

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
VİH-YL-2005-0001**

**Ege Bölgesinde Köpeklerde Visseral Leishmaniasis'in
Seroprevalansı**

HAZIRLAYAN: Veteriner Hekim Abidin ATASOY

DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. Serdar PAŞA

AYDIN - 2005

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
VİH-YL-2005-0001**

**Ege Bölgesinde Köpeklerde Visseral Leishmaniasis'in
Seroprevalansı**

HAZIRLAYAN: Veteriner Hekim Abidin ATASOY

DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. Serdar PAŞA

AYDIN – 2005

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZ	I
ABSTRACT	II
ÇİZELGELER LİSTESİ	III
ŞEKİLLER LİSTESİ	IV
KISALTMALAR.....	V
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 Etiyoloji.....	4
2.2 Epidemiyoloji.....	7
2.3 Patogenez.....	15
2.4 Klinik ve Laboratuar Bulgular.....	17
2.4.1 Klinik Bulgular.....	17
2.4.2 Laboratuar Bulgular.....	19
2.5 Tanı.....	20
2.5.1 Parazitolojik Yöntemler.....	20
2.5.2 Serolojik Yöntemler.....	21
2.5.3 Moleküler Yöntem.....	22
2.6 Tedavi.....	22
3. MATERYAL ve YÖNTEM	24
3.1 Materyal	24
3.2 Yöntem	27
3.2.1 IFAT (İndirek Fluoresan Antikor Testi).....	27
3.2.1.1 IFAT Antijenli Lamaların Hazırlanması.....	27
3.2.1.2 IFAT Yöntemi Uygulanması.....	27
3.2.1.3 Sonuçların Yorumlanması.....	28
3.2.2 Parazitolojik Muayene.....	28
3.2.3 İstatistiksel Değerlendirme	29

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	29
4.1 Araştırma Bulguları.....	29
4.2 Tartışma.....	34
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	39
ÖZET	40
SUMMARY	42
TEŞEKKÜR	44
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	60

ÖZ

Visseral leishmaniasis (VL), ılıman, tropikal ve subtropikal iklim kuşağında yaşayan insan, evcil ve vahşi memeli hayvanların infeksiyöz bir hastalığıdır. Ülkemizde, seyahatlerin özellikle Akdeniz ikliminin hakim olduğu bölgelere kayması ve bu bölgedeki köpeklerde hastalığın görülmesi, visseral leishmaniasis'in son yıllarda Ege Bölgesi'nde önemini arttırmaktadır. Bu çalışmada, İzmir/Selçuk, Manisa/Turgutlu, Aydın/Merkez, Aydın/Kuşadası, Muğla/Marmaris ve Muğla/Bodrum'da visseral leishmaniasis'in en önemli rezervuarı olarak kabul edilen köpeklerde, hastalığın seroprevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, adı geçen yerleşim alanlarındaki Hayvan Barınaklarında bulunan 300 sokak köpeğinden alınan serum örneklerinde, anti-*Leishmania* antikorları IFAT yöntemiyle belirlenmiştir. Sonuç olarak, 300 köpekten 27'sinde (% 9) köpek visseral leishmaniasis'in varlığı belirlenmiştir. Bu verilerin gelecekte insan ve köpeklerde yapılacak çalışmalarda bir referans olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Visseral leishmaniasis, Köpek, Seroprevalans, Türkiye

ABSTRACT

Visceral leishmaniasis (VL) is an infectious disease of people, wild and domestic mammals living in tropical and subtropical climate zone. Recently in our country, intensified traveling through the places dominated by Mediterranean climate and existence of the disease in this region, increased the importance of the disease in Aegean region. In this study, it was aimed to determine seroprevalence of the disease in İzmir/Selcuk, Manisa/Turgutlu, Aydın/Centre, Aydın/Kusadasi, Mugla/Marmaris and Mugla/Bodrum in kennel dogs that are regarded as the main reservoirs for Visceral Leishmaniasis. For this purpose, anti-leishmania antibodies were determined with IFAT diagnostic procedure in serum samples gathered from 300 stray dogs in kennels from İzmir/Selcuk, Manisa/Turgutlu, Aydın/Centre, Aydın/Kusadasi, Mugla/Marmaris and Mugla/Bodrum. As a result, it was determined that twentyseven (9 %) of a total 300 dogs were infected with canin visceral leishmaniasis. We consider that the result of this study may be used as a reference on studies for human and dog in the future.

Key Words: Visceral leishmaniasis, Dog, Seroprevalence, Turkey

ÇİZELGELER LİSTESİ

		<u>Sayfa</u>
Çizelge 1:	<i>Leishmania</i> türlerinin coğrafik dağılımı ve klinik görünümü	7
Çizelge 2:	Türkiye’de CanVL ile ilgili yapılan seroprevalans çalışmalarına genel bakış	11
Çizelge 3:	CanVL’de başlıca klinik bulgular ve görülme sıklığı	18
Çizelge 4:	CanVL’de başlıca laboratuvar bulgular ve görülme sıklığı	19
Çizelge 5:	Çalışmanın yapıldığı yerleşim alanları, incelenen köpek sayısı ve seropozitif olan köpeklerin sayı ve yüzde oranları	30
Çizelge 6:	Seropozitif köpeklerin ırk, cinsiyet ve yaşları ile anti- <i>Leishmania</i> antikor titreleri ve lenf bezi sürme preparatlarının değerlendirme sonuçları	31

ŞEKİLLER LİSTESİ

		<u>Sayfa</u>
Şekil 1:	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji ABD’da tespit edilmiş bir VL’li bir çocukta hepatoşplenomegali olgusu (EÜ. Parazitoloji ABD arşivi 1998)	2
Şekil 2:	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji ABD’da tespit edilmiş sol kolda CL lezyonu (EÜ. Parazitoloji ABD arşivi 2001)	3
Şekil 3:	Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları ABD’da tespit edilmiş bir CanVL olgusu	3
Şekil 4:	<i>Leishmania infantum</i> ’un promastigot formu	6
Şekil 5:	<i>Leishmania infantum</i> ’un amastigot formu	6
Şekil 6:	Visseral Leishmaniasis’in yaşam döngüsü	9
Şekil 7:	Akdeniz ülkelerinde ve çevresinde CanVL seroprevalans dağılımı	14
Şekil 8:	Örnekleme alanlarının yapıldığı yerleşim alanları	25
Şekil 9:	Örnekleme alanlarının yapıldığı Aydın Belediyesi Hayvan Barınağından bir görünüm	26
Şekil 10:	Örnekleme alanlarının yapıldığı Bodrum Belediyesi Hayvan Barınağından bir görünüm	26
Şekil 11:	CanVL’in tespit edildiği bir köpeğin görünümü	32
Şekil 12:	Seropozitif bir köpekten alınan popliteal lenf bezi aspiratında amastigot form (x1000)	33

KISALTMALAR

CanVL	Köpek Visseral Leishmaniasis
CL	Kutanöz Leishmaniasis
DAT	Direkt Agglutinasyon Test
DCL	Diffuz Deri Leishmaniasis
ELİSA	Enzyme-Link Immunosorbent Assay
FCS	Fetal Sığır Serumı
LCA	Latent Class Analizi
İK	İmmun-kompleks
IFA	İmmunofloresans Antikor
MCL	Mukokutanöz Leishmaniasis
NNN	Novy-Nicolle-McNeal
PKDL	Post-Kala-Azar-Dermal Leishmaniasis
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
VL	Visseral Leishmaniasis
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

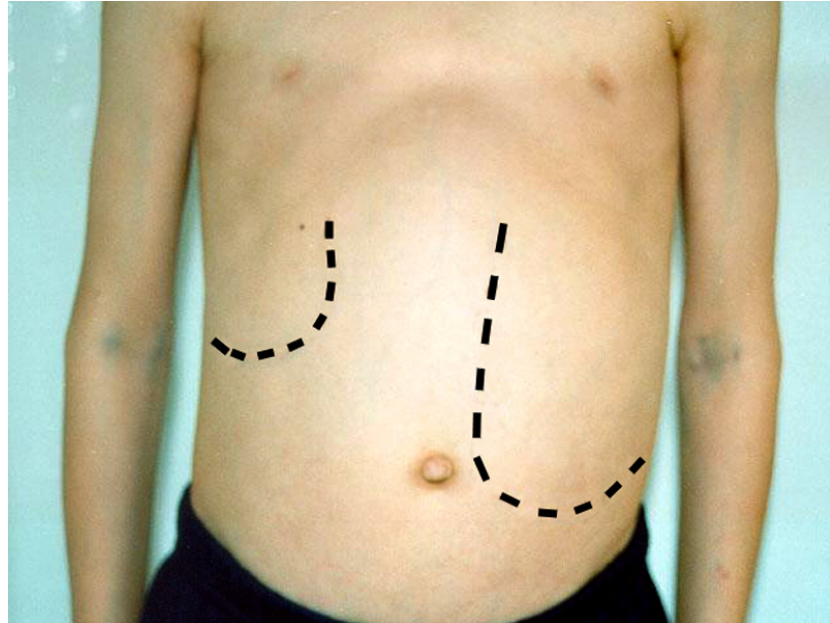
Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) belirlediği zoonoz hastalıklar arasında en önemlilerinden biri olarak kabul edilen leishmaniasis, kendiliğinden iyileşebilen deri formundan (kutanöz leishmaniasis, şark çıbanı), tedavi edilmediği durumlarda ölüme yol açabilen iç organları etkileyen formuna (visseral leishmaniasis, kala-azar) kadar geniş bir yerleşim gösterebilen, çoğunlukla ölümcül seyreden enfeksiyöz protozoal bir hastalıktır (Ciaramella ve ark., 1997; Strauss-Ayali ve Baneth, 2000; Desjeux, 2001; Papadopoulos ve ark., 2005).

