



T.C.

**DİCLE ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ DERMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KUTANÖZ LEİSHMANİASİS KONUSUNDA DENEYİMLİ DERMATOLOG  
TARAFINDAN YAPILAN LEZYONAL YAYMALARIN KUTANÖZ  
LEİSHMANİASİSTE TANISAL DEĞERİ**

Dr. İSA AN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DİYARBAKIR-2017





T.C.

**DİCLE ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ DERMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KUTANÖZ LEİSHMANİASİS KONUSUNDA DENEYİMLİ DERMATOLOG  
TARAFINDAN YAPILAN LEZYONAL YAYMALARIN KUTANÖZ  
LEİSHMANİASİSTE TANISAL DEĞERİ**

Dr. İSA AN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. MEHMET HARMAN

DİYARBAKIR-2017

## ÖNSÖZ

Önemli bir halk sağlığı problemi olan kutanöz leishmaniasis çeşitli yerel ve küresel faktörlerin etkisi ile tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de artma eğilimine girmiştir. Ayrıca son yıllarda ülkemizin çok sayıda bölgesinde konuk ettiğimiz dünyadaki en büyük Suriyeli mülteci topluluğu içerisinde de özellikle büyük metropollerimizden pek çok importe olgu bildirilmektedir.

Kutanöz leishmaniasis tanısı için endemik bölgelerde yaşama veya endemik bölgeye seyahat öyküsü olan ve leishmaniasisi düşündüren klinik bulguya sahip hastalarda parazitolojik doğrulamanın yapılması gerekmektedir. Lezyonlardan alınan doku sıvısından hazırlanan ve Giemsa ile boyanan yaymaların mikroskopik incelemesi altın standart tanısal yöntemdir. Duyarlılığı coğrafik bölgeye, leishmania türlerine, lezyonun aşamasına, sekonder enfeksiyon durumuna, materyalin alınması, yaymaların hazırlanması ve incelenmesindeki deneyime bağlı olarak farklılıklar gösterir.

Bu prospektif çalışmada kutanöz leishmaniasis tanısında kullanılan yaymaların değerlendirilmesinde deneyimin önemini vurgulamak amaçlandı.

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Mehmet HARMAN, Prof. Dr. Mustafa ARICA, Doç. Dr. Derya UÇMAK, ve Doç. Dr. Bilal SULA'ya şükranlarımı sunarım.

Dört yıllık süre boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma her türlü desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca manevi desteğini esirgemeyen sevgili eşim Pınar'a ayrıca teşekkür ederim.

Aralık 2017

DR.İSA AN

## ÖZET

**Giriş:** Leishmaniasis, Türkiye de dahil 98 ülkede 12 milyon insanı etkileyen, 350 milyondan fazla kişinin risk altında olduğu vektör kaynaklı yaygın bir enfeksiyondur. Dünyada halk sağlığı sorunlarına neden olan en önemli vektör kaynaklı hastalıklardan biridir. Kutanöz leishmaniasis, hastalığın en yaygın formudur. Hastalığın kesin tanısı; Giemsa ile boyalı yaymaların mikroskopik incelemesi, histopatolojik inceleme, kültür veya PCR gibi laboratuvar yöntemler ile konur. Tanıda en sık kullanılan yöntem yaymaların mikroskopik incelemesidir. Bu yöntemin duyarlılığı hastalığın görüldüğü coğrafik bölgeye, leishmania türlerine, lezyonun tipine, eklenen sekonder bakteriyel enfeksiyona, materyalin alınma şekline, yaymaların hazırlanmasına ve inceleyen kişinin deneyimine bağlı olarak farklılıklar gösterir. Bu prospektif çalışmada kutanöz leishmaniasis tanısında kullanılan yaymaların değerlendirilmesinde deneyimin önemini vurgulamak amaçlandı.

**Yöntem:** Bu çalışmaya, 2016 yılının Ocak ve Aralık ayları arasında, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar polikliniğine başvuran tanısı çeşitli tanı yöntemleri ile doğrulanan kutanöz leishmaniasis hastaları dahil edildi. Bu hastaların tümünden hem mikrobiyolog hem de kutanöz leishmaniasis konusunda deneyimli dermatolog tarafından olmak üzere iki ayrı yayma yapıldı ve birbirlerinden bağımsız olarak değerlendirildi. Tüm hastalardan ayrıca leishmania kültürü [RPMI (Media Designed at Roswell Park Memorial Institute)-1640] ve PCR incelemesi için örnek alındı. Mikrobiyolog ve deneyimli dermatolog tarafından elde edilen yayma sonuçları diğer tanı yöntemleri ile karşılaştırıldı.

**Sonuçlar:** Çalışmaya toplam 70 hastada bulunan 122 deri lezyonu dahil edildi. Otuz dokuzu (%55,7) kadın ve 31'i (%44,3) erkek olan bu hastaların yaş ortalaması 19 (yaş aralığı: 3-71) idi. Hastalardaki lezyon sayısı 1 ile 13 arasında değişiyordu, ortalama lezyon sayısı 1,74 idi. Lezyonların %4,2'si (5) papüler, %5,7'si (7) nodüler, %18'i (22) nodüloülseratif ve %72,1'i (88) plak formundaydı. Kültür ve PCR tüm hastalarda pozitif olarak tespit edilirken yayma pozitifliği iki değerlendirici arasında farklılık gösterdi. Kutanöz leishmaniasisde deneyimli olan dermatolog tarafından yapılan yayma pozitifliği (%95,7) yayma konusunda deneyimli olmayan

mikrobiyolog tarafından yapılan yayma pozitifliğinden (%42,9) yüksekti ( $p < 0,001$ ). PCR analizinde hastaların 49'unda (%70) *L. tropica*, 14'ünde (%20) *L. major* ve 7'sinde (%10) *L. infantum* tespit edildi. Hem dermatolog tarafından yapılan yaymalarda hem de mikrobiyolog tarafından yapılan yaymalarda lezyon morfolojilerine göre yayma pozitiflik oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (sırasıyla  $p:0,460$  ve  $p:0,091$ ). Hem dermatolog tarafından yapılan yaymalarda hem de mikrobiyolog tarafından yapılan yaymalarda leishmania türlerine göre yayma pozitiflik oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (sırasıyla  $p:0,274$  ve  $p:0,052$ ).

Çalışmada elde edilen veriler değerlendirildiğinde ITS-1-PCR ile literatürdeki çalışmalarla benzer şekilde yüksek pozitiflik elde edilmiştir. RPMI-1640 kültür pozitiflik oranı literatürdeki çalışmalarla karşılaştırıldığında en yüksek pozitiflik oranı olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara dayanılarak ITS-1-PCR ve RPMI 1640 kültür laboratuvar yöntemlerinin kutanöz leishmaniasis tanısında yüksek duyarlılık ve özgünlüğe sahip olduğu söylenilebilir. Yayma konusunda deneyimli olmayan mikrobiyolog tarafından yapılan yaymaların pozitiflik oranı literatürdeki oranlardan daha düşük iken, kutanöz leishmaniasisde deneyimli olan dermatolog tarafından yapılan yayma pozitifliği literatürdeki ikinci en yüksek orandı.

Çalışmamızdaki veriler gösterdi ki kutanöz leishmaniasis tanısı için yaymalar leishmania konusunda deneyimi olan dermatologlar tarafından yapılmalı ve değerlendirilmelidir.

**Anahtar kelimeler:** Kutanöz leishmaniasis, Yayma, Dermatolog, Mikrobiyolog, ITS-1-PCR, RPMI 1640

## ABSTRACT

**Introduction:** Leishmaniasis is a common vector-borne infection affecting 12 million people in 98 countries, including Turkey, and over 350 million people are at risk. It is one of the most important vector-borne diseases causing public health problems in the world. Cutaneous leishmaniasis (CL) is the most common form of the disease. The definitive diagnosis of leishmaniasis is based on laboratory methods such as the microscopic examination of Giemsa-stained smears, histopathologic examination, culture or PCR. The most common method for the diagnosis is the microscopic examination of the smear. The sensitivity of this method varies according to the geographical region, the leishmania species, the type of lesion, presence of secondary bacterial infection, the sampling method, smear preparation and the experience of the staff. In this prospective study, it was aimed to emphasize the importance of the experience in the examination of the smears used in the diagnosis of cutaneous leishmaniasis.

**Methods:** Cutaneous leishmaniasis patients diagnosed with various diagnostic methods in the Outpatient Department of Skin and Venereal Diseases of Dicle University Hospital, between January and December in 2016, were included in this study. Two different smears were obtained from each patient by both the microbiologist and the dermatologist experienced in CL and examined independently. Moreover, more samples were taken from the patients for culture [RPMI (Media Designed at Roswell Park Memorial Institute)-1640] and PCR. The results of the smear examinations obtained by the microbiologist and the dermatologist experienced in CL were compared with other diagnostic methods.

**Results:** A total of 122 skin lesions from 70 patients were included in the study. Of 39 (55,7 %) female and 31 (44,3 %) male patients, the mean age was 19 years (age range 3-71). The number of the lesions in each patient varied between 1 and 13, the average lesion number was 1,74. Of the lesions, 4,2 % (5) were papular; 5,7 % (7) were nodular; 18 % (22) were noduloulcerative, and 72,1 % (88) were plaques. Whereas culture and PCR were found to be positive for all patients, the

smear positivity showed difference between two practitioners. The smear positivity done by the experienced dermatologist in CL was higher than the smear positivity done by the microbiologist (95,7 %, and 42,9 %, respectively) ( $p < 0,001$ ). PCR analyses showed that *L. tropica* was the leading parasite ( $n=49$ ; 70%), followed by *L. major* ( $n=14$ ; 20%) and *L. infantum* ( $n=7$ ; 10%). Comparing the smear positivity rates according to lesion morphologies in the smears performed both by the dermatologist and the microbiologist, a statistically significant difference was not identified ( $p:0,460$ , and  $p:0,091$ , respectively). Comparing smear positivity rates according to *Leishmania* species both in the smears performed by the dermatologist and the microbiologist, there was no statistically significant difference ( $p: 0,274$ , and  $p:0,052$ , respectively).

Considering the data obtained from the study, the ITS-1-PCR positivity rate was high as in the studies in the literature. The RPMI-1640 culture positivity rate was the highest positivity rate when compared with the studies in the literature. With respect to those results, it could be stated that ITS-1-PCR and RPMI-1640 culture have high sensitivity and specificity in the diagnosis of cutaneous leishmaniasis. While the positivity rate of the smears by the microbiologist was lower than the rates in the literature, the smear positivity rate by the dermatologist experienced in cutaneous leishmaniasis was the second highest rate in the literature.

The findings of our study showed that the smears for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis should be performed and evaluated by the dermatologists who are experienced in cutaneous leishmaniasis.

**Keywords:** Cutaneous leishmaniasis, Smear, Dermatologist, Microbiologist, ITS-1-PCR,

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ .....	i
ÖZET .....	ii
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT) .....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
TABLO LİSTESİ.....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kutanöz leishmaniasis.....	3
2.1.1. Epidemiyoloji.....	3
2.1.2. Risk faktörleri.....	4
2.1.3. Klinik belirtiler .....	5
2.1.4. Klinik tipler.....	6
2.1.5. Patoloji .....	8
2.1.6. İmmünoloji .....	8
2.1.7. Vektörler ve Rezervuarlar .....	9
2.1.8. Etkenler ve Yaşam Döngüsü.....	10
2.1.9. Ayırıcı tanı .....	11
2.1.10. Tanı.....	11
2.1.10.1.Direkt Mikroskopi.....	12
2.1.10.2.Serolojik Yöntemler.....	12
2.1.10.3.Kültür Yöntemleri.....	13
2.1.10.4.Moleküler Yöntemler.....	14
2.1.11. Tedavi.....	14
2.2.Yayma.....	18
2.2.1.Tanım ve Tarihçe.....	18
2.2.2. Dermatolojik Tanıda Yaymanın Önemi.....	18
2.2.3. Yayma Hazırlanması.....	19
2.2.4. Yayma Bulguları.....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
4. BULGULAR.....	25
5. TARTIŞMA.....	34
6. SONUÇLAR.....	51
7. KAYNAKLAR.....	53
8.EKLER.....	66

## **SİMGELER VE KISALTMALAR**

**KL:** Kutanöz leishmaniasis

**MKL:** Mukokütanöz leishmaniasis

**VL:** Visseral leishmaniasis

**RPMI:** Media Designed at Roswell Park Memorial Institute

**PCR:** Polimerase Chain Reaction

**HIV:** Human immunodeficiency virüs

**DDT:** Dikloro Dietil Trikloretan

**IL:** İnterlökin

**Th:** T helper

**IFN $\gamma$ :** İnterferon- $\gamma$

**NK:** Doğal öldürücü

**TNF-alfa:** Tümör nekrozis faktör alfa

**IFA:** İndirekt floresans antikor

**ELISA:** Enzim linked immünoassay

**RK39:** Rekombinant K39

**CSA:** Crude Soluble Antigen

**NNN:** Novy, McNeal, Nicolle

**MA:** Meglumin antimonat

**SSG:** Sodium stibogluconat

**İL:** İntralezyonel

**EKG:** Elektrokardiyogram

**İM:** İntramusküler

**Zn $^{++}$ :** Çinko

**rRNA:** Ribozomal RNA

**kDNA:** Kinetoplast DNA



## **TABLO LİSTESİ**

**Tablo 1:** Hastaların cinsiyetleri

**Tablo 2:** Lezyon sayısı

**Tablo 3:** Lezyonların anatomik bölgelere göre dağılımı

**Tablo 4:** Lezyon süresi

**Tablo 5:** Lezyon tipi

**Tablo 6:** Lezyonların morfolojisi

**Tablo 7:** Endemik bölgede yaşama durumu

**Tablo 8:** Endemik bölgeye seyahat öyküsü

**Tablo 9:** Hastanın yaşadığı şehir

**Tablo 10:** Diyarbakır ilinin ilçelerinde bulunan hastaların dağılımı

**Tablo 11:** PCR Sonucu

**Tablo 12:** Mikrobiyolog ve dermatolog smear karşılaştırılması

**Tablo 13:** Mikrobiyolog smear, dermatolog smear, RPMI 1640'da kültür yöntemi ve ITS-1-PCR pozitifliği karşılaştırılması

**Tablo 14:** Leishmania türü ve dermatolog smear sonucu karşılaştırılması

**Tablo 15:** Leishmania türü ve mikrobiyolog smear sonucu karşılaştırılması

**Tablo 16:** Lezyon morfolojisi ve dermatolog smear sonucu karşılaştırılması

**Tablo 17:** Lezyon morfolojisi ve mikrobiyolog smear sonucu karşılaştırılması

## 1.GİRİŞ ve AMAÇ

Leishmaniasis, *Leishmania* cinsi protozoonların neden olduğu, deri lezyonlarından sistemik hastalıklara uzanan geniş spektrumlu multisistemik bir hastalıktır. Hastalığın klinik ve epidemiyolojik özellikleri parazitler, konak ve çevreyi içeren çok sayıda faktörün rol oynamasına bağlı olarak değişmektedir. Hastalığın kutanöz, mukokutanöz ve visseral leishmaniasis olmak üzere üç ana klinik formu mevcuttur. Kutanöz leishmaniasis (KL) deride uzun süren nodülo-ülseratif lezyonlarla seyredip atrofik skatrisle iyileşen bir deri hastalığı tablosudur (1,2).

KL tanısı; mikroskopik inceleme, kültür ortamında izolasyon, genomda bulunan spesifik dizilerin moleküler yöntemlerle incelenmesi, antijenlerinin gösterildiği direkt yöntemlerle veya hasta serumunda antikorların arandığı serolojik testlerle yapılabilmektedir. Direkt mikroskopide amastigotların görülebilirliği zor ve tecrübe isteyen bir metoddur. Literatürde bu yöntemle olguların % 48 ile %96,2 arasında değişen oranında hastalık etkeni mikroorganizmaların saptandığı bildirilmektedir. Bu oranların farklı olmasında; lezyondan materyal alma yeri ve yöntemi, yaymaların hazırlanma biçimi ve mikroskopik incelemeyi yapan kişinin deneyimi etkili olmaktadır. KL'nin serolojik yöntemler ile tanısında çok düşük titrede saptanabilen antikorlar olduğu için serolojik testler tercih edilmemektedir. Kültür yöntemleri ise çok zaman alıcı ve zahmetli bir metod olduğu için KL tanısında çok az tercih edilmektedir (3,4).

Bu çalışmaya Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları polikliniğine başvuran, her yaş ve cinsiyette, öykü- fizik muayene ile kutanöz leishmaniasis olduğu düşünülen tanısı çeşitli tanı yöntemleri ile doğrulanan hastalar dahil edildi. Hastaların lezyonlarından 10 yıllık smear deneyimi olan dermatolog ve smear konusunda deneyimli olmayan mikrobiyolog tarafından ayrı ayrı Tzank smear yöntemiyle örnekler alınıp giemsa ile boyandıktan sonra birbirlerinden bağımsız olarak mikroskopta incelendi. Daha sonra dermatolog tarafından kültür için lezyondan elde edilen örneklerin NNN (Novy, McNeal, Nicolle) besiyerlerine ekimi yapıldı. İlk üremenin gerçekleştiği besiyerlerinden alınan örnekler fazla miktarda üretmek amacıyla RPMI-1640 besiyerinde kültüre alındı. Aynı zamanda dermatolog tarafından lezyondan elde edilen örnekler ITS1 problu gerçek zamanlı PCR testi ile değerlendirildi.

Bu prospektif çalışmada kutanöz leishmaniasis tanısında kullanılan yaymaların değerlendirilmesinde deneyimin önemini vurgulamak amaçlandı.



## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kutanöz Leishmaniasis

#### 2.1.1. Epidemiyoloji

Kutanöz leishmaniasis (KL) 45<sup>0</sup> Kuzey, 32<sup>0</sup> Güney paralelleri arasında kalan tropikal ve subtropikal alanlarda görülmektedir. Hem konağın yaşam ve davranış biçimleri, hem de vektörün üreme ve yaşam özellikleri KL epidemiyolojisinde önem taşımaktadır (5). Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre leishmaniasis 98 ülkede endemik olarak görülmekte ve 350 milyon insan risk altında bulunmaktadır. Hastalığın dünyada 12 milyon kişiyi etkilediği ve her yıl 1,5–2 milyon yeni vaka olduğu tahmin edilmektedir. KL olgularının %90'ından fazlasını Afganistan, İran, Suudi Arabistan, Suriye, Brezilya ve Peru'dan bildirilen olgular oluşturmaktadır (6). KL'in endemik olduğu bölgelerde son 10 yılda vaka sayısı belirgin olarak artmıştır. Buna ek olarak HIV enfeksiyonuna eşlik eden koenfeksiyonlar nedeniyle Güney Avrupa gibi daha önce hastalığın endemik olmadığı bölgelerde de hastalık görülmeye başlanmıştır (2).

