

Hatay'da Göç Öncesi ve Sonrası Saptanan Kutanoz Leishmaniasis Olgularının Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Genotiplendirilmesi

Genotyping of Cutaneous Leishmaniasis Cases Detected Before and After Migration with Real-Time Polymerase Chain Reaction in Hatay

© Gülnaz Çulha¹, © Tuğba Kaya¹, © Asena Çiğdem Doğramacı²

¹Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

²Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

Cite this article as: Çulha G, Kaya T, Doğramacı AÇ. Hatay'da Göç Öncesi ve Sonrası Saptanan Kutanoz Leishmaniasis Olgularının Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Genotiplendirilmesi. Türkiye Parazitoloj Derg 2019;43(4):48-51.

ÖZ

Amaç: Türkiye'de Kutanoz Leishmaniasis (KL) sebep olan türler *Leishmania tropica* (*L. tropica*) ve *Leishmania infantum*'dur (*L. infantum*). Suriye'den diğer ülkelere 2011 yılındaki iç karışıklıktan dolayı büyük bir göç olmuştur. KL'nin endemik olduğu Suriye'den diğer ülkelere olan göçün, KL olgu sayısını ve tür çeşitliliğini etkilediği düşünülmektedir. Çalışmada, arşivde yayma preparatları bulunan KL pozitif, göç öncesi ve sonrası Türk hasta ve importe (Suriye'li) hastalara ait örneklerin tiplendirilmesi ve Hatay'daki göç öncesiyle sonrasındaki KL tür farklılığının ortaya konulması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmaya arşivde bulunan, dermal kazıntıdan yayma preparatı hazırlanmış, Giemsa boyalı ve mikroskop inceleme ile pozitifliği saptanan toplam 150 hastaya ait (Göç öncesi 50 Türk hasta, göç sonrası 50 Türk hasta ve Suriye'li 50 hasta) preparatlar dahil edilmiştir. Seçilen preparatların DNA izolasyonu yapılmış ve tür tayini için ITS-1probu GZ-PZR analizi yapılmıştır.

Bulgular: Göç öncesi Türk hastalara ait örneklerin 40'ında *L. infantum/donovani* (%80), 8'inde *L. tropica* (%16), 2'sinde *L. major* (%4) saptanırken, göç sonrası Türk hastalara ait örneklerin ise 28'inde *L. infantum/donovani* (%56), 3'ünde *L. major* (%6), 19'unda *L. tropica* (%38) tespit edilmiştir. Suriye'li hastalara ait örneklerin 2'sinde *L. infantum/donovani* (%4), 1'inde *L. major* (%2) ve 47'sinde ise *L. tropica* (%94) saptanmıştır.

Sonuç: Hatay'da göç öncesi yerli olgularda çoğunlukla KL'ye neden olan türün *L. infantum/donovani* olduğu gözlemlenirken, göç sonrası yerli olgularda *L. tropica*'nın artma eğiliminde olduğu, *L. major*'a ise geçmiş yıllara göre daha çok rastlandığı görülmektedir. Hatay'a gelen Suriye'lilerin KL etkeni olan *Leishmania* türlerinde çeşitliliğe neden olabileceği ve konu üzerinde daha ileri araştırmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kutanoz leishmaniasis, göç, gerçek zamanlı-polimeraz zincir reaksiyonu, Hatay

ABSTRACT

Objective: *Leishmania tropica* (*L. tropica*) and *Leishmania infantum* (*L. infantum*) are the species causing cutaneous Leishmaniasis (CL) in Turkey. There was a wave of immigration due civil war in Syria in 2011. Migration from Syria, where CL is endemic, to other countries is thought to affect the number of CL cases and species diversity. The aim of the study was to typify the samples of CL positive, pre-migration and post-migration Turkish patients and importe (Syrian) patients whose smears were found in the archive and to reveal the difference of CL species before and after migration in Hatay.

Methods: Smears of a total of 150 patients (50 Turkish patients before migration, 50 Turkish patients after migration and 50 Syrian patients) which had been prepared with dermal scraping, stained with Giemsa and determined as CL positive by microscope examination were included in the study. DNA isolation of selected preparations was performed and GZ-PZR analysis with ITS-1probe was performed for species determination.