Leishmania paraziti, ilk kez Güney Amerika'da yer alan And dağları bölgesinden dönen mevsimlik İspanyol işçilerinde görülmüş ve "Valley sickness" veya "Andean sickness" olarak isimlendirilmiştir. Ülseratif deri lezyonlarıyla karakterize olan bu hastalığa XV. ve XVI. yüzyıllardan kalma Inca yazıtlarında da değinilmiştir. İyileşmeyen burun ve ağız lezyonlarıyla cüzzama çok benzemesinden dolayı hastalığa "beyaz cüzzam" adı da verilmiştir. 1882 yılında Clarke, Hindistanlı hekimler tarafından, Sanskritçe "kala azar" adı verilen ve anlamı kara ateş "black fever" olan hastalığın Hindistan'da bazı yerlerde hemen hemen hiç insan bırakmayacak kadar ölümlere sebep olduğunu bildirmiştir (Unat, 1981).

Bu çok eski tarihlere dayanan ve nedeni bilinemeyen hastalık ilk kez 1900 yılında Leishman'ın ölen bir askerin dalağından yaptığı yayma preparasyonda ufak oval cisimler görmesiyle ortaya konulabilmiştir. Aynı yıl Donovan kala-azar vakalarında dalaktan hazırladığı yayma preparasyonlarda aynı etkeni görmüş ve bunların Trypanosoma olmadığını vurgulamıştır. 1903 yılında Major Ross bu parazitler için, *Leishmania* cinsini ortaya koymuş ve kala-azar etkenine *Leishmania donovani* ismini vermiştir (Unat, 1981; Kuman ve Altıntaş, 1996). 1908'de Nicolle, Akdeniz ülkelerinde bulduğu küçük kala-azar etkenlerine *L. infantum* adını vermiştir. 1911'de Vianna, Amerikan deri leishmaniasis olgularında bulduğu etkenleri *Leishmania brasiliense* olarak adlandırmış ve parazitlerin köpek, kedi, çakal gibi hayvanlarda da bulunduğunu belirtmiştir (Unat, 1981).

Türkiye’de, leishmaniasis’in varlığı ilk kez Kristamonas tarafından ortaya koyulmuş ve İzmir’de ilk bildirim de 1918 yılında Dr. Hofer Kaller tarafından yapılmıştır. Yapılan incelemeler 1931 yılında İbrahim Osman, 1936 yılında ise Dr. Akil Özden tarafından kala-azar vakalarının varlığının ortaya konulduğunu göstermiştir. 1936 yılı ve sonrasında Dr. Arif İsmet Çetingel tarafından yapılmış olan araştırmalarda hastalığa dikkat çekilmiş ve ülkemizde 1948 yılına kadar yüzden fazla kala-azar vakası belirtilmiştir. Yurdumuzda köpeklerde kala-azar bulunduğuna dair ilk yayın 1946 yılında Dr. Nurettin Onur tarafından yapılmıştır (Unat, 1981; Kuman ve Altıntaş, 1996).

Leishmania parazitlerinin insanlarda; Visseral leishmaniasis (VL), kutanöz leishmaniasis (CL), post-kala-azar-dermal leishmaniasis (PKDL), diffuz deri leishmaniasis (DCL) ve mukokutanöz leishmaniasis (MCL) gibi değişik hastalık formları (Kar, 1995) görülmekle birlikte hastalık ülkemizde yukarıda belirtilen tarihlerden günümüze değin, visseral (VL) (Şekil 1), kutanöz (CL) (Şekil 2) ve köpeklerde visseral leishmaniasis (CanVL) (Şekil 3) olarak karşımıza çıkmaktadır (Özensoy Töz ve ark., 2002).



Şekil 1. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji ABD’da tespit edilmiş bir VL’li bir çocukta hepatosplenomegali olgusu (EÜ. Tıp Fakültesi Parazitoloji ABD arşivi 1998)



Şekil 2. Ege Üniversitesi Parazitoloji ABD’da sol kolda tespit edilmiş CL lezyonu (EÜ. Parazitoloji ABD arşivi 2001)



Şekil 3. Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları ABD’da tespit edilmiş bir CanVL olgusu

Akdeniz ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de insanlarda görülen visseral leishmaniasis'in (Kala-Azar) doğadaki asıl rezervuarının evcil ve yabani köpekler olduğu ve hastalığın bir bölgede endemik veya sporadik olgularla devam etmesinde bu hayvanların en önemli rolü oynadığı bildirilmektedir (Slappendel ve Ferrer, 1990; Santos-Gomes ve ark., 2002; Molano ve ark., 2003; Ozensoy Toz ve ark., 2005a). Ülkemizde yapılan epidemiyolojik çalışmalar sırasında insan ve köpekden izole edilen suşlar, Fransa'da Montpellier'de zymodem analizi ile identifiye edilerek *L. infantum* MON-1 olarak tanımlanmış (Dedet JP., 1999, laboratuvar raporu) ve moleküler biyolojik araştırmalarda genotipik olarak aynı gruba girdikleri gözlenmiştir (Akman ve ark., 2000).

Bu çalışmada;

Köpeklerde visseral leishmaniasis'in insan sağlığı için potansiyel bir risk oluşturması, ulusal ekonomide neden olduğu kayıplar düşünüldüğünde hastalığın saptandığı bölgelerde gerekli korunma önlemlerinin alınabilmesi, bölgedeki Veteriner Hekimler ve Tıp Hekimlerinin durumdan haberdar edilerek bu hastalığı tanı ve ayırıcı tanıda göz önünde bulundurmalarının sağlanması için Ege bölgesinde (İzmir/Selçuk, Aydın/Merkez, Aydın/Kuşadası, Manisa/Turgutlu, Muğla/Bodrum, Muğla/Marmaris) sokak köpeklerinde seroprevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Etiyoloji

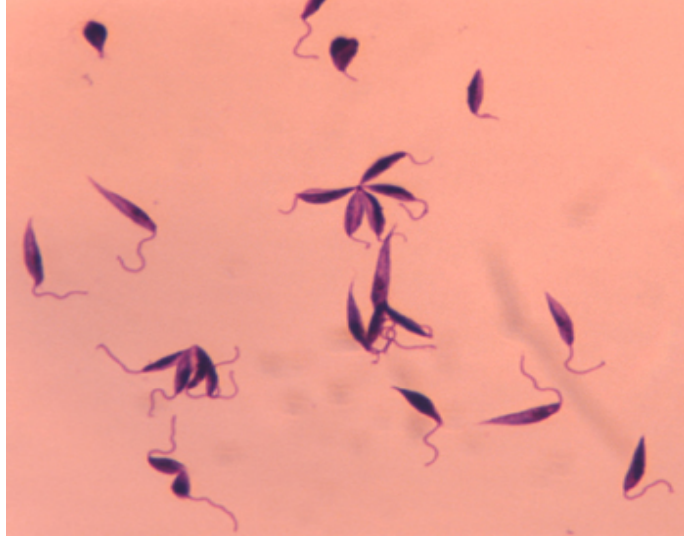
Leishmania paraziti, *Kinetoplastidae* sırasında, *Trypanosomatidae* ailesine ait olan bir protozoondur. Yaşamını devam ettirebilmesi için kemirgen, köpek veya insan gibi omurgalı ve tatarcık sinekleri gibi omurgasız iki farklı konakçıya ihtiyaç duyması nedeniyle difazik protozoon sınıfında yer almaktadır (Noli, 1999).

