

Mersin İli Mut İlçesi'nde Değişik Yaş Gruplarında *Leishmania* Antikor Düzeyleri

Leishmania Antibody Levels in Different Age Groups in Mut County in Mersin

Hamdi ERHAN¹, Gürol EMEKDAŞ², Şahin DİREKEL²

¹ Mersin Mut Devlet Hastanesi, Mersin

² Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin

Özet

Amaç: Bu çalışmada Mersin ili Mut ilçesinde kutanöz leishmaniasis tanısı alan vakalardan lezyonel örnek olarak bölgeye ait *Leishmania* suşlarını üretmek, bu suşlardan hazırlanan antijenlerle toplumda değişik yaş gruplarında İndirekt Fluoresan Antikor yöntemi ile *Leishmania* IgG antikor varlığını ve titresini göstermek amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmamızda Mersin ili Mut ilçesinde yaşayan değişik yaş gruplarında leishmaniasis lezyonu bulunmayan, 185 erkek ve 173 kadın olmak üzere toplam 358 kişiden alınan serum örneklerinde IFA yöntemi ile *Leishmania* IgG antikor varlığı araştırılmıştır.

Bulgular: Mut ilçesi ve köylerinde ikamet eden bu kişilerden rastlantısal olarak alınan örneklerin incelenmesi sonucunda, çalışma örneklerinin beşinde (%1.4) *Leishmania* IgG tipi antikor varlığı tespit edilmiştir. Örneklerin dördünde (%1.11) 1/32 titrede, birinde (%0.28) ise 1/64 titrede pozitiflik saptanmıştır.

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

Anahtar Sözcükler: leishmaniasis, IFA, IgG antikor

Abstract

Objective: The aim of this study was to detect cutaneous leishmaniasis cases in Mut which is a county of Mersin, to isolate *Leishmania* strains from lesion specimens, and to detect *Leishmania* IgG antibodies and their titers using antigens prepared from the strains by Indirect Fluorescent Antibody in different age groups.

Method: In this study, we evaluated the serum IgG antibody levels of *Leishmania* of the healthy individuals by Indirect Fluorescence Antibody. The study group was composed of 358 people (185 male, 173 female).

Results: The samples were collected randomly from the county of Mut. We detected IgG antibodies of *Leishmania* in five of the collected samples (1.4%). We also detected 1/32 titer of IgG antibody in four of the samples (1.11%) and 1/64 titer of IgG antibody level in one of the samples (0.28%).

Conclusions: Detection and treatment of the patients, education and protective applications to the people living in endemic regions seems to be required in order to eradicate this low endemic disease.

Key Words: leishmaniasis, IFA, IgG antibody

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg, 2008;1(1);36-39

Geliş Tarihi : 08.01.2007

Kabul Tarihi : 30.01.2008

Yazışma adresi:

Şahin DİREKEL

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 33079-Mersin

Tel : 0 324 337 43 00/1541

Faks : 0 324 341 24 00

E-posta : sdirekel@yahoo.com

Giriş ve Amaç

Leishmaniasis, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 6 önemli tropikal hastalıktan biri olarak kabul edilen, 88 ülkede endemik olarak gözlenen bir hastalıktır. Beş kıtada 350 milyon insan risk altındadır. Her yıl yeni hasta sayısının visseral leishmaniasis (VL) için 500.000, kutanöz leishmaniasis (KL) için 1.500.000 olduğu tahmin edilmektedir (1).

KL; ülkemizde şark çıbanı, Antep çıbanı gibi isimlerle anılan, başlıca deride ve bazen mukozalarda çökük bir iz bırakarak iyileşen deri hastalığıdır. KL lezyonlarının ağrısız olması, bir yıl içinde kendiliğinden iyileşebilmesi ve sistemik komplikasyonlara neden olmaması hastalığın toplum tarafından ihmal edilmesine neden olmaktadır. Estetik kaygılar nedeniyle daha çok genç kız ya da erkek hastalar sağlık kuruluşuna başvurumaktadırlar (2).

Ülkemizde Sağlık Bakanlığı, KL'yı Grup A bildirimli zorunlu hastalıklar listesine almıştır. Ayrıca bu hastalık için Sağlık Bakanlığı tarafından özel bir tanı ve tedavi programı yürütülmektedir (3).

KL yıllardır ülkemizde başta Şanlıurfa olmak üzere Güneydoğu Anadolu illerinde ve son 10–15 yıldır Çukurova yöresinde endemik olarak görülmektedir. Bilinen endemik bölgelere ek olarak Mersin ilinde özellikle Anamur, Mut, Bozyazı ilçe merkezlerinde sporadik olgular halinde görülen KL'in son yıllarda artma eğilimi göstermeye başladığı bildirilmektedir (4,5).