Results: *L. infantum/donovani* was detected in 40 (80%), *L. tropica* in 8 (16%), and *L. major* in 2 (4%) of the samples belonging to pre-immigration Turkish patients. *L. infantum/donovani* was detected in 28 (56%), *L. major* in 3 (6%) and *L. tropica* in 19 (%38) of the samples belonging to post-immigration Turkish patients. *L. infantum/donovani* was detected in 2 (4%), *L. major* in 1 (2%) and *L. tropica* in 47 (94%) of the samples belonging to Syrian patients

Conclusions: It was observed that in local cases in Hatay before immigration, *L. infantum/donovani* was the common species that caused CL and that after immigration *L. tropica* began to raise and that *L. major* was more encountered than before. It was concluded that Syrians coming to Hatay may have caused diversity in the *Leishmania* species which were the causative agents of CL, and that further research was needed on the subject.

Keywords: Cutaneous leishmaniasis, migration, real-time polymerase chain reaction, Hatay

Bu çalışma 28 Eylül - 03 Ekim tarihleri arasında Çeşme / İzmir'de yapılan 21. Parazitoloji kongresinde poster olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi/Received: 05.11.2019 Kabul Tarihi/Accepted: 27.01.2020

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Tuğba Kaya, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

Tel/Phone: +90 507 490 26 07 E-Posta/E-mail: tugbakaya42@yahoo.com ORCID ID: orcid.org/0000-0001-7612-5414



GİRİŞ

Leishmaniasis, enfekte dişi tatarcıkların ısırmasıyla insana bulaşan parazitler bir hastalıktır. Kutanöz, mukokutanöz, visseral olmak üzere üç ana klinik tablo ile karşımıza çıkmaktadır. Kutanöz leishmaniasis (KL), hastalığın en sık karşılan formudur ve genellikle skar oluşarak kendiliğinden iyileşen deri lezyonlarına neden olur. Visseral leishmaniasis (VL) iç organları, etkilemektedir ve tedavi edilmediğinde ölüme sebep olabilmektedir. Mukokutanöz leishmaniasis (MKL) ise mukozayı tutarak tamamen ya da kısmen tahribatına sebep olan önemli bir klinik formdur (1,2). KL ve VL ülkemizde leishmaniasisin en sık görülen klinik formlarıdır ve genel olarak KL'ye *L. tropica* ve *L. infantum*, VL'ye ise *L. infantum* neden olmaktadır (3). VL Ege, Akdeniz ve İç Anadolu Bölgeleri'nde, KL ise Güneydoğu Anadolu Bölgesi başta olmak üzere Akdeniz, İç Anadolu ve Ege Bölgesi'nde görülmektedir (4-6). Türkiye'de 1990-2010 yılları arasında toplam 46.003 KL olgusunun olduğu bildirilmiştir (3). 2011 yılı Nisan ayında, Suriye'de yaşanan iç karışıklık nedeniyle yaklaşık 300-400 kişi Hatay ili Cilvegözü sınır kapısından giriş yapmış ve ilk sığınma kamplarına yerleşmişlerdir. İlimizde ilk yıl Altınözü, Yayladağı, Reyhanlı da toplam beş kamp kurulmuştur (7). Ancak bugün itibarıyla 10 ilimizde (başta Hatay, Şanlıurfa, Gaziantep olmak üzere) oluşturulmuş kamplar dışında 81 ilimizde 4 milyona yakın Suriye'li olduğu tahmin edilmektedir (4,7). Bu durum ülkemizin hemen hemen her yerinde importe KL olgularının görülmeye neden olmuştur. Göç sonrası 2013 yılında Türkiye'de Türk ve Suriyeli toplam KL olgu sayısı 5.362 ile son yılların en yüksek sayısına ulaşmıştır. 2015-2017 yılları arasında yıllık ortalama 2000-2.500 olgu görüldüğü Sağlık Bakanlığı tarafından bildirilmiştir (8).