Eski dünya KL'inde *L. major*, *L. tropica*, *L. infantum* ve *L. aethiopica* etkendir. *L. tropica* başlıca Akdeniz havzası, Ortadoğu, Kafkasya ve Orta Asya'da KL'ye neden olurken, *L. infantum* Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerde ve Hazar denizi çevresinde KL etkenleridir. *L. aethiopica* ise Güneybatı Afrika'da KL'ye neden olur. Türkiye'de sıklık sırasına göre *L. tropica*, *L. major* ve *L. infantum*'un KL'ye neden olduğu bilinmektedir. Yeni dünyada KL'ye başlıca alt tür olan *L. mexicana* neden olur (1,2,7).

KL 1950'li yıllardan önce neredeyse tüm Türkiye'de daha sık görülmekte ve özellikle Güneydoğu Anadolu bölgesinde antroponotik epidemilerle karakterize idi. Ancak bu tarihten sonra sıtma eradikasyonu için sivrisineklere karşı uygulanan DDT'nin KL vektörü flebotomları da ortadan kaldırması sonucu, hastalığın insidansı giderek azalmaya başladı. Sonunda hastalık eskiye göre şiddeti azalmış bir biçimde daha çok Güneydoğu Anadolu bölgesine sınırlı hale geldi. Sıtma ile savaş nedeniyle sivrisinekle yapılan yoğun mücadelenin etkilerinin ortadan kalması ile 1980'li yılların başından itibaren özellikle Şanlıurfa ve çevresinde hastalık insidansı tekrar

artmaya başladı. Bunun sonucu olarak 1983 yılında resmi rakamlarla 1741 olguluk bir epidemik patlama oldu. Bunu takiben daha önceleri KL açısından sporadik bir bölge olan Çukurova bölgesi de endemik hale geldi (1).

Sağlık Bakanlığı verilerine göre 1988-2010 yılları arasında ülke genelinde saptanan toplam 50381 olgunun yaklaşık yarısı Şanlıurfa ilinden olmak üzere; %96'sı Şanlıurfa, Adana, Osmaniye, Hatay, Diyarbakır, İçel ve Kahramanmaraş illerinden bildirilmiştir (5). Bildirimi zorunlu olmasına ve tedavinin ücretsiz yapılmasına rağmen, 2002 yılına kadar Diyarbakır ilinde KL olgu bildirimini yapılmamıştır. Ancak 2002-2010 yılları arasında ise 2462 olgu bildirilmiştir. Bu durum ülkemizdeki Leishmaniasis sürveyansında önemli eksiklikler olduğunu göstermektedir. Diyarbakır'da olguların % 90.6'sı Dicle Baraj gölünün kenarında yer alan Dicle ve Hani ilçelerinden ve bu ilçelerin kırsal alanlarından bildirilmiştir (8,9). Endemik bölgelerden non-endemik bölgelere mevsimsel göçler, ulaşım olanaklarının artması sonucu şehirler arası seyahatlerin sıklaşması, antroponotik enfeksiyonların ana kaynağı olan hastaların tedavi edilmemesi, vektör flebotomlara karşı insektisit uygulamalarının düzenli yapılmaması, büyük hidroelektrik barajları ve sulama projelerine bağlı ekolojik dengede vektör ve rezervuarları etkileyecek değişikliklerin olması ve komşu ülkelerden savaş nedeniyle Türkiye'ye gelen yoğun göçten dolayı Türkiye'de KL'li hastaların sayısında son yıllarda artış görülmektedir (1).

Endemik bölgelerde KL prevalansı 15 yaşına kadar yaşla birlikte artar. Ancak daha sonra muhtemelen immunitenin gelişmesine bağlı olarak sabit kalır. Enfeksiyonun daha çok ev sakinleri arasında fazla olması tatarcığın kısa uçuş mesafesi, antroponotik bulaşma ve genetik duyarlılığa bağlı olabilir (10).

### **2.1.2. Risk faktörleri**

Endemik bölgede yaşamak, endemik bölgelere seyahat etmek, evcil hayvan beslemek, ev yapımında kullanılan malzemeler KL gelişimi açısından risk faktörleridir (9). KL görülen endemik alanlarda evlerle iç içe ahırların varlığı, ahırlarda biriktirilen organik maddeler ve yakıt olarak kullanılan tezek yığınları hastalığın gelişimi için risk faktörleridir. Cibinlik olmadan uyumanın, köpek veya hayvan barınaklarına yakın yaşamının riski arttırdığı belirlenmiştir (11). Kentlerin kenar kesimlerinde hızlı ve plansız oluşan yerleşim yerlerinde su, kanalizasyon gibi

alt yapı eksiklikleri uygun olmayan bir yaşam ortamı oluşturmaktadır ve bu ortamlar KL gelişimi için risk faktörleridir. Ayrıca sürekli dış ortamda çalışmayı gerektiren mesleklerde çalışmak KL gelişimi açısından risk faktörüdür. Antroponotik enfeksiyonların ana kaynağı olan hastaların tedavi edilmemesi yeni olguların oluşmasına neden olmaktadır (12).

### **2.1.3. Klinik belirtiler**

KL lezyonu genellikle enfekte dişi kum sineğinin ısırıldığı yüz, boyun ve ekstremiteler gibi örtünmeyen vücut bölgelerinde küçük bir papül olarak başlar. Yavaş bir şekilde büyüyerek haftalar aylar sonra merkezinde sıkıca yapışık kabukla kaplı ülser bulunan nodül veya plağa dönüşür (13). Kabuk kaldırılınca kırmızı, sulantılı ülser görülür. Ülsere lezyon üzerindeki, alta sıkıca yapışık sert kabuk kaldırıldığında kabuğun alt yüzünde çiviye benzer çıkıntılar görülür. Bunlara Dr. Hulusi Behçet'in "çivi belirtisi (signe de clou)" adı verilir. Bu bulgu spesifik olmamakla birlikte özellikle endemik bölgelerde KL' i akla getirmesi açısından önemli bir bulgudur. Yine ülserli dönemde gözlenen, lezyon kenarlarının normal deriden ortadaki krater şeklindeki ülsere doğru bir eğimle yükselmesi ile karakterize volkan belirtisi KL' i akla getiren ve diğer kronik ülserlerden ayıran önemli bir bulgudur (5).

KL' li hastadaki lezyonlar sıklıkla tektir, fakat satellit veya lenfatik yayılım biçiminde çok sayıda olabilirler. Literatürde erizipeloid, paronişyal, anüler, zosteriform, diskoid lupus eritematozus benzeri, egzematöz , şankriform, psoriyaziform, miçetomatöz ve skuamöz hücreli karsinoma benzeri KL lezyonları da bildirilmiştir (2,13). Sekonder bakteriyel enfeksiyon olmadıkça lezyonlar ağrısızdır. KL tedavi edilmezse genellikle 1-1,5 yılda atrofik skatris bırakarak kendiliğinden iyileşir, ancak bazı lezyonlar kronik veya yaygın hale gelebilirler (1).

Eski Dünya KL' inde plak, hiperkeratotik veya siğil benzeri lezyonlar gelişebilir. Yeni Dünya KL' inde ise lezyonlar sıklıkla ülseratiftir (9). Yeni Dünya KL' inde lezyonlar daha fazla çeşitlilik gösterebilir ve hastaya daha çok hasar verir. Yeni Dünya KL' in özel bir formu bulunmaktadır. Bu formun en sık yerleşim yeri kulaktır. Lezyonlar sıklıkla nemli ormanlarda sakız için chicle toplayan orman işçilerinde görülmektedir. Bu form daha kroniktir ve yıllarca sürebilir ve bu formda dış kulak

tutulmakta, kartilajda yavaş iyileşen bir ülser neden olmaktadır. Bu ülser ‘Chiclero ülseri’ denilmektedir (14).

#### 2.1.4. Klinik tipler

KL genel olarak akut (ıslak ve kuru tip) ve kronik (kronik KL ve rezidivan KL) form olarak ikiye ayrılır. Bunun dışında mukozal, mukokutanöz, dissemine, diffüz, post kala-azar KL gibi tipleri de mevcuttur. Layşmanya parazitin farklı türlerinin neden olduğu KL lezyonları, klinik görünümüne bakılarak ayırt edilmeye ve etken tahmin edilmeye çalışılmış, *L. major* un “ıslak”, *L. tropica* nın “kuru” tip KL lezyonlarına neden olduğu varsayılmıştır (1,9). Günümüzde etken artık klinik görünümünden çok izoenzim analizi veya moleküler biyolojik yöntemlerle ortaya konmaktadır (5).

*L. majör* ün neden olduğu KL zoonotik veya yaş tip olarak bilinir, kırsal alanlarda görülür. Lezyonlarda hızlı gelişen nekroz sonrasında eksudasyon oluştuğu için lezyonlar yaş tip olarak değerlendirilir. Lezyonlar şiddetli inflamme ve ülser olup, 2-8 ayda iyileşirler. Sıklıkla çok sayıda olan lezyonlar büyük, kötü görünümlü olup fonksiyon bozukluğu yapabilen skar bırakabilirler (2).

*L. tropica* nın neden olduğu KL antroponotik veya kuru tip olarak bilinir, kırsal olmayan alanlarda görülür. Lezyonda belirgin bir eksudasyon oluşmadığı için kuru tip olarak değerlendirilir. Lezyonlar yavaş seyir göstererek geç ülserleşir. Sıklıkla çok sayıda, kuru, ülser nodül ve plaklar olur. Lezyonlar bir yıl veya daha uzun sürede yerinde skar bırakarak iyileşir (12).

Enfeksiyonu geçiren kişiler parazit türüne göre hastalığa karşı hayat boyu bağışıklık kazanırlar. KL lezyonları iki yıl içinde tedavi ile ya da spontan olarak iyileşir. Ancak hastaların %5-10’ unda lezyonlar 2 yıl içinde iyileşmezse kronik KL olarak adlandırılır.

Kronik KL lezyonları ağrısız, iyileşmeyen ülseratif bir nodül veya infiltrate, diffüz geniş bir plak şeklinde yüzde ve el sırtlarında görülür. Rezidivan KL primer lezyonun iyileşmesinden aylar, yıllar sonra skar üzerinde veya civarında papüller lezyonların gelişmesi ile karakterize olup, yıllarca devam edebilir. Rezidivan KL’ e hemen daima *L. tropica* neden olur. Lezyonda amastigotların az olması tanıda gecikmeye neden olabilir. KL lezyonu tamamen iyileştikten 1-2 yıl sonra bile papüller ortaya çıkabilir. Bu forma lupus vulgarise benzerliği nedeniyle “Lupoid

layşmanyazis” adı da verilir. Antroponotik, daha nadiren zoonotik KL lupoid leishmaniasise dönüşebilir. Lezyonlardan alınan örneklerin incelenmesinde çok nadir parazit görülebilir. Bu formun tedaviye yanıtı zayıftır (1,2).

Diffüz KL ekstremitelerin ekstensör yüzeyi ve yüz gibi bölgelere lokal ve hematojen yayılımının olduğu ülser olmayan lezyonlarla karakterizedir. Derin dokuların destrüksiyonuna neden olabilir. Eski Dünya'da *L. aethiopica*, Yeni Dünya'da ise *L. amazonensis* neden olur (10). Boyamalarda bol miktarda amastigot görülür. Hastaların hemen hepsinde hücrel immünite baskılanmıştır ve layşmanın testi negatiftir. Lokalize KL ile karşılaştırıldığında tedavisi zordur ve kendi kendine iyileşmez (5).

Dissemine KL vücudun birbirine komşu olmayan iki veya daha fazla bölgesinde 10 ve daha fazla lezyonun olmasıdır. Hastalık tek ülser, nodül veya plak olarak başlar, bunlardan satelit lezyon gelişip tüm vücudu kaplayacak şekilde yayılabilir. Bu form oldukça nadirdir; ancak hem eski hemde yeni dünya deri layşmanyazisinde görülebilmektedir (2).

Mukokütanöz leishmaniasis (MKL), “Espundia” adıyla da anılır. Çoğunlukla Orta ve Güney Amerika’da görülür. En sık görülen etkenler *L. braziliensis* ve *L. panamensis*'tir. MKL genellikle kendiliğinden iyileşen kütanöz lezyonlardan yaklaşık olarak 5 yıl sonra oluşmaktadır. Fakat olgularının %15’ inde önceden geçirilmiş bir deri lezyonu öyküsü yoktur. Sıklıkla orman alanlarında ve rutubetli alanlarda oluşur. İlk semptomlar burun tıkanıklığı ve burun kanamasıdır. Bundan kısa bir süre sonra burun septumu perfore olur ve infeksiyon komşu organlara yayılmaya başlar. Burun ve farinks ve hatta larinks mukozasında, kıkırdak ve kemiklerinde ciddi bir yıkım ile seyredir (5).

Post kala-azar KL’i visseral leishmaniasis(VL)’ e neden olan *L. donovani* nin neden olduğu deride hipopigmente maküller, malar eritem, nodüller ve verrüköz plaklarla seyreden bir hastalıktır. Afrika tipinde VL’ nin tedavisi sırasında veya hemen tedavi sonrasında görülürken, Hindistan tipinde tedaviden 10 sene sonrasına kadar gecikebilir. VL tedavisini takiben Sudanlı hastaların %50’ sinde, Hindistanlıların %5-%10’ unda görülür. İlk lezyonlar genellikle ağız çevresinde başlar, daha sonra jeneralize olur. Alın, çene, kulak, kalçalar ve uyluklarda lezyonlar

görülür. Bunların dışında travma, cerrahi işlemler ve dövmeden sonra oluşan otoinokülasyon ve Köbner fenomenine bağlı sekonder lezyonlar bildirilmiştir. Histolojik incelemede tüberküloid benzeri histolojik yapı görülür. Laysmanın testi genellikle negatiftir; ancak pozitifte olabilir. VL hastalarının kanlarında yüksek İnterlökin (IL)-10 olması post kala-azar KL'i geçirme riskini arttırmaktadır (2,13).

### **2.1.5. Patoloji**

Histopatolojik olarak KL tanısı amastigotların görülmesi temeline dayanır. Amastigotlar 2-4 µm olup, hematoksilin-eosin ile donuk mavi-gri ; Giemsa ile kırmızı boyanırlar. Tipik olarak amastigotlar kinetoplastlarıyla görülür ve etraflarında halo yoktur (2).

Akut KL' de epidermiste atrofi, ülserasyon, psödoepitelyomatöz hiperplazi, hiperkeratoz, parakeratoz, nekroz, bazal hücre dejenerasyonu görülebilir. Dermiste ise histiyosit, lenfosit, plazma hücreleri ve nötrofillerden oluşan inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülür. Makrofajların içinde ve dışında amastigotlar bulunur. Zamanla epitelooid hücreler ve dev hücrelerin sayısı artar, amastigot sayısı azalır. Kronik lezyonlarda dermal lenfoplazmositik infiltrasyon, dermal fibrozis, telenjektatik damarlarla birlikte granülatöz reaksiyon görülebilir. Kronik KL' de kazeifikasyon nekrozu görülebilir. Skar evresinde epidermis dermal fibrozis alanı boyunca düzleşmiştir ve hiperpigmentedir (1,12).

Parazitin gösterilemediği kronik olguların özellikle lupus vulgaris başta olmak üzere sarkoidoz ve derin mikoz gibi diğer granülatöz dermatitlerden ayrımı histolojik olarak zordur. Nadiren diffüz KL'de olduğu gibi hücrel immünite gelişimindeki bir yetmezlik durumunda ise histolojik incelemede yoğun parazit gözlenir (7).

### **2.1.6. İmmünoloji**

Parazit deriye penetre olduğunda konağın doğal immün cevabı tetiklenir. Bu immün cevabın durumuna göre lokalize KL, subklinik infeksiyon veya semptomsuz olarak sonuçlanabilir (1).

KL enfeksiyonu büyük oranda yetersiz T helper(Th)1 cevabı ile ilişkilidir. IL-2 ve interferon-γ (IFNγ) KL'in iyileşmesiyle ilişkiliyken, KL oluşumu Th1 cevabın olmaması veya IL-4 ve IL-10 üretimi ile ilişkili Th2 yanıtı ile ilişkilidir (2). IFNγ, makrofaj fagolizozom sistemi içerisinde yaşayan organizmalara karşı savaş

aktivitesini başlatan en güçlü sitokindir. IFN $\gamma$ , oksijen radikallerinin üretimine yol açar ve doğal CD4 hücrelerini Th1 hücrelerine dönüştürmek için aktive eder. Sonraki farklılaşma sürecine doğal öldürücü (NK) hücrelerini IFN $\gamma$  üretmek için uyaran IL-2 yardım eder. Tümör nekrozis faktör alfa (TNF-alfa) da ayrıca *leishmania* enfeksiyonun kontrolü için önemlidir. TNF-alfa aktive makrofajlar ve NK hücreleri tarafından üretilir ve IFN $\gamma$  tarafından tetiklenen makrofaj aktivasyonunu artırır. IL-12, TNF-alfa üretimini uyardırda rol oynar (2,5).

Yüksek düzeyde IgG ve IgM seviyelerinin enfeksiyona karşı bir koruyucu etki göstermemesi de bağışıklığın tamamen hücresel bağışıklığa bağlı olduğunun göstergesidir (15). *L. tropica* ve *L. donovani* enfeksiyonlarını geçiren hayvanların aynı türe reenfeksiyona karşı akkiz immüniteleri vardır fakat; diğer türlere karşı immüniteleri yoktur. Benzer şekilde KL' in yeni dünya formu ile enfekte olan insanlar *L. tropica*'ya karşıda bağışıklığa sahiptir. VL 'in tüm leishmaniasis türlerine karşı yaşam boyu süren bağışıklık sağladığı bildirilmiştir (2).

#### **2.1.7. Vektörler ve Rezervuarlar**

Leishmaniaların vektörleri parazitin türüne ve bölgesine göre değişmek üzere Eski Dünya' da *Phlebotomus*, Yeni Dünya' da ise *Lutzomyia* dişi kum sinekleridir (1). Vektörsüz geçiş çok nadirdir (16). Flebotomlar halk arasında tatarcık, yakarca, mucuk, üvez ve kum sineği olarak bilinirler. Tatarcıklar kısa ömürlüdürler. Çoğunlukla dişiler yumurtalarının gelişmesi için kan emmeye ihtiyaç duyarlar. Tatarcıkların uçma güçleri azdır ve sessiz olarak uçarlar. Sivrisinekten çok daha küçük olan flebotomlar aktivitelerini geceleri kan emerek geçirirler. Özellikle uzun sıcak yaz aylarında, gün boyu saklandıkları ahırlar, samanlıklar, tuvalet köşeleri ve kerpiç evlerin duvarlarındaki oyuklardan akşamları alacakaranlıkta çıkarak kan emecek hayvan veya insan ararlar (17,18).

