % 93, enfeksiyonu geçirmiş olanlarda % 99 oranında pozitif bulunmuştur (14). Deri leişmaniyozunda serumda antikor düzeyinin düşük olması nedeniyle serolojik yöntemler tanıda yetersiz kalmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda hastalığın tanısı ve tür ayrımında PCR (Polymerase Chain Reaction) hibridizasyon yöntemi kullanılmaya başlanmıştır (17, 18).

Leishmania'ların tür ayrımı; vektörde ve kültürde üreme özelliklerine; izoenzim elektroforez karakterlerine (19, 20); kinetoplast DNA analizine; lektin bağlama özelliklerine (21) ve monoklonal antikor problemlerine (22) göre yapılmaktadır. Coğrafik faktörler, konaklar ve insanlarda oluşturdukları hastalığın özelliği de önemlidir (1).

## **Deri Leyişmaniyozunun Tedavisi**

Deri leyişmaniyozunun tedavisi lezyonun büyüklüğüne ve lokalizasyonuna göre yapılır. Eğer lezyon büyük ve düzensizse 5 değerli antimon bileşikleri kullanılır. Glucantime, sodyum stiboglukonat, ürestibamin bu bileşiklerdendir. Pentamidin ve Hidroksitilbamidin gibi diamin bileşikleriyle de tedavide başarılı sonuçlar alınmaktadır. Ayrıca, ketaconazolün ve Paramamisin metilbenzethonyum klorürün L. major enfeksiyonlarının tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir. Berberin sülfat, monamisin ve metronidazol gibi 9-aminoakridin bileşikleri de tedavide kullanılmaktadır (2).

## **İn Vitro Etkilerini Araştırdığımız Kemoterapötikler**

1-Trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP-SMZ) yada genel adıyla cotrimoxazole, farklı yapıda iki antibakteriyel ilaç olan trimethoprim ile sulfamethoxazole'ün 1/5 sabit oranlı bir kombinasyonudur. Her iki antibakteriyel ajanın kombine şekilde kullanılması, bakteri metabolizmasının birbirini izleyen iki ayrı basamakta inhibisyonuna neden olur.

**Klinikte kullanımı:** Genitoüriner enfeksiyonlar, gastrointestinal enfeksiyonlar, solunum sistemi enfeksiyonları, Pneumocystis carinii enfeksiyonu ve nötropenik hastalarda enfeksiyon profilaksisi için kullanılır. Bunların dışında Chlamydia trachomatis ve Nocardia asteroides'in neden oldukları hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır.

2- Ofloksasin fluorokinolonların bir türüdür. Bu grup ilaçlar kimyaca suda çözünen fazla lipofilik bileşiklerdir. Geniş spektrumlu, hızlı etkili ve bakterisit

olmaları en önemli özellikleridir. Ofloksasin, etki süresi en uzun fluorokinolonlardan birisidir.

**Klinikte kullanımı:** Klamidyal enfeksiyonlar, komplikasyonlu idrar yolu enfeksiyonları, bakteriyel gastroenteritler, gram negatif basillere bağlı kronik osteomyelit, Pseudomonas aeruginosa'ya bağlı invaziv eksternal otit, kronik Salmonella typhi portörlerinin eradikasyonu, kistik fibrozisli hastalar, Pseudomonas aeruginosa'nın eşlik ettiği kronik bronşitin hafif nüksleri, gram negatif basillerin neden olduğu alt solunum yolları enfeksiyonu gibi hastalıkların tedavilerinde kullanılmaktadır (23).



## GEREÇ VE YÖNTEM

### Araç ve gereçler

Işık mikroskobu

Otoklav (120 °C, 20 dakika)

Pastör fırını (180 °C, 30 dakika)

Etüv (25 °C)

Buzdolabı

Terazi

Damıtık su elde etme aleti

Bunzen beki

Enjektör (20, 10, 5, 2, 1 ml'lik)

Lam, lamel, hemositometre lamı

Deney tüpü (10 x 160 mm)

Pipet (1 ml'lik, 2 ml'lik, 5 ml'lik, 10 ml'lik)

Boncuklu ve boncuksuz balon joje

Mezür

Steril lanset

### Kimyasal maddeler

Stok Giemsa boyası

NaCl

Pepton

Agar

% 0,9'luk serum fizyolojik

Etil alkol (% 96'lık, % 70'lik)

Trimethoprim-Sulfamethaxozole (Bactrim)

Ofloksasin (Tarivid)

## **Besiyerleri**

**1- Sığır Kanlı Besiyeri:** Defibrine edilmiş sığır kanı 5-7 ml olarak steril kültür tüplerine dağıtıldı, her gün birer saat olmak üzere 3 gün arka arkaya maksimum 70-80°C'de tutuldu. Kullanılacakları zaman üzerine ml'sinde 200 IU penisilin bulunan steril serum fizyolojiktan 2 ml eklendi (24).

### **2-NNN besiyeri:**

Agar	14 gr
NaCl	6 gr
Pepton	1.8 gr
Damıtık su	900 ml

**Hazırlanışı:** Besiyerinin içeriğindeki maddeler damıtık suyla karıştırıldıktan sonra otoklavda 120 °C'de 20 dak. steril edildi; 45 °C'ye soğuyunca 1/3 oranında steril, fibrinsiz tavşan kanıyla karıştırıldı. Besiyerinin bir kısmının ml'sine 200 IU penisilin, 200 µg gentamisin eklendi, diğer kısmı ise kontrol besiyeri olarak kullanılmak üzere, hiç bir antibiyotik eklenmeden steril tüplere dağıtıldı. Besiyerlerinin eğik olarak donması sağlandı. Hazırlanan besiyerleri 24 saat 37 °C'lik etüvde tutulup sterilite kontrolü yapıldıktan sonra kullanılmaya kadar buzdolabında saklandı (1).

### **Antibiyotikli NNN Besiyerleri:**

Trimethoprim-Sulfamethaxozole'lü (TM-SMX) NNN besiyerinin hazırlanışı: NNN besiyeri, antibiyotik ekleme aşamasına kadar yukarıda anlatılan şekilde hazırlandı. Bu aşamadan sonra besiyerlerine, ml'sinde 1, 2, 4, 8, 16 µg TM-SMX olacak şekilde (25), içinde 1/5 oranında trimethoprim- sulfamethaxozole bulunan bactrim ampulden eklendi. Farklı derişimde antibiyotik bulunan besiyerleri tüplere dağıtıldı. Besiyerlerinde bakteri üreyip üremediğini kontrol etmek amacıyla bir gece 37°C'lik etüvde bekletilip sterilite kontrolü yapıldıktan sonra besiyerleri kullanılacakları zamana kadar (1 gün) buzdolabında saklandılar.

Ofloksasinli NNN besiyerinin hazırlanışı: Bu besiyerlerine ml'sinde 5, 10, 20, 40 µg ofloksasin olacak şekilde Ofloksasin ampülden konuldu (25). Bundan sonraki işlemler diğer besiyerlerinde anlatıldığı gibi yapıldı.

### **Örneklerin Alınması**

Şanlıurfa Sağlık Sosyal Yardım Bakanlığı Harran Kapı Sağlık Ocağı'na başvuran deri leyişmaniyoz ön tanılı kişilerin hikayeleri alınarak fizik muayeneleri yapıldı. Muayenede lezyonun görüntüsüne, granülasyon dokusunun varlığına dikkat edildi. Deri leyişmaniyozlu olduğu düşünülen 21 kişiden inceleme örneği, yanan bir bunzen bekinin 30 cm'lik alanı içinde şu şekilde alındı: lezyonun olduğu bölge % 70'lik etil alkolle silindi. Yara ile sağlam deri arasındaki granülasyon dokulu bölge, baş ve işaret parmağı arasında renksizleşinceye kadar sıkıldı, lansetle renksiz bölge delindi ve çıkan doku sıvısı, içinde 0.2 ml steril serum fizyolojik

bulunan insülin enjektörüne çekildi. Ayrıca direkt mikroskopik inceleme için, doku sıvısından sürüntü preparatı yapıldı.