Ülkemizde KL'nin en sık görülen türleri *Leishmania tropica* (*L. tropica*) ve *Leishmania infantum*'dur (*L. infantum*). Ancak 2010 yılı sonrası yapılan çalışmalarda *Leishmania major* (*L. major*) ve *Leishmania donovani*'nin (*L. donovani*) de KL'ye neden olan türler olduğu gösterilmiştir (9). Göç öncesi yapılan bir çalışmada, *L. infantum*'un Hatay ilinde KL'ye sebep olan türlerin başında geldiği saptanmıştır (10). Göç sonrası yapılan çalışmalarda ise *L. infantum* ile birlikte *L. tropica* ve *L. major*'unda Hatay'da KL'ye neden olan türler olduğu tespit edilmiştir (11,12). Suriye'de ise bildirilen KL olgularının büyük çoğunluğunun *L. tropica* kaynaklı olduğu ve geri kalan olguların ise *L. major* tarafından oluşturulduğu bilinmektedir (13).

Çalışmada, Hatay'da göç öncesi ve sonrası yerli (Türk hasta) ve importe (Suriye'li hasta) KL hastalara ait smear örnekleri arşivden seçilerek moleküler yöntem (GZ-PZR) ile tiplendirilmiş ve ilimizdeki göç öncesi ve sonrası KL tür farklılığının ortaya konulması amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Çalışmada; dermal kazıntı materyalinden yayma preparatı yapılmış, Giemsa boyama yöntemi ile boyanmış ve mikroskop (100 X immersiyon) ile incelemesinde *Leishmania* parazitinin amastigot formunun varlığı tespit edilmiş toplam 150 hastaya ait (göç öncesi 50 Türk hasta, göç sonrası 50 Türk hasta ve Suriyeli 50 hasta) preparatlar arşivden seçilmiştir. Seçilen örneklerin yayma preparatları lizis tamponu ile yıkanmış ve DNA izolasyon kiti (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen, Almanya) içerisinde bulunan protokole uygun olarak çalışılmıştır.

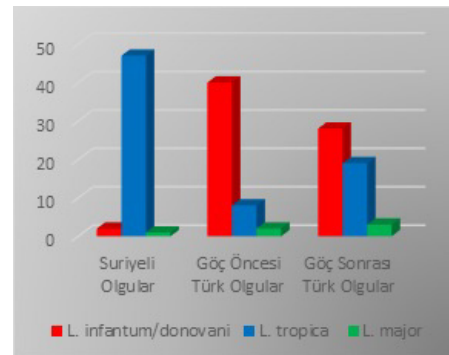
Örneklerde tür tayini yapabilmek için ITS1 problu GZ-PZR ile çalışılmıştır. *Leishmania* parazitlerinin ssu rRNA ve 5,8S rRNA'yı kodlayan genleri ayıran ribozomal internal transcribed spacer 1 (ITS1) bölgesi, Forward primer; 5'-CTGGATCATTTTCCGATG-3', Reverse Primer; 5'-GAAGCCAAGTCATCCATCGC-3' primerleri ile birlikte Probe 1: 5'- CCGTTTATACAAAAATATACGGCGTTTCGGTTTFluo-3', Probe 2: 5'-LCRed-640-GCGGGGTGGGTGCGTGTGTG-Pho-3' özgün probalar kullanılmıştır. PZR analizi için 1,5 µL H₂O (PCR grade water), 1 µL Forward Primer, 1 µL Reverse Primer, 0,5 µL Probe1, 0,5 µL Probe2, 12,5 µL QuantiTect Probe PCR Kit Master karışımı (Qiagen) ve 5 µL genomik DNA olmak üzere toplam hacmi 25 µL olan karışım hazırlanmıştır (14,15). Rotor-Gene cihazında melting analizi yapılarak tiplendirme yapılmıştır.