Ülkemizde *phlebotomus sergenti*(en sık) ve *phlebotomus papatasi* türleri vektör olarak rol oynamaktadır. Orta Doğu' da yapılmış entomolojik çalışmalarda *Phlebotomus papatasi* 'nin *L. majör*' ün, *P. sergenti*' nin *L. tropica*' nın ve *P. tobbi*' nin *L. infantum*'un başlıca vektörü olduğu gösterilmiştir (1).

*L. donovani*' nin rezervuarı insanlardır. *L. infantum* ve *L. chagasi*' nin rezervuarı köpekgiller (köpek, kurt, çakal, tilki), *L. major*' un rezervuarı gerbiller ve rodentler gibi tarla faresi benzeri kemirgenler, *L. tropica*' nın rezervuarı insanlar ve köpekler,

*L. aethiopica*'nın rezervuarı yaban fareleri, *L. mexicana*, *L. amazonensis* ve *L. braziliensis*'in rezervuarı orman kemiricileri, *L. guyanensis* ve *L. panamensis*'in rezervuarı yakalı tembel hayvanlar ve *L. peruviana*'nın rezervuarı köpeklerdir. *L. venezuelensis* ve *L. pifanoi*'nin rezervuarı ise henüz bilinmemektedir (2,5).

#### **2.1.8. Etkenler ve Yaşam Döngüsü**

Parazit omurgasız konakta promastigot, omurgalı konakta ise amastigot formundadır. *Leishmania*'ların vektörleri, parazitin türüne ve bölgesine göre değişmek üzere Eski Dünya' da *phlebotomus* türleri, Yeni Dünya' da ise *lutzomyia* türleridir (8). *Phlebotomus* veya *lutzomyia* cinsi tatarcıklar, leishmaniasisli bir omurgalı konaktan kan emerken makrofajlar içinde bulunan parazitin amastigot şeklini almaktadırlar. Emilen kan, orta midede "peritrofik membran" adı verilen bir membran ile sarılmakta ve sineğin sindirim enzimleri ile bu membran içine salgılanmaktadır. *Leishmania*'ların bir kısmı makrofajların parçalanması esnasında sindirilirken, geriye kalanların vücutları uzamakta ve kamçı gelişerek enfektif olmayan promastigot şekline dönüşüp bölünerek çoğalmaya başlamaktadır (6). Enfektif promastigotları taşıyan vektör tatarcık, kan emmek için bir omurgalı konağı ısırıldığı zaman belli bir miktardaki promastigotu da kan akımının geliş yönünün tersine doğru inoküle etmektedir. Vücuda giren promastigotlar, ilk saatlerde serumdaki kompleman tarafından opsonize edilmekte ve uygun hücreler tarafından fagosite edilmektedir. Fagosite edilen promastigotlar kamçısını kaybederek amastigot şekline dönüşmektedirler. Enfekte hücre, parazitin sayıca çoğalması sonucu parçalanmakta ve amastigotlar etrafa saçılmaktadır. Daha sonra bu amastigotlar tekrar diğer makrofajları enfekte edebilmektedirler (2,6). Tatarcıklardaki evrim sürecinde, *Leishmania* türüne ve çevrenin sıcaklığına bağlı olmakla birlikte, emilen infekte kanın tatarcık tarafından taşınarak enfeksiyon nedeni olabilmesi için 7-10 günlük süre gereklidir (2).

Parazitlerin uygun miktarda olması ve konağın bağışıklık sisteminin durumuna göre değişen bir zaman diliminde enfeksiyon gelişir. Bağışıklık sistemi normal olan bireylerde *Leishmania* türleri genellikle elemine edilir ve hastalığa neden olmazlar (9).

### 2.1.9. Ayırıcı tanı

KL çeşitli klinik görünümünden dolayı bazal hücreli karsinom, skuamöz hücreli karsinom, keratoakantoma, deri lenfoması, psödolenfoma, metastazlar, mastositom, dermatofibrom, ksantogranülom, sporotrikoz, blastomikoz, histoplazmoz, parakoksidiodomikoz, kromoblastomikoz, impetigo, fronkül, karbonkül, ektima, erizipel, selülit, erizipeloid, deri difterisi, rinoskleroma, antrax, tularemi, lupus vulgaris, skrofuloderma, verrüköz tüberküloz, tüberküloz şankırı, buruli ülseri, yüzme havuzu granülomu, lepra, sifiliz, pinta, yaws, aktinomikozis, nokardiasis, botriomikozis, orf, sağmaç nodülü, kedi tırmığı hastalığı, verruka, molluskum contagiozum, zona, herpes, tinea korporis, kerion, majochi granülomu, tropikal ülser, paronişi, diskoid lupus eritematozus, rozasea, sarkoidozis, granümatöz keilitis, şalazia, infundibular kist, pyoderma gangrenozum, numuler dermatit, plak psöriazis, pyojenik granülom, böcek ısırıkları, miyazis, travmatik ülser, staz ülseri, prurigo nodularis, liken simplex kronikus, keloid, yabancı cisim granülomu, preaurikular sinüs, tiroglosal kist, pemfigus foliaceus ve Wegener granümatozis gibi bir çok enfeksiyöz ve non enfeksiyöz deri hastalığıyla ayırıcı tanıya girer (1,2,5,9,13,19).

### 2.1.10. Tanı

Hastanın yaşadığı coğrafik bölge hastalığın akla getirilmesi bakımından tanıda önemli bir ipucu olabilir. Çünkü hastalık belli bölgelerde endemik olarak bulunmaktadır. Özellikle Güneydoğu Anadolu ve Doğu Akdeniz bölgelerindeki köy, kasaba ve hatta büyük şehir merkezi gibi herhangi bir yerleşim biriminden gelen ve özellikle vücudun açık bölgelerine yerleşmiş, uzun süredir iyileşmeyen, eritemli papül, nodül veya ülser şeklinde deri lezyonu olan tüm olgularda mutlaka KL akla getirilmelidir. Şehirleşme ve göçler nedeniyle diğer bölgelerimizde de sporadik vakalar görülebilmektedir. Bu nedenle endemik bölgeye olan seyahatler de sorgulanmalıdır. Ancak hastalığın bu özellikleri tanıya yaklaşımı kolaylaştırması bakımından bir yandan önemli bir avantaj sağlarken bir yandan da bu hastalığı taklit edebilen başka deri hastalıklarına da yanlışlıkla KL tanısı koyma riskini beraberinde taşır. Tedavinin mortalite ve morbiditeyi arttıran yan etkileri olduğundan hastalığın tanısının diğer tanı araçlarıyla doğrulanması önemlidir (2,9). Tanı yöntemleri aşağıda sıralanmıştır.

### 2.1.10.1.Direkt Mikroskobi

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 yeri iki parmak arasında sıkılarak kanaması önlenir. İnsizyon yeri bistüriyle kazınarak ya da lezyon ülsere 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. Leishmania cisimcikleri de denilen amastigotlar; bir kenarında koyu mor renkli nükleusu ve hemen yanında kinetoplastı görülen, sitoplazması soluk mavi renkli oval ya da yuvarlak yapılar şeklinde görünür. 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 eski paraziti göstermek güçleşmektedir (20). Mikroskopik inceleme; basit, direkt olarak incelemeye imkan sağlayan, spesifitesi yüksek (%100), maliyeti düşük bir yöntem olsa da, parazit sayısı yüksek olmadığında düşük duyarlılık göstermesi (deneyime göre %50-85), deneyimli personele ihtiyaç duyulması nedeni ile diğer bir identifikasyon yöntemi ile kombine kullanılmalıdır (1,2,8).

### 2.1.10.2.Serolojik Yöntemler

KL tanısında direkt aglütinasyon testi, rK39 antijen testleri, indirekt floresans antikor (IFA) ve enzim immünoassay (ELISA) gibi pek çok serolojik test kullanılmaktadır. Hassasiyet ve duyarlılığındaki değişkenlikten dolayı serolojik tanı KL tanısında nadiren kullanılır. Yüksek duyarlılık ve hassasiyete sahip, basit bir yöntem olan montenegro testi zaman zaman epidemiyolojik çalışmalarda kullanılmaktadır (20).

### Direkt Aglütinasyon Testi ve rK39 Antijen Testleri

Direkt aglütinasyon testinde liyofilize edilmiş *Leishmania* suşları antijen olarak kullanılır. Prognostik değeri yoktur, tedaviden sonrada pozitiflik devam eder. rK39 ise hızlı dipstick bir testtir. *E.coli*'ye klonlanarak üretilen K39 proteini kart

teste antijen olarak kullanılır. Sensitivitesi %100, spesifitesi %97 olarak belirlenmiştir (8).

### **IFA ve ELISA**

ELISA leishmaniasis gibi hemen hemen tüm bulaşıcı hastalıklar için potansiyel bir serodiagnostik bir test olarak kullanılmaktadır. Bu teknik çok hassastır, ancak özgülüğü kullanılan antijene bağlıdır. Çeşitli antijenler denenmiştir. Yaygın olarak kullanılan antijen, Crude Soluble Antigen (CSA)'dır. CSA antijeni ile uygulanan ELISA yönteminin sensitivitesi 80 ile % 100 arasında değişmektedir (8,21). IFA testi çalışmalarında sensitivite %87–100 iken, spesifite %77–100 aralığı arasında değişmektedir. Bu geniş sensitivite ve spesifite aralığı referans laboratuvarlarında kullanımı sınırlamaktadır (22).

### **Montenegro testi**

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. Montenegro testi hücrel 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 anerjik durumlarda yanlış negatiflik olabilir (20).

### **2.1.10.3.Kültür Yöntemleri**

*Leishmania* izolasyonunda üç grup besiyeri kullanılmaktadır: Semisolid, bifazik ve likid. Semisolid ve bifazik besiyerlerinde kana ihtiyaç duyulurken, likid besiyerlerinde fetal calf serum veya eritrosit lizati kullanılır. NNN besiyeri bifazik, RPMI ve Schneider's Drosophila besiyerleri likittir (8). Lezyonun bulunduğu bölgeden, lezyonu kanatmadan alınan materyal N.N.N, RPMI modifikasyonları RPMI 1629, RPMI 1630, RPMI 1640 ve Schneider'ın besiyeri başta olmak üzere çeşitli besiyerlerine ekim yapılarak amastigotların promastigotlara dönüşüp dönüşmediği kontrol edilir (20,23).

Genellikle NNN besiyerinde 2-3 hafta içinde, RPMI ve Schneider'ın besiyerinde 7 günde üreme gerçekleşmektedir; ancak kültür negatif olarak

değerlendirilmesi için örneklerin 4 hafta boyunca saklanması gerekir. Son yıllarda Schnider's ve RPMI 1640 besiyerleri ile hazırlanan mikrokültür yönteminin diğer geleneksel kültür metotlarına göre duyarlılığının yüksek olduğu ve oldukça kısa sürede (2-7 gün) sonuç verdiği bildirilmiştir. 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 (8,24).

#### **2.1.10.4.Moleküler Yöntemler**

Moleküler yöntemler özgüllüğü ve duyarlılığı oldukça yüksek yöntemlerdir. PCR, herhangi bir organizmaya ait genomik DNA' daki özgül bölgelerin çoğaltılmasını sağlayan basit ama çok başarılı bir invitro DNA sentezi yöntemidir (17). Leishmaniasis tanısında özellikle PCR yöntemleri altın standarta yakın bir performans göstermektedir. Özgüllük %100 ve duyarlılık %92-98 düzeyindedir. PCR yöntemleri konvansiyonel yöntemlere göre daha hızlı sonuç verirler (8). Biyopsi veya aspirasyon materyalinde önce DNA izolasyonu yapılır. Daha sonra PCR amplifikasyon yapılarak leishmania türü tespit edilir (25). Leishmaniasis'in PCR yöntemi ile tür ve alt tür seviyesinde tanımlanması tedavinin yönlendirilmesi ve prognozun belirlenmesinde önem taşımaktadır (8,17).

#### **2.1.11. Tedavi**

KL hayatı tehdit eden ve ciddi problemlere neden olabilen bir hastalık değildir, genellikle spontan iyileşme gözlenir. Tedavinin yararları iyileşmeyi hızlandırması, tekrarlama olasılığını azaltması, skar oluşumunu önlenmesi hastalığın yayılma riskini ve özellikle antroponotik KL' de enfeksiyöz kaynağını azaltmasıdır. Lokal, sistemik ve fiziksel olmak üzere çeşitli tedavi yöntemleri KL tedavisinde kullanılmaktadır. Eski Dünya KL lezyonları spontan iyileşme eğilimde olup, genellikle sistemik tedavi gerekmez. Yeni Dünya KL olgularında daha sık sistemik tedavi gerekir (1). KL' de iyileşme yavaş olup, tedaviden sonra da devam eder. Lezyonlar tedavinin sonunda nadiren tam iyileşir. Tedaviye yanıt genellikle klinik görünüme göre değerlendirilir. Tedaviyi izleyen 4-6 haftada lezyon 2/3 oranında küçülmeli, ödem ve inflamasyon düzelmeli, ülser reepitelize olmalı ve yeni lezyonlar gelişmemelidir (5).

##### **2.1.11.1.Topikal tedaviler**

Topikal paromomisin

*L.major*' un neden olduğu KL' de 10-30 gün süreyle, günde iki kez kullanımı sonucunda etkinliği %74-86 gibi değişkenlik göstermiştir (26).

İmikimod

Eski Dünya KL' li 12 hastada % 5 imikimod krem, haftada 3 kez, 8 hafta uygulanmış ve etkisiz bulunmuştur (27).

Topikal amfoterisin B

İsrail' de *L. major* ile infekte KL' li bazı hastalarda topikal amfoterisin B kullanılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (28).

### **2.1.11.2.İntralezyonel tedaviler**

Beş değerlikli antimonların intralezyonel injeksiyonları

Günümüzde sodyum stiboglukonat(SSG) ve meglumin antimonat(MA) olmak üzere iki beş değerlikli antimon formu intralezyonel(İL) olarak kullanılmaktadır. Lezyon kenarından lezyon içine haftada 1-3 defa toplamda 5-15 uygulama olacak şekilde 1-3 ml injeksiyon yapılması önerilmektedir (29).KL tedavisinde İL MA tedavisi İL SSG tedavisine göre daha etkili bulunmuştur (30). Türkiye'de yapılan iki çalışmada İL MA tedavisi ile %82,8 ve %97 oranlarında iyileşme bildirilmiştir (31,32).

### **2.1.11.3.Fiziksel Tedaviler**

Kriyoterapi

Kriyoterapinin etkinliği klinik çalışmalarda %53 ile %100 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir. Kriyoterapi ve takiben yapılan İL pentavalent antimon şeklindeki lokal tedavi daha etkili bulunmuştur (26).

Termoterapi

Termoterapi az sayıda ve göz kapağı, burun, kulak lokalizasyonlu olmayan lezyonlarda kriyoterapiye alternatif bir tedavi olarak kullanılabilir. Termoterapi tedavisinden 2-3 ay sonra % 53 ile % 73 arasında değişen klinik iyileşme oranları bildirilmiştir (33).

### **2.1.11.4.Sistemik tedaviler**

Sistemik antimonlar

KL tedavisinde en fazla tercih edilen ilaç beş değerli antimon bileşikleridir. Beş değerli antimon bileşikleri arasında en iyi bilinenler; MA ve SSG' dir. MA

intramusküler(İM) derin injeksiyon şeklinde, SSG İM veya intravenöz olarak uygulanabilir. SSG 100 mg/ml, MA ise 81 mg/mL SbV içerir. Her iki ilaç için günlük doz 20 mg/kg SbV'dir. Üst doz sınırı yoktur. Tedavi süresi 10-20 gündür (1,2). Genellikle kür oranı %60-80 olarak belirtilmiştir (1). KL' li 151 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, 10 mg/kg'dan az ve 10 mg/kg'dan daha yüksek dozda MA kullanılan hastalar değerlendirilmiş ve her iki grup arasında iyileşme açısından anlamlı bir fark görülmemiştir. Beş değerli antimon bileşiklerine direnç gelişimini azaltmak için çok düşük doz tedavi vermekten kaçınılmalıdır (5). Kas ve eklem ağrıları halsizlik, bulantı, baş ağrısı, deri döküntüsü, pankreatik enzimlerde yükselme, transaminazlarda yükselme ve EKG'de nonspesifik ST değişiklikleri en sık görülen istenmeyen reaksiyonlardır. Tedaviden sonra 1-2 ay içerisinde gebelik önerilmez. Travma hastalığı reaktif olabilir. Bu nedenle bir yıl sonrasına kadar elektif cerrahi veya dövme yaptırma kontrendikedir (2,10).

#### Azoller

Bir çalışmada oral flukonazolün 6 haftalık 200 mg/gün dozunda plasebodan daha etkili olduğu gösterilmiştir (34). Oral ketokonazolün topikal paromomisin ve İL MA ile karşılaştırıldığı çalışmada oral ketokonazol daha etkili bulunmuştur (32). Bir çok çalışmada itrakonazolün KL' de düşük oranda etkili olduğu görülmüştür (35).

### Allopürinol

Protein sentezini inhibe ederek etki gösterir. Esfandiarpour ve Alavi oral allopürinol ve intramüsküler MA kombinasyonunun, tek başına MA' ya göre kür oranını anlamlı oranda arttırdığını bildirmişlerdir (36).

### Amfoterisin B

Parazit membranındaki sterollere bağlanarak potasyum ve magnezyum geçirgenliğini artırır. Genellikle *L. infantum*'a bağlı VL' te kullanılmıştır. Yeni Dünya KL' de ve *L. aethiopica*' ya bağlı Eski Dünya KL' de kullanılmıştır (26). Amfoterisin B' nin yüksek toksisite riskine karşın, pentavalent antimon tedavisine göre daha iyi klinik yanıt ve daha düşük relaps oranları bildirilmiştir (26).

### Oral çinko sülfat

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 (37). Özellikle Zn<sup>++</sup> eksikliği olan şiddetli klinik gösteren KL' li hastalarda Zn<sup>++</sup> replasmanı ile iyileşme hızlanmaktadır (28).

### Pentoksifilin

Pentoksifilin TNF- $\alpha$  düzeyini baskılar. Ayrıca nitrik oksit düzeyini artırarak makrofajların vakuolizasyona eğilimini azaltır; böylece bu hücrelerin parazit yıkımı daha etkili hale gelir (32). Bir çalışmada günde 3 kez oral 400 mg pentoksifilin ve 14 günlük MA kombinasyonunu, tek başına MA' a göre anlamlı olarak daha etkili bulunmuştur (38).

### Pentamidin

Yeni Dünya KL' de yüksek kür oranına sahip olmakla birlikte Eski Dünya KL' de 4 mg/kg dozunda 3 İM kullanım sonrası hastaların %73'ünde hızlı iyileşme elde edilmiştir. Hastalar hipotansiyon ve hipoglisemi açısından izlenmelidir (39).