### **Besiyerlerine Ekim ve Pasajlar**

İnsülin enjektöründeki örneğin 0.1 ml'si NNN besiyerine, 0.1 ml'si ise sığır kanlı besiyerine ekildi. Ekim yapılan besiyerleri 22-26 °C' de inkübe edildi. Ekim günü sıfır kabul edilerek 3. ve 8. günlerde kültürler kontrol edildi. Bunun için steril şartlarda, ekim tüpünden bir damla lam üzerine damlatıldı ve üzerine lamel kapatılarak mikroskop altında promastigot varlığı yönünden incelendi. Promastigot ürememiş olan kültürler üçer gün aralıklarla kontrol edilerek 30 gün bekletildi. Bu süre sonunda üreme görülmeyenler negatif kabul edildi. Promastigotların ürediği besiyerlerinden 10 günde bir yeni besiyerlerine pasajlar yapılarak kültürlerin devamlılığı sağlandı.

### **Preparatların Boyanması**

Hastalardan alınan örneklerden hazırlanan sürüntü preparatları havada kurutulduktan sonra % 95'lik etil alkolde 10 dakika tesbit edildi; daha sonra damıtık suyun ml'sine bir damla stok Giemsa konularak hazırlanan boya çözeltisi içinde, 30-45 dakika bekletilerek boyandı (1); çeşme suyuyla yıkanıp kurutularak immersiyon yağı damlatılıp mikroskopta immersiyon objektifi ile incelendi.

## **Antibiyotikli NNN Besiyerlerinde Promastigotların Üreme**

### **Durumlarının İncelenmesi**

İçinde belirli oranlarda trimethoprim-sulfamethaxozole ve ofloksasin bulunan antibiyotikli NNN besiyerlerine, hasta örneklerinden üretilen besiyerlerindeki kondansasyon sıvısı, ml'sinde 1000 promastigot olacak şekilde SF'le (serum fizyolojik) seyreltildi ve bunlardan 0.1'er ml (100 promastigot) inoküle edildi. Her doz için 3. ve 7. günlerde sayım yapmak üzere, iki besiyeri kullanıldı. Ekim yapılan besiyerleri 25<sup>O</sup>C'deki etüvde inoküle edildi; inkübasyonun 3. ve 7. günlerinde, her besiyerinin kondansasyon sıvısından, hemositometrede sayım yapmak için örnek alındı. Hemositometredeki promastigotlar mikroskopta (40 x 12.5 büyütmeyle) sayıldı. Bulguların istatistiksel değerlendirilmelerinde varyans analizi Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanıldı (26).

## BULGULAR

Çalışmamızda, deri leyişmaniyozu geçirmekte olduğu düşünölen olguların lezyonlarından gözlemlerimize göre daha iyi sonuç verdiğini saptadığımız bir yöntemle örnekler alınarak sürüntü preparatları yapılmış, örnekler aynı zamanda NNN ve sığır kanlı besiyerlerine ekilerek promastigotların üretilmesine çalışılmıştır. Ayrıca besiyerlerinde üretilen promastigotların üreme durumlarına trimethoprim-sulphametaxozole ve ofloksasin'in etkileri araştırılmıştır.

Çalışmamızda deri leyişmaniyozu şüphesiyle incelemeye alınan toplam 21 kişinin 6'sı (%29) erkek, 15'i (%71) kadındı. Bu kişilerin 8'i (%38) 0-10 yaş, 6'sı (%29) 11-20 yaş, 4'ü (%19) 21-30 yaş arasında ve 3'ü (%14) ise 31 yaş ve üzerindeydi. Tüm olguların yaş ortalaması  $17.3 \pm 11.4$  olarak bulundu.

İncelemeye alınan lezyonlar, hastaların 13'ünün (% 62) yüzünde, 5'inin (% 24) elinde, 3'ünün (% 14) kolunda ve 2'sinin (% 10) burnunda bulunmaktaydı. Lezyonun hastalarda ortaya çıkmasından örnek alınımına kadar geçen süre araştırıldığında, bu sürelerin 1-6 ay arasında değiştii ve 3 hastada lezyonun 6 aydan daha uzun bir süredir bulunduğu belirlendi (Tablo 2).

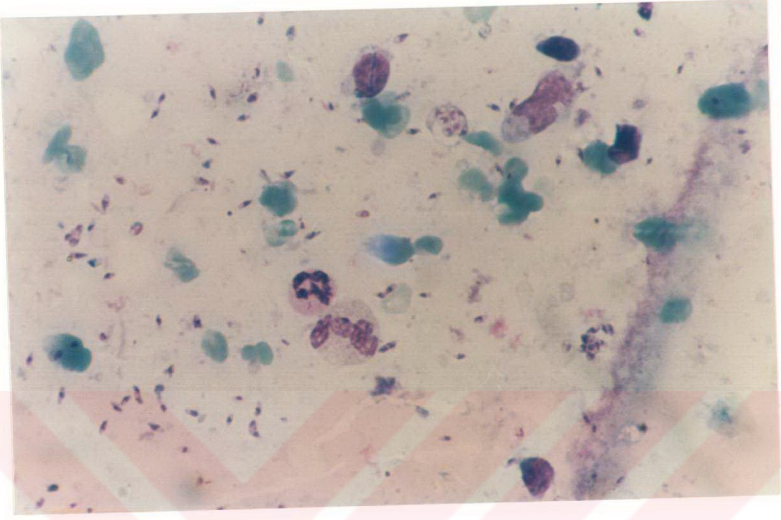
Yara ile sağlam deri arasındaki granölasyon dokulu bölgeyi, baş ve işaret parmağı arasında sıkılıp, lansetle deldikten sonra çıkan sıvıdan lam üzerine yayarak direkt preparatlar hazırlandı. Bu preparatlar tesbit edilip, Giemsa ile boyandıktan sonra immersiyon objektifiyle mikroskopta incelendiğinde, olguların 11'inde (% 52) amastigotlar görülürken; 10'unda (% 48) görülemedi. Yayma preparatlarda saptanan amastigotlar resim 1 ve 2'de görölmektedir.