BULGULAR

Göç öncesi ve sonrasına ait seçilen Türk örneklerin kayıtlarına bakıldığında hastaların Altınözü, Hassa, Kırıkhan, Yayladağı, Samandağ gibi Hatay'da KL'nin sık olarak görüldüğü bölgelerden geldiği saptanmıştır. Göç öncesi yıllara ait seçilen preparatların GZ-PZR testi sonucunda 50 Türk örneğin 40'ının (%80) *L. infantum/donovani*, 8'inin (%16) *L. tropica*, 2'sinin (%4) *L. major* olduğu tespit edilmiştir. Göç sonrası seçilen 50 Türk örneğin ise 28'inin (%56) *L. infantum/donovani*, 3'ünün (%6) *L. major*, 19'unun (%38) *L. tropica* olduğu saptanmıştır. Suriye'li hastalara ait kayıtlarda daha çok İdlip, Halep, Hama gibi Suriye'nin KL açısından endemik olduğu bilinen bölgelerden geldiği tespit edilmiştir. Elli Suriyeli hasta örneğinin 2'si (%4) *L. infantum/donovani*, 1'i (%2) *L. major* ve 47'si (%94) ise *L. tropica* olarak tiplendirilmiştir (Şekil 1, 2).

TARTIŞMA

Türkiye'de KL halk sağlığı sorunu olarak güncelliğini korumaya devam etmektedir. KL, *Phlebotomus* (halk arasında yakarca, kum sineği, tatarcık olarak bilinen) cinsi vektör ile bulaşan önemli parazit hastalıklardan biridir. *Phlebotomus sergenti* ve *Phlebotomus papatasi* KL'nin bulaşmasında vektör olarak rol oynayan türlerdir (16). Hatay ili ile Suriye sınırı arası 46 km yakınlıktadır. Hatay'da, KL'nin endemik olan bazı köyleri (Kıyığören, Meydan, Yuvalı, Alahan Köyü) Suriye'ye yakın bir konumda yer almaktadır (17). Göç öncesi, Hatay'dan özellikle KL'nin endemik olduğu Suriye'nin Halep, Laskiye kentine turistik amaçlı günlük gidiş ve gelişlerin çok olması, taşımacılık yapan şoförler ile mevsimlik olarak çalışmaya



Şekil 1. Göç öncesi ve göç sonrası Türk olgular ile Suriyeli olguların karşılaştırılması

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

Bildiri: Bu çalışma 28 Eylül-03 Ekim tarihleri arasında Çeşme/İzmir'de yapılan 21. Parazitoloji Kongre'sinde poster olarak sunulmuştur.