### Azitromisin

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 (28).

### Miltefosin

Miltefosin oral alkilleyici antineoplastik bir ajan olup, kutanöz, mukozal ve visseral leishmaniasise karşı aktivite gösterir. 2,5 mg/kg/gün oral dozunda 28 gün

süreyle uygulanır (40). Özellikle ülkemiz dışında görülen diğer KL tiplerinde etkilidir (28).

## **2.2. Yayma**

### **2.2.1.Tanım ve Tarihçe**

İlk kez 1948 yılında Arnault Tzanck ve arkadaşları tarafından derinin veziküler, büllöz ve eroziv dermatozlarında, hastalıkların değerlendirilmesi için hızlı sitodiyagnostik bir teknik olarak ortaya atılmış, daha sonraki dönemlerde bu mikroskopik testin çeşitli modifiye şekilleri gösterilmiştir ve incelemeler onun adı ile anılmaya başlanmıştır (41). Blank ve arkadaşları 1951 yılından itibaren herpes simpleks ve herpes zoster infeksiyonlarının tanısı için bu testin uygulanmasını Amerika’ da popüler hale getirmişlerdir. Tzanck testi ile günümüzde immünofloresan ve elektron mikroskop ile ayrımı yapılabilen pemfigus grubu hastalıkların diğer otoimmün büllöz hastalıklardan ayrımı yapılabilmektedir (42). Günümüze kadar Tzanck sitolojisi pek çok eroziv-vezikülobüllöz, nodüler ve tümöral hastalıkların tanısında kullanılmıştır. Buna rağmen; Tzanck sitolojinin dermatolojik hastalıkların tanısında rutin kullanımı çoğu dermatoloji kliniğinde herpetik enfeksiyonlar, pemfigus, KL ve lepra tanısıyla sınırlı kalmıştır. Bunun en büyük nedeni ise sitolojinin avantajlarının yeterince anlaşılabilmesidir (43).

### **2.2.2. Dermatolojik Tanıda Yaymanın Önemi**

Yayma ucuz bir yöntemdir. Hızlı boyama yöntemleri sayesinde yaymalar bir dakikadan kısa sürede boyanabilir ve birkaç dakika içerisinde mikroskop altında incelenebilir. Nükseden lezyonların tanısında kullanılabilir. Çok sayıda farklı lezyonu bulunan hastalarda ayrı yayma yapılabilir. Uygun örnek alındığında sadece patolojik hücreler gözlenir. Yayma yapmak hastada hemen hemen hiç travma ve rahatsızlığa neden olmaz ve anestezi gerektirmez. Bu yüzden çekingen hastalarda, çocuklarda ve göz kapakları, dudaklar, oral mukoza, genital bölge gibi biyopsi alınması zor bölgelerde veya yüz gibi estetik problem olabilecek bölgelerde kolaylıkla yapılabilir ve tekrarlanabilir. Yayma histopatoloji ve PCR gibi pahalı diyagnostik yöntemlerle teşhis edilemeyen zor durumlarda tanıya yardımcı olabilir (44,45).

### 2.2.3. Yayma Hazırlanması

Uygulaması oldukça basit olan bu yöntem için lam, 15 numara bistüri, forseps, mikroskop, steril spanç, immersiyon yağı, antiseptik solüsyon ve sitolojik boyalar gerekir. Sitolojik örnekler dört farklı yöntem ile alınabilir; yüzeysel kazıntı, dermal kazıntı, baskı yayması ve ince iğne aspirasyon sitolojisi (45). Eroziv-vezikülobüllöz lezyonlarda yüzeysel kazıntı yöntemi kullanılır. Bistüri ile lezyon tabanı kanamaya yol açmadan nazik bir şekilde kazındıktan sonra elde edilen materyaller lam üzerine ince bir tabaka şeklinde yayılmalıdır. Üzeri krutlu ülsere lezyonlarda örnek alınacak ise, krut bir forseps yardımı ile kaldırılıp altı bistüri yardımı ile kazınmalıdır (46). Papül, nodül ve plak gibi solid lezyonlardan dermal kazıntı yöntemi ile sitolojik örnek alınır. Örnek alınacak bölge dominant olmayan elin baş ve işaret parmağı arasında sıkıştırılır. Bistüri yardımı ile yaklaşık 0,5 cm uzunluğunda 2-3 mm derinliğinde küçük bir insizyon yapılır ve bistüri ile dermal bölgeden kazıntı alınır. Elde edilen materyaller lam üzerine ince bir tabaka şeklinde yayılır (45). Ülsere lezyonlarda direkt lamın ülser üzerine bastırılması ile baskı yayması yapılabilir. Özellikle tümöral hastalıklar ve KL tanısı için, biyopsi materyalleri bir penset yardımı ile tutulup lam üzerine hafifçe bastırılarak döndürülmesiyle de baskı yayması yapılabilir. Subkutan nodül (>1 cm), kist ve abselerden sitolojik örnek almak için ince iğne aspirasyon yöntemi kullanılabilir (45).

Deriden alınan sitolojik örneklerin rutin boyanması için Giemsa, Wright, May-Grünwald-Giemsa, Diff-Quick, Papanicolaou ve hematoksilin eozin kullanılabilir. Son yıllarda hızlı boyama olanağı sağlaması nedeniyle May-Grünwald-Giemsa (20- 25 saniye) ve Diff-Quick (2 dakika) boyalarının dermatolojik sitolojide kullanımı artmıştır (44). Alınan örnekler Papanicolaou ve hematoksilin eozin ile boyanacaksa hemen alkol veya formol ile tespit edilmesi gerekir. Diğer sitolojik boyamalar için tespit yapılması gerekmez. Ancak havada uzun süre kuruma hücrelerin sitoplazmik özelliklerini değiştirdiğinden alınan örneklerin fazla bekletilmeden boyanması gerekir (47).

### 2.2.4. Yayma Bulguları

KL' de makrofaj ve dev hücrelerin sitoplazmalarında ve/veya dışında elipsoid şekilli parazitlerin (Leishman-Donovan cisimcikleri) bulunması tipik

sitolojik bulgudur. Leishman-Donovan cisimcikleri de denilen amastigotlar; bir kenarında koyu mor renkli nükleosu ve hemen yanında kinetoplastı görülen, sitoplazması soluk mavi 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 (1,2). Yayıma pozitif diyebilmek için üç hücresel yapının tamamı, yani hücre duvarı, çekirdek ve kinetoplast görülmelidir. Bu cisimcikler bazen tek sayıda bazen de çok sayıda (“arı sürüsü görünümü”) olabilir. Parazitlerin görülme oranı %30 ile %95 arasında değişir. Parazitlerin Tzanck yaymadaki pozitiflik oranı enfeksiyonun ilk 6 ayında en yüksek seviyelerde iken, bu oran zamanla azalır. Hastalık süresi uzadıkça granülom ve multinükleer dev hücre (Langhans ve yabancı cisim tipi) görülme olasılığı artar (1,2,5).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

Çalışmaya 2016 yılının Ocak ve Aralık ayları arasında, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar polikliniğine başvuran her yaş ve cinsiyetten, öykü- fizik muayene ile kutanöz leishmaniasis olduğu düşünülerek tanısı çeşitli tanı yöntemleri ile doğrulanan 70 hasta dahil edildi. Çalışma için 27.02.2015 tarihli ve 153 sayılı karar ile etik kurul onayı alındı. Hastalar için hazırlanan formlara çalışmaya alınan tüm hastalar için cinsiyet, yaş, yaşadığı coğrafik bölge, endemik bölgede yaşama durumu, endemik bölgeye seyahat etme durumu, lezyonlarının sayısı, lezyonlarının yeri, en büyük lezyonun çapı, lezyonlarının tipi, lezyonlarının süresi, mikrobiyolog tarafından yapılan smear sonucu, dermatolog tarafından yapılan smear sonucu, parazitin RPMI-1640 besiyerinde üreme durumu ,PCR sonucu, leishmania türü ve dermatolog smear sonucu karşılaştırılması, leishmania türü ve mikrobiyolog smear sonucu karşılaştırılması, lezyon morfolojisi ve dermatolog smear sonucu karşılaştırılması, lezyon morfolojisi ve mikrobiyolog smear sonucu karşılaştırılması ayrıntılı olarak kaydedildi.

#### **NNN Besiyerinin Hazırlanması**

##### **Katı faz:**

Agar 5 gr, pepton 2 gr, NaCl 1 gr ve 200 ml distile su bir balona konularak 121 °C'de 20 dk. otoklavlanmıştır. Aseptik koşullarda tavşan kalbinden 30 ml kan alıp defibrinize edilerek küçük steril bir balona alınmıştır. 1,3 ml (%1) gentamisin ve 2,3 ml penisilin/streptomisin (%1) solüsyonu eklenerek karıştırılmıştır. Agar yaklaşık 50 °C'ye kadar soğutulup kan agarın üzerine eklenerek karışması sağlanmış ve hemen steril tüplere 3-4 ml dağıtılmıştır. Tüplere belli bir eğim verilerek katılaşıncaya kadar oda ısısında tutulup ardından +4 °C'de saklanmıştır.

##### **Sıvı faz:**

Kullanıldığında buzdolabından çıkarılan besiyerinin dip kısmında az bir miktarda kondansasyon sıvısı adı verilen bir sıvı toplanmaktadır. Bunun üzerine 1 ml %10 FCS içeren RPMI besiyeri eklenmiş ve besiyeri ekim yapmaya uygun hale getirilmiştir.

#### **Hastadan Örnek Alınması**

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar polikliniğine başvuran ve kutanöz leishmaniasis düşünülen hastalar ilk önce merkez laboratuvarına yönlendirildi. Burada smear konusunda deneyimli olmayan mikrobiyolog tarafından açık ülsere lezyonlardan doğrudan, krutlu ülsere lezyonlarda ise krut kaldırıldıktan sonra yüzeyden bistüri ile kazıntı alındı. Ülsere olmayan lezyonlarda ise lezyon 15 numaralı bistüri ile yüzeysel yarıldıktan sonra yarılma yerinden kazıntı alındı. Elde edilen materyal lam üzerine yayıldı. Havada kurutulduktan sonra metil alkol ile tespit yapıldı. Daha sonra lam giemsa boyası ile boyanıp 20 dakika bekletildi. Sonrasında distile su ile preparatlar yıkanıp kurutulduktan sonra mikroskopta incelendi. Her hastadan 2 adet yayma preparat hazırlandı ve her preparat mikroskop altında 2 dakika incelendi. Hazırlanan preparatlarda, yuvarlak veya oval şekilli, bir köşede koyu mor renkli nükleusu ve bunun hemen yanında kinetoplastı bulunan, sitoplazması soluk mavi renkte yapılar şeklinde görülen amastigot bulunduran lamalar pozitif olarak kabul edildi. Daha sonra aynı hastalar 10 yıllık smear deneyimi olan dermatolog tarafından değerlendirildi. Dermatolog tarafından papül, nodül, plak gibi solid lezyonlardan örnek almak için dermal kazıntı yöntemi kullanılmıştır. Hastadan örnek alınacak bölge alkollü spanç ile silindikten sonra lezyon dominant olmayan elin baş ve işaret parmağı arasında sıkıştırılıp bistüri (15 numara) yardımı ile yaklaşık 5 mm uzunluğunda ve 2-3 mm derinliğinde minik bir insizyon yapıldıktan sonra bistüri ile dermal bölgeden kazıntı yapıp örnek alınmıştır. Krutlu ülsere lezyonlarda ise bistüri ile krut bir kenarından hafifçe kaldırıldıktan sonra açığa çıkan ülser yüzeyinden bistüri ile kazıntı yapılarak örnek alınmıştır. Direkt mikroskopik inceleme için alınan örnek lam üzerine ince bir şekilde yayılmıştır. Hastadan en az 4 adet yayma preparat hazırlanmıştır. Yukarıda belirtilen şekilde lezyondan alınan örnekler ile yapılan yayma preparatlardan en az 2 tanesi metil alkolle tespit sonrası Giemsa ile boyanarak mikroskop altında (x1000) *Leishmania* amastigotlarının varlığı açısından değerlendirilmiştir. Hazırlanan her preparat mikroskop altında en az 5 dakika incelenmiştir. Hazırlanan preparatlarda, yuvarlak veya oval şekilli, bir köşede koyu mor renkli nükleusu ve bunun hemen yanında kinetoplastı bulunan, sitoplazması soluk mavi renkte yapılar şeklinde görülen amastigot bulunduran lamalar pozitif olarak kabul edilmiştir. Amastigot görülmeyen fakat histiyosit, lenfosit, plazma hücreleri görülen preparatlar kutanöz leishmaniasis tanısı için daha uzun süre

incelenmiştir. Hazırlanan preparatların en az 2 tanesi ise moleküler çalışmalarda kullanılmak üzere paketlenip -20 °C de saklanmıştır.

Kültür için lezyondan elde edilen örnek NNN besiyerlerine ekim yapılmıştır. Besiyerleri 24-26 °C'de saklanmış ve promastigotların varlığı açısından bir ay süreyle gün aşırı kontrol edilmiştir. İlk üremenin gerçekleştiği besiyerlerinden örnekler alınmıştır. Alınan örnekler fazla miktarda üretmek amacıyla RPMI-1640 besiyerinde (%10 FCS + %1 penisilin/streptomisin + %1 gentamisin) kültüre alınmıştır. RPMI 1640 besiyerinde logaritmik faza ulaşan promastigotların bir kısmı kryoprezervasyon işlemi uygulanarak sıvı azotta saklanmıştır.

### **Hastadan Alınan Örneğin PCR Yöntemiyle Genotiplendirilmesi**

#### **DNA izolasyonu:**

*Leishmania* izolatının genotiplendirilmesi için genetik materyalin elde edilmesinde uygulanmıştır. DNA izolasyonu High Pure PCR Template Preparation Kit ile yapılmıştır. Hastadan elde edilen örnekler moleküler çalışmalar başlatılana dek -20 °C'de saklanmıştır.

#### **Genotiplendirme:**

Çalışmalarda, ITS1 problu gerçek zamanlı PCR testi uygulanmıştır. *Leishmania* parazitlerinin ssurRNA ve 5.8S rRNAYı kodlayan genleri ayıran ribozomalinternaltranscribedspacer 1 (ITS1) bölgesi, Forwardprimer; 5'-CTGGATCATTTTCCGATG-3', ReversePrimer; 5'-GAAGCCAAGTCATCCATCGC-3'primerleriQuantiTectProbe PCR Kit Master karışımı ile birlikte aşağıda yazılı özgün proplar kullanılarak çoğaltılmıştır.

**Probe 1:** 5'- CCGTTTATACAAAAAATATACGGCGTTTCGGTTT-Fluo-3'

**Probe 2:** 5'-LCRed-640-GCGGGGTGGGTGCGTGTGTG-Pho-3'

Gerçek zamanlı PCR analizi için hazırlanan toplam 25 µl'lik reaksiyon karışımı; 1,5 µl H<sub>2</sub>O (PCR gradewater), 1 µl ForwardPrimer, 1 µl ReversePrimer, 0,5 µl Probe1, 0,5 µl Probe2, 12,5 µl QuantiTectProbe PCR Kit Master karışımı (Qiagen) ve 5 µl genomik DNA içermektedir. Rotor-Gene'demeltinganalizi

yapılarak sonuçlar elde edilmiştir. Hastalık etkeninin *L. tropica* olduğu saptanmıştır.

### ***Leishmania* Suşunun Kültivasyonu**

*Leishmania* promastigotlarının üretilmesi için uygulanmıştır. Promastigotlar sıvı azottan alınıp hızlı bir şekilde çözdürüldükten sonra NNN besiyerine ekilmiştir. İlk üreme gerçekleşikten sonra fazla miktarda üretmek amacıyla RPMI-1640 besiyerinde kültüre alınmıştır. Ticari olarak temin edilen besiyerine kullanmadan önce %10 FCS, %1 penisilin/streptomisin ve %1 gentamisin eklenmiştir. 25 ml'lik flasklere 5 ml olacak şekilde dağıtılır ve üreyen promastigotlardan 50 µl üzerine ilave edilerek ekim yapılmıştır. Ekim yapılan flaskler 25 °C'lik etüvde inkübe edilmiştir. Parazitlerin çoğalması takip edilerek 2-3 günde bir besiyerinin eklenmesiyle bol miktarda promastigot içeren besiyeri elde edilmiştir.

### **Üretilen Parazitlerin PCR Yöntemi İle Genotiplendirilmesi**

Kültür sıvısından alınan 0,5 ml örnek yukardaki yöntem hastadan alınan örnekteki gibi çalışılarak genotiplenir.

Çalışmaya dahil edilen hastaların tüm verileri istatistiksel analiz SPSS 18.0 for Windows (SPSS Inc. Chicago, IL, USA) paket programı kullanılarak yapıldı. P değeri 0.05'in altında olduğunda anlamlı olarak kabul edildi.

#### 4.BULGULAR

Bu çalışmada KL konusunda deneyimli dermatolog tarafından yapılan lezyonal yaymaların KL' de tanısal değerinin belirlenmesi amacıyla öykü- fizik muayene ile kutanöz leishmaniasis olduğu düşünülen hastalar arasında tanısı çeşitli tanı yöntemleri ile doğrulanan 70 hasta dahil edildi.

Hastaların yaş ortalaması 19 olup, yaşları 3 ile 71 arasında değişmekteydi. Hastaların %55,7'si (39) kadın, %44,3'ü (31) erkekti (Kadın: Erkek oranı 1,25:1) (Tablo 1).

Cinsiyet	Sayı	%
Erkek	31	44,3
Kadın	39	55,7
Toplam	70	100

**Tablo 1: Hastaların Cinsiyetleri**

Çalışmaya dahil edilen hastaların lezyon sayısı 1-13 arasında değişmekteydi. Değerlendirmeye alınan 70 hastanın %71,4'ünde (50 hasta) tek lezyon, %11,4'ünde (8 hasta) 2, %7,1'inde (5 hasta) 3, %4,3'ünde (3 hasta) 4, %2,9'unda (2 hasta) 5, % 1,4'ünde (1 hasta) 6, %1,4'ünde (1 hasta) 13 lezyon saptandı. Çalışmaya dahil edilen hastalarda ortalama 1,74 lezyon bulunmaktaydı (Tablo 2).

Lezyon Sayısı	Sayı	%
1	50	71,4
2	8	11,4
3	5	7,1
4	3	4,3
5	2	2,9
6	1	1,4
13	1	1,4
Toplam	70	100,0

**Tablo 2: Lezyon Sayısı**

Lezyonların %61,4'ü (43 hasta) sadece yüz yerleşimliken, %12,9'u (9 hasta) sadece el yerleşimli, %7,1'i (5 hasta) sadece kol yerleşimli ve %2,9'u (2 hasta) sadece ayak yerleşimli lezyonlar olarak saptanmıştır. Çalışmaya dahil edilen hastaların %15,6'sında (11 hasta) birden fazla anatomik bölgede lezyon bulunmaktaydı. Lezyonlar anatomik lokalizasyonlarına göre değerlendirildiğinde en fazla yerleşim yeri yüzdü (51 hasta). Tüm vücut anatomik yapısı göz önünde bulundurulduğunda en az yerleşim bölgesi saçlı deriydi (1 hasta) (Tablo 3).