Sağlık Bakanlığı'nın verilerine göre ülkemizde 1988–2004 yılları arasındaki 16 yıllık dönemde 39.494 KL olgusu ve 1989–2004 yılları arasında 15 yıllık dönemde 5.389 VL olgusu bildirilmiştir. Türkiye genelinde 2004 yılında toplam 4.187 KL olgusu bildirilmiştir. İllere göre dağılıma bakıldığında hastalık en fazla Şanlıurfa ilinde görülürken; Mersin altıncı sırada gelmektedir (6).

KL tanısı, lezyondan alınan materyalde parazitin direkt görülmesi veya Novy- Nicolle-Mac Neal (NNN) besiyerinde kültürü yapılarak konulmaktadır. Direkt preparatta Giemsa yöntemiyle yapılan boyamada amastigot, kültürde ise promastigot şekilleri saptanmaktadır (7-9).

İndirekt tanıda İndirekt Hemaglütinasyon Testi (IHA), Kompleman Birleşme Deneyi (KBD), Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ve İndirekt Fluoresan Antikor (IFA) yöntemleri kullanılmaktadır. Son yıllarda hızlı ve pratik olmaları nedeni ile tanıda serolojik testlerin önemi artmıştır (10).

Leishmania'ların tanısında son zamanlarda moleküler bazlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemleri ve Western Blot analizi kullanılmaktadır (11-16).

Bu çalışmada Mersin ili Mut ilçesinde KL tanısı alan vakalardan lezyonel örnek olarak bölgeye ait *Leishmania* suşlarını üretebilmek, bu suşlardan hazırlanan antijenlerle

toplumda değişik yaş gruplarında IFA yöntemi ile *Leishmania* IgG antikor varlığını ve titresini göstermek amaçlanmıştır.

Yöntem

Bu çalışmada Mersin ili Mut ilçesinde yaşayan iki yaşın üzerinde, değişik yaş gruplarında, leishmaniasis lezyonu bulunmayan 185 erkek ve 173 kadın olmak üzere toplam 358 kişiden alınan serum örneklerinde IFA yöntemi ile *Leishmania* IgG antikor varlığı araştırılmıştır. Serum örneği alınan kişilerin yaş dağılımları Tablo 1 de gösterilmiştir.

Tablo 1. Serum örneği toplanan kişilerin yaş grubuna göre dağılımı

Yaş aralığı	Kadın	Erkek	Toplam
2–12 yaş	11	10	21
12–25 yaş	19	23	42
25–35 yaş	41	44	85
35–45 yaş	54	58	112
45 yaş üstü	48	50	98
Toplam	173	185	358

Serum örnekleri Mut İlçe Devlet Hastanesi'ne başvuran, ateşli hastalık dışında şikayetleri olan, ilçe merkezinde ve köylerinde oturanların başka laboratuvar tetkikleri için vermiş oldukları serum örneklerinden seçilmiştir. Bu serumlar -20°C'de saklanmış ve soğuk zincir kurallarına uygun olarak Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na nakledilmiştir.

Bu çalışmada kullanılacak *Leishmania* antijenlerinin elde edilebilmesi amacıyla Mut ilçesi'nde yaşayan, klinik bulgulara göre KL düşünülen hastaların deri lezyonlarından iğne aspirasyon yöntemi ile örnekler alınmıştır. Alınan örneklerin NNN besiyerinde kültürü yapılarak *Leishmania* promastigotlarının üretilmesi sağlanmıştır.

Üretilen *Leishmania* suşları RPMI 1640 besiyerine alınarak parazitlerin zenginleşmesi sağlanmıştır. Phosphate Buffer Saline (PBS) solüsyonu ile yıkandıktan sonra X40'luk büyütmede her sahada en az beşer tane parazit olacak şekilde PBS ile dilüe edilmiş ve 50 µl teflonlu özel lamlara damlatılarak oda ısısında kurutulmuş ve kullanıncaya kadar -20°C'de saklanmaya alınmıştır.

Serum örnekleri 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 ve 1/128 oranlarında dilüe edilmiş, hazırlanan antijenli lamların her bir kuyucuğuna 20 µl serum gelecek şekilde eklenmiş ve 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda lamlar, içinde PBS bulunan şalede 10

dakika bekletilerek yıkanmıştır. Lamlarda bulunan kuyucukların üzerine Fluorescein isothiocyanate (FITC) işaretli anti-human IgG eklenmiş ve oda ısısında 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Kuyucuklara 1–2 damla kaplama solüsyonu damlatılarak üzerine lamel kapatılmış ve Floresan mikroskopunda (Olympus BX50) X30'luk büyütmede incelenmiştir.