Leishmania tür ve alt türlerinin sınıflandırılmaları oldukça karmaşıktır. Başlangıçta morfolojileri, vektör sinekler, lezyonların tipi, serolojik testler ve coğrafik dağılıma

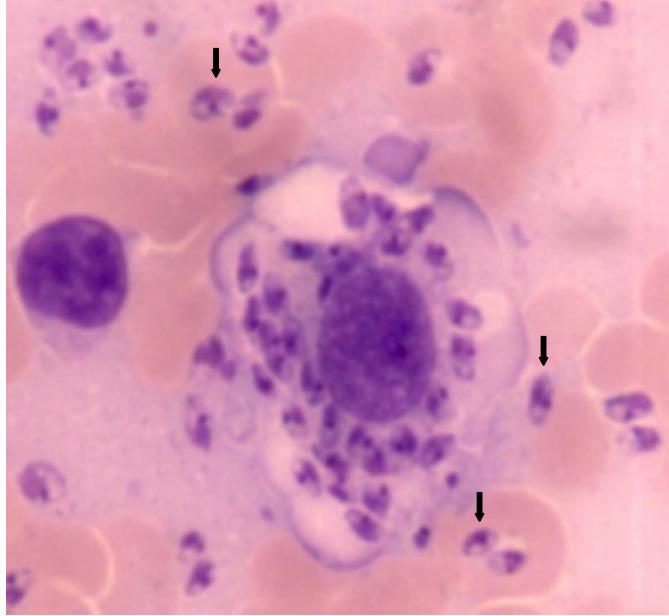
bakılarak sınıflandırılmaya çalışılan bu parazitin, bugün izoenzimatik çalışmalar, DNA peptit haritası, monoklonal antikorlar, hücre zarı yapısı analizleri ve yağ asit analizleri gibi daha gelişmiş tekniklerle 22 türü ve alt türünün identifiye edildiği bildirilmiştir (Noli, 1999; Molano ve ark., 2003).

CanVL'e neden olduğu bilinen ve identifiye edilmiş *leishmania* türlerinin Eski Dünya ülkelerinde, *L. infantum* ve *L. tropica*, Yeni Dünya ülkelerinde ise *L. chagasi* olduğu bildirilmiştir (Ayali-Straus ve Baneth, 2000). *Leishmania* türlerinin coğrafik dağılımı ve klinik görünümü çizelge 1'de özetlenmiştir.

Leishmania türlerinin yaşam devrelerinde, vektörde bulunan promastigot, insan ve diğer memelilerde bulunan amastigot olmak üzere iki ayrı form görülür. Vektör olan tatarcık sineklerinde bulunan flagellata (promastigot) formu, 10–15 µm uzunluğunda, 1,5- 2,5 µm genişliğinde mekik şeklinde bir vücuda, 15–28 µm uzunluğunda olan ve parazitin ön ucundan çıkan bir serbest kamçıya sahiptir (Şekil 4). Aksenik kültürlerde ve omurgasız vektörün sindirim kanalında çoğalmaktadırlar. Konakçıdan beslenme esnasında promastigotlar konakçıya geçer ve kamçılarını kaybederek amastigot formlara dönüşürler. Omurgalı konakçıda bulunan flagellasız olan amastigot formu ise 2–5 µm boyutlarında ve çekirdeğin yanı sıra çubuk biçiminde bir kinetoplast'a sahiptir (Şekil 5). Amastigot formu genelde canlılığını sürdürebileceği ve çoğalabileceği intraselüler bir pozisyonda, genellikle de makrofajlar içerisinde görülür (Noli, 1999; Slappendel ve Ferrer, 1990).



Şekil 4. *Leishmania infantum*'un promastigot formu



Şekil 5. *Leishmania infantum*'un amastigot formu

Çizelge 1. *Leishmania* türlerinin coğrafik dağılımı ve klinik görünümü

Hastalık formları	Eski Dünya Ülkelerinde	Yeni Dünya Ülkelerinde
Kutanöz	<u><i>L. aethiopica</i> spp.</u> - <i>L. aethiopica</i> <u><i>L. major</i> spp.</u> - <i>L. major</i> <u><i>L. tropica</i> spp.</u> - <i>L. tropica</i> ^d - <i>L. killicki</i>	<u><i>L. mexicana</i> spp.</u> - <i>L. mexicana</i> - <i>L. venezuelensis</i> - <i>L. amazonensis</i> - <i>L. pifanoi</i> - <i>L. garnhami</i> <u><i>L. braziliensis</i> spp.</u> - <i>L. braziliensis</i> ^a - <i>L. panamensis</i> ^a - <i>L. guyanensis</i> ^a - <i>L. peruviana</i> - <i>L. lainsoni</i> ^b
Visseral	<u><i>L. donovani</i> spp.</u> - <i>L. donovani</i> - <i>L. infantum</i> ^c	<i>L. chagasi</i> ^{a,c}

^aMuko kutanöz leishmaniasis’inde etkeni olabilmektedir. ^bKesin olarak belirlenememiştir. ^cCanVL’nin başlıca etkenidir. ^dKöpeklerde birkaç olguda görülmüştür (Slappendel ve Ferrer, 1990).

2.2 Epidemiyoloji

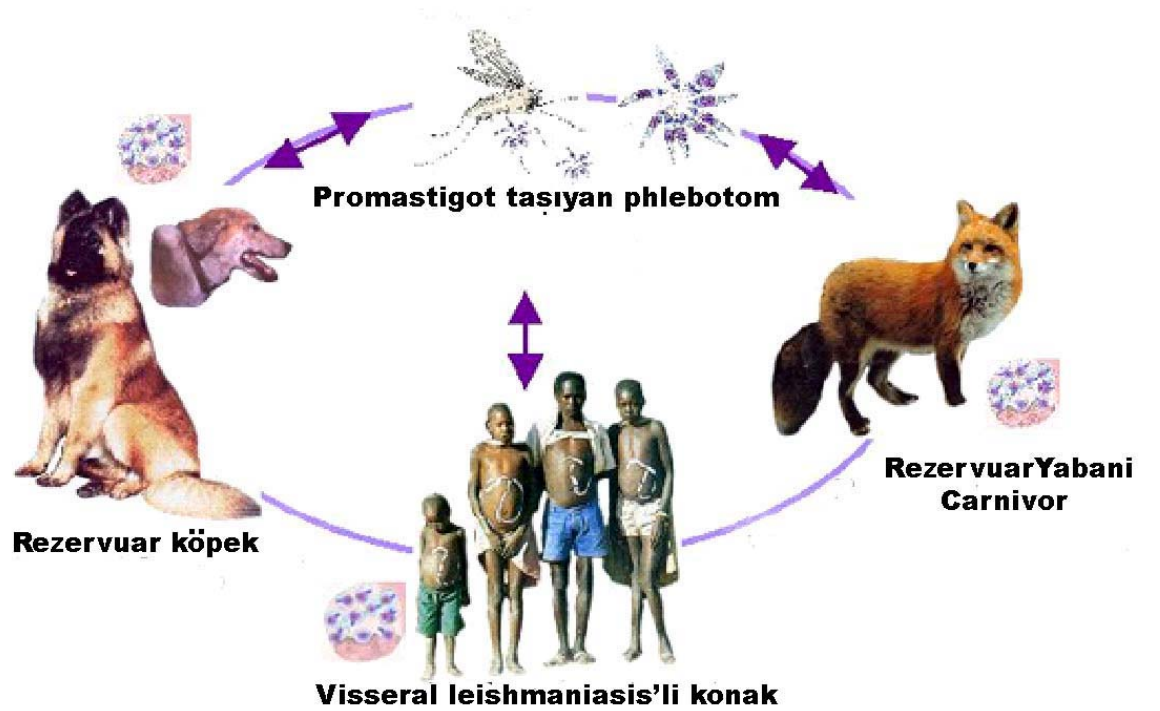
Leishmaniasis’in, 88 ülkede endemik olduğu DSÖ tarafından bildirilmektedir. Bununla beraber bugün için toplam 12 milyon insanın enfekte olduğu, her yıl 1-1.5 milyon insanın kutanöz leishmaniasis’e, 500.000 insanın da visseral leishmaniasis’e yakalandığı ve 350 milyon insanın da risk altında bulunduğu rapor edilmektedir (Desjeux, 2001; Scallig ve ark., 2002; Molano ve ark., 2003).

Epidemiyolojik olarak Leishmaniasis’de zoonotik ve antroponotik olmak üzere iki farklı form görülmektedir. Akdeniz ülkelerinde yaygın olarak görülen zoonotik formda, dişi tatarcık sinekleri tarafından enfekte edilen köpekler hastalığın asıl rezervuarlarıdır. Doğu Afrika’da, Bangladeş’de, Hindistan’da görülen antroponotik formda ise, hastalık vektör olan tatarcık sinekleri ile insandan insana bulaşmaktadır (Gallego, 2001).

CanVL’in oluşumunda uygun bir vektör, enfekte konak ve rezervuar ile nem, ışık, hava hareketi, beslenme ve konağın bağışıklık reaksiyonu gibi faktörler önemli rol oynamaktadır (Straus-Ayali ve Baneth, 2000). CanVL’in vektörü Eski Dünya ülkelerinde *Phlebotomus*, Yeni Dünya ülkelerinde ise *Lutzomyia* cinsi tatarcık sinekleridir (Reithinger ve Davies, 2002; Coutinho ve ark., 2005). Bilinen 500 *Phlebotomus* türünden sadece 30 tanesinin hastalığın vektörü olduğu belirtilmiştir (Slappendel ve Ferrer, 1990). Türkiye’de ise 18 *Phlebotom* türünün var olduğu ve bunlardan 9 tanesinin Eski Dünya leishmaniasis’inin muhtemel vektörü olabileceği bildirilmektedir (Yaşarol ve Sencer, 1964; Ozbel ve ark., 1995; Ok ve ark., 2002; Volf ve ark., 2002).