Anatomik lokalizasyon	Sayı	%
Yüz	43	61,4
El	9	12,9
Kol	5	7,1
Ayak	2	2,9
Yüz, El, Kol, Ayak	11	15,6

**Tablo 3: Lezyonların anatomik bölgelere göre dağılımı**

Hastalık süreleri 2-84 ay arasında değişirken, ortalama 6 ay olarak saptandı. Hastaların büyük bir çoğunluğunun (%34,2, 24 hasta) 5-6 aylık hastalık öyküsü mevcuttu (Tablo 4).

Çalışmaya dahil edilen hastalardaki lezyonların boyutu 0,5 cm ile 10,4 cm arasında değişiyordu ve ortalama lezyon çapı 2,5 cm olarak saptandı. En küçük lezyon 0,5 cm, en büyük lezyon ise 10,4 cm boyutlarındaydı.

Lezyon Süresi/Ay	Sayı	%
2	3	4,3
3	9	12,9
4	8	11,4
5	12	17,1
6	12	17,1
7	7	10,0
8	7	10,0
12	6	8,6
18	1	1,4
24	2	2,9
36	1	1,4
72	1	1,4
84	1	1,4
Toplam	70	100,0

**Tablo 4: Lezyon Süresi**

Çalışmaya dahil edilen hastaların %72,9'u (51 hasta) kuru tip, %18,6'sı (13 hasta) yaş tip, %7,1'i (5 hasta) rezidivan tip ve %1,4'ü (1 hasta) erizipeloid tip KL lezyonlarına sahipti (Tablo 5).

Lezyon Tipi	Sayı	%
Kuru Tip	51	72,9
Yaş Tip	13	18,6
Rezidivan Tip	5	7,1
Erizipeloid Tip	1	1,4
Total	70	100,0

**Tablo 5: Lezyon Tipi**

Lezyonların %4,2'si(5) papüler, %5,7'si(7) nodüler, %18'i (22) nodüloülseratif ve %72,1 'i (88) plak formundaydı (Tablo 6).

Lezyonların Morfolojisi	Sayı	%
Papül	5	4,2
Nodül	7	5,7
Nodüloülseratif	22	18
Plak	88	72,1
Toplam	122	100

**Tablo 6 :Lezyonların Morfolojisi**

Çalışmaya dahil edilen hastaların %54,3'ü(38 hasta) endemik bölgelerde ikamet etmekteydi (Tablo 7).

Endemik Bölgede Yaşama Durumu	Sayı	%
Hayır	32	45,7
Evet	38	54,3
Toplam	70	100,0

**Tablo 7 : Endemik Bölgede Yaşama Durumu**

Çalışmaya dahil edilen hastaların %37.1'inde(26 hasta) endemik bölgelere seyahat öyküsü mevcuttu. Endemik bölgelere seyahat öyküsü olan hastalar özellikle merkez ilçeler gibi KL 'in endemik olmadığı yerlerde yaşayan hastalardı (Tablo 8).

Endemik Bölgeye Seyehat Öyküsü	Sayı	%
Yok	44	62,9
Var	26	37,1
Toplam	70	100,0

**Tablo 8: Endemik Bölgeye Seyehat Öyküsü**

Çalışmaya dahil edilen hastaların %71,4'ü(50 hasta) Diyarbakır ilinden, %8,6'sı(6 hasta) Mardin ilinden , %7,1'i(5 hasta) Halep ilinden(Suriye), %4,3'ü(3 hasta) Elazığ ilinden , %1,4'ü(1 hasta) Şanlıurfa ilinden, %1,4'ü(1 hasta) Batman ilinden, %1,4'ü(1 hasta) Antalya ilinden , %1,4'ü(1 hasta) Bitlis ilinden , %1,4'ü(1 hasta) İzmir ilinden ve %1,4'ü(1 hasta) Muş ilinden başvuruyordu (Tablo 9).

Hastanın Yaşadığı Şehir	Sayı	%
Diyarbakır	50	71,4
Şanlıurfa	1	1,4
Halep/Suriye	5	7,1
Batman	1	1,4
Mardin	6	8,6
Antalya	1	1,4
Elazığ	3	4,3
Bitlis	1	1,4
İzmir	1	1,4
Muş	1	1,4
Toplam	70	100,0

**Tablo 9:Hastanın Yaşadığı Şehir**

Diyarbakır ilinden başvuran hastaların %22,9'u (16 hasta) Merkez ilçesinden, %11,4'ü (8 hasta) Hani ilçesinden, %10'u (7 hasta) Kulp ilçesinden , %2,9'u (2

hasta) Sur ilçesinden, %18,6'sı (13 hasta) Dicle ilçesinden, %4,3'ü (3 hasta) Eğil ilçesinden, %1,4'ü(1 hasta) Silvan ilçesinden başvuruyordu (Tablo 10).

İlçe	Sayı	%
Merkez ilçe	16	22,9
Dicle	13	18,6
Hani	8	11,4
Kulp	7	10
Eğil	3	4,3
Sur	2	2,9
Silvan	1	1,4

**Tablo 10: Diyarbakır ilinin ilçelerinde bulunan hastaların dağılımı**

Çalışmamıza dahil edilen hastaların örneklerinden yapılan PCR analizlerinde 49(%70) hastada *L.tropica*, 14 (%20) hastada *L.major* ve 7(%10) hastada *L.infantum* tespit edilmiştir (Tablo 11).

PCR Sonucu	Sayı	%
L.Tropica	49	70,0
L.Major	14	20,0
L.İnfantum	7	10,0
Total	70	100,0

**Tablo 11:PCR Sonucu**

Smear konusunda deneyimli olmayan mikrobiyolog tarafından yapılan smear pozitifliği % 42,9 , 10 yıllık smear deneyimi olan dermatolog tarafından yapılan smear pozitifliği % 95,7 olarak saptanmıştır.( p<0,001) (Tablo 12).

	Mikrobiyolog Smear		Dermatolog Smear	
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
Sayı	30	40	67	3
Yüzde(%)	42,9	57,1	95,7	4,3

p<0,001

**Tablo 12:Mikrobiyolog ve dermatolog smear karşılaştırılması**

ITS-1-PCR pozitifliği %100 olarak değerlendirilmiştir.

Mikrobiyolog tarafından yapılan smear, deneyimli dermatolog tarafından yapılan smear, RPMI 1640'da kültür ve ITS-1-PCR pozitifliği sırasıyla % 42,9, % 95,7, % 100 ve % 100 idi.(p:0,048) (Tablo 13).

	Mikrobiyolog Smear		Dermatolog Smear		RPMI 1640		ITS-1-PCR	
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
Sayı	30	40	67	3	70	0	70	0
Yüzde(%)	42,9	57,1	95,7	4,3	100	0	100	0

p:0,048

**Tablo 13: Mikrobiyolog smear, dermatolog smear, RPMI 1640'da kültür yöntemi ve ITS-1-PCR pozitifliği karşılaştırılması**

Dermatolog tarafından yapılan yaymalarda leishmania türlerine göre yayma pozitiflik oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (p:0,274) (Tablo 14).

			DERMATOLOG SMEAR SONUCU		TOPLAM
			Negatif	Pozitif	
LEİSHMANİA TÜRÜ	L.Tropica	Sayı	1	48	49
		Yüzde(%)	2	98	100
	L.Major	Sayı	1	13	14
		Yüzde(%)	7,1	92,9	100
	L.İnfantum	Sayı	1	6	7
		Yüzde(%)	14,3	85,7	100
TOPLAM		Sayı	3	67	70
		Yüzde(%)	4,3	95,7	100

p:0,274

**Tablo 14: Leishmania türü ve dermatolog smear sonucu karşılaştırılması**

Mikrobiyolog tarafından yapılan yaymalarda leishmania türlerine göre yayma pozitiflik oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (p:0,052) (Tablo 15).

			MİKROBİYOLOG SMEAR SONUCU		TOPLAM
			Negatif	Pozitif	
LEİSHMANİA TÜRÜ	L.Tropica	Sayı	25	24	49
		Yüzde(%)	51	49	100
	L.Major	Sayı	12	2	14
		Yüzde(%)	85,7	14,3	100
	L.İnfantum	Sayı	3	4	7
		Yüzde(%)	42,9	57,1	100
TOPLAM		Sayı	40	30	70
		Yüzde(%)	57,1	42,9	100

p:0,052

**Tablo 15: Leishmania türü ve mikrobiyolog smear sonucu karşılaştırılması**

Dermatolog tarafından yapılan yaymalarda lezyon morfolojisine göre yayma pozitiflik oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ( p:0,460 ) (Tablo 16).

			Dermatolog Smear Sonucu		Toplam
			Negatif	Pozitif	
Lezyon morfolojisi	Papül	Sayı	0	3	3
		Yüzde(%)	0	100	100
	Nodül	Sayı	1	4	5
		Yüzde(%)	20	80	100
	Nodüloülseratif	Sayı	0	9	9
		Yüzde(%)	0	100	100
	Plak	Sayı	2	51	53
		Yüzde(%)	3,7	96,3	100
	Toplam		Sayı	3	67
Yüzde(%)			4,3	95,7	100

p:0,460

**Tablo 16: Lezyon morfolojisi ve dermatolog smear sonucu karşılaştırılması**

Mikrobiyolog tarafından yapılan yaymalarda lezyon morfolojisine göre yayma pozitiflik oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ( p:0,091) (Tablo 17).

			Mikrobiyolog Smear Sonucu		Toplam	
			Negatif	Pozitif		
Lezyon morfolojisi	Papül	Sayı	2	1	3	
		Yüzde(%)	66,7	33,3	100	
	Nodül	Sayı	1	4	5	
		Yüzde(%)	20	80	100	
	Nodüloülseratif	Sayı	8	1	9	
		Yüzde(%)	88,9	11,1	100	
	Plak	Sayı	29	24	53	
		Yüzde(%)	54,7	45,3	100	
	Toplam		Sayı	40	30	70
			Yüzde(%)	57,1	42,9	100

p:0,091

**Tablo 17: Lezyon morfolojisi ve mikrobiyolog smear sonucu karşılaştırılması**

## 5. TARTIŞMA

Leishmaniasis, *leishmania* protozoan mikroorganizmalarının neden olduğu, vektör dişi kum sineğinin ısırması ile bulaşan hastalık kompleksidir. Enfekte insanlar, köpekler ve kemirgenler rezervuar konaklardır. *Leishmania* türüne ve konağın immün yanıtına göre enfeksiyon kutanöz, mukokutanöz veya visseral hastalıkla sonuçlanır. KL'in prevalansı gün geçtikçe artmaktadır. Her yıl 1.5 milyon yeni KL vakası olduğu tahmin edilmektedir (1). KL genellikle çocukluk ve genç erişkinlik çağında görülmektedir. Hastalık çoğunlukla yüz, eller ve ayaklar gibi giysiyle örtülmeyen alanlarda ortaya çıkar (1,9,19).

*L. tropica* ve *L. major* başlıca Akdeniz havzası, Ortadoğu, Kafkasya ve Orta Asya'da, sıklıkla visseral hastalık yapan *L. infantum* Akdenize kıyısı olan ülkelerde, *L. aethiopica* ise Güneybatı Afrika'da KL'e yol açar (1).

Hucheimi ve arkadaşlarının 2003-2005 yılları arasında Irak'ta 37 vakada yaptıkları PCR incelemesinde vakaların 21'inde (% 56.7) *L. major*, 16'sında(% 43.3) *L. tropica* tespit edilmiştir (48).

Khademvatan ve arkadaşlarının İran'da PCR yöntemi kullanılarak 216 hastayı değerlendirdikleri çalışmada 152 hastanın 4'ünde (% 2.6) *L. tropica*, 148'inde (% 97.4) *L. major* tespit edilmiştir (49).

Rasti ve arkadaşlarının 2012-2013 yılları arasında İranda yaptıkları çalışmada 70 (%71.4), *L. tropica*, 26 (% 26.6 ) *L. major* ve 2 (% 2) karışık olmak üzere 98 PCR pozitif vaka tespit edilmiştir (50).

Pourmohammadi ve arkadaşlarının 2007-2008 yılları arasında İranda yaptıkları çalışmada 205 hastanın PCR analizinde sırasıyla *L. major*, % 95.61, *L. tropica*, % 3.9 ve *L. infantum* % 0.49 olarak saptanmıştır (51).

Al-Heany ve arkadaşlarının 2012-2013 yılları arasında Bağdatta yaptıkları çalışmada PCR pozitif 55 (% 91.66) hastada *L. majör* (%60) ve *L. tropica* (%40) oranında tespit edilmiştir (52).

Mahnaz ve arkadaşları İran'da *Leishmania* parazitinin tiplendirmesi üzerine yaptıkları çalışmada *L. major* türünün baskın olduğunu tespit etmişlerdir (53).

Özbilgin ve arkadaşlarının 2011-2014 yılları arasında Türkiyede *L. majör*'ün etken olduğu 18 KL vakasının Antalya(Serik (1 hasta), Alanya (3 hasta), Kepez (1 hasta), Gazipaşa 1 hasta)), Adana(Yüreğir(1 hasta), Sarıçam(1 hasta)), Hatay(Reyhanlı (1 hasta)), Mardin(Kızıltepe (2 hasta)),Diyarbakır (Dicle (1 hasta), Hani (1 hasta), Silvan (1 hasta)),Şanlıurfa(Ceylanpınar (1 hasta)), Bitlis(Hizan (1hasta)), Manisa(Merkez (1 hasta)) ve Burdur(Mamak (1 hasta)) illerinde görüldüğü bildirilmiştir. Türkiyede *L. major* enfeksiyonlarının görülme sıklığındaki artış birçok faktöre bağlıdır. Bu faktörlerden en önemlisi Türkiye'nin komşuları olan Irak ve Suriye'den olan mülteci göçüdür. Bir diğeri ise, özellikle yaz mevsiminde, ortalama sıcaklıkların tahmin edilenden daha fazla artışı vektörlerin hayatta kalma sürelerini uzatabilmesidir (54).

Serin ve arkadaşları 2005 yılında yaptıkları çalışmada KL olgularının %30'unda *L.infantum* ve %70'inde *L.tropica* tespit etmişlerdir (55).

Eroğlu ve arkadaşlarının KL'li hasta örneklerinden izole edilen *Leishmania* izolatlarının tiplendirildiği çalışmalarda; %31.5 oranında *L.infantum*, %68.5 oranında *L.tropica* olduğu bildirilmiştir (56).

Gökmen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada hasta örneklerinde *L.infantum* ITS-1-PCR-RFLP yöntemi ve minixon-PCR-RFLP yöntemi ile sırasıyla %36, %35,8; *L.tropica* ise %64 ve %64,2 oranlarında tespit edilmiştir (8).

Bizim çalışmamızda Türkiye'de yapılan çalışmaları kapsayan literatür bilgileriyle uyumlu olarak 49(%70) hastada *L.tropica*, 14 (%20) hastada *L.major* ve 7(%10) hastada *L.infantum* tespit edilmiştir.

Ülkemizde KL sık görülen bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Özellikle Akdeniz ve Güney Doğu Anadolu bölgesinde görülmesine rağmen, diğer bölgelerde de sporadik olgular bildirilmektedir. 1990-2010 yılları arasında ülkemizde görülen 46.003 olgunun 2462'si (%5.35) Diyarbakır'dan bildirilmiştir (57).

Suriye'de Tayeh ve arkadaşlarının yaptığı, Hatay ilinde Çulha ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda kırsal kesimlerdeki hasta sayısı il merkezindeki hasta sayısından fazla bulunmuştur (58,59).

Yemisen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Şanlıurfa ilindeki 7172 KL hastasının %93,5'inin şehir merkezinden, %6,5'inin ilçelerden başvurduğu belirtilmektedir (60).

Ser ve arkadaşlarının Antalya'da 220 olgu ile yaptığı çalışmada merkez ilçelerde hiç hastaya rastlanmamıştır (61).

Ertuğ ve arkadaşlarının Aydın ilinde 73 hastayı retrospektif olarak incelediği bir çalışmada hastaların %35,6'sı il merkezinden ve %64,4'ünün ilçe merkezlerinden başvurduğu bildirilmiştir (62).

Bari ve arkadaşlarının 2008 yılında Afganistanda yaptıkları bir çalışmada hastaların çoğu kırsal bölgelerde yaşamaktaydı (63).

Fidan ve arkadaşlarının 2011- 2013 tarihleri arasında Diyarbakır ilinden başvuran 131 hastayı içeren çalışmalarında çalışmaya dahil edilen hastaların %30,5'i (40 hasta) Dicle ilçesinden, %25,1'i (33 hasta) Merkez ilçelerden, %16,7'si (22 hasta) Eğil ilçesinden, %12,2'si (16 hasta)

Kulp ilçesinden, % 4,5'i (6 hasta) Silvan ilçesinden, %7,6'sı (10 hasta) Hani ilçesinden, %1,5'i(2 hasta) Çınar ilçesinden ve %1,5'i (2 hasta) Lice ilçesinden başvurduğu bildirilmiştir (9).

Bizim çalışmamıza dahil edilen hastaların %71,4'ü(50 hasta) Diyarbakır'dan, %8,6'sı(6 hasta) Mardin'den, %7,1'i(5 hasta) Halep'ten(Suriye), %4,3'ü(3 hasta) Elazığ'dan, %1,4'ü(1 hasta) Şanlıurfa'dan, %1,4'ü(1 hasta) Batman'dan , %1,4'ü(1 hasta) Antalya'dan, %1,4'ü(1 hasta) Bitlis'ten, %1,4'ü(1 hasta) İzmir'den, %1,4'ü(1 hasta) Muş ilinden başvuruyordu. Çalışmamızda Diyarbakır ilinden başvuran hastaların çoğunlukta olmasının nedeni çalışmanın Diyarbakır ilinde yapılmış olması ve hastaların yakınlık nedeniyle Diyarbakır'daki sağlık merkezlerine kolayca ulaşabilmesidir.

Çalışmamıza dahil edilen hastaların %22,9'u (16 hasta) Merkez ilçesinden, %11,4'ü (8 hasta) Hani ilçesinden, %10'u (7 hasta) Kulp ilçesinden , %2,9'u (2 hasta) Sur ilçesinden, %18,6'sı (13 hasta) Dicle ilçesinden, %1,4'ü(1 hasta) Silvan ilçesinden başvuruyordu. Çalışmamızda Diyarbakır ilinden başvuran hastaların

ilçelere göre dağılımı Fidan ve arkadaşlarının 2011- 2013 tarihleri arasında Diyarbakır ilinde yaptıkları çalışmayla uyumluydu (9).