**Tablo 2: Olgularla ilgili bulguların dökümü**

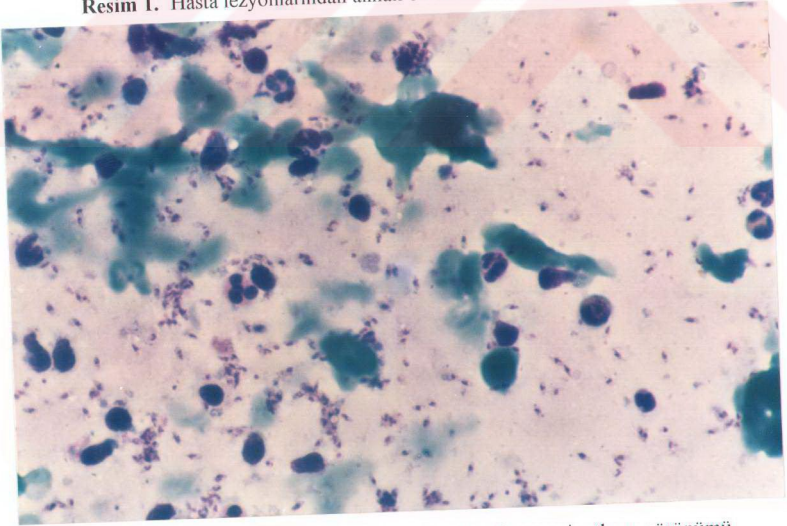
No	Hasta ile ilgili bilgiler		Lezyon ile ilgili bilgiler		Direkt inceleme	NNN by. Promastigot	Sığır Kanlı by Promastigot
	Cinsiyet	Yaş	Yer <sup>+</sup>	Süre* (ay)	Amastigot		
1.	K	43	yüz	4	Pozitif	Pozitif	-
2.	E	4	yüz	4	-	Pozitif	-
3.	K	25	yüz	2	Pozitif	Pozitif	-
4.	K	7	yüz	4	-	-	-
5.	K	9	yüz	5	-	Pozitif	-
6.	K	10	yüz	3	Pozitif	Pozitif	-
7.	E	27	parmak	3	-	-	-
8.	K	12	yüz	3	-	Pozitif	-
9.	K	27	el	5	-	-	-
10.	K	39	kol	6 <	-	-	-
11.	K	9	el	6 <	-	-	-
12.	E	16	burun	1	Pozitif	Pozitif	-
13.	K	4	kol	2	Pozitif	Pozitif	-
14.	E	7	yüz	3	Pozitif	Pozitif	-
15.	K	20	yüz	4	Pozitif	Pozitif	-
16.	E	32	yüz	6 <	Pozitif	Pozitif	-
17.	K	22	yüz	6	-	-	-
18.	K	17	parmak	3	-	Pozitif	-
19.	E	5	yüz	2	Pozitif	Pozitif	-
20.	K	18	yüz,el,kol	4	Pozitif	Pozitif	-
21.	K	11	burun	2	Pozitif	Pozitif	-

<sup>+</sup> Lezyonun hasta vücudunda bulunduğu yer

<sup>\*</sup> Lezyonun ortaya çıkmasından örnek alınmasına kadar geçen süre



**Resim 1.** Hasta lezyonlarından alınan örneklerde amastigotların görünümü.

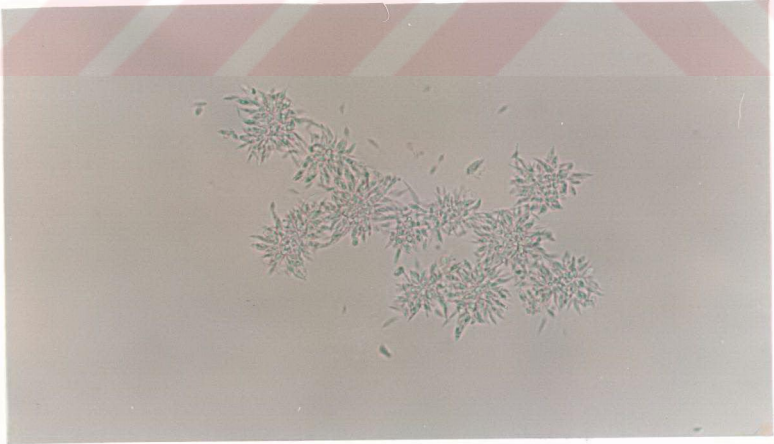


**Resim 2.** Hasta lezyonlarından alınan örneklerde amastigotların görünümü.

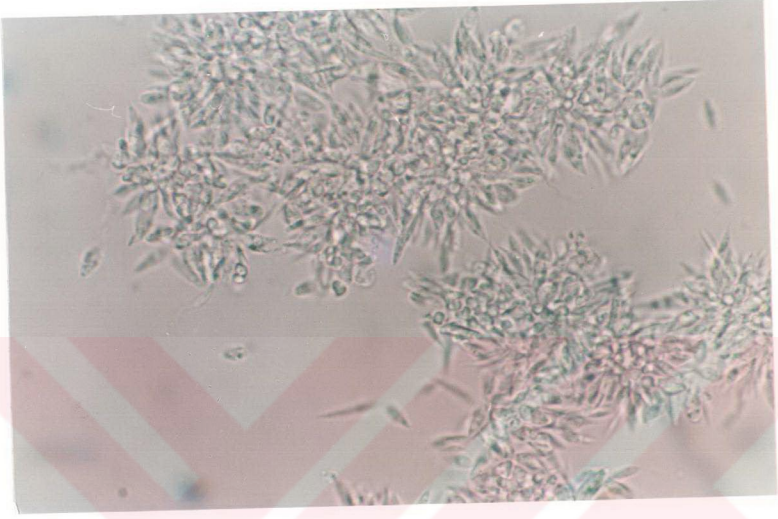


Aynı yöntemle elde edilen klinik materyalin steril serum fizyolojik insülin enjektörüne çekilmesiyle sağlanan parazitli sıvı NNN ve sığır kanlı besiyerine ekildikten sonra gerekli kültür kontrolleri yapıldı. NNN besiyerinde 3. ve 9. günler arasında kontrolleri yapılan kültürlerin 15'inde promastigot gözlenirken 6'sında üreme saptanmadı.

Dokuzuncu günün sonunda yapılan incelemelerde, 21 klinik örneğin NNN besiyerine ekilmesi sonucunda %71 oranında bir kültür başarısı sağlanmıştır. Bazı örneklerin direkt incelemelerinde amastigotlar saptanmazken aynı örneklerin NNN besiyerine ekimleri sonucunda promastigotlar (2, 5, 8, 18 nolu örneklerde) gözlenmiştir. Hasta lezyonlarından alınan örneklerin direkt olarak incelenmesiyle olguların % 52'sinde amastigotlar saptanırken, aynı örneklerin kültürlerinin yapılması sonunda olguların % 71'inde promastigotlar gözlenmiştir. Çalışmamızda NNN besiyerinde üretilen promastigotlar resim 3 ve 4'de görülmektedir.



**Resim 3.** NNN besiyerinde promastigotların görünümü.



**Resim 4.** NNN besiyerinde promastigotların görünümü.

Klinik örneklerden *Leishmania*'ların izolasyonunda denemek istediğimiz sığır kanlı besiyerinde ise herhangi bir üreme gözlenmedi.

Farklı derişimde trimethoprim-sulphametaxozole içeren (1, 2, 4, 8, 16  $\mu\text{g/ml}$ ) ve antibiyotik içermeyen NNN besiyerlerine, ml'sinde  $1.10^3$  promastigot bulunan yoğunlaştırma sıvısından  $1.10^2$  promastigot inoküle edildi. Her farklı antibiyotik konsantrasyonu için ikişer tüpe ekim yapıldı. Ekimden sonraki 3. günde kültürlerden steril koşullarda birer damla yoğunlaştırma sıvısı hemositometre lamına alınarak mikroskop altında (40X) promastigot sayımları yapıldı. Promastigot sayım sonuçları Tablo 3'de verildi. Tablo'dan da görüldüğü gibi 1 numaralı

kültürde 4 µg, 5 numaralı kültürde 4 µg, 10 numaralı kültürde 8 ve 16 µg trimethoprim-sulphametaxozole bulunan NNN besiyerlerinde mantar ürediğinden promastigot sayımı yapılamadı ve bu deney grubu istatistiksel değerlendirmeye alınmadı.

Farklı miktarlarda trimethoprim-sulphametaxozole içeren besiyerlerinde 3. güne ait promastigot sayıları ve antibiyotik içermeyen besiyerlerindeki promastigot sayıları karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız ( $F = 1.94$ ;  $p > 0.05$ ) bulundu.