Phlebotom’lar deniz seviyesinden 100–800 m yükseklikte ve çoğunlukla kırsal bölgede bulunurlar. Yaşamlarını devam ettirebilen *Phlebotom*’ların, uçuş menzilleri oldukça sınırlı olup, doğduğu bölge etrafındaki 1,5 km’lik alanı aşamazlar (Strauss-Ayali ve Baneth, 2000). *Phlebotom*’ların en aktif olduğu zaman güneş batımıdır ve nadiren gece de aktivitelerini sürdürebilirler. Bu durum ilkbaharın başlangıcından, sonbaharın bitimine kadar sürer. Sıcaklığın 25–28 °C, nem oranının ise % 50’nin üzerinde olduğu dönemlerde *Phlebotom*’lar aktif olabilmektedirler. Hastalığın bulaşmasında 2–3 mm uzunluğundaki *Phlebotom*’ların dişileri rol oynamaktadırlar. Yumurtalarının gelişimi için gerekli olan proteinleri elde etmek amacıyla, amastigotları taşıyan enfekte omurgalı konaktan kan emerken içinde parazit bulunan makrofajları da alır. Vektör tarafından alınan amastigotların bir kısmı sindirilirken diğer bir kısmı şekil değiştirmeden bölünerek çoğalır ve daha sonra uzun ve zayıf yapıdaki formlara (Promastigot) dönüşürler. Tekrar form değiştirerek kısa ve geniş formda orta bağırsağın

ön kısmına doğru ilerlerler ve burada farinks tıkayacak kadar çoğalırlar. Enfekte kanın dişi phlebotom tarafından alınmasından 3–7 gün sonra ilk enfektif olan safhalar hortumda görülür. Enfektif promastigotlar vektör tarafından yine kan emme esnasında yeni omurgalı konağın kanına geçerek burada konağın çeşitli savunma mekanizmalarına karşı koyarlar. Özellikle komplemanın sitotoksik ve eritici etkisine karşı koyarak, savunma mekanizmalarını kendi lehine kullanarak konağın makrofajlarına girerler ve burada amastigot forma dönüşerek ikiye bölünme ile çoğalırlar (Şekil 6). Makrofajları patlatarak serbest kalan amastigotlar tekrar başka makrofajları işgal ederek dalak, karaciğer, kemik iliği gibi organlara dağılarak çeşitli patolojilere sebep olabilirler (Slappendel ve Ferrer, 1990; Strauss-Ayali ve Baneth, 2000).



Şekil 6. Visseral Leishmaniasis'in yaşam döngüsü

İnsanlarda ve köpeklerde leishmaniasis'in bulaşması ve yayılmasında nadir olarak da kongenital bulaşma, kan transfüzyonu, direkt temas, sindirim yolu ve laboratuvar inokülasyonlarının da rol oynadığı rapor edilmiştir (Symmers, 1960; Blanc ve Robert, 1984; Alvar ve ark., 1994; Mancianti ve Sozzi, 1995; Riera ve Valladares, 1996).

CanVL'de en önemli rezervuar evcil köpekler olmasına rağmen, insan, kemirgenler, yabani köpek ve kedilerin de tesadüfen konakçı olabildikleri bildirilmektedir (Koutinas ve ark., 1999; Gavgani ve ark., 2002; Martinez-Subiela ve ark., 2002; Molano ve ark., 2003; Mohebbi ve ark., 2004).

CanVL'in ırk, cinsiyet veya yaş predispozisyonuna bağlı olmadığı, ancak kırsal bölgelerde bulunanların ve av köpeklerinin hastalığa yakalanma riskinin daha fazla olduğu (Moreno ve Alvar, 2002), bununla birlikte çok genç ve çok yaşlı köpeklerde inkübasyon süresinin uzun olmasından dolayı hastalığın daha az görüldüğü bildirilmektedir (Denerolle, 1996; Noli, 1999). CanVL üzerine yapılan araştırmalarda (Abranches ve ark., 1991; Ozon ve ark., 1995) hastalığın gerek erkek gerekse dişilerde eşit oranda görüldüğü, ancak erkek köpeklerin dişilere göre hastalıktan daha çok etkilendiği rapor edilmiştir (Slappendel, 1988; Martinez ve Lleret, 1992; Denerolle, 1996; Ciaramella ve ark., 1997).

Köpeklerde *Leishmania* enfeksiyonunun prevalansı ve insidensi hakkında epidemiyolojik çalışmaların temelini serolojik araştırmalar oluşturmaktadır. Ülkemizde CanVL'in epidemiyoloji üzerine yapılan sınırlı çalışmalar, hastalığın seroprevalansının % 1,6 ile % 28,26 arasında değiştiğini göstermiştir (Ozbel ve ark., 1995; Coskun ve ark., 1997; Voyvoda ve ark., 2004; Ertabaklar ve ark., 2005). CanVL'in Ege ve Akdeniz bölgesinde 1981 yılında yapılan ilk epidemiyolojik araştırma sonucunda seroprevalansın % 1,6 oranında bulunduğu bildirilmektedir (Ozensoy Toz ve ark., 2005a). Manisa bölgesinde 490 köpek üzerinde yapılan çalışmada, hastalığın seroprevalansının % 3,6 ile % 19 oranında bulunduğu tespit edilmiştir (Ozbel ve ark., 2000). İzmir'in Karaburun ve Urla bölgelerinde de seroprevalansın % 23 ile % 27 arasında değiştiği rapor edilmektedir (Ozensoy Toz ve ark., 2005a). CanVL'in endemik olarak kabul edildiği Kuşadası'nda

yapılan bir çalışmada ise toplam 253 köpek incelenmiş ve hastalığın seroprevalansı % 16,6 olarak bulunmuştur (Ozensoy Toz ve ark., 2005a). Muğla'da seroprevalans oranının % 3,8, Denizli'de de % 20,7 olarak tespit edilmiştir (Ertabaklar ve ark., 2001; Ozensoy Toz ve ark., 2005a). Karabük'te ise CanVL'in seroprevalansının % 8, Çorum'da % 3,7 ile % 28,26 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Ertabaklar ve ark., 2005; Ozensoy Toz ve ark., 2005a). Aslantaş ve ark., (2005) tarafından Ankara'da yapılan bir çalışmada CanVL'in seroprevalansının % 2,58 oranında olduğu bildirilmiştir. Eskişehir yöresinde ise hastalığın seroprevalansın % 25 oranında olduğu saptanmıştır (Doğan ve ark., 2001). Türkiye'de CanVL ile ilgili yapılan seroprevalans çalışmaları Çizelge 2'de gösterilmiştir.

Çizelge 2. Türkiye'de CanVL ile ilgili yapılan seroprevalans çalışmalarına genel bakış

Araştırmacı(lar)	Yıl	Bölge veya şehir(ler)	İncelenen Köpek sayısı	Prevalans Oranı
Coşkun ve ark.	1997	Bursa, Muğla, İstanbul	182	% 5,5
Özensoy ve ark.	1998	Manisa/ Alaşehir Karabük	494	% 3,6-% 8,7
Ozbel ve ark.	2000	Manisa	490	% 3,6-% 19
Doğan ve ark.	2001	Eskişehir		% 25
Ertabaklar ve ark.	2001	Muğla Göktepe Köyü	52	% 3,8
Özensoy Toz ve ark.	2002	Karaburun ve Urla	55	% 23-% 27
Voyvoda ve ark.	2004	Aydın, İzmir/ Selçuk	158	% 3,2
Özensoy ve ark.	2005	Kuşadası	253	% 16,6
Ertabaklar ve ark.	2005	Çorum	131	% 3,7-% 28,26
Aslantaş ve ark.	2005	Ankara	116	% 2,58
Özensoy ve ark.	2005	Aydın/Kuşadası	253	% 16,6

Avrupa'da ise insanlara göre köpeklerin visseral leishmaniasis'e daha sık yakalandıkları ve hastalığın ana kaynağı oldukları rapor edilmektedir (Ashford ve Bettini, 1987). Akdeniz Ülkelerinde de CanVL üzerine yapılan bir çok epidemiyolojik araştırma, seroprevalansın % 1,6 ile % 44,9 arasında değiştiğini göstermektedir (Bettini ve Gradoni, 1986; Valladares ve ark., 1996; Fernandez-Perez ve ark.,1999; Lachaud ve

ark., 2002).

Portekiz’de köpeklerde *L. infantum*’un seroprevalansının % 0,7 ile % 8,5 arasında değiştiği bildirilmektedir (Semiao-Santos ve ark., 1995). Fransa’da CanVL’in bölgelere göre seroprevalansının % 26,5 oranında olduğu bildirilmiştir (Morena, 2002).