KL endemik alanlarda daha çok kadın cinsiyette görülmektedir (64).

Ülkemizde Çukurova bölgesindeki bir çalışmada Uzun ve arkadaşları 3074 hastayı incelemişlerdir. Bu çalışmada hastaların %59'u (1804 hasta) kadın, %41'i (1270 hasta) erkek olarak saptanmıştır (65).

Gumurdulu ve arkadaşlarının 2004 yılında Çukurova bölgesinde 40 hastada yaptığı çalışmada olguların 29'u (% 72.5) erkek, 11'i kadın (% 27.5) idi (12).

Sarıkaya ve arkadaşlarının 2012 yılında Hatay'da yaptıkları çalışmada hastalardan 32 (%53.3)'si erkek, 28 (%46.7)'i kadın idi (20).

Farahmand ve arkadaşlarının İran'da 2011 yılında yaptığı bir çalışmada hastaların %63,8'inin erkek, %36,2'sinin kadın olduğu bildirilmiştir (66).

Bari ve arkadaşlarının 2002-2006 yılları arasında Pakistan'da yaptığı çalışmada 500 (% 69.6) erkek, 137 (% 19.1) kadın ve 81 (% 11.3) olgu bildirilmiştir (13).

Bari ve arkadaşlarının 2008 yılında Pakistanda yaptığı başka bir çalışmada olguların 31'inin (% 51.7) erkek ve 29'unun (% 48.3) kadın olduğu belirtilmiştir (63).

Al-Hucheimi ve arkadaşlarının 2008 yılında Irak'ta yaptıkları çalışmalarında 26 erkek (% 45.6) ve 31 kadın (% 54.4) olgu bulunmaktaydı (48).

Omidian ve arkadaşlarının 2008 yılında Pakistanda yaptıkları çalışmadaki hastaların 18' i erkek (% 60) ve 12'si kadın (% 40) idi (67).

Khalid ve arkadaşlarının 2008 yılında Pakistanda yaptıkları çalışmada 35 hastanın % 70'i erkek, % 30'u kadın idi (68).

Bizim çalışmamızdaki olguların 31' i(% 44,3) erkek ve 39' u (% 55,7) kadın idi. Çalışmamızda hastalık literatürle uyumlu olarak kadınlarda daha yüksek oranda saptanmıştır, bunun nedeni kadın hastaların kozmetik kaygılar nedeniyle doktora daha sık başvurması olabilir.

Sucakli ve arkadaşlarının 2002-2006 yıllarında Diyarbakır ilini kapsayan bir epidemiyolojik çalışmada 1990 KL olgusu saptanmıştır. Bu olguların %59.2'sini 0-15 yaş aralığındaki çocukların oluşturduğu gözlenmiştir (69).

İran'da Kassiri ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 5161 hastanın %46,8'inin 20-29 yaş aralığında olduğunu bildirmiştir (70).

Uzun ve arkadaşları 1030 hastanın incelendiği bir çalışmada hastaların %33'ünün 10-19 yaş aralığında olduğu saptanmıştır (31).

Gumurdulu ve arkadaşlarının çalışmasında hastaların yaşları 8-73 arasında değişmekte olup ortalama yaş 41.3 yıl idi (12).

Bari ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada hastaların yaşları 2-68 arasında değişmekte olup ortalama yaş 25.7 yıl idi (13).

Al-Hucheimi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada hastaların yaşları 6 ila 53 yıl arasında değişmekte olup ortalama yaş 28.3 yıl idi (48).

Bizim çalışmamızda hastaların yaşları 3-71 arasında değişmekte olup ortalama yaş 19 yıl idi. Saptadığımız bu veriler literatürler ile uyumlu olarak daha çok genç yaştaki hastalarda görülmekteydi. Olguların erişkin yaşta daha az gözlenmesi ise çocukluk çağında hastalığın geçirilerek bağışıklık kazanılmasına bağlanılabilir.

KL sıklıkla baş, boyun, kollar, bilekler ve eller gibi giysiyle örtülmeyen alanlarda ortaya çıkar (1).

Gumurdulu ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada lezyonların 19 (%47.5) olguda yüz yerleşimli, 21 (%52.5) olguda ise kol, el sırtı ve ayak bileği yerleşimli olduğu bildirilmiştir (12).

Bari ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada olguların %80'inde yüzde, %15'inde ellerde lezyon olduğu bildirilmiştir (63).

Al-Hucheimi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada lezyonların sırasıyla kollarda (%46), bacaklarda (%34.4)ve yüzde (%19.6) lokalize oldukları bildirilmiştir (48).

Mosbeh ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 14 (% 46.6) hastada lezyonların yüzde , 4 olguda (% 13.3) önkollarda, 2 olguda (% 6.6) dirsekte, 1 olguda sağ kolda (% 3.3), 6 olguda bacakta (% 20) ve 3 olguda dizde (% 10) olduğu bildirilmiştir (71).

Saab ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada lezyonlar baş ve boyun bölgesinde (%31), üst ekstremitelerde (%29) ve alt ekstremitelerde (%11) oranında bildirilmiştir (72).

Akçalı ve arkadaşları 1079 hastayı değerlendirdiği bir çalışmada lezyonların %58.5'nin yüz, %29.8'inin üst ekstremitelerde ve %10.7'sinin ise alt ekstremitelerde yerleşimli olduğunu saptamışlardır (73).

Uzun ve arkadaşları yaptıkları çalışmada lezyonların %86'sının yüz ve üst ekstremitelerde, %12'sinin alt ekstremitelerde, %2'nin ise gövde lokalizasyonunda olduğunu tespit etmişlerdir (65).

Akçalı ve arkadaşlarının çalışmasında lezyonların %58,5'i yüz yerleşimli, bunu takiben sırası ile üst ekstremitelerde ve boyun (%29,8) ve alt ekstremitelerde (%10,7) yerleşimli olduğu saptanmıştır (74).

Gürel ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 2120 hasta değerlendirilmiştir. Bu çalışmada lezyonların %57,5'i baş ve boyunda yerleşim gösterirken, %32,2'si üst ekstremitelerde ve %10,2'si alt ekstremitelerde yerleşim göstermiştir (75).

Akman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 20 hastanın 15'inde lezyonlar yüz yerleşimli, 5'inde ekstremitelerde yerleşimli olduğu belirtilmiştir (76).

Sarikaya ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada hastaların %51.6'sının yüzünde ve %33.3'ünün üst ekstremitelerinde lezyonların yerleştiği bildirilmiştir (20).

Bizim çalışmamızdaki lezyonların %61,4'ü (43 hasta) sadece yüz yerleşimliken, %12,9'u (9 hasta) sadece el yerleşimli, %7,1'i (5 hasta) sadece kol yerleşimli ve %2,9'u (2 hasta) sadece ayak yerleşimli idi. Çalışmaya dahil edilen hastaların %15,6'sında (11 hasta) birden fazla anatomik bölgede lezyon bulunmaktaydı. Lezyonlar anatomik lokalizasyonlarına göre değerlendirildiğinde en fazla yerleşim yeri yüzdü (51 hasta). Tüm vücut anatomik yapısı göz önünde bulundurulduğunda en az yerleşim bölgesi saçlı deriydi (1 hasta). Lezyonların sıklıkla yüzde görülmesi tatarcıkların çoğunlukla yüz gibi vücudun açık bölgelerini ısırması ile açıklanabilir.

Gumurdulu ve arkadaşlarının 2004 yılında Çukurova bölgesinde 40 hastada yaptıkları çalışmada lezyonların boyutu 1 cm ile 7 cm arasında bildirilmiştir (12).

Uzun ve arkadaşlarının 1998 yılındaki 3074 hastayı içeren çalışmasında ortalama lezyon çapı  $13,2 \pm 11,3$  mm olarak saptanmıştır (65).

Mosbeh ve arkadaşlarının Mısır'da yaptıkları bir çalışmada lezyonların boyutunun 1 cm ile 6 cm arasında değiştiği bildirilmiştir (71).

Farahmnad ve arkadaşlarının İranda yaptıkları çalışmada lezyon çaplarının 4 ila 80 mm arasında değiştiği bildirilmiştir (66).

Bizim çalışmamızda lezyonların boyutu 0,5 cm ile 10,4 cm arasında değişiyordu ve ortalama lezyon çapı 2,5 cm olarak saptandı. Çalışmamızda elde edilen ortalama lezyon çapları literatürdeki benzer çalışmalar ile uyumludur.

Al-Hucheimi ve arkadaşlarının 2003-2005 yılları arasında Irak'ta yaptıkları çalışmada birçok hastada birden fazla lezyon bulunduğu ve lezyon sayısının 1 ile 9 arasında değiştiği, ortalama lezyon sayısının 2,13 olduğu bildirilmiştir (48).

Mosbeh ve arkadaşlarının Mısır'da yaptıkları çalışmada olguların 4'ünde (% 13.3) çok sayıda lezyon bulunduğu bildirilmiştir (71).

Saab ve arkadaşlarının Lübnan'da yaptıkları çalışmada lezyonların sayısı 1 ila 15 arasında değiştiği bildirilmiştir (72).

Al-Heany ve arkadaşlarının 2012-2013 yılları arasında Bağdat'ta yaptıkları çalışmada olguların % 66.67'sinde (40 vaka) birden fazla;% 33.33'ünde (20 olguda) tek lezyon olduğu, olgu başına en fazla cilt lezyon 18 olarak bildirilmiştir (52).

Farahmand ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hastaların %58'inde tek lezyon,%22'sinde 2 lezyon, %20'sinde 3 ve daha fazla sayıda lezyon saptanmıştır. (70).

Uzun ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada 1030 hasta değerlendirilmiş, toplam 1431 lezyon bulunmuştur. Hastaların %80,7'sinde 1 lezyon, %12,7'sinde 2 lezyon, %4,4'ünde 3 lezyon ve %1,1'inde 4 lezyon saptanmıştır (31).

Akçalı ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hastaların %71'inde (766 hasta) tek lezyon saptanırken, %18,8'inde (203 hasta) 2 lezyon, %5,9'unda (64 hasta) 3 lezyon, %1,3'ünde 4 lezyon ve %3'ünde (32 hasta) 5 ve daha fazla sayıda lezyon saptanmış (58).

Uzun ve arkadaşları 3074 hastadan oluşan çalışmasında hastaların %76'sında tek, %15'inde 2, %6'sında 3, %1'inde 4 lezyon, bir hastada ise 22 lezyon bildirmişlerdir.(65) Aytekin ve arkadaşları ise hastaların %47.4'ünde tek, %47'sinde 2-4, %5.1'inde 5 ve daha fazla lezyon saptamışlardır (77).

Bizim çalışmamızda 20 hasta( %28,6) birden fazla lezyona sahipti. Lezyon sayısı 1 ile 13 arasında değişiyordu. Olgu başına ortalama lezyon sayısı 1,74 bulundu. Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak hastaların büyük kısmında tek lezyon saptandı.

Gumurdulu ve arkadaşlarının çalışmasında lezyonların süresi 1 ay ile 36 ay, ortalama 8.6 ay olarak bildirilmiştir (12).

Bari ve arkadaşlarının Pakistan'da yaptıkları bir çalışmada lezyonların süresinin 1 ile 18 ay arasında değiştiği bildirilmiştir (13).

Al-Hucheimi ve arkadaşlarının Irak'ta yaptıkları bir çalışmada lezyonların süresinin 4 ile 18 hafta arasında (6.5 hafta) değiştiği bildirilmiştir (48).

Mosbeh ve arkadaşlarının Mısır'da yaptıkları çalışmada lezyonların süresi bir ayla 6 ay arasında, ortalama 2.9 ay olarak bildirilmiştir (71).

Saab ve arkadaşlarının Lübnan'da yaptıkları çalışmada lezyonların ortalama süresi 6 ay olarak bildirilmiştir (72).

Khalid ve arkadaşlarının Mısır'da yaptıkları çalışmada lezyonların süresi 4 hafta ile 12 hafta arasında değiştiği bildirilmiştir (68).

Sarikaya ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 60 hastanın 6-60 ay arasında değişen lezyonlara sahip oldukları bildirilmiştir (20).

Çulha ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada lezyonların süresinin 1 ay ile 3 yıl arasında değiştiği bildirilmiştir (58).

Akçalı ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada lezyonların süresinin 4 hafta ile 36 ay arasında değiştiği saptanmıştır (74).

Bizim çalışmamızda lezyonların süresi 2 aydan 84 aya kadar değişmekteydi ve ortalama süre 6 ay idi. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar literatürdeki veriler ile uyumluydu.

KL'nin en sık görülen formu akut formudur. Akut form içinde en sık görülen formu kuru tiptir (1).

Fidan ve arkadaşlarının 2012-2013 yılları arasında Diyarbakır'da yaptığı çalışmada hastaların %81,3'ü (107 hasta) akut, %18,3'ü (24 hasta) kronik olarak bildirilmiştir. Akut formdaki hastaların % 22,4'ünü (24 hasta) yaş tip ve %77,5'ini (83 hasta) tipin oluşturduğu bildirilmiştir. Kronik formun %91,6'sını (22 hasta) rezidivan ve %8,3'ünü (2 hasta) kronik lupoid tipin oluşturduğu belirtilmiştir (9).

Gumurdulu ve arkadaşlarının Çukurova bölgesinde yaptıkları çalışmada 40 olgunun 2'sinin (% 5) kronik KL olduğu belirtilmiştir (12).

Bari ve arkadaşlarının Pakistan'da yaptıkları çalışmada 529 (% 73.7) hastada kuru tip , 156 (% 21.7) hastada yaş tip ve 33(% 4.6) hastada diğer tiplerde (lupoid ve diğer atipik formlar) lezyonlar bildirilmiştir (13).

Tareen ve arkadaşlarının Pakistan'da yaptıkları çalışmada 76 hastanın % 84.2 'sinde kuru tip ,% 14.3' ünde yaş tip lezyonlar bildirilmiştir (78).

Uzun ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptığı çalışmada 1030 hastanın %92,7'sinde akut form, %7'sinde kronik form, %1'inde rezidivan form hastalık saptandığı belirtilmiştir (31).

Al-Heany ve arkadaşlarının Bağdat'ta yaptıkları çalışmada 60 KL hastasında toplam 200 lezyon saptandığı; hastaların 36'sının (%60) yaş tip, 24'ünün (%40) kuru tip lezyonlara sahip olduğu belirtilmiştir (52).

Gürel ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 2120 hastanın %19'unda kronik KL ile uyumlu , %81'inin akut KL ile uyumlu lezyonlara sahip olduğu bildirilmiştir (75).

Bizim çalışmamızda hastaların %72,9'u (51 hasta) kuru tip, %18,6'sı (13 hasta) yaş tip, %7,1'i (5 hasta) rezidivan tip ve %1,4'ü (1 hasta) erizipeloid tip lezyonlara sahipti.. Çalışmamızın bu bulguları daha önce Diyarbakır bölgesinde yapılan diğer çalışmaların bulguları ile uyumluydu.

KL'de lezyonlar papüler, nodüler, nodüloülseratif veya plak formundadır (1).

Fidan ve arkadaşlarının 2013 yılında Diyarbakır ilinde yaptıkları çalışmada lezyonların %73,3'ü plak, %3,1'i papül, %22,2'si papülonodül ve %1,5'i skar üzerinde gelişen plak olarak saptanmıştır (9).

Akman ve arkadaşlarının 2007 yılında yayınladıkları ve 20 hasta ile yaptıkları bir çalışmada hastalardaki lezyonların %50'si papülonodüler, %50'sinin nodüloülseratif tipte olduğu belirtilmiştir. (76).

Gürel ve arkadaşlarının 1997- 2000 yılları arasında Şanlıurfa ilinde yaptıkları çalışmada hastaların %39,2'sinde nodüloülseratif tip, %31,4'ünde nodüler, %16,6'sında papüller, %5,4'ünde rezidiv papüller, %2,5'inde ülseratif diffüz infiltratif plaklar, %3'ünde non ülseratif diffüz infiltratif plaklar ve %1,9'unda diğer morfolojilerde lezyonlar bulunduğu bildirilmiştir (75).

Farahmand ve arkadaşlarının İran'da yaptıkları ve 2011 yılında yayınlanan çalışmalarında sadece ülsere lezyonlar tespit edilmiştir (66).

Uzun ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptığı çalışmada lezyonların %52,1'i papüler, %19,9'u plak, %18,2'si nodüloülseratif, %9,2'si nodüler ve geri kalanı diğer tiplerde olduğu belirtilmiştir (31).

Bizim çalışmamızdaki lezyonların %4,2'si(5) papüler, %5,7'si(7) nodüler, %18'i (22) nodüloülseratif ve %72,1 'i (88) plak formundaydı. Çalışmamızdaki plak lezyon sayısı literatür ile uyumlu olmayıp, daha yüksek orandaydı.

KL için en önemli risk faktörleri endemik bölgede yaşamak ve endemik bölgelere seyahat etmektir (10).

Farahmand ve arkadaşlarının 2011 yılında İran'da yaptıkları çalışmada hastaların %21,3'ünde endemik bölgelere seyahat öyküsü saptanmıştır (66).

Fidan ve arkadaşlarının 2011- 2013 yılları arasında Diyarbakırda yaptıkları çalışmada hastaların %84'ünde endemik bölgelere seyahat öyküsü bildirilmiştir (9).

Bizim çalışmamızda hastaların %37.1'inde endemik bölgelere seyahat öyküsü mevcuttu.

Çalışmamızda olguların endemik bölgelere seyahat oranının daha önce yapılan çalışmalardaki oranlardan daha düşük olmasının nedeni çalışmaya dahil edilen hastaların çoğunun zaten endemik bölgelerde yaşıyor olmasıdır.

KL klinik olarak BCC, SCC, sporotrikoz, impetigo, fronkül, karbonkül, erizipel, tularemi, lupus vulgaris, skrofuloderma, verrüköz tüberküloz, lepra, tinea korporis, pyoderma gangrenozum, plak psöriazis gibi birçok deri hastalıklarını taklit edebilir (1,19,79). Bu nedenle KL tanısı mutlaka laboratuvar tanısı ile doğrulanmalıdır. KL tanısı; mikroskopik inceleme, kültür ortamında izolasyon, genomda bulunan spesifik dizilerin moleküler yöntemlerle incelenme, antijenlerinin gösterildiği (DAT,rK39) direkt yöntemler veya hasta serum antikorların arandığı serolojik testlerle yapılabilmektedir (2,8,20).

Lezyon örneklerinden aspirasyon sıvılarının alınıp kültürlerin yapılması özellikle bazı *Leishmania* suşları için oldukça zordur. Serolojik tanı, KL tanısında hassasiyet ve duyarlılığındaki değişkenlikten dolayı nadiren kullanılır.