**Tablo 3 :** Trimethoprim-sulphametaxozole'li (TM-SMX) NNN besiyerlerindeki promastigotların 3. gündeki üreme durumları

Hasta No	Besiyeri İçindeki TM-SMX Miktarı / µ g ml <sup>-1</sup>					
	0	1	2	4	8	16
1	60	120	60	-	100	75
2	200	200	200	160	150	150
3	200	240	-	160	200	200
4	200	120	200	200	200	160
5	240	200	180	-	180	120
6	200	160	160	200	200	100
7	160	120	160	200	180	160
8	150	160	200	150	180	120
9	200	200	120	150	100	120
10	200	160	200	140	-	-

Farklı derişimlerde trimethoprim-sulphametaxozole içeren NNN besiyerlerindeki promastigotların 7. gündeki sayımları da 3. günde yapıldığı tarzda gerçekleştirilmiştir. Yedinci günde saptanan bulgular Tablo 4'de görülmektedir. Buna göre, 1 numaralı kültürde 2 µg, 4 numaralı kültürde 2 µg, 7 numaralı

kültürde 16 µg trimethoprim-sulphametaxozole bulunan ve antibiyotik bulunmayan NNN besiyerlerinde mantar ürediğinden promastigot sayımı yapılamaz iken diğer tüplerde yine hemositometrede sayımlar gerçekleştirildi. Mantar kontaminasyonu bulunan tüpler istatistiksel değerlendirmeye alınmadı.

Değişik miktarlarda trimethoprim-sulphametaxozole içeren besiyerlerinde 7. güne ait promastigot ve antibiyotik içermeyen besiyerindeki promastigot sayıları karşılaştırıldığında gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamsız ( $F = 0.52$ ;  $p > 0.05$ ) bulundu.

**Tablo 4** : TM-SMX'li NNN besiyerlerindeki promastigotların 7. gündeki üreme durumları

Hasta No	Besiyeri İçindeki TM-SMX Miktarı / $\mu\text{g ml}^{-1}$					
	0	1	2	4	8	16
1	320	260	-	300	280	200
2	220	340	300	220	200	220
3	300	320	280	220	260	280
4	340	320	-	440	340	340
5	360	480	400	260	280	320
6	200	300	360	300	360	300
7	-	100	180	280	140	-
8	320	340	200	360	240	340
9	320	260	360	240	280	220
10	400	240	240	360	300	320

Farklı derişimde ofloksasin (Tarivid) içeren (5, 10, 20, 40 µg/ml) ve antibiyotik içermeyen NNN besiyerlerine, 10 hastadan üretilen besiyeri kondansasyon sıvısı ml'de 1000 promastigot olacak şekilde seyreltildi ve hazırlanan besiyerlerine her hasta örneğinden 0.1 ml (100 promastigot) ekildi. Bu pasaj

sonuçları Tablo 5’de verildi. Bu sonuçlar karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık istatistiksel olarak anlamsız (  $F = 0.42$ ;  $p > 0.05$ ) bulundu.

**Tablo 5:** Ofloksasin’li NNN besiyerindeki promastigotların 3. gündeki üreme durumları

Hasta No	Besiyeri İçindeki Ofloksasin Miktarı / $\mu\text{g ml}^{-1}$				
	0	5	10	20	40
1	150	120	150	160	140
2	250	170	200	200	200
3	145	180	180	170	160
4	160	160	160	200	160
5	200	150	175	200	200
6	160	100	150	120	170
7	100	160	120	120	160
8	100	150	75	75	100
9	200	100	160	150	200
10	200	190	200	200	200

Ofloksasin’li (Tarivid) besiyerlerinde 7. güne ait promastigot sayım sonuçları Tablo 6’da görülmektedir. Antibiyotik bulunmayan 3 numaralı kültür tüpü ile 5 (40  $\mu\text{g}$ ) ve 6 numaralı (5  $\mu\text{g}$  ve 10  $\mu\text{g}$  antibiyotik bulunanlar) deney tüpleri kontaminasyon nedeniyle deneyden çıkarıldı ve istatistiksel değerlendirmeye alınmadı.

Tablo 6’daki sonuçlar karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık istatistiksel olarak anlamsız ( $F = 0.18$ ;  $p > 0.05$ ) bulundu.

**Tablo 6:** Ofloksasin'li NNN besiyerindeki promastigotların 7. gündeki üreme durumu

Hasta No	Besi yeri içindeki Ofloksasin Miktarı / $\mu\text{g ml}^{-1}$				
	0	5	10	20	40
1	200	200	240	240	220
2	180	240	220	190	200
3	-	175	180	200	150
4	180	180	200	220	240
5	240	260	280	180	-
6	200	-	-	240	220
7	300	320	280	360	300
8	220	200	200	180	220
9	320	260	240	220	300
10	300	260	320	240	320

Tablo 3 ve tablo 4'de verilen sonuçlar birbirleriyle karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılıklar anlamlı ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur. Bunun nedeni 3. günden 7. güne kadar olan süre içerisinde promastigot üremesinin devam etmesidir.

Tablo 5 ve tablo 6'daki promastigot sayım sonuçları karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılıklar anlamlı ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur. Burada da 3. günle 7. gün arasında üreme devam ettiği için fark anlamlı çıkmaktadır.

İn vitro ilaç etkileşimini içeren çalışmalarımız bütünüyle değerlendirildiğinde, bazı yayınlarda trimethoprim-sulphametaxozole (TM-SMX) ve ofloksasinin deri leişmaniyozunun tedavisinde kullanıldığı bildirilmesine rağmen, tablolardan da anlaşılacağı gibi her ikisinin de in vitro koşullarda Leishmania promastigotlarına etkili olmadığı saptanmıştır.

## TARTIŞMA

Yurdumuzda görülen deri leyişmaniyozlu olguların genellikle *L. tropica* ile oluştuğu, *L. major*'un ise, enfeksiyonda daha az rol oynadığı bildirilmektedir. Ülkemizde hastalığın prevalansı 1950'li yıllardan önce çok yüksek iken, bu yıllardan sonra sıtma savaşı amacıyla yürütölen sivrisinek mücadelesinden tatarcıkların da etkilenmesi nedeniyle bu prevalans düşmüştür. 1960'lardan günümüze kadar ise deri leyişmaniyozu Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve Adana yöresinde daha sık, Orta Anadolu'da ise sporadik şekilde görölmektedir (2).

Deri leyişmaniyozunun klinik belirtileri başka bir çok hastalığın klinik belirtilerine benzemektedir. Bu nedenle hastalığın tanısını doğru olarak koymak için etkenin saptanması gereklidir. Etkensel tanı yöntemlerinden en sık kullanılanları, lezyon kenarından alınan örnekten hazırlanan preparatlarda amastigotların aranması ve bu örnekten yapılan kültürlerde promastigotların üretilmesidir. Bu iki yöntemin birlikte uygulanmasıyla etkeni saptama oranı artmaktadır. Lezyondan inceleme örneğinin alınması, kültürünün yapılması konusunda farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu konuda yapılan çok sayıda araştırma vardır (15, 27, 34).

Hendricks ve Wright deri leyişmaniyozunun tanısında, farklı iki besiyerini karşılaştıran bir çalışma yapmışlardır. Çalışmalarında deri leyişmaniyozu düşündükleri 40 kişiden iğne aspirasyonu ile alınan örnekleri hem Schneider'in *Drosophila* besiyerine ve hem de NNN besiyerine ekmişler, sonuçları kıyasladıklarında, Schneider'in *Drosophila* besiyerine ekilen örneklerin % 67'sinde, NNN besiyerine ekilen örneklerin ise % 15'inde sırasıyla 6. ve 11.6. günlerinde promastigotları gözlemlemişlerdir (15).