Maroli ve ark., (2001) İtalya Santa Anastasya’da 326 köpek üzerinde yapılan çalışmada hastalığın seroprevalansını % 40,4 olduğunu rapor etmişlerdir. Gambino ve ark., (1997) ise Sicilya’da hastalığın seroprevalansını % 44,9 olarak tespit etmişlerdir. İtalya’nın Apulia bölgesinde hastalığın seroprevalansı % 14,5, Tuscany bölgesinde ise % 24 olarak tespit edildiği bildirilmektedir (Moreno ve Alvar, 2002).

İspanya’da CanVL’nin seroprevalansının Madrid’de % 5, Priorato bölgesinde ise % 18 olduğu bulunmuştur (Moreno ve Alvar, 2002). Seroprevalansın Güney İspanya’nın kırsal bölgesinde ise Nisan ayında % 12, Ekim ayında ise % 18’e kadar yükselebildiği tespit edilmiştir (Acedo-Sanchez ve ark., 1998).

Yunanistan’da *L. infantum*’un endemik olduğu (Sideris ve ark., 1999) ve köpeklerde hastalığın seroprevalansının % 22,4 olduğu bildirilmektedir (Gallego, 2001).

Almanya’da ise köpeklerde *L. infantum* olgularının görüldüğü ve bu olguların hastalığın endemik olarak seyrettiği bölgelere yapılan yolculuklar sonrasında ortaya çıktığı bildirilmektedir (Koehler ve ark., 2002).

Tunus , Cezayir ve Malta’da köpeklerde CanVL’in varlığı bildirilmiş ve enfeksiyon oranının Tunus’ta % 6 (Ben sait ve ark., 1992), Cezayir’ de % 37,5 (Belazzoug, 1987), Malta’da ise % 17,3 olarak saptanmıştır (Dye ve ark., 1998).

CanVL’nin seoprevalansı Venezüella’da % 20 (Zerpa ve ark., 2001), Brezilya’da % 36 (Ashford ve ark., 1998) olarak saptanmıştır.

CanVL’in Türkiye’den Portekiz’e kadar olan Avrupa kıyı bölgelerinde, Kuzey ve Güney Afrika’da, Orta Doğuda, Çin’de de endemik olduğu (Santos-Gomes ve ark., 2002) ayrıca İsrail’de % 11,5 (Baneth ve ark., 1998) İran’da % 21,6-40,6 (Gavgani ve

ark., 2002; Mohebalı ve ark., 2005), Kıbrıs'da % 10 (Deplazes ve ark., 1998) Azerbaycan, Türkmenistan, Kazakistan ve Ermenistan gibi ülkelerde de olgulara rastlanıldığı bildirilmektedir (Strelkova ve ark., 1993; Gasanzade ve ark., 1990). CanVL ile ilgili sporadik vakalara İsviçre, Hollanda, Amerika Birleřik Devletleri ve Kanada gibi ülkelerde de rastlandığı bildirilmektedir (Strauss-Ayali ve Baneth, 2000). Akdeniz lkelerinde ve çevresinde CanVL seroprevalans dağılımı şekil 7'de gösterilmiştir.

2.3 Patogenezi

CanVL'in etkeni vücuda tatarcıkların konakçıdan kan emmesi esnasında bulaşır. Köpeklerde etkenin tüm vücuda yayılmadan ve semptomlar görülmeden önce, lokal bir deri yangısı gelişir (Cotran ve ark., 1999). Konakçının immun durumuna bağlı olarak belirgin klinik belirtilerin ortaya çıkması 1 aydan 7 yıla kadar sürebilir (Slappendel ve Ferrer, 1990). Hastalığa yakalanan hayvanların immun yanıtına bağlı olarak hastalığın seyri asemptomatik veya semptomatik olabilmektedir (Moreno, 2002). İmmun yanıtın güçlü olmasına göre parazitin kontrolü sağlanabileceğinden hastalığın seyri asemptomatik olarak devam edebilmektedir (Belkaid ve ark., 2000).

Leishmania zorunlu intraselüler bir parazit olduğundan savunma sisteminin direnci ve makrofaj aktivitesi T lenfosit aktivitesine bağlıdır (Santos-Gomes ve ark., 2002). Hastalığa yakalanan hayvanlardaki T lenfosit miktarının hasta olmayan hayvanlara göre belirgin bir şekilde azaldığı ortaya konulmuştur (Moreno ve Alvar, 2002). T lenfosit miktarının lenfoid dokularda azalması, hastalığa karşı savunma amacıyla sayısını arttıran plazma hücreleri ve/veya makrofajların aktivitesini ve amastigotların elemine edilme yeteneklerini kısıtlar. Aynı zamanda B lenfositler, histiositler ve makrofajların sayısını artması generalize lenfadenopati ve hepatosplenomegali gibi klinik bulguların meydana gelmesine neden olur (Guarga ve ark., 2000).

Makrofajların fagositoz yeteneklerini artırmak amacıyla amastigotların üzerine tutunan immunglobulinlerin aşırı miktarda üretilmesi sonucu hasar oluşturan etkileri ortaya çıkar. Antikor yanıtın aşırı olmasıyla kontrolsüz şekilde üretilen immunglobülinler arasında oto-antikor üretimi de olur ve bunlar immun-mediator trombositopeni ve anemi gibi patolojik durumların gelişmesine neden olabilirler (Slappendel ve Ferrer, 1990).

T lenfosit aktivitesindeki azalma ve fazla miktarda B lenfosit üretimi dolaşımdaki immun-kompleks (IK) miktarında artmaya neden olur. IK'in damar duvarlarına verdiği zararlar vaskulitis, poliartritis ve glomerulonefritis meydana gelebilir. IK komplementleri kan hücrelerine bağlanarak yaşam sürelerini kısaltır. IK'in böbreklerde birikmesiyle de

CanVL'de ölümlere neden olabilen böbrek yetmezlikleri oluşabilir (Lopez ve ark., 1996). Ayrıca kan serumlarında IK oluşan hastalarda, proteinlerin damarlarda çökmesiyle işemik nekrozis, vaskulitis, poliartritis, uveitis ve glomerulonefritis'ler meydana gelebilmektedir (Pumarola ve ark., 1991; Spreng, 1993; Garcia-Alonso ve ark., 1996).

CanVL'de trombositopeni, hiperglobulinemi, paraglobulinemi ve üreminin trombosit fonksiyonları üzerine olumsuz etkisi, IK, oto-antikorlar ve kemik iliğinin baskılanması gibi nedenlerle fibrin polimerizasyonu engellenmesi sonucu meydana gelebilir. Buna bağlı olarak hastalarda epistaksis ve diğer hemorajik diatez belirtileri görülebilmektedir (Slappendel ve Ferrer, 1990).

CanVL'de genel patolojik olay parazitin girdiği dokuda makrofajların toplanması, proliferasyonu ve ana dokunun yerini almasıdır. *Leishmania* paraziti kan monositleri, histiositler, makrofajlar, epiteloid hücreler, karaciğerde Kupffer hücreleri, dalakta kırmızı pulpa hücreleri, kemik iliği, bağırsak duvarının ve lenfoid dokunun mononükleer fagositik hücreleri içerisinde çoğalarak;

- Şiplenomegali ve hepatomegaliye,
- Kemik iliğinde genellikle hiperplazi ve diseritropoezise,
- Lenfadenopatiye,
- Dalaktaki hipertrofiye bağlı olarak ortaya çıkan splenomegali sonucunda eritrositlerin, granülositlerin ve trombositlerin kısa sürede yıkımına, etkisiz eritropoez sonucu ciddi pansitopeni tablosunun ortaya çıkabilmesine,
- İnce bağırsaklarda özellikle peyer plaklarının etrafında bulunan submukozanın amastigotlu makrofajlarca istilasına bağlı malabsorpsiyon, diyare ve özellikle albumin kaybının sıklıkla meydana gelebileceği belirtilmektedir (Buracco ve ark., 1988; Lappin, 1992; Engwerda ve Kaye, 2000).

2.4 Klinik Bulgular ve Laboratuvar Bulgular

2.4.1 Klinik Bulgular

Köpeklerde sistemik kronik bir hastalığa neden olan CanVL’de görülebilen klinik bulgular ve görülme sıklığı Çizelge 3’de özetlenmiştir.

Visseral leishmaniasis’li köpeklerde, klinik bulgular hastalığın seyrine göre değişim göstermekle birlikte, deri anormallikleri en sık karşılaşılan bulgulardır. Deri lezyonlarının karakteri, hiperkeratoz, depigmentasyon, kepeklenme ve ülseratif deri lezyonlarına kadar değişim gösterebilmektedir. Kıl örtüsü ve derideki anormallikler, tüm vücutta görülebildiği gibi burun, göz çevresi, kulaklar ve ayaklara da lokalize olabilmektedirler. Kıl örtüsü çoğunlukla bozulmuş, kuru, gevrek bir görünümde ve lokal veya yaygın alopesik alanlara da rastlanılabilmektedir. Meydana gelen dermatitis’ler mukokutanöz ülserler ve küçük intradermal nodüller şeklinde olabilir. Kuru ve anormal biçimde uzamış tırnaklarda (onychogryphosis) spesifik olarak karşılaşılan klinik bulgular arasında yer alır (Slappendel ve Ferrer, 1990).