Mikroskopik inceleme basit, ucuz bir yöntemdir . Literatürde bu yöntemle olguların % 48 ile %96 arasında değişen oranında hastalık etkeni mikroorganizmaların saptandığı bildirilmektedir . Bu oranların farklı olmasında; lezyondan materyal alma yeri ve yöntemi, yaymaların hazırlanma biçimi ve mikroskopik incelemeyi yapan kişinin deneyimi etkili olmaktadır. Kubba ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada smear pozitifliği %50-80 olarak bildirilmiştir (80).

Bari ve arkadaşları tarafından yapılan ve 60 hastayı içeren çalışmada smear pozitifliği %36 olarak bildirilmiştir (63).

Sharquie ve arkadaşları çalışmalarında smear pozitifliğin %60 olarak saptamışlardır (81).

Khatri ve arkadaşları tarafından yapılan ve 265 hastayı içeren çalışmada smear pozitifliği %96,2 olarak değerlendirilmiştir (4).

El-Safi ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada smear pozitifliğinin %88 olarak değerlendirilmiştir (82).

Mosbeh ve arkadaşlarının 30 hastayı içeren çalışmasında 14 (% 46.6) hastada smear pozitifliği saptanmıştır (71).

Sharquie ve arkadaşlarının Irak'ta yaptığı çalışmada smear pozitifliği % 71.6 olarak saptanmıştır (83).

Gürel ve arkadaşlarının 2120 vaka ile yaptıkları bir çalışmada hastaların %78'inde smear pozitifliği saptanmıştır (75).

Uzun ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada hastaların %90'ında smear pozitifliği saptanmıştır (65).

Uzun ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptığı bir çalışmada hastaların %82,6'sında smear pozitifliği saptanmıştır (31).

Bizim çalışmamızda smear konusunda deneyimli olmayan mikrobiyolog tarafından yapılan smear pozitifliği % 42,9 ve 10 yıllık smear deneyimi olan dermatolog tarafından yapılan smear pozitifliği % 95,7 olarak saptanmıştır. (p<0,001). Hem dermatolog tarafından yapılan yaymalarda hem de mikrobiyolog tarafından yapılan yaymalarda lezyon morfolojilerine göre yayma pozitiflik oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (sırasıyla p:0,460 ve p:0,091).

Hem dermatolog tarafından yapılan yaymalarda hem de mikrobiyolog tarafından yapılan yaymalarda leishmania türlerine göre yayma pozitiflik oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (sırasıyla p:0,274 ve p:0,052).

Smear konusunda deneyimli olmayan mikrobiyolog tarafından yapılan smear pozitiflik yüzdesi literatürde belirtilen oranlardan daha düşük iken, 10 yıllık smear deneyimi olan dermatolog tarafından yapılan smear pozitiflik oranının literatürdeki ikinci en oran olduğu görüldü. Bu farkın oluşmasındaki en önemli neden

smear yapan kişinin deneyimidir. Mikrobiyolog tarafından her hastadan 2 adet yayma preparat hazırlanmış ve her preparat mikroskop altında 2 dakika incelenmiştir. Fakat deneyimli dermatolog tarafından direkt mikroskopik inceleme için hastadan en az 4 adet yayma preparat hazırlanmıştır ve hazırlanan her preparat mikroskop altında en az 5 dakika incelenmiştir. Amastigot görülmeyen fakat histiyosit, lenfosit, plazma hücreleri görülen preparatlar KL tanısı için daha uzun süre incelenmiştir. Klinik belirtileri ve anamnezi KL'yi güçlü derecede düşündüren olgularda smearlar daha uzun süre incelenmiştir. Smear pozitiflik oranının yüksek olmasının nedenleri hastalığın klinik ve anamnez bulgularını iyi bilmek, smear yapan kişinin deneyimi, çok sayıda yayma preparatı hazırlaması ve özellikle kronik vakalarda smear incelemesi için uzun süre harcanmasıdır.

PCR tabanlı yöntemler düşük parazit yükü bulunan olguları bile iyi analiz edebilmesinden dolayı özellikle düşük parazit yükü bulunan olgularda tercih edilir (21,84).

Al-Hucheimi ve arkadaşlarının PCR incelemesi ile yaptıkları çalışmada 37 olguda (% 92.5) pozitif sonuç, 3 olguda (% 7.5) ise negatif sonuç elde edilmiştir (48).

Eroğlu ve arkadaşlarının mikroskopik değerlendirme, kDNA-PCR ve miniexon-PCR yöntemlerinin sensitivite ve spesifitelerini karşılaştırdıkları bir çalışmada; miniexon-PCR sensitivitesinin %85.2 ve spesifitesinin %100 olduğunu belirtmişlerdir (56).

Graça ve arkadaşları KL'li 99 hastadan aldıkları örnekleri, ITS1, hsp70, G6pd ve kDNA-PCR yöntemlerle kıyasladıkları çalışmalarında ITS1-PCR yönteminin sensitivitesini %81,3 olarak tespit etmişlerdir (85).

Azmi ve arkadaşları KL şüpheli 212 Filistinli hastadan aldıkları doku aspiratlarını 7SL-PCR, kDNA ve ITS-1 PCR ile inceledikleri çalışmada ITS1-PCR'in sensitivitesini %63.5, spesifitesini %100 olarak belirlemişlerdir (86).

Bensoussan ve arkadaşları kDNA-PCR, ITS1-PCR ve miniexon- PCR yöntemlerini karşılaştırdığı çalışmalarında; ITS-1-PCR sensitivitesi %91 olarak belirtilmiştir (87).

Bizim çalışmamızda da önceki çalışmalarla benzer şekilde ITS-1-PCR pozitifliği %100 bulunmuştur. Son zamanlarda KL olgularında tanı yöntemlerinin karşılaştırılmasına yönelik pek çok araştırma yapılmıştır.

Hucheimi ve arkadaşlarının 2003-2005 yılları arasında Irak'ta yaptığı çalışmada yayma ile 38 (%66.7) hastada , histopatolojik inceleme ile 48 (%84.2) hastada amastigotlar saptanmıştır. PCR incelemesi ile 37 (% 92.5) olguda pozitif sonuç, 3 (% 7.5) olguda ise negatif sonuç elde edilmiştir (48).

Khademvatan ve arkadaşlarının 216 hastanın değerlendirildiği çalışmada smear ile % 46.7, RPMI 1640'da kültür yöntemi ile % 35.1, NNN kültür yöntemi ile % 57.8 ve PCR ile% 70.3 pozitiflik saptanmıştır (49).

Brustoloni ve arkadaşlarının Brezilya'da yaptığı çalışmada leishmaniasis tanısında smear, kültür ve PCR karşılaştırılmış ve duyarlılıkları sırasıyla % 79.1,% 59 ve % 92.3 bulunmuştur (88).

Shahbazi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada smear , kültür ve PCR pozitifliği sırasıyla% 79.3, % 86.2 ve % 100 olarak bildirmiştir (89).

Nasser ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kutanöz smear ve deri biyopsilerini karşılaştırmışlar ve sırasıyla % 32 ve% 89.74'lük pozitiflik bildirmişlerdir (90).

Rahman ve arkadaşları yaptıkları çalışmada % 30 smear pozitifliği saptamışlardır (91).

Tareen ve arkadaşlarının 55 hastada yaptığı çalışmada % 76 smear pozitifliği saptanmıştır. Smear pozitifliği, 4 aydan daha kısa sürede görülen lezyonlarda % 60 , 8 aydan uzun lezyonlarda ise % 2.4 olarak bildirilmiştir (78).

Pourmohammadi ve arkadaşlarının 219 hastayı içeren çalışmasında PCR ile % 93.61, smear ile % 76.71 ve kültür ile % 50.9 pozitiflik saptanmıştır (51).

Rasti ve arkadaşları 130 hastadan oluşan çalışmalarında smear , kDNA-PCR ve nested PCR yöntemleri için sırasıyla 87 (% 66.9), 72 (% 56.2), 98 (% 75.4) pozitiflik saptamışlardır (50).

Karamian ve arkadaşları 51 şüpheli vakadan oluşan çalışmalarında kDNA-PCR ve smear ile sırasıyla 29 (% 59.6) ve 3 (% 5.9) pozitiflik saptamışlardır (92).

Al-Heany ve arkadaşlarının çalışmasında smear 41 (% 68.33), histopatoloji 6 (% 27.27), kültür 45 (% 75) ve PCR 55 (% 91.66) hastada pozitif olarak saptanmıştır. PCR, diğer tanı yöntemlerine kıyasla en duyarlı (% 91.66) ve spesifik (% 100) teknik olarak belirtilmiştir (52).

Çeliksöz ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, KL'li 21 hastanın 11'inde (% 52) smear ile amastigotların görüldüğü ve 15'inde (% 71) NNN besiyerindeki kültürde promastigotların üretildiği bildirilmektedir (93).

Özbilge tarafından tanı yöntemleri olarak direkt mikroskopi, kültür, ELISA ve IFA testi kullanılarak yapılan çalışmada KL için pozitiflik sırasıyla % 41.5, % 49, % 53, % 71 şeklinde bulunmuştur (94).

Andresen ve arkadaşları tarafından KL için yapılan bir çalışmada smear ile % 55 ve PCR ile % 96 oranında pozitiflik bulunmuştur (95).

Aviles ve arkadaşları tarafından KL şüphesi olan 24 hastada PCR, smear ve histopatolojik inceleme yapılmıştır. PCR ile %92, smear ile %42 ve histopatolojik inceleme ile %33 pozitiflik saptanmıştır (96).

Al-Jawabreh ve arkadaşları 2006 yılında mikroskop bakısı ile PCR yöntemini karşılaştırmışlardır. Mikroskopik bakısı pozitif 22 ve mikroskopik bakısı negatif 38 olmak üzere toplam 60 hastada PCR çalışılmıştır. Çalışma sonunda 60 örneğin 58'inde PCR ile pozitif sonuç elde etmişlerdir. Mikroskopik bakıya göre bakısına göre PCR'ın duyarlılığı % 100 saptanmıştır (97).

N. Chargui ve arkadaşları KL tanısında klasik yöntemleri ve PCR yöntemini karşılaştırdıkları çalışmada PCR %99,3'lük pozitiflik oranıyla daha duyarlı bulunmuştur (98).

Eroğlu ve arkadaşları tarafından mikroskop bakısı pozitif 30 ve mikroskop bakısı negatif 34 olmak üzere toplam 64 KL olgusunda PCR çalışılmış, PCR %100 duyarlı bulunmuştur (99).

Faber ve arkadaşlarının 46 hastayla yaptığı çalışmada PCR yöntemini smear, kültür ve histopatolojik tanı yöntemlerinin kombine ve tek kullanımları ile karşılaştırmıştır. Buna göre; PCR duyarlılığı %96, smear duyarlılığı %54 ve kültür duyarlılığı %70 olarak belirlenmiştir. Ancak PCR'nin smear ve kültür sonuçlarının kombinasyonu ile karşılaştırıldığında farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirtilmiştir (25).

Al-Hucheimi ve arkadaşlarının lezyon süresi 4-18 hafta arasında değişen 57 hasta ile yaptığı çalışmada PCR'in %92.5, direkt smearin %66.7 ve histopatolojik incelemenin %59.6 duyarlılığa sahip olduğunu belirtmiştir. Bu çalışma ile akut KL olgularında da PCR yönteminin duyarlılığının belirgin bir şekilde daha yüksek olduğu tesbit edilmiştir (100).

Boggild ve arkadaşlarının lezyon süresi 3 hafta ile 9 yıl arasında değişen 62 hasta ile yaptığı çalışmada smear, PCR 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 PCR yönteminin duyarlılığı daha yüksek olmasının yanında, kültür besiyerleri arasındaki fark dikkat çekmektedir (101).

Rodriguez ve arkadaşları tarafından 233 deri biyopsisi ile KL tanısı konan hastada direk mikroskopi, kültür, montenegro deri testi ve PCR yöntemleri karşılaştırılmış ve pozitiflik oranları sırasıyla, % 63, % 43, %100 ve % 97 olarak belirtmişlerdir (102).

Bensoussan ve arkadaşlarının 92 hasta ile yaptığı çalışmada kültür ve smear duyarlılığı %62.8 ve %74.4 olarak belirlenirken, kDNA PCR duyarlılığı %98.7 olarak bildirilmiştir (3).

Pourmohammadi ve arkadaşları 219 hasta ile yaptığı çalışmada direk mikroskopi, kültür ve PCR yöntemlerinin duyarlılığını sırayla %76.7, %50.7 ve %93.6 olduğunu rapor etmişlerdir. (51).

Bart ve arkadaşlarının Hollanda'da leishmaniasisli hastalardan aldıkları örnekleri mikroskopik inceleme ve miniexon-PCR ile değerlendirdikleri çalışmada en yüksek sensitiviteye sahip (%98) yöntemin miniexon-PCR olduğunu göstermişlerdir (103).

Bizim çalışmamızda smear konusunda deneyimli olmayan mikrobiyolog tarafından yapılan smear, deneyimli dermatolog tarafından yapılan smear, RPMI 1640'da kültür yöntemi ve ITS-1-PCR pozitifliği sırasıyla % 42,9, % 95,7, % 100 ve % 100 olarak bildirmiştir.(p:0,048). Smear konusunda deneyimli olmayan mikrobiyolog tarafından yapılan smear pozitiflik oranı literatürdeki verilerle karşılaştırıldığında pozitiflik oranı daha düşük iken, on yıllık smear deneyimi olan dermatolog tarafından yapılan smear pozitifliği literatürdeki ikinci en yüksek smear pozitifliğidir. Çalışmamızdaki veriler gösterdi ki kutanöz leishmaniasis tanısı için yaymalar leishmania konusunda deneyimli olan bir dermatologlar tarafından alınmalı ve değerlendirilmelidir. RPMI 1640 kültür yöntemi pozitifliği önceki çalışmalarla karşılaştırıldığında literatürdeki en yüksek pozitiflik oranı saptanmıştır. Bu sonuçlara dayanılarak RPMI 1640 kültür yönteminin kutanöz leishmaniasis tanısında yüksek spesifite ve sensitiviteye sahip olduğu söylenilebilir. ITS-1-PCR pozitifliği literatürdeki önceki çalışmalarla benzer şekilde yüksek pozitiflik saptanmıştır.

## 6. SONUÇLAR

Kutanöz leishmaniasis, ülkemizde özellikle Güneydoğu Anadolu bölgesinde ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak varlığını sürdürmektedir. Klinik olarak kutanöz leishmaniasis düşünülen bütün olgularda tanı tedavi öncesi mutlaka bir laboratuvar yöntemi ile doğrulanmalıdır.

Çalışmamızda kutanöz leishmaniasis konusunda deneyimli dermatolog tarafından yapılan lezyonal yaymaların kutanöz leishmaniasis’de tanısal değeri araştırıldı. Çalışmamızda yaşları 3 ile 71 arasında değişen 70 hastanın 122 lezyonu incelendi.

Çalışmamıza dahil edilen hastaların örneklerinden yapılan PCR analizlerinde 49(%70) hastada *L.tropica*, 14 (%20) hastada *L.major* ve 7(%10) hastada *L.infantum* tespit edildi. Çalışmamızda RPMI 1640'da kültür yöntemi ve ITS-1-PCR pozitifliği % 100 olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda smear deneyimi olmayan mikrobiyolog tarafından yapılan smear pozitifliği % 42,9 ve 10 yıllık smear deneyimi olan dermatolog tarafından yapılan smear pozitifliği % 95,7 olarak saptanmıştır.

Hem dermatolog tarafından yapılan yaymalarda hem de mikrobiyolog tarafından yapılan yaymalarda lezyon morfolojilerine göre yayma pozitiflik oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (sırasıyla p:0,460 ve p:0,091).

Hem dermatolog tarafından yapılan yaymalarda hem de mikrobiyolog tarafından yapılan yaymalarda leishmania türlerine göre yayma pozitiflik oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (sırasıyla p:0,274 ve p:0,052).

Çalışmamızdaki ITS-1-PCR pozitifliği literatürdeki çalışmalarla benzer şekilde yüksek bulundu. RPMI 1640 kültür yöntemi pozitifliği literatürdeki çalışmalarla karşılaştırıldığında en yüksek pozitiflik oranı olduğu görüldü. Bu sonuçlara dayanılarak ITS-1-PCR ve RPMI 1640 kültür yönteminin kutanöz leishmaniasis tanısında yüksek spesifite ve sensitiviteye sahip olduğu söylenilebilir.

Smear deneyimi olmayan mikrobiyolog tarafından yapılan smear pozitiflik oranı literatürdeki verilerle karşılaştırıldığında pozitiflik oranı daha düşük iken, on yıllık smear deneyimi olan dermatolog tarafından yapılan smear pozitifliği literatürdeki ikinci en yüksek smear pozitifliğidir. Çalışmamızdaki veriler gösterdi ki kutanöz leishmaniasis tanısı için yaymalar leishmania konusunda deneyimli olan dermatologlar tarafından alınmalı ve değerlendirilmelidir



## 7. KAYNAKLAR

1. Harman M. Cutaneous Leishmaniasis. Turk J Dermatol 2015;9:168-76.
2. Aronson N, Herwaldt BL, Libman M, Pearson R, Lopez-Velez R, Weina P, et al. Diagnosis and Treatment of Leishmaniasis: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH). Clin Infect Dis. 2016 ;63(12):e202-e264.
3. Guyatt GH, Oxman AD, Schunemann HJ, Tugwell P, Knottnerus A. GRADE guidelines: a new series of articles in the Journal of Clinical Epidemiology. J Clin Epidemiol 2011;64:3802.
4. Khatri ML, Di Muccio T, Gramiccia M. Cutaneous leishmaniasis in North-Western Yemen: a clinicoepidemiologic study and Leishmania species identification by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis. J Am Acad Dermatol. 2009;61:e15-21. Epub 2009 Aug 19.
5. Harman M. Cutaneous Leishmaniasis. Turkiye Klinikleri J Dermatol-Special Topics 2017;10(2):125-32.
6. Ocak AR. Hibridoma Yöntemi İle Leishmania Tropika Parazitinin Cell Surface Antijenine Karşı Monoklonal Antikor Üretimi Ve Saflastırılması. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Şanlıurfa 2009.
7. Sanchez JL, Diniega BM, Small JW, et al. Epidemiologic investigation of an outbreak of cutaneous leishmaniasis in a defined geographic focus of transmission. Am J Trop Med Hyg 1992;47:47- 54.
8. Gökmen TG. Leishmaniasis tanısı ve etken tiplerin tespitinde Mini-Exon-Pcr-Rflp ve Its-1 (İnternal Transcribed Spacer)-Pcr-Rflp yöntemlerinin duyarlılıkları ve kullanılabilirliklerinin karşılaştırılması. Çukurova Üniversitesi , Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Adana 2013.