Weigle ve arkadaşları Kolombiya'da yaptıkları bir araştırmada, 177 (165'i deri, 12'si muko-kutanöz leiyşmaniyozlu) hastanın lezyonlarından doku kesisi, punch biyopsisi, kazıntı sızıntısı ve aspirasyon sıvısı almışlar, tanıda 7 yöntemi karşılaştırmışlardır. Çalışmada, doku kesisini, histopatolojik olarak; punch biyopsisini, yayma preparat yaparak; besiyerine ve hamstere inoküle ederek; kazıntı materyelini, yayma preparat yaparak; aspirasyon sıvısını ise kültür ve hamstere inoküle ederek incelemiştirler. Örnekleri Schneider'in *Drosophila* besiyerine ekmişler ve subkutanöz olarak hamster burnuna inoküle etmişlerdir. Araştırmacılar, doku kesisi, punch biyopsisi ve kazıntı sızıntısından yapılan yayma preparatlarla tanıya gitmenin diğer yöntemlere nazaran daha az duyarlı olduğunu belirlemişlerdir. Aspirat ve punch biyopsisinin hamster burnuna inokülasyonu ile tanıya gitmenin en duyarlı yöntem olduğu kanısına varmışlar ve bu 7 yöntemin tanı duyarlılığını çalışmalarında ortalama %67 olarak saptamışlardır. Promastigotlar, Schneider'in *Drosophila* besiyerinde, ekimden sonraki 3. ve 8. günler arasında görülmüştür. Bu çalışmalarının sonucunda araştırmacılar acil tanının gerektiği hallerde, kazıntı sızıntısından yayma preparat yapılarak incelenmesini, normal durumlarda ise, lezyon kenarından alınan aspirasyon sıvısından kültür yapılmasını önermişlerdir. Punch biyopsisi ile alınan örneklerde daha fazla parazit bulunduğunu bu nedenle de parazitin kültürde üretilme şansının fazla olduğunu belirtmişler fakat kontaminasyonun fazla görülmesi nedeniyle bu yöntemi önermemişlerdir. Deri leiyşmaniyozlu olguların lezyonlarında parazitler sayı olarak düzgün bir dağılım göstermediklerinden, hızlı tanıya ulaşmak için halen ideal bir tanı yönteminin bulunmadığını da belirtmişlerdir. Çalışmada aspirasyon sıvısından yapılan



kültürlerin 12'sinde (% 7) bakteriyel kontaminasyon saptanmış, 6 aydan eski lezyonlardan ise etkensel tanıya çok az ulaşılabilmektedir (27).

Ridley ve arkadaşlarının 60 deri veya muko-kutanöz leişmaniyozlu hastalardan biyopsi örneği alarak yaptıkları kıyaslamalı bir diğer çalışmada, örneklerden hazırlanan yayma preparatlarda % 26, hamsterlere inokülasyonla % 39 oranında pozitiflik saptanmıştır. Aynı hastalarda serolojik testler % 68, leishmanın cilt testi ise % 91 oranında pozitif bulunmuş, biyopsinin histopatolojik incelenmesinde, amastigotların dokuda bulunma yoğunlukları; 5(+), 4(+), 3(+), 2(+), 1(+) ve 0 olarak 6 gruba ayrılmıştır (28).

Ridell ve arkadaşları Fransız Guyana'sında, 26 Amerikan kutanöz leişmaniyozlu hastadan punch biopsisi alarak sürüntü preparatları yapmışlar, bu preparatları boyadıklarında örneklerin 16'sında (% 62) amastigot görmüşlerdir. Araştırmacılar, çalışmanın sonucunda doğal öldürücü T lenfositlerinin lokal lezyonun yayılmasını önleyici bir rol oynadıklarını bildirmişlerdir (29).

Desjeux ve arkadaşları, Bolivya'nın 250-800 metre yüksekliğindeki ormanlık bir bölgede çalışanlarda deri leişmaniyozunun klinik, serolojik, parazitolojik tanısını ve tedavisini içeren bir çalışma yapmışlardır. Bu bölgede çalışan 350 işçi 12 ay boyunca izlenmiş, bunlardan 200'ünün deri leişmaniyozu geçirdiğinden şüphelenilmişlerdir. Yapılan incelemeler sonunda, işçilerin 185'inde (% 52) serolojik ve parazitolojik olarak hastalığın tanısı kesinleşmiştir. Çalışmada örnekler lezyon kenarından punch biyopsisi ile alınmış, NNN besiyerine ekilmiş ve hamster pençesine inoküle edilmiştir. Daha sonra lansetle hamster pençesi

çizilmiş, çıkan sıvı pastör pipetiyle çekilip bifazik besiyerine ekilerek parazit üretilmeye çalışılmıştır (30).

Suay ve arkadaşları 1986-1994 yılları arasında direkt incelemeye dayanarak 117 deri leyişmaniyozlu olgu saptamışlardır. Retrospektif olarak laboratuvar kayıtlarının incelenmesine dayanan bu çalışmada kaç kişinin bu parazitoz şüpesiyle laboratuvara geldiği belirtilmemiştir. Sadece lezyonların % 75'inin kuru tip olduğunun belirlendiği, hastaların % 81'inin 0-20 yaş grubunda olduğu, lezyonların % 77'sinin yüzde, % 19'ünün elde, % 3'ünün ön kolda ve % 1'inin bacakta olduğu, en fazla olgunun Eylül ayında görüldüğü bildirilmiştir. Preparatlar lezyonun kabuğu kaldırılarak alınan kazıntılardan veya lezyonun kenarından enjektör veya pastör pipetiyle çekilen doku sıvısından yapılmıştır. Yayma preparatlar Giemsa yöntemiyle boyanarak amastigotlar aranmıştır (32).

Gramiccia ve arkadaşları Şanlı Urfa yöresinde yaptıkları bir çalışmada, 4 deri leyişmaniyozlu olgudan aldıkları örneklerden promastigotları Tobie'nin besiyerinde izole etmişler ve izoenzim elektroforezi yöntemiyle bu suşların *L. tropica* türü olduklarını belirlemişlerdir (33).

Navin ve arkadaşları Guatemala'da yaptıkları çalışmada, deri leyişmaniyozu tanısında kullanılan 3 yöntemi karşılaştırmışlardır. Bu yöntemler; ülser yüzeyi kazıntısından yapılan sürüntü preparatlarının boyanarak amastigotların, aspirasyon sıvısı ve kazıntı örneklerinin kültürlerinin yapılarak promastigotların görülmesi esasına dayanmaktadır. Araştırmacılar 3 yöntemin birlikte incelenmesinin tanıdaki duyarlılığı arttırdığını bildirmişlerdir. İncelenen 362 hastanın 252'sine (%70) deri leyişmaniyozu tanısı konmuştur. Sürüntü preparatlarında en az 1

amastigotun görüldüğü örneklerin kültürlerinin % 83'ünde, hiç amastigot görülmeyen örneklerin kültürünün % 27'sinde üreme gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre tanıya ulaşmada, yayma preparatların incelenmesi ile kültür yapma arasında belirgin bir fark olmadığı bildirilmiştir (34).

Özbilgin ve arkadaşlarının visseral ve deri leişmaniyozu tanısı konan 2 hastadan aldıkları kemik iliği aspirasyonu ve biyopsi örnekleri NNN besiyeri ve fetal sıgır serumu içeren besleyici buyyona ekilmiş; besleyici buyyonda birinci, NNN besiyerinde ise 2.-3. günden sonra üreme gözlenmiştir. Bu çalışmada besleyici buyyonun, erken tanıda etkili bir besiyeri olduğu savunulmuştur (35).

Lynch ve arkadaşları Amerikan deri leişmaniyozunun tanısında monoklonal antikolar kullanarak amastigotları saptamayı amaçlamışlardır. Çalışmada, biyopsiyle lezyonlardan örnekler alınarak immunoperoksidaz tekniğiyle amastigotların varlığı araştırılmıştır. Kullanılan yöntemin histolojik boyama yöntemine göre daha hassas olduğu bildirilerek epidemiyolojik çalışmalarda kullanılması önerilmiştir (22).