Visseral leishmaniasis’de lokal veya generalize lenfadenopati, kilo kaybı ve kaslarda atrofi, muköz membranlarda solgunluk, şipenomegali ve eksersiz intolerans en sık karşılaşılan diğer klinik bulgular arasındadır (Ciaramella ve ark.; 1997; Koutinas ve ark., 1999; Strauss-Ayali ve Baneth, 2000; Voyvoda ve ark., 2004; Paşa ve ark., 2005). Depresyon, okular lezyonlar, epistaksis, poliuri-polidipsi, ishal, kusma, topallık ve öksürük gibi klinik bulgularında görülebildiği bildirilmiştir (Koutinas ve ark., 1999; Paşa ve ark., 2005). Çoğu hastada iştahsızlık olmaksızın kilo kaybı meydana gelirken bazı hastalarda ise renal yetmezliğe bağlı olarak anoreksi, mental depresyon, poliüri, polidipsi ve kusma ile karşılanabilir (Slappendel ve Ferrer, 1998).

Hastanın fiziksel aktivitesindeki azalmayla beraber belirgin bir uyuşukluk, eksersiz ve hareket etme isteğinde azalma gibi belirtiler görülebilir. Bunun yanında poliarthritis, polimiyositis, ayak tabanında çatlaklar, interdigital ülserler hatta osteolitik veya proliferatif periostitis gibi problemlerle de karşılanabilir. Hastanın vücut ısısı çoğu

zaman normal bir seyir izlerken, bazen subfebril olarak belirlenebilmektedir (Slappendel ve Ferrer, 1990).

Çizelge 3. CanVL’de başlıca klinik bulgular ve görülme sıklığı (Ciaramella ve ark., 1997^a ; Slappendel ve Ferrer, 1998^b; Koutinas ve ark., 1999^c)

Klinik Bulgular	Görülme sıklığı (%)
Deri lezyonları	81–89 ^{c,b}
Lenfadenomegali	65,2–90 ^{a,b,c}
Solgun muköz membranlar	58 ^c
Oküler bulgular	18 ^a
Kaşeksi	10,1–47,5 ^{a,b,c}
Şiplenomegali	9,5–53,3 ^{a,b,c}
Ateş	4–36 ^{a,b}
Epistaksis	6,3–10 ^{a,c}
Artropatiler	3,2–4 ^{a,c}
Asites	1,3–3 ^{a,c}

2.4.2 Laboratuvar Bulgular

CanVL’de laboratuvar bulgular hastalığın seyri, safhası ve şiddetine göre değişiklikler gösterebilir. Hastalıkta görülebilen başlıca laboratuvar bulgular ve görülme sıklığı Çizelge 4’de özetlenmiştir.

Çizelge 4. CanVL’de başlıca laboratuvar bulgular ve görülme sıklığı (Ciaramella ve ark., 1997^a; Slappendel ve Ferrer, 1998^b; Koutinas ve ark.,1999^c)

Klinikopatolojik Bulgular	Görülme sıklığı (%)
Hiperproteinemi	63.3 -72,8 ^{a, c}
Hiperglobulinemi	70.6 – 100 ^{a, b}
Hipoalbuminemi	68 – 94 ^{a, b}
Albumin/Globulin oranında azalma	76 ^a
Nonregenerative anemi	60 -73,4 ^{a, c}
Trombositopeni	29.3 - 50 ^{a, b}
Lökositozis	24 ^a
Lökopeni	22 ^b
ALT, GGT ve ALP aktivitesinde artış	16 ^a
Üre ve kreatinin düzeyinde artış	16 – 45 ^{a, b}
Hafif veya şiddetli proteinuri	71.5 – 85 ^{b, c}

2.5 Tanı

CanVL'in tanısı, enfekte köpeklerin bazılarında herhangi bir bulgunun görülmemesi, köpeklerde genetik farklılıkların ve enfeksiyonun şiddetine bağlı olarak ortaya çıkan klinik bulguların pek çok hastalıkla karışabilmesi, hematolojik ve serum biyokimyasal bulguların spesifik olmaması nedeniyle güçtür. Bu nedenle CanVL'de kesin tanının konulabilmesi amacıyla birçok test yöntemleri geliştirilmiştir (Slappendel ve Ferrer, 1990; Ciaramella ve ark., 1997; Roura ve ark., 1999; Strauss-Ayali ve Baneth, 2000; Otranto ve ark., 2004; Schallig ve ark., 2004; Mohebalı ve ark., 2005).

2.5.1 Parazitolojik Yöntemler

Etkenin amastigot formlarının, lenf yumruları ve/veya kemik iliği aspiratlarından hazırlanan yayma preparatlarda (Slappendel ve Ferrer, 1998; Saridomichelakis ve ark., 2005) veya deri lezyonlarından ve mukozalardan hazırlanan sürme preparatlarda direkt olarak görülmesi esasına dayanan bir yöntemdir (Font ve ark., 1996; Straus-Ayali ve Baneth, 2000). CanVL'nin tanısında kullanılan bu yöntemin spesifitesi % 100 olmasına rağmen sensitivitesi oldukça düşüktür (Ciaramella ve ark., 1997). Giemsa boyama yöntemiyle boyanan frotilerde parazitler koyu nükleuslu, küçük kinetoplast içeren oval hücreler (2–5 µm) tarzında görülmektedir (Straus-Ayali ve Baneth, 2000).

Etkenin amastigot formları indirekt olarak dokulardan alınan biopsi örneklerinin immunohistokimyasal yöntemlerle incelenmesiyle de tespit edilebilmektedir (Ferrer ve ark., 1988; Bourdoiseau ve ark., 1997; Roura ve ark., 1999). Dokulardan alınan biopsi örneklerinin aseptik koşullarda Novy-Nicolle-McNeal (NNN), Schneider's Drosophila ve % 10–30 Fetal Sığır Serum (FCS) ilave edilmiş RPMI 1640 gibi besi yerlerine ekilmesiyle de parazit tespit edilebilmektedir. Ancak bu besi yeri kullanımının sonuçlanması yaklaşık 1 ay kadar sürmesi nedeniyle rutinde kullanılmasını güçleştirmektedir. Kültürlerin başlıca kullanım alanı parazitin izole edilmesine dayandırılır (Evans, 1987; Portus, 1987; Portus, 1997).

2.5.2 Serolojik Yöntemler

Serolojik yöntemin uygulandığı semptomatik veya asemptomatik klinik seyir gösteren CanVL'li köpeklerde hemen hemen her zaman spesifik humoral yanıtın gelişeceği saptanmıştır. Günümüzde etkene karşı gelişen anti-*Leishmania* antikorlar, farklı serolojik yöntemlerle belirlenmektedir. CanVL'in etkenine karşı gelişen *anti-Leishmania* antikorları immunofloresans antikor (IFA), direkt agglutinasyon test (DAT), enzyme-link immunosorbent assay (ELİSA), Dot-ELISA, slide-ELISA, western blotting gibi serolojik testlerle belirlenebilmektedir (Mancianti ve Meciani, 1988; Neogy ve ark., 1992; Aisa ve ark., 1998; Soto ve ark., 1998; Schallig ve ark., 2001; Schallig ve ark., 2002). Bunlar arasında IFA, Dot-ELİSA ve DAT bugün için en çok kullanılan serolojik testlerdendir (Ferrer ve ark., 1995; Mancianti ve ark., 1995; Vercammen ve ark., 1997; Schallig ve ark., 2002) Bu serolojik testler genellikle yüksek spesifite ve sensitiviteye sahiptirler (% 80-100). Bu yöntemlerde yeterli sensitivite ve spesifitenin sağlanmasının en çok saf antijenlerin kullanmasına bağlı olduğu belirtilmektedir (Strauss-Ayali ve Baneth, 2000).

ELISA'daki recombinant antijen rK39'la birlikte seroreaktivitenin, (Burns ve ark., 1993) akut CanVL'nin görünümüyle doğru orantılı olduğu vurgulanmaktadır (Baneth ve ark., 1999; Rhalem ve ark., 1999). Ancak yalnızca antikorların varlığının tespiti diğer kinetoplastid parazitlerle çapraz reaksiyonlar gösterebileceğinden anti-*Leishmania* antikor titrelerinin belirlenmesi ile daha doğru sonuçların elde edilebileceği bildirilmektedir (Noli, 1999; Gradoni, 1999). CanVL'de serolojik titreler ile hastalığın klinik bulgularının şiddeti arasında bir ilişkinin olmadığı, hatta bazı hastalarda klinik iyileşmeden sonra anti-*Leishmania* antikor titrelerinin yüksek kaldığı rapor edilmektedir (Lanotte ve ark., 1979; Ferrer, 1997; Fisa ve ark., 1999; Noli, 1999; Pasa ve ark., 2005).