Bulgular

Çalışma örneklerinin beşinde (%1.4) *Leishmania* IgG tipi antikor varlığı tespit edilmiş, örneklerin dördünde 1/32 titrede birinde ise 1/64 titrede pozitiflik saptanmıştır.

IgG antikor pozitif olguların tümünün Mut ilçesinde ikamet ettiği üçünün erkek (yaşları 9, 28, 33), ikisinin ise kadın (yaşları 11, 24) olduğu belirlenmiştir.

Fluoresan mikroskopunda *Leishmania* IgG antikor pozitif olan serum örneği Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Pozitif örnekte *Leishmania* IgG antikor pozitifliğinin Fluoresan mikroskopta görünümü

Tartışma ve Sonuç

Bu araştırma, KL açısından düşük endemisine gösteren Mut ilçesinde çeşitli yaş gruplarında rastlantısal olarak alınan serum örneklerinde, *Leishmania* IgG antikor varlığını ve titresini belirlemek amacıyla planlanmıştır.

Yapılan çalışmalar sonucunda 1/8 ve üzerindeki *Leishmania* IgG antikor titreleri pozitif olarak kabul edilmiştir. KL'de kültürden hazırlanan promastigot formlarının IFA tekniğinde antijen olarak kullanılmasının oldukça basit ve ekonomik olduğu bildirilmektedir. Ayrıca bazı araştırmacılar da KL'de IFA tekniğinin ELISA'dan daha güvenilir bir yöntem olduğunu belirtmektedirler. Ancak IFA ve diğer serolojik testlerin

tanı ve tedavinin izlenmesinde kullanılması KL'den çok Kala-Azar için önerilmektedir (10,11).

Bizim çalışmamızda Mut ilçesinden alınan 358 (185 erkek, 173 kadın) serum örneğinin beşinde (%1.4) 1/64 ve daha düşük titrede seropozitiflik saptanmıştır. Çalışma sonucu bize bu bölgede leishmaniasis vakalarının %1.5 civarında olduğunu göstermektedir.

Şanlıurfa'da Merkez Harrankapı Sağlık Ocağı'na başvuran leishmaniasis şüpheli deri lezyonu bulunan olgularda, lezyondan yayma preparatlar yapılmış ve incelemelerde, amastigot formu saptanan yaşları 12–25 arasında değişen 21 kadın, 31 erkek 52 olgudan ve *Leishmania* lezyonu bulunmayan aynı yaş grubunda 10 kontrolde *Leishmania*'ya karşı IgG ve IgM antikorları araştırılmıştır. İncelenen 52 olgunun 4'ünde 1/4, 3'ünde 1/16 ve 5'inde 1/64 titrelerde IgG tipi antikor bulunurken IgM bulunamamış, kontrol grubunda pozitifliğe rastlanmamıştır. Çalışmada KL'li olguların sadece %23.1'de pozitiflik saptanması, IFA ile saptanabilecek düzeydeki antikor yanıtın geç gelişebileceği şeklinde yorumlanmıştır (17).

Pappas ve ark. (18) *Leishmania* amastigot ve promastigot formlarından ayrı ayrı hazırladıkları ve *Leishmania* antijenlerini kullanarak yaptıkları bir çalışmada, KL'li 34 hastadan alınan serumlarda IFA ile %92 promastigot, %76 amastigot antikor pozitifliği saptandığını bildirmiştir.

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

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

edilmiştir. Cinsiyet ile lezyon tipi ve lokalizasyonu arasında ayrıca lezyon tipi ile lezyon lokalizasyonu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmamıştır. Sonuçta KL bilinen diğer endemik bölgelerin yanı sıra Anamur'da da sık olarak rastlandığı bildirilmiştir.

Kentler arası ulaşımın kolaylaşması, yolculuk ve göçlerin artışı ve KL'de ana kaynak olan hastaların tedavi edilmemesinin yanı sıra, vektörle düzenli bir mücadele yürütülememesi, sağlıklı kentleşmenin artması gibi pek çok faktör sonucu hastalığın insidansında artış görülebilmektedir (2).

Çalışmamızda *Leishmania* IgG antikor pozitifliğinin %1.5 civarında olduğu belirlenmiştir. Daha kapsamlı çalışmalar yapılarak bu bölgedeki ve ilimizdeki *Leishmania* antikor pozitifliğinin belirlenmesi gerektiği kanaatindeyiz.