Sells ve arkadaşları immunoperoksidaz boyama yöntemini kullanarak formalinle fikse edilen dokularda Leishmania amastigotları ve antijenlerini saptamışlardır. Bu çalışmada deri leişmaniyozlu hastaların çoğunun lezyonlarının birkaç aylık olduğu ve az miktarda parazit içerdiği öne sürülmüştür. Biyopsilerde tipik şekildeki paraziti bulmanın ve böyle olgularda Giemsa boyası yöntemiyle araştırmanın zor olduğu belirtilerek, böyle bir dokudan alınan örneğin kültürü için birkaç hafta beklemek gerektiği ileri sürülmüştür. Kullandıkları yöntemin hızlı, daha

duyarlı ve özgül bir teknik olduğu, özellikle çok az sayıdaki parazitin varlığını saptamada kullanılabileceği bildirilmiştir (31).

Grimaldi ve arkadaşları parazitin izolasyonunda kullanılan besiyerlerinde kontaminasyon riskinin fazla ve parazitin üreme yüzdesinin de buna bağlı olarak az olduğunu ileri sürmüşlerdir. Araştırmacılar hastadan aldıkları örnekleri hamsterlere vererek etkeni bu yolla elde etmeye çalışmışlardır. Ayrıca bu yöntemin bir avantajının, steril koşullar sağlanamayan ortamlarda alınan örneklerin, deney hayvanlarıyla laboratuvara taşınabilmesi kolaylığı olduğunu öne sürmüşlerdir. Araştırmacılar örneklerin % 90'ında 2-21 günlük bir süre içinde üreme gözlemlediklerini bildirmişlerdir (37).

Çalışmamızda, Şark Çıbanı şüphesi taşıyan 21 olgudan “lansetle örnek alma yöntemi” olarak adlandırdığımız yöntemle aldığımız örnekleri hem direkt hem de kültür yöntemleriyle Leishmania yönünden araştırdık. Yayma yöntemiyle direkt olarak hazırlayıp Giemsa yöntemiyle boyadığımız preparatların 11'inde (%52) Leishmania amastigotlarını, klinik örneğin NNN besiyerine ekilmesi sonucunda ise toplam olarak 15 örnekte (%71) Leishmania promastigotlarını gözlemledik. Direkt incelemede amastigot görülmeyen 4 olgunun NNN besiyerindeki kültürlerinde üreme saptanması, kültür yönteminin önemini bir kez daha vurgulamaktadır. Şark Çıbanı şüphesi olan fakat NNN besiyerindeki kültürlerinde üreme gözlenmeyen 6 olguda üreme gözlenmemesini, lezyonlarda parazitin az sayıda olması nedeniyle alınan örnekte parazitin bulunmamasına, lezyonun eskiliğine ve klinik tanının yanlış konulmasına bağlayabiliriz.

Çalışmamızda; her ne kadar direkt yöntemle göre daha geç sonuç veren bir yöntem olsa da kültür yönteminin Şark Çıbanı tanısında, olguları yakalamak açısından daha uygun bir yöntem olduğu, direkt yöntemle birlikte uygulanması gerektiği ortaya konulmuştur. Ayrıca Şark Çıbanı tanısında özellikle yaradan klinik örneğin alınma şeklinin de önemi üzerinde durulmuş ve bizim uyguladığımız “lansetle örnek alma yöntemi” nin basit ve tanı açısından verimli bir yöntem olduğu saptanmıştır. Punch biyopsisi ve bunun gibi hastaya acı veren, sekonder enfeksiyonlara yol açabilen yöntemlerle karşılaştırıldığında “lansetle örnek alma yöntemi”nin daha uygun olduğunu söyleyebiliriz. Fakat ne yazık ki örnek alışı yönteminin direkt inceleme ve kültür sonuçlarına etkisini kıyaslama olanağımız olmamıştır.

Çalışmamız benzer çalışmalarla karşılaştırıldığında, gerek örnek alma yöntemimiz, gerekse elde ettiğimiz kültür başarıları yönünden diğer araştırmacıların bulgularına yakınlık göstermektedir.

Özçelik ve arkadaşlarının NNN, heparinli NNN, koyun kanlı NNN ve sığır kanlı besiyerindeki promastigotların üreme durumlarını karşılaştırdıkları çalışmalarında NNN besiyerinin promastigotların üretilmesinde daha iyi olduğunu, sığır kanlı besiyerinin ise tavşan kanı bulunmayan durumlarda promastigotların pasajlarla devamlılığını sağlamak amacıyla kullanılabileceğini bildirmişlerdir (36). Fakat bu çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre de bu besiyeri (SKB) lezyonlardan alınan örneklerden etkenin soyutulmasında kullanılacak uygun bir besiyeri değildir.

Çalışmamızda % 71 gibi yüksek bir oranda, deri leyişmaniyozunun etkensel tanısının konulmasını, etkili bir yöntem olduğunu düşündüğümüz “lansetle örnek alma yöntemine” ve çalışmanın steril koşullara dikkat edilerek yapılmasına bağlıyoruz. Elde ettiğimiz suşların olanaklarımız elvermediği için tür ayırımı yapılamamıştır. Fakat lezyonlar klinik özelliklerine göre değerlendirildiğinde, olguların 20’sinin (% 95) kuru tipte görülmesi nedeniyle, etkenlerin *L. tropica* suşları oldukları düşünülmektedir.

Deri leyişmaniyozunun tedavisi eskiden beri önemli bir sorun olmuştur. Tedavide kullanılan 3 değerli antimon bileşiklerinin değişik yan etkileri bulunmaktadır. Buna karşın 5 değerli antimon bileşikleri daha az toksiktir. Antimon bileşiklerine karşı hastaların toleransı farklı olabilir. Pentamidinin tedavide başarılı olmasına rağmen toksik olduğu bildirilmiştir. Diamidin kompleksleri en güvenli ilaçlar olmuştur. Amfoterasin B, sikloguanil, rifampisin, monomisin, trimetoprim, nifurtimoks ve nitridazol tedavide kullanılmıştır. Leyişmaniyozun tedavisinde gelecekte önemli sorunlarla karşılaşılacağı, özellikle AIDS’li hastalarda *Leishmania*’nın neden olduğu enfeksiyonların yeni tedavi şekillerine gereksinim gösterdiği bildirilmektedir. Stiboglukonat bileşiklerine gelişen hızlı direnç yurdumuz için de sorun olmaya başlamıştır(38). Son yıllarda leyişmaniyoz tedavisinde yeni ilaçların geliştirilmesiyle, birinci ve ikinci sıra ilaçların etkileri daha iyi anlaşılmaya başlanmıştır. Önümüzdeki yıllarda leyişmaniyoz tedavisinde yeni ilaçların kullanılması gerekecektir (44). Leyişmaniyoz tedavisinde kullanılan ilaçların etkinliği ve yan etkileri konusunda birçok araştırma yapılmıştır. Bu araştırmalardan bazıları şunlardır:

Furet ve arkadaşı pefloksasin, ofloksasin ve siprofloksasinin *L. mexicana*'ya ve *L. donovani*'ye in vitro koşullarda etkili olduğunu bildirmişlerdir (39).

Dogra'nın deri leyişmaniyozu tedavisinde oral alınan dapsonun (diamino difenil sulfon) etkinliğini araştırdığı bir çalışma sonucunda, hastalığın yaygın olduğu ülkelerde bu ilacın kolay temin edilebilir ve ekonomik olma özelliklerinden dolayı kullanılabileceği bildirilmektedir (40).

Harms ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, deri leyişmaniyozunun lokal tedavisinde rekombinant interferon-γ ve glucantim kullanılmış, glucantimin etkinliğinin interferon-γ'a göre daha iyi olduğu bulunmuştur(41).

Weinrauch ve El-on laboratuvar farelerinde deri leyişmaniyozuna ketokonozoln ve rifampisin/amphotericin B kombinasyonunun etkilerini araştırmışlar; ketakonozolle klinik ve parazitolojik olarak iyileşme görülmemiş, rifampisin/amphotericin B kombinasyonunun da tedavide etkisiz kalındığı bildirilmiştir. Bu çalışmada, konağın fizyolojisinin ve immünolojik durumunun, ilaçların etkisinde önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür (42).