Nepalde, 2000–2002 yılları arasında 310 klinik olarak VL şüpheli hastada yapılan bir çalışmada, pansitopeni, formol-gel test (FGT), IFAT, DAT ve rK39 dipstick testlerinin VL tanısında geçerlilikleri kıyaslanmıştır. Çalışmada ayrıca kemikiliği aspiratları da alınmış, aspiratların negatif bulunduğu olgularda dalak frotileri de

Leishmania donovani açısından değerlendirilmiştir. Bütün testlerin sensitivite ve spesifiteleri, parazitolojik ve latent class analizi (LCA) ile saptanmıştır. Parazitolojik olarak yapılan kıyaslamada, testlerin sensitivite ve spesifiteleri şöyle belirlenmiştir: pancytopenia = % 16,3 (% 95 güvenirlilikle [CI] = % 11,3–22,5), FGT = % 39,9 (% 95 CI = % 32,7–47,4), IFAT = % 28,4 (% 95 CI = % 22,0–35,5), DAT = % 95,1 (% 95 CI = % 90,8–97,7), rK39 dipstick test = % 87,4 (% 95 CI = % 81,7–91,9). LCA ile belirlenen sensitivite ve spesifiteleri de parazitolojik olarak belirlenenlere benzerlik göstermiş fakat spesifitelerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. (DAT = % 77,8'e karşı % 93,7, rK39 dipstick test = % 77,0'a karşı % 93,1). Çalışma sonunda, DAT veya rK39 dipstick testlerinin visseral leishmaniasisde sağaltıma karar verilmesi aşamasında parazitolojik olarak tekrarlanabileceği belirtilmiştir (Boelaert ve ark., 2004).

2.5.3 Moleküler Yöntem

Köpeklerden alınan taze veya formaldehit ile tespit edilmiş doku örneklerinden *Leishmania* tür ve alt türlerinin identifikasyonu yüksek spesifite ve sensitiviteye sahip polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemiyle belirlenebilmektedir (Berrahal ve ark., 1996; Campino ve ark., 2000; Lachaud ve ark., 2002). Alınan doku örneklerindeki parazit DNA'sı; r-RNA genindeki küçük alt ünitenin *Leishmania* segmentine karşı (Mathis ve Deplazes, 1995), *Leishmania* kinetoplast DNA'sının değişmeyen bölgesine karşı (Ashford ve ark., 1995; Ozbek ve ark., 2000; Roura ve ark., 1999) veya 51 kD'luk antijeni kodlayan *Leishmania* DNA'sına karşı (Berrahal ve ark., 1996) dizayn edilmiş primerler kullanılarak tespit edilmektedir. Pek çok dokudan alınan örneklerin incelenemediği bu test, özellikle kemik iliği ve lenf yumrusu aspiratlarının incelenmesiyle diğer parazitolojik yöntemlere göre daha yüksek spesifite ve sensitiviteye sahiptir (Reale ve ark., 1999; Zerpa ve ark., 2001; Schalling ve Oksam, 2002).

2.6 Tedavi

İnsan ve evcil köpeklerde leishmaniasis'in sağaltımında kullanılan ilaçlar birbirine benzerlik göstermektedir. Afrika Tripanomiazis'in tedavisinde etkili olan tartar emetiğin (Antimone potasium tartarat) aynı zamanda Kuzey Amerika'da *Leishmania*

braziliensis'in tedavisinde de etkili olduğu 1912 yılında Gaspar Viaana tarafından rapor edilmiştir (Manson, 1996). O zamandan bugüne kadar trivalen antimonial bileşiklerin diğerk coğrafik bölgelerde de visseral ve kutanöz leishmaniasis'in tedavisinde hızlı ve geniş kullanım alanı bulmuştur. 1920'de benzen halkalarıyla bağı toksik etkisi daha az olan pentavalent antimonial içeren fenilstibonik asit, 1937'de ise daha güvenilir olan pentavalen antimonial bileşiklerden sodyum stiboglukonat Schmidt tarafından Almanya'da sentez edilmiştir.

İnsanlarda ve köpeklerde hastalığın tedavisinde son 50 yıldan beri pentavalent antimonial bileşiklerden olan meglumine antimoniat ve sodium stiboglukonat en sık kullanılan ilaçlardandır (Herwaldt ve Berman, 1992; Baneth ve Shaw, 2002). Meglumine'nin, yan etkilerinin sodium stiboglukonat'dan daha az olduğu bildirilmektedir (Noli, 1999). CanVL'in tedavisinde, meglumine antimoniat'ın 100 mg/kg ve sodium stiboglukonat'ın 30-50 mg/kg deri altı, 3-4 hafta uygulanması sonucu iyi yanıtların alınabileceğı rapor edilmektedir (Slappendel ve Ferrer, 1990; Valladares ve ark., 1998; Riera ve ark., 1999; Cavaliero ve ark., 1999).

Antimonial tedavide, tam bir parazitolojik iyileşmenin olmayışı, ilaca karşı direnç gelişimi, meydana gelebilen nüksler, toksisite ve ilacın pahalı olması gibi nedenlerden dolayı CanVL'in tedavisinde daha etkili farklı tedavi protokollerini amaçlayan çalışmalar yapılmıştır (Strauss-Ayali ve Baneth, 2000; Baneth ve Shaw, 2002; Pasa ve ark., 2005). Avrupada, visseral leishmaniasis'li köpeklerin, pentavalent antimonlar ile yalnız başlarına (Valladares ve ark., 1998; Riera ve ark., 1999) veya allpurinol ile kombine edilerek tedavi edilebildikleri bildirilmektedir (Alvar ve ark., 1994; Ferrer ve ark., 1995; Slappendel ve Ferrer, 1998; Denerolle ve Bourdoiseau, 1999; Pasa ve ark., 2005). Bazı araştırmacılar da (Liste ve Gascon, 1995; Vercammen ve De Deken, 1996; Ginel ve ark., 1998; Noli, 1999; Koutinas ve ark., 2001) CanVL'nin tedavisinde allopurinol'ün uzun süre yalnız başına kullanılabileceğini de ifade etmektedirler.

Amfoterisin B, Aminosidin, Pentamidin gibi ilaçlarında CanVL'nin tedavisinde kullanılabileceğı bildirilmektedir (Oliva ve ark., 1995; Moreno ve Ark., 1999; Lamothe,

2001; Poli ve ark., 1997; Rhalem ve ark., 1999).

Diğer taraftan, CanVL'in tedavisinde ketokanazol ve flukanazol gibi antimikotikler ve metronidazol'un yalnız başına veya spiramisin ile kombine kullanıldığında daha düşük terapötik etkinlik sağladığı rapor edilmektedir (Gangneux ve ark., 1996; Pennisi ve ark., 2005).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu çalışma, Mayıs-Ekim 2004 tarihleri arasında Aydın/Kuşadası (n=78), Manisa/Turgutlu (n=26), İzmir/Selçuk (n=65), Muğla/Marmaris (n=50) ve Muğla/Bodrum (n=50) ilçeleri ve Aydın/Merkez (n=31) Belediye Hayvan Barınaklarından sağlanan farklı ırk, yaş ve heriki cinsiyetten toplam 300 köpekte gerçekleştirilmiştir. Köpeklerin kan örneklerinin alındığı yerleşim alanları şekil 8'de gösterilmiştir. Elde edilecek verilerin daha doğru yorumlanabilmesi amacıyla, örnekleme yapacağı hayvan sayıları, barınaklarda bulunan toplam hayvan sayısının % 25'i ve daha üzeri hedeflenerek belirlenmeye çalışılmıştır.

Örnekleme yapıldığı yerleşim alanlarındaki Hayvan Barınaklarında yaklaşık olarak Aydın/Merkez'de 80, Aydın/Kuşadası'nda 250, Manisa/Turgutlu'da 50, İzmir/Selçuk'da 200, Muğla/Marmaris'te 200, Muğla/Bodrum'da 200 köpek, yarı açık (Aydın/Merkez, İzmir/Selçuk, Muğla/Marmaris) (Şekil 9) ve açık (Aydın/Kuşadası, Muğla/Bodrum, Manisa/Turgutlu) (Şekil 10) barınaklarda bulundurulmaktaydı.

Bu amaçla, Aydın/Kuşadası (n=78), İzmir/Selçuk (n=65), Manisa/Turgutlu (n=26), Muğla/Marmaris (n=50), Muğla/Bodrum (n=50) ilçeleri ve Aydın/Merkez (n=31) belediye hayvan barınaklarından farklı ırk, yaş ve her iki cinsiyetten toplam 300 köpekte çalışma gerçekleştirilmiştir (Çizelge 5).

Köpeklerin ırk, yaş ve cinsiyeti belirlenerek fiziksel muayeneleri yapılmıştır. Daha sonra, *L. infantum* enfeksiyonunun serolojik tanısı amacıyla, *Vena cephalica*

antebrachi'den antikoagulansız tüpler içine alınan kan örnekleri, 3000 r.p.m.'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrılmış ve serolojik çalışma yapılana kadar -20 °C'de saklandı. Her bir serum örneği, anti-*Leishmania* antikorlarının belirlenmesi amacıyla IFAT yöntemi kullanılarak araştırılmıştır.