9. Fidan V. Diyarbakır ilindeki layşmanyalı hastaların demografik özellikleri ve coğrafik dağılımı. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Diyarbakır 2014.
10. Ayhan E. Deri Layşmanyazisinde Dermoskopik Değerlendirme. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Diyarbakır 2013.
11. Gürel MS, Yeşilova Y, Ölgen MK, Özbel Y. Türkiye’de Kutanöz Leishmaniasisin Durumu. *Turkiye Parazitoloj Derg* 2012; 36: 121-9.
12. Gumurdulu D, Ergin M, Tuncer I, Uzun S, Memisoglu H. Histopathological and clinical evaluation of the cutaneous leishmaniasis in Southern Anatolia, Turkey. *Aegean Pathology Society* 2004;57–61
13. Bari A, Rahman SB. Many faces of cutaneous leishmaniasis. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2008;74:23-7.
14. Chatelain R. Protozoal Infections Ed. Burgdorf WHC, Plewig G, Wolff HH, Landthaler M. Braun-falco’s Dermatology 3rd ed. pp. 311-22 Springer MVH, 2009.
15. Allahverdiyev A, Bağirova M, Koç ÇR, Öztel ON, Elçiçek S, Ateş SC, Karaca TD. Leishmaniasise karşı aşı geliştirilmesinde yaklaşımlar ve problemler. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 2010;34(2):122-3.
16. Herwaldt BL. Laboratory-acquired parasitic infections from accidental exposures. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:659–88.
17. Varışlı AN. Kutanöz leishmaniasisli hastaların tanı ve takibinde real time pcr kullanımını. . Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa 2005.

18. Demirel R, Erdoğan S. Determination of high risk regions of cutaneous leishmaniasis in Turkey using spatial analysis. *Turkiye Parazitol Derg* 2009;3:8-14.
19. Dawit G, Girma Z, Simenew K. A Review on Biology, Epidemiology and Public Health Significance of Leishmaniasis. *J Bacteriol Parasitol* 2013; 4:2.
20. Sarıkaya G. Hatay ili kronik kutanöz leşmanyazis olgularında direk smear, mikrokültür ve PZR (polimeraz zincir reaksiyonu) tanı değerlerinin karşılaştırılması. Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi, Dermatoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Hatay 2012.
21. Sundar S, Rai M. Laboratory Diagnosis of Visceral Leishmaniasis. *Clin Diagn Lab Immunol*.2002; 9(5): 951–958.
22. Sinha R, Sehgal S. Comparative evaluation of serological tests in Indian kala-azar. *J. Trop.Med. Hyg.* 1994; 97: 333–340.
23. Pearson RD, Sousa ADQ. Clinical spectrum of leishmaniasis. *Clinical Infectious Diseases*. 1996 Jan;22(1):1-11.
24. Allahverdiyev AM, Bagirova M, Uzun S, Alabaz D, Aksaray N, Kocabas E, Koksall F. The value of a new microculture method for diagnosis of visceral leishmaniasis by using bone marrow and peripheral blood. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;73 (2):276-80.
25. 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.
26. Minodiera P, Parola P. Cutaneous leishmaniasis treatment. *J Travel Med and Infect Dis* 2007;5:150–8.

27. Seeberger J, Daoud S, Pammer J. Transient effect of topical treatment of cutaneous leishmaniasis with imiquimod. *Int J Dermatol* 2003;42:576–9.
28. Aytekin S. Kutanöz layşmanyaziste tedavi yaklaşımları. *Türkderm.*2009;43:44-7.
29. Harman M. Layşmanyasis Kutis Tedavisi. Tuzun Y, Serdaroğlu S, editorler. *Dermatolojide Gelişmeler-8*. İstanbul: Umur Basım ve Kırtasiye San. ve Tic. A.Ş.;2009; 32-35.
30. Yesilova Y, Surucu HA, Ardic N, et al. Meglumine antimoniate is more effective than sodium stibogluconate in the treatment of cutaneous leishmaniasis. *J Dermatolog Treat* 2015:1-5.
31. 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. *J Parasitol* 2004; 90: 853-9.
32. 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;335:1-29.
33. Davies CR, Reithinger R, Campbell-Lendrum D, Feliciangeli D, Borges R, Rodriguez N. The epidemiology and control of leishmaniasis in Andean countries. *Cad Saude Publica* 2000; 16:925–50.
34. 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.
35. Murray HW, Berman JD, Davies CR, Saravia NG. Advances in leishmaniasis.

Lancet 2005;366(9496):1561–77.

36. Esfandiarpour I, Alavi A. Evaluating the efficacy of allopurinol and meglumine antimoniate (Glucantime) in the treatment of cutaneous leishmaniasis. *Int J Dermatol* 2002;41:521-4.

37. 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.

38. 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.

39. Alrajhi AA. Cutaneous Leishmaniasis of the Old World. Maddın S. (ed.) *Skin Therapy Letter*. 2003;8(2):1-4.

40. David CV, Craft N. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Dermatologic Therapy*. 2009;22:491–502.

41. Durdu M. Otoimmün büllöz hastalıkların tanısında Tzanck sitoloji. *Turkderm*. 2011; 45 Özel Sayı 1: 39-43.

42. Cordero AA : The man behind the eponym. *J Acad Dermatol* 1985;7 (2) : 121-123.

43. Ayabakan EÖ. Spongiositik ve Nonspongiositik Vezikülobüllöz hastalıklarda, Tzanck Smear Testiyle Tadpole ( İri baş) Hücrelerin Değerlendirilmesi. Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, İstanbul 2014.

44. Baykara ŞN. Non-Melonom Deri Tümörlerinin Tanısında Tzanck Smearin Tanısal Değeri. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Diyarbakır 2013.
45. Durdu M. Dermatolojik Hastalıkların Tanısında Sitoloji: Tzanck Yayma. Turk J Dermatol 2016;10:93-9.
46. Ruocco V, Ruocco E. Tzanck smear, an old test for the new millennium: when and how. Int J Dermatol 1999;38:830-4.
47. Gupta LK, Singhi MK. Tzanck smear: a useful diagnostic tool. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2005; 71: 295-299.
48. Al-Hucheimi SN, Sultan BA, Al-Dhalimi MA. A Comparative Study Of Diagnosis By Polymerase Chain Reaction (PCR), Microbiological, And Histopathological Methods Of Old World Cutaneous Leishmaniasis In Iraq. Kufa Med. Journal 2008;11(1):157-165.
49. Khademvatan S, Saki J, Maraghi S. Comparison of Traditional Methods and PCR for Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis in South-West of Iran. Zahedan J Res Med Sci 2012 ; 14(8): 1-5.
50. Rasti S, Ghorbanzadeh B, Kheirandish F, Mousavi SG, Pirozmand A, Hooshyar H, Abani B. Comparison of Molecular, Microscopic, and Culture Methods for Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis. Journal of Clinical Laboratory Analysis 2016;30:610–615.
51. 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

52. Al-Heany AR, Sharquie KE, Al-Najar SA, Noaimi AA. Cutaneous leishmaniasis: Comparative Techniques for Diagnosis. *OSR-JDMS* 2014;13(4):33-37.
53. Mahnaz T, Kuhls K, Al-Jawabreh A, Mauricio I, Schönian G, Farajnia S, Alimohammadian M.H. *Leishmania major*: Genetic heterogeneity of Iranian isolates by singlestrand conformation polymorphism and sequence analysis of ribosomal DNA internal transcribed spacer. *Acta Tropica*.2006;(98):52-58.
54. Özbilgin A, Çulha G, Uzun S, Harman M, Topal SG, Okudan F, et al. Leishmaniasis in Turkey: first clinical isolation of *Leishmania major* from 18 autochthonous cases of cutaneous leishmaniasis in four geographical regions. *Trop Med Int Health*. 2016;21(6):783-91.
55. Serin M.S, Daglioglu K, Bagirova M, Allahverdiyev A, Uzun, Vural Z, Kayar B, Tezcan S, Yetkin M, Aslan G, Emekdas G, Koksall F. 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):209-214.
56. Eroğlu F, Koltas IS, Genc A. Identification of Causative Species in Cutaneous Leishmaniasis Patients Using PCR-RFLP. *J Bacteriol Parasitol*, 2011; 2:113.
57. Desjeux P. Leishmaniasis. *Nat Rev Microbiol* 2004;2(9):692.
58. Çulha G, Akçalı C. Hatay ve Çevresinde Saptanan Kutanoz Leishmaniasis Olguları. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 2006;30 (4): 268-71.
59. Tayeh A, Jalouk L, Cairncross S. Twenty years of cutaneous leishmaniasis in Aleppo, Syria. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1997; 91(6):657-9.

60. Yemisen M, Ulas Y, Celik H, Aksoy N. Epidemiological and clinical characteristics of 7172 patients with cutaneous leishmaniasis in Sanliurfa, between 2001 and 2008. *International Journal of Dermatology* 2012; 51(3): 300-4.
61. Ser Ö, Cetin H. Cutaneous Leishmaniasis and Its Status in Antalya, Turkey. *Turkiye Parazit Derg* 2013; 37(2): 84-91.
62. Ertuğ S, Aydın N, Gültekin B, Doyuran SE. Aydın İlindeki Deri Leishmaniasisi Olgularının Retrospektif İncelenmesi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2002; 26 (2):140-2.
63. Bari AU, Azam S, Ejaz A, Mahmood T. Comparison of various cytodiagnostic tests in the rapid diagnosis of cutaneous leishmaniasis. *J Pak Assoc Dermatol*. 2010;20:63-9.
64. Wortmann GW, Aronson NE, Miller RS, Blazes D, Oster CN. Cutaneous leishmaniasis following local trauma: a clinical pearl. *Clin Infect Dis* 2000;31:199–201.
65. Uzun S, Uslular C, Yucel A, Acar MA, Ozpoyraz M, Memişoğlu HR. Cutaneous leishmaniasis: evaluation of 3,074 cases in the Cukurova region of Turkey. *Br J Dermatol* 1999;140(2):347-50.
66. Farahmand M, Nahrevanian H, Shirazi HA, Naeimi S, Farzanehnejad Z. An overview of a diagnostic and epidemiologic reappraisal of cutaneous leishmaniasis in Iran. *Infect Dis* 2011;15(1):17-21.
67. Omidian M, Khosravi AD, Nazari M, Rashidi A. The comparison of histopathological findings and polymerase chain reaction in lesions with primary clinical diagnosis of cutaneous leishmaniasis with negative smear. *Pak J Med Sci* 2008; 24(1): 96-99.

68. Khalid A , Ahmed SA , Haque AU , Mukhtar R. Diagnostic Microscopic Features of Cutaneous Leishmaniasis other than Leishmania Tropica Bodies. International Journal of Pathology; 2012;10(1):21-25.
69. Sucakli MB, Saka G. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Diyarbakir (2002-2006). Turkiye Parazitol Derg 2007;31(3):165-9.
70. Kassiri H, Sharifinia N, Jalilian M, ShemShad K. Epidemiological aspects of cutaneous leishmaniasis in Ilam province, west of Iran (2000-2007). Asian Pacific Journal of Tropical Disease 2012;382-6.
71. Mosbeh AS, Elsattar SA. The predictive value of slit skin smears and skin biopsy in the diagnosis of cutaneous leishmaniasis: Comparative study. The Gulf Journal of Dermatology and Venereology.2014;21(2):33-40.
72. Saab M, El Hage H, Charafeddine K, Habib RH, Khalifeh I. Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis: Why Punch When You Can Scrape?. Am J Trop Med Hyg. 2015;92(3):518-22.
73. Ertem M, Aytekin S, Acemoğlu H, Akpolat N, Aytekin N. Diyarbakır Dicle ilçesi Dedekoy ve Durabeyli’de kutanoz leishmaniasis olgularının incelenmesi. Turkiye Parazitol Derg 2004;28(2):65-8.
74. Akçalı C, Çulha G, İnalöz HS, Savaş N. Cutaneous Leishmaniasis in Hatay. J Turk Acad Dermatol2007;1(1):1-5.
75. 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.

76. Akman A, Durusoy Ç, Seckin D, Alpsoy E. Antalya'da Görülen Kutanöz Layşmanyazis Olgularının Epidemiyolojik Özellikleri. *Türkderm* 2007;41:93-6.
77. Aytekin S, Ertem M, Yagdiran O, Aytekin N. Clinico-epidemiologic study of cutaneous leishmaniasis in Diyarbakir Turkey. *Dermatol Online J* 2006;12(3):14.
78. Tareen A, Afaq S, Haque AU. Comparative Study of the Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis by Slit Skin Smear and Skin Biopsy for Histopathology. *Journal of Rawalpindi Medical College (JRMC)* 2014;18(1):83-86.
79. Raja KM, Khan AA, Hameed A, Rahman S. Unusual clinical variants of cutaneous leishmaniasis in Pakistan. *Br J Dermatol* 1998;139:111-3.
80. Kubba R, Al-Gindan Y, El-Hassan AM, Omer AHS. Clinical diagnosis of cutaneous leishmaniasis (oriental sore). *J Am Acad Dermatol.* 1987;16:1183-9.
81. Sharquie KE, Hassen AS, Hassan SA, Al-Hamami IA. Evaluation of diagnosis of cutaneous leishmaniasis by direct smear, culture and histopathology. *Saudi Med J.* 2002;23:925-8.
82. el-Safi SH, Peters W, el-Toam B et al. Studies on the leishmaniases in the Sudan. 2. Clinical and parasitological studies on cutaneous leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1991;85:457-64.
83. Sharquie KE, Al-Waiz M, Al-Hammamy H. Post Kala-Azar Dermal Leishmaniasis in Iraq Children. *J Fac Med. (Baghdad)* 2002;44:4.
84. Scott P. Immunologic memory in cutaneous leishmaniasis. *Cell Microbiol* 2005;7:1707–13.

85. Graça GC, Volpini AC, Romero GA, Oliveira Neto MP, Hueb M, Porrozzi R, Boité MC, Cúpolillo E. Development and validation of PCR-based assays for diagnosis of American cutaneous leishmaniasis and identification of the parasite species. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2012; 107(5):664-74.
86. Azmi K, Nasereddin A, Ereqat S, Schnur L, Schonian G, Abdeen Z. Methods incorporating a polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism and their use as a 'gold standard' in diagnosing Old World cutaneous leishmaniasis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011; 71(2):151-5.
87. Bensoussan E, Nasereddin A, Jonas F. Comparison Of PCR Assays For Diagnosis Of Cutaneous Leishmaniasis. *Journal Of Clinical Microbiology*, Apr. 2006, P. 1435–1439.
88. Brustoloni YM, Lima RB, da Cunha RV, Dorval ME, Oshiro ET, de Oliveira AL, Pirmez C. Sensitivity and specificity of polymerase chain reaction in Giemsa-stained slides for diagnosis of visceral leishmaniasis in children. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007 Jun;102(4):497-500.
89. Shahbazi F, Shahabi S, Kazemi B, Mohebbi M, Abadi AR, Zare Z. Evaluation of PCR assay in diagnosis and identification of cutaneous leishmaniasis: a comparison with the parasitological methods. *Parasitol Res*. 2008;103(5):1159-62.
90. Dar NR and ,Khurshid T. Comparison of skin smears and biopsy specimens for demonstration of leishmania tropica bodies in cutaneous Leishmaniasis. *J Coll Physicians Surg Pak* 2005;15 (12): 765-67.
91. Rahman SB and Bari AU. Laboratory profile in patients of cutaneous Leishmaniasis from various regions of Pakistan. *J Coll Physicians Surg Pak* 2003;13(6):313-36.

92. Karamian M, Motazedian MH, Fakhar M, Pakshir K, Jowkar F, Rezanezhad H. Atypical presentation of old-world cutaneous leishmaniasis, diagnosis and species identification by PCR. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008;22(8):958–962.
93. Çeliksöz A, Saygı G, Özçelik S. Comparison of direct and culture methods in the diagnosis of cutaneous leishmaniasis and the investigation of the effects of both trimethoprim-sulfamethoxazole and ofloxacin on promastigotes. Özcel MA (ed) First world congress on leishmaniasis abstracts. *Acta Parasitologica Turcica* 1997;21(S1):110.
94. Özbilge H. Kutanöz leishmaniosis tanısında direkt mikroskopi, kültür, elisa ve ifat yöntemlerinin karşılaştırılması. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Malatya ,1999.
95. Andresen K, Gaafar A, El- Hassan AM, İsmail A ,Dafalla M, Theander T, G and Kharazmi A. Evaluation of the polymerase chain reaction in the diagnosis of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania major*: a comparison with direct microscopy of smears and sections from lesions, *Transactions of the Royal Soc. Of Trop. Med. and Hyg* 1996;90:133-5.
96. 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):181-187.
97. 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.
98. Charguia N, Bastienb N, Kallel K, Haouasa N, Messaidi Akroute M, Masmoudif A, Zili J, Chakerd E, Dhahri Ben Othmanh A, Azaieza R, Crobuc L, Mezhouda H, Babbaa H. Usefulness of PCR in the diagnosis of cutaneous leishmaniasis in Tunisia.

Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.2005; 99:762-768.

99. Eroğlu F. Kutanöz leyişmanyozlu hastalarda etken türlerin pcr-rflp yöntemi ile tanımlanması.Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri EnstitüsüParazitoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. Adana 2006.

100. 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.

101. 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;45(11):3680-84.

102. Rodriguez N, Guzman B, Rodas A, Takıff H, Bloom B, Convit J. Diagnosis of cutaneous leishmaniasis and species discrimination of parasites by PCR and hybridization. J of Clin Microbiol. 1994;32(9):2246-52.

103. Bart A, Van Thiel PP, de Vries HJ, Hodiament CJ, Van Gool T. Imported leishmaniasis in the Netherlands from 2005 to 2012: epidemiology, diagnostic techniques and sequence-based species typing from 195 patients. Euro Surveill. 2013; 18(30):20544.

## **8. EKLER**

## Ek 1.

## KUTANÖZ LEİSHMANİASİS HASTA TAKİP FORMU

Hasta Kodu ve Kayıt Tarihi:		
Hasta Adı ve Soyadı:		
Cinsiyet- Doğum Tarihi- Tlf:		
Yaptığı İş:		
Oturduğu Adres:		
Endemik Bölgede Yaşama:		
Endemik Bölgeye Seyahat Öyküsü:		
Yakınması:		
Klinik Bulgular:		
Lezyon Sayısı:		
Lezyon Yeri ve Yerleri:		
Lezyon Büyüklüğü:		
Lezyon Tipi:	Kuru	Yaş Rezidivan Lupoid Sporotrikoid Diğer
Lezyonun Süresi:		
Olası Orjin:	Yerli	İthal
Laboratuvar Sonuçları:		
Dermatolog smear sonucu		
Mikrobiyolog smear sonucu		
Kültür sonucu:		
PCR sonucu		
Örneği Alan Kişi 1:		
Örneği Alan Kişi 2:		
Alınan Örnek:		
<input type="checkbox"/> Lezyon aspirasyonu		
<input type="checkbox"/> Yara kabuğu		