Chulay ve arkadaşlarının Kenya'da deri leyişmaniyozunun sodyum stiboglukonatın yüksek dozuyla tedavisini araştırdıkları çalışmada, hastalara intravenöz yoldan 30 gün süreyle ilaç verilmiş, tüm hastalarda tedaviye iyi yanıt alınmış, 18 aylık izleme süresince nüks görülmemiş ve ilacın yan etkisinin düşük olduğu bildirilmiştir (43).

Netto ve arkadaşları yaptıkları bir araştırmada, 62'si deri, 17'si mukokutanöz leyişmaniyozlu olan hastaları glucantimle tedavi etmişlerdir.

Tedaviden sonra da hastaları 4 yıl boyunca izlenmişler, deri leyişmaniyozunda % 10, mukokütanöz leyişmaniyozda ise % 3 oranında nüks saptamışlardır (45).

Bu çalışmalardan da görüldüğü gibi, leyişmaniyoz tedavisinde kullanılan ilaçların iyileştirici özelliklerinin olmasının yanısıra, yan etkileri de bulunmaktadır. Çalışmamızda, biz de leyişmaniyoz tedavisinde bazı kaynaklarda kullanıldığı bildirilen trimethoprim-sulphametaxozole (38) ve ofloksasinin (39), promastigotların in vitro koşullarda üreme durumlarına etkilerini araştırdık. Her iki antibiyotiğin, farklı derişimlerinin, NNN besiyerlerinde promastigotların üremesini engellemediğini saptadık.

İn vitro koşullarda etkisiz bulduğumuz antibiyotiklerin, in vivo koşullarda etkilerinin nasıl olacağı konusunda bir yorumda bulunamamaktayız. Fakat bu konunun ayrıntılı bir şekilde araştırılması gerektiği kanısındayız.



## SONUÇLAR

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar şunlardır:

1. 21 deri leyişmaniyozis şüpheli olgunun lezyonlarından “lansetle örnek alma” yöntemiyle alınan örneklerin direkt incelemeleri sonucunda 11 inde (% 52) amastigotlar görülmüştür.
2. Örneklerin NNN besiyerlerine yapılan ekimlerinin 3. ile 9. günler arasında 24 saat aralıkla yapılan incelemelerinde, 15 (% 71) kültürde promastigot ürediği saptanmıştır.
3. Direkt incelemede amastigot görülen örneklerin kültürlerinin hepsinde promastigot ürediği gözlenirken, amastigot görülmeyen 10 örneğin kültürlerinin 4'ünde (% 19) de promastigot saptanmıştır.
4. Örneklerin sığır kanlı besiyerine ekimlerinden sonra, uygun koşullar altında 4 hafta süreyle saklanan kültürlerin, periyodik incelemelerinde üreme gözlenmemiştir.
5. Farklı derişimde trimethoprim-sulphametaxozole (Bactrim) içeren (1, 2, 4, 8, 16 µg/ml) ve antibiyotik içermeyen NNN besiyerlerindeki promastigotların 3. ve 7. günlerde yapılan sayımları arasındaki fark, istatiksel olarak anlamsız bulunmuştur.

6. Farklı derişimde ofloksasin (Tarivid) içeren (5, 10, 20, 40 µg/ml) ve antibiyotik içermeyen NNN besiyerlerindeki promastigotların 3. ve 7.günlerde yapılan sayımları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu saptanmıştır.

7. Farklı derişimde trimethoprim-sulphametaxozole (Bactrim) ve ofloksasinin (Tarivid) 3. gündeki kültürleri ile 7.gündeki kültürleri, promastigot sayıları yönünden karşılaştırıldığında, gruplar arası farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Bu durum, iki antibiyotiğin Leishmania promastigotlarının in vitro koşullarda üremelerine etkisi olmadığını göstermektedir.



## ÖZET

Bu çalışmada, Sağlık Bakanlığı Urfa Harran Kapı Sağlık Ocağına başvuran ve deri leyişmaniyozisli olduğu düşünölen 21 kişinin, lezyonlarından alınan örnekler parazitolojik yönden incelendi.

Lezyonlardan “lansetle örnek alma” adını verdiğimiz yöntemle örnekler alınarak direkt mikroskopik incelemeleri yapıldı. Aynı örneklerin NNN ve sığır kanlı besiyerlerine ekimleri yapılarak kültürlerde promastigotların üremelerine trimethoprim-sulfamethaxozole ve ofloksasinin etkileri araştırıldı.

Direkt mikroskopik incelemede, toplam 21 örneğin 11’inde (%52) amastigot görülürken, NNN besiyerlerine yapılan ekimlerin 15’inde (% 71) promastigotların ürediği saptandı. Sığır kanlı besiyerinde ise üreme gözlenmedi.

İn vitro koşullarda farklı derişimlerdeki trimethoprim-sulphametaxozole (Bactrim) (1, 2, 4, 8, 16 µg/ml) ve ofloksasinin (Tarivid) (5, 10, 20, 40 µg/ml) NNN besiyerindeki promastigotlar üzerine etkili olmadıkları saptandı.

## SUMMARY

### *Comparison of direct and culture methods in the diagnosis of cutaneous leishmaniosis and the investigation of the effects of both trimethoprim-sulfamethaxazole and ofloxacin on promastigots*

In this study, samples taken from the lesions belonging to 21 people, who are thought to be cutaneous leishmaniosis and admitted to Şanlıurfa Harrankapı Health Center ruled by Ministry of Health, has been examined parasitologically.

A direct microscobic examination has been done by the method called “taking sample by lancet” . By inoculating the same samples in NNN and bovine blood medium, the effects of trimethoprim-sulfamethaxazole and ofloxacin on growth promastigots in cultures have been investigated. While amastigots have been found in 11 (52%) of 21 samples in direct microscobic examination, growth of promastigots was observed in 15 (71%) cultures of the same samples. However, no growth has been observed in bovine blood medium.

It is determined that trimethoprim-sulfamethaxazole (Bactrim) (1, 2, 4, 8, 16 µg/ml) and ofloxacin (Tarivid) (5, 10, 20, 40 µg/ml) in different concentrations have no effect on promastigots in NNN media under in vitro conditions.

## KAYNAKLAR

1. Unat E K, Yücel A, Altaş K, Samastı M: Unat'ın Tıp Parazitolojisi. İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. yay., No.:15, 5. baskı, 1995, s. 501-586.
2. Altıntaş N: Leishmaniosis. “ Güneydoğu Anadolu Projesi'ni Tehdit Eden Parazit Hastalıkları”. Ed. M A Özcel, 1. baskı, E.Ü. Basımevi, İzmir, 1995, s. 97-131.
3. Kean B H, Mott K E, Russell A J: Tropical Medicine and Parasitology. Vol. 1 Cornell University Press, New York, 1978, p. 228-254.
4. Markell E K, Voge M, John D T: Medical Parasitology. 6 th ed. Philadelphia, 1986, p. 121-126.
5. Kılıç S S: Kala-azar ve diğer Leishmania enfeksiyonları, A W Topçu, G Söyletir, M Doğanay: İnfeksiyon hastalıkları, 1. baskı, İstanbul,1996 s. 560-563.
6. Unat E K: Leişmanyaz'ların Tarihçesi. Leishmaniasis. Ed. Ş Yaşarol, T. Parazitol. Derg., 1981, s. 1-10.
7. Orhan V, Yaşarol Ş: Leishmania'ların morfolojisi, fizyolojisi ve evrimi. Leishmaniasis. Ed. Ş Yaşarol, T. Parazitol. Derg., 1981, s. 11-20.
8. Turco S J: The Lipophosphoglycan of Leishmania. Parasitology Today. 4(9), p.255-257, 1988.