KAYNAKLAR

- Özbel Y, Özensoy Töz S. Leishmaniasis. Özcel MA, Özbel Y, Ak M, editors. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları Kitabı. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını, No: 22; 2007. p. 197-244.
- <https://www.who.int/leishmaniasis/disease/en/>
- 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: 783-91.
- Uzun S, Gürel MS, Harman M. Kutanöz Layşmanyazis Tanı ve Tedavi Rehberi. Türk Dermatoloji Derneği, Haziran 2017. Galenos Yayınevi, İstanbul, Türkiye.
- Ok UZ, Balcioglu IC, Taylan Ozkan A, Ozensoy S, Ozbel Y. Leishmaniasis in Turkey. Acta Trop 2002; 84: 43-8.
- Gürel MS, Yeşilova Y, Ölgün MK, Özbel Y. Türkiye'de kutanöz leishmaniasisin durumu. Türkiye Parazit Derg 2012; 36: 121-9.
- <https://www.goc.gov.tr/turkiye-de-gecici-koruma>
- <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/zoontikvektorel-sarkicibani/istatistik>
- Özbilgin A, Töz S, Harman M, Günaslı Topal S, Uzun S, Okudan F, et al. The current clinical and geographical situation of cutaneous leishmaniasis based on species identification in Turkey. Acta Trop 2019; 190: 59-67.
- Toz SO, Nasereddin A, Ozbel Y, Ertabaklar H, Culha G, Sevil N, et al. Leishmaniasis in Turkey: molecular characterization of Leishmania from human and canine clinical samples. Trop Med Int Health 2009; 14: 1401-6.
- Culha G, Akyar I, Yıldız Zeyrek F, Kurt Ö, Gündüz C, Özensoy Töz S, et al. Leishmaniasis in Turkey: Determination of Leishmania Species by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS). Iran J Parasitol 2014; 9: 239-48.
- Özbilgin A, Çulha G, Uzun S, Harman M, Topal SG, Okudan F, Zeyrek F, Gündüz C, Östan İ, Karakuş M, Töz S, Kurt Ö, Akyar I, Erat A, Güngör D, Kayabaşı Ç, Çavuş İ, Bastien P, Pratlong F, Kocagöz T, Özbel Y. 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: 783-91.
- Haddad N, Saliba H, Altawil A, Villinsky J, Al-Nahhas S. Cutaneous leishmaniasis in the central provinces of Hama and Edlib in Syria: Vector identification and parasite typing. Parasit Vectors 2015; 8: 524.
- Özbilgin A, Çavuş İ, Yıldırım A, Kaya T, Ertabaklar H. Leishmania tropica Üzerinde In vitro ve In vivo İlaç Etkinliğinin Değerlendirilmesi: Pilot Çalışma. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2018; 42: 11.
- Toz SO, Culha G, Zeyrek FY, Ertabaklar H, Alkan MZ, Vardarlı AT, et al. A real-time ITS1-PCR based method in the diagnosis and species identification of Leishmania parasite from human and dog clinical samples in Turkey. PLoS Negl Trop Dis 2013; 7: e2205.
- Yaman M, Ozbel Y. The sandflies (Diptera: Psychodidae) in the Turkish province of Hatay: some possible vectors of the parasites causing human cutaneous leishmaniasis. Ann Trop Med Parasitol 2004; 98: 741-50.
- Çulha G, Doğramacı ÇA, Gülkan B, Savaş N. (Kutanöz leishmaniasis ve Hatay ilindeki durumu. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 2014; 71: 171-8.
- Çulha G, Akçalı C. Hatay ve çevresinde saptanan kutanöz leishmaniasis olguları. Türkiye Parazit Derg 2006; 30: 268-71.
- Çulha G, Doğramacı AÇ, Kaya T, Çavuş İ, Gülkan B, Özbilgin A. Imported cutaneous leishmaniasis cases detected in truck drivers in Hatay. Mikrobiyol Bul 2018; 52: 316-23.
- https://www.who.int/leishmaniasis/burden/Leishmaniasis_Syrian_Arab_Republic/en/
- Al-Salem WS, Pigott DM, Subramaniam K, Haines LR, Kelly-Hope L, Molyneux DH, et al. Cutaneous leishmaniasis and conflict in Syria. Emerg Infect Dis 2016; 22: 931-3.
- Saroufim M, Charafeddine K, Issa G, Khalifeh H, Habib RH, Berry A, et al. Ongoing epidemic of cutaneous leishmaniasis among Syrian refugees, Lebanon. Emerg Infect Dis 2014; 20: 1712-5.
- Kanani K, Amr ZS, Shadfan B, Khorma R, Rø G, Abid M, et al. Cutaneous leishmaniasis among Syrian refugees in Jordan. Acta tropica 2019; 194: 169-71.
- Hijawi KJ, Hijawi NS, Ibbini JH. (2019). Detection, genotyping, and phylogenetic analysis of Leishmania isolates collected from infected Jordanian residents and Syrian refugees who suffered from cutaneous leishmaniasis. Parasitol Res 2019; 118: 793-805.
- Gurses G, Ozaslan M, Zeyrek FY, Kılıç IH, Doni NY, Karagöz ID, et al. Molecular identification of Leishmania spp. isolates causes cutaneous leishmaniasis (CL) in Sanliurfa Province, Turkey, where CL is highly endemic. Folia Microbiol (Praha) 2018; 63: 353-9.
- Zeyrek FY, Gürses G, Uluca N, Yentür Doni N, Toprak Ş, Yeşilova Y, et al. Is the agent of cutaneous leishmaniasis in Sanliurfa changing? First cases of Leishmania major. Türkiye Parazit Derg 2014; 38: 270-4.
- <https://www.lafsozluk.com/2009/03/hatay-ilinin-ilceleri-ve-nufus-sayilari.html>