Bölgemizde öncelikle Anamur ve Mut ilçelerinde parazitin endemik olarak infeksiyon oluşturduğu ve bu olgu sayılarının artabileceği düşüncesiyle bu bölgelerde çalışan sağlık personeline gerekli eğitimin verilmesi, tespit edilen olguların tedaviye alınarak bölgede yaşayan insanlara koruyucu önlemlerin aktarılması ve vektör tatarcık mücadelesiyle bölgemizde düşük endemi gösteren hastalığın eradikasyonunda gerekli olduğunu düşünmekteyiz.

Kaynaklar

- World Health Organization. Leishmaniasis: background information. Erişim:http://www.who.int/leishmaniasis/disease_epidemiology/en/index.html Erişim tarihi: 11.12.2007
- Çulha G, Akçalı C. Hatay ve çevresinde saptanan kutanöz leishmaniasis olguları. *Türkiye Parazit Derg* 2006;30(4): 68-71.
- T.C. Sağlık Bakanlığı. Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü. Kutanoz Leishmaniasis 16130 nolu Genelge. 24.10.2003.
- Köktürk A, Baz K, Aslan G ve ark. İçel'de kutanöz Leishmaniasis'in durumu. *Türkiye Parazit Derg* 2002; 26(4):367-9.
- Baz K, Köktürk A, Türsen Ü, Kaya Tİ, İkizoğlu G, Kanık A. Anamur'da kutanöz leishmaniasis. *Türkiye Klinikleri Dermatoloji Dergisi* 2002;12(1):5-10.
- T.C. Sağlık Bakanlığı. Temel Sağlık İstatistikleri. Erişim:<http://www.saglik.gov.tr> Erişim tarihi: 15.11.2007
- Frederic L, James J. Cultivation of Clinically Significant Hemoflagellates. *Clin Microbiol Rev* 2002;15(3):374-89.
- Dilmeç F, Matur A, Uzun S, Karakaş M, Memişoğlu H. Çukurova ve Şanlıurfa bölgelerinde deri lezyonlarından izole edilen *Leishmania spp.* DNA'larının restriksiyon endonükleazlarla karşılaştırılması. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2004;1(4):21-7.
- Tosun C, Handemir E, Çan Y, Öztapak K, Keskin O. Bir köpekte visseral leishmaniasis olgusu ve amfoterisin B ile tedavisi. *Türkiye Parazit Derg* 2001;25(2):115-22.
- Handemir E, Kaya N, Şenlik B, Kamburgil K. Askeri personelde visseral Leishmaniasis seroprevalansı. *Türkiye Parazit Derg* 2002; 26(1):31-3.
- Özçelik S. Kamçılı protozoonlar ve yaptıkları hastalıklar. Ustaçelebi Ş. Editör. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitapevi, 1999;1191-207.
- Özcel MA. Parazit hastalıklarında tanı. 1. Baskı. İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi,1997.
- Marfurt J, Nasereddin A, Niederwieser İ, Jaffe CL, Beck HP, Felger I. Identification and differentiation of *Leishmania* species in clinical samples by per amplification of the miniexon sequence and subsequent restriction fragment length polymorphism analysis. *J Clin Microbiol* 2003;41(7):3147-53.
- Weigle KA, Labrada LA, Lozano C, Santrich C, Douglas C. PCR-based diagnosis of acute and chronic cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania*. *J Clin Microbiol* 2002; 40(2):601-6.
- Ikonomopoulos J, Kokotas S, Gazouli M, Zavras A. Molecular diagnosis of leishmaniasis comparative application of traditional diagnostic methods and the proposed assay on clinical samples. *Vet Parasitol* 2003; 113:99-113.
- Töre O. Protozooloji, Kılıçturgay K. Editör. Temel Mikrobiyoloji ve Parazitoloji, 2. Baskı. İstanbul: Bursa Güneş&Nobel Tıp Kitabevleri, 1996;251-67.
- Çulha G, Özcan K, Koltas S, Tanrıverdi S, Beyazıt Y. Şanlıurfa bölgesindeki deri leishmanyozu olgularında İndirekt Floresan Antikor Tekniği (IFAT) ile *Leishmania* antikorlarının aranması. *Türkiye Parazit Derg* 1997;21(3):217-9.
- Pappas NG, Mc Greevy PB. Evaluation of promastigote and amastigote antigens in the indirect fluorescent antibody test for American cutaneous leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 1983;32(6):1260-7.