9. Bordier C: The Promastigote Surface Protease of Leishmania. *Parasitology Today*. 3(5), p. 151-153, 1987.
10. Doğan F: Leishmania enfeksiyonlarının epidemiyolojisi, leyişmanyaların rezervuar ve vektörleri. *Leishmaniasis*. Ed. ř Yaşarol, T. *Parazitol. Derg.*, 1981, s. 25-50.
11. Pearson R D, Anastocio de Querioz Sousa: Principles and Practice of Infectious Diseases. Ed. Mendel/Douglas/Benett, Churchill Livingstone Inc., p.2066-2075.
12. Rioux J A, Lanotte G: Leishmania infantum as a cause of cutaneous leishmaniasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 84 (6): 898, 1990.
13. Mebrahtu Y B, Eys G V, Guizani I, Lawyer P G, Pamba H, Koech D, Roberts C, Perkins P V, Were J B, Hendricks L D: Human cutaneous leishmaniasis caused by Leishmania donovani in Kenya. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 87: 598-601, 1993.
14. Özcel A, Sermet İ: Leishmaniasis'in laboratuvar tanısı. *Leishmaniasis*. Ed. ř Yaşarol, T. *Parazitol. Derg.*, 1981, s. 85-98.
15. Hendricks L, Wright N: Diagnosis of cutaneous leishmaniasis by in vitro cultivation of saline aspirates in Schneider's Drosophila Medium. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 28(6): 962-964, 1979.

16. Evans D A: Kinetoplastida. *Methods of Cultivating Parasites in Vitro*. Ed. A E R Taylor, J R Bakers, 1 th ed, Academic Press, London, 1978, p. 55-67.
17. Rodriquez N, Guzman B, Rodas A, Takiff H, Bloom B R, Convit J: Diagnosis of cutaneous leishmaniasis and species discrimination of parasites by PCR and hybridization. *J. Clin. Microbiol.*, 32 (9): 2246-52, 1994.
18. Laskay T, Miko T L, Negesse Y, Solbach W, Rollinghoff M, Frommel D: Detection of cutaneous leishmaniasis infection in paraffin embeded skin biopsies using the polymerase chain reaction. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 89(3): 273-275, 1979.
19. Al-Toqi M, Evans D A: Characterization of *Leishmania* spp. from Kuwait by isoenzyme electrophoresis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 72(1): 56-65, 1978.
20. Aljeboori T I: *Leishmania* spp. in Iraq. Electrophoretic isoenzyme patterns. II. Cutaneous leishmaniasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 74(2): 178-184, 1980.
21. Barker D C, Butcher J: The use of DNA probes in the identification of leishmaniasis: discrimination between isolates of the *Leishmania mexicana* and *L. braziliensis* complexes. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 77(3): 285-297, 1983.

22. Lynch N R, Malave C, Ifante R B, Modlin R L, Convit J: In situ detection of amastigotes in American cutaneous leishmaniasis, using monoclonal antibodies. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 80 (1):6-9,1986.
23. Kayaalp S O: Tıbbi Farmakoloji. Birinci cilt, 7. Baskı, Güneş kitabevi, Ankara, 1994, s. 799-830.
24. Saygı G: Araştırma notu. *T. Parazitol. Derg.*, 1-2(8): 169 -170, 1984.
25. NCCLS. Performance Standards of Antimicrobial Susceptibility Test, 4th edition. Document M2-A4, 1992.
26. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V: Biyoistatistik. Özdemir yayınları, Ankara, 4. baskı, 1993, s. 79 -150.
27. Weigle K A, Davalos M, Heredia P, Molineros R, Saravia N G, D'Alessandro A: Diagnosis of cutaneous and mucocutaneous Leishmaniasis in Colombia: A comparison of seven methods. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 36 (3): 489 - 496, 1987.
28. Ridley D S, Marsden P D, Cuba C C, Barreto A C: A histological clasification of mucocutaneous leishmaniasis in Brazil and its clinical evaluation. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 74 (4): 509-514, 1980.
29. Ridel P R, Esterre P, Dedet J P, Pradinaud R, Santoro F, Capron A: Killer cells in human cutaneous leishmaniasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 82 (2): 223 - 226, 1988.



30. Desjeux P, Mollinedo S, Pont F L, Parades A, Ugarte G: Cutaneous leishmaniasis in Bolivia. A study of 185 human cases from Alto Beni (La Paz Department). Isolation and isoenzyme characterization of 26 strains of *Leishmania brasiliensis brasiliensis*. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 81 (5): 742 - 746, 1987.
31. Sells P G, Burton M: Identification of *Leishmania amastigotes* and their antigens in formalin fixed tissue by immunoperoxidase staining. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 75 (3): 461-468 1981.
32. Suay A, Mete Ö, Elçi S: 1986-1994 yılları arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Bölümü parazitoloji laboratuvarında saptanan *Leishmania tropica* vakaları. T. Parazitol. Derg., 19 (2):165-170, 1995.
33. Gramiccia M, Bettini S, Yaşarol Ş: Isoenzyme characterization of *Leishmania* isolates from human cases of cutaneous leishmaniasis in Urfa, south-east Turkey. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 78 (4): 568, 1984.
34. Navin T R, Arana F E, Merida A M, Arana B A, Silvers D N: Cutaneous leishmaniasis in Guatemala: Comparison of diagnostic methods. Am. J. Trop. Med. Hyg., 42 (1): 36-42, 1990.
35. Özbilgin A, Özbel Y, Alkan M Z, Atambay M, Özcel M A: Cultivation of *Leishmania* sp. in nutrient broth. J. Egypt. Soc. Parasitol., 25 (2): 437-441, 1995.

36. Özçelik S, Çeliksöz A, Saygı G: Farklı kültür ortamlarında *Leishmania* promastigotlarının *in vitro* kültürü. *T. Parazitol. Derg.*, 20(2):169-174, 1996.
37. Grimaldi G, Jaffe C L, Mahon P D M, Falqueto A: A simple procedure for the isolation of leishmanial parasites and for the recovery of parasites virulence in avirulent stocks. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 78 (4): 560, 1984.
38. Aksu H S Z: Leşmanyaz: Tedavide yeni gelişmeler. *ANKEM Derg.*, 9 (3):263-268, 1995.
39. Furet Y X, Pechere J C: Newly document antimicrobial activity of quinolones. *J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 10 (4):249-254, 1991.
40. Dogra J: A double-blind study on the efficiency of oral dapsone in cutaneous leishmaniasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 85(2):212-213, 1991.
41. Harms G, Cheade A K, Douba M, Roepke M, Mouakeh A, Rosenkaimer F, Bienzle U: A randomized trial comparing a pentavalent antimonial drug and recombinant interferon- $\gamma$  in the local treatment of cutaneous leishmaniasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 85(2):214-216, 1991.
42. Weinrauch L, El-On J: The effect of ketoconazole and a combination of rifampicin/amphotericin B on cutaneous leishmaniasis in laboratory mice. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 78(3):389-390, 1984.

43. Chulay J D, Anzeze E M, Koech D K, Bryceson A D M: High-dose sodium stibogluconate treatment of cutaneous leishmaniasis in Kenya. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 77(5):712-721, 1983.
44. Davidson R N, Croft S L: Recent advances in the treatment of visceral leishmaniasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 87(2):130-131, 1993.
45. Netto E M, Marsden P D, Lianos-Cuentas E A, Costa J M, Cuba C C, Barreto A C, Badaro R, Johnson W D, Jones T C: Long-term follow-up of patients with *Leishmania (Viannia) braziliensis* infection and treated with Glucantime. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 84(3):367-370, 1990.
46. Despommier D D, Gwardz R W, Hotez P J: *Parasitic Diseases*. 3 th ed. Springer- Verlag, New York, 1995, p. 205.