Şekil 8. Örneklemenin yapıldığı yerleşim alanları



Şekil 9. Örneklemenin yapıldığı Aydın Belediyesi Hayvan Barınağından bir görünüm



Şekil 10. Örneklemenin yapıldığı Bodrum Belediyesi Hayvan Barınağından bir görünüm

3.2 Yöntem

3.2.1 IFAT (İndirek Fluoresan Antikor Testi)

3.2.1.1 IFAT Antijenli Lamaların Hazırlanması

Antijen hazırlanacağı zaman % 20 Fetal Sığır Serum (FCS Sigma Cat No: S1632) ve % 2 antibiyotik solüsyonu (Sigma Cat No: P3539) içeren RPMI 1640 (Biological Industries Cat No: 01-106-1A) besi yeri hazırlanmış 25 cm²'lik flasklere konulmuştur. NNN besi yeri tüpünden RPMI 1640 besi yerinin bulunduğu flask'e 4-5 damla aktarılmış ve 26 °C'de saklanarak 2 günde bir inverted mikroskop ile kontrol edilmiş, 1 hafta sonra, promastigotlar bol olarak ürediğinde antijen hazırlanmak için toplanmıştır.

Yaklaşık 5 mm'lik besi yeri santrifüj tüpüne aktararak 2500 r.p.m.'de 15 dakika santrifüj edilerek üst kısmı atılmış ve dipte kalan kısım üzerine serum fizyolojik eklenerek aynı şartlarda santrifüj yapılmıştır. Bu yıkama işlemi 7 kez tekrar edilmiştir.

En son yıkama işleminden sonra çökelti 1 ml serum fizyolojik ile sulandırılmış ve promastigotlar Thoma lamı kullanılarak sayılmış ve 2.000.000 promastigot/ml olacak şekilde sulandırılmıştır. Elmas kalem ile daireler çizilerek hazırlanmış IFAT lamalarının her bir çukuruna 10 µl antijen konulmuş ve kurutulduktan sonra pelur kağıtlara sarılarak kullanıncaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

3.2.1.2 IFAT Yöntemi Uygulanması:

Tampon ve Solüsyonlar

PBS (Fosfat Tampon Solüsyonu)

K ₂ HPO ₄	: 2.40 g
NaH ₂ PO ₄	: 0.44 g
NaCl	: 17 g
Distile su	: 2000 ml karıştırılıp Ph 7.4'e ayarlanmıştır.

Kapatma Solüsyonu

PBS	: 1 ml
Gliserin	: 9 ml karıştırılmıştır.

Testin uygulanması

a- Köpek serumları sulandırma plaklarında PBS ile 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 oranlarında sulandırılmış ve her bir sulandırmadan 1 damla antijen kaplı yerlerine aktarılmıştır. 1/128 ve üzeri dilüsyonları çalışılmıştır.

b- Lamlar 37°C'lik etüvde nemli kapalı kutularda 30 dakika tutulmuş ve süre sonunda PBS ile 2 kez 5'er dakika yıkanıp oda ısısında kurutulmuştur.

c- FITC işaretli tavşan anti-dog IgG (Sigma, A-9042) 1:200 oranında sulandırılarak kullanılmış ve her deliğe bir damla konulmuştur.

d- Lamlar 37°C'lik etüvde nemli kapalı kutularda 30 dakika tutulmuş PBS ile 2 kez 5'er dakika yıkanmıştır.

e- Lamlar kurumadan kapatma solüsyonu damlatılmış ve lamel kapatılmıştır.

f- Lamlar, Floresan mikroskopunda (Olympus BHS₅₀) X 20 objektifde ışık kaynağı olarak HBO 50 cıva buharlı ampul ve mavi bant filtre seti kullanılarak (Uyarma Filtre Seti 490) engelleme filtresi 510 nm dalga boyunda değerlendirilmiştir.

3.2.1.3 Sonuçların Yorumlanması

Parlak sarı yeşil floresans pozitif, soluk veya hiç sarı yeşil floresans görülmemesi negatif olarak değerlendirilmiştir. Floresans veren en yüksek serum dilüsyonu, o örneğe ait antikor titresi olarak değerlendirilmiştir. Immuno floresan antikor titresi 1/128 ve üzeri olan serum örnekleri CanVL için pozitif olarak kabul edilmiştir (Abranches ve ark., 1991).

3.2.2 Parazitolojik Muayene

Serolojik testlerin yapılmasından sonra, pozitif olarak tespit edilen köpeklerin bulunduğu barınaklara gidilmiş ve bulunabilen köpeklerin popliteal lenf bezinden alınan aspiratlarla hazırlanan sürme preparatlar Giemsa yöntemiyle boyanarak amastigotların varlığı araştırılmıştır.

3.2.3 İstatistiksel Değerlendirme

Cinsiyet ve yaş ile seropozitiflik arasındaki ilişkinin istatistiksel değerlendirilmesi SPSS 10.0 software programında non-parametrik ki-kare testiyle yapıldı ve aralarındaki korelasyonlar Pearson yöntemine göre belirlenmeye çalışıldı. $p>0,05$ değerlerindeki parametreler istatistiksel olarak önemsiz kabul edildi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Araştırma Bulguları

Örnekleminin yapıldığı yerleşim alanlarındaki Hayvan Barınaklarında gönüllülerin ve bakıcıların özveriyle çalışmalarına rağmen, bakım ve besleme koşullarında büyük güçlükler çekildiği öğrenilmiştir. Barınak şartları incelendiğinde ise köpeklerin açık (Aydın/Kuşadası, Muğla/Bodrum, Manisa/Turgutlu) ve yarı açık (Aydın/Merkez, İzmir/Selçuk, Muğla/Marmaris) barınak sistemlerinde barındırıldıkları görülmüştür. Bütün barınaklarda köpeklerin vektörle temasını engelleyecek korunma önlemlerinin alınmadığı tespit edilmiştir.

Çalışmanın yapıldığı yerleşim alanları, incelenen köpek sayısı, seropozitif hayvan sayıları ve yüzdeleri Çizelge 5’de gösterilmiştir. Toplam 300 köpek içinde CanVL açısından seropozitif olanların anti-*Leishmania* antikor titreleri ile ulaşılabilen köpeklerin popliteal lenf bezinden hazırlanan sürme preparatların değerlendirme sonuçları ise Çizelge 6’da özetlenmiştir.

Çizelge 5. Çalışmanın yapıldığı yerleşim alanları, incelenen köpek sayısı ve seropozitif olan köpeklerin sayı ve yüzde oranlar

Bölge	İncelenen Köpek	Seropozitif Köpek		
	Sayısı	Sayısı	-	(%)
Aydın/Kuşadası	78	11		14.1
İzmir/Selçuk	65	3		4.6
Manisa/Turgutlu	26	1		3.8
Muğla/Marmaris	50	1		2
Muğla/Bodrum	50	11		22
Aydın/Merkez	31	-		-
Toplam	300	27		9

Çizelge 5’de görüldüğü gibi incelenen 300 köpekten 27’sinin (% 9) *L. infantum* ile enfekte olduğu saptanmıştır. Seropozitif bulunan 27 köpeğin 11’inin Aydın/Kuşadası, 3’ünün İzmir/Selçuk, 1’inin Manisa/Turgutlu, 1’inin Muğla/Marmaris, 11’inin de Muğla/Bodrum hayvan barınaklarından olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 6. Seropozitif köpeklerin ırk, cinsiyet ve yaşları ile anti-*Leishmania* antikor titreleri ve lenf bezi sürme preparatlarının değerlendirme sonuçları

Yerleşim Alanı	Köpek No	İrk	Cinsiyet	Yaş	Anti- <i>Leishmania</i> antikor titreleri 1/	Amastigot
Aydın/Kuşadası	1	Melez	Dişi	5	256	Pozitif
	2	Melez	Dişi	4	256	Pozitif
	3	Melez	Erkek	6	128	Örnek alınamadı
	4	Melez	Erkek	3	256	Negatif
	5	Melez	Erkek	4	256	Pozitif
	6	Melez	Dişi	3	128	Negatif
	7	Melez	Dişi	6	256	Pozitif
	8	Melez	Dişi	5	256	Pozitif
	9	Melez	Dişi	3	512	Pozitif
	10	Melez	Dişi	3	512	Pozitif
	11	Melez	Erkek	4	256	Negatif
İzmir/Selçuk	12	Melez	Erkek	-	128	Örnek alınamadı
	13	Melez	Dişi	-	128	Örnek alınamadı
	14	Melez	Erkek	-	128	Negatif
Manisa/Turgutlu	15	Melez	Dişi	-	256	Pozitif
Muğla/Marmaris	16	Melez	Erkek	-	128	Örnek alınamadı
Muğla/Bodrum	17	Melez	Erkek	4	128	Örnek alınamadı
	18	Melez	Erkek	3	128	Negatif
	19	Melez	Dişi	3	128	Örnek alınamadı
	20	Melez	Erkek	4	512	Pozitif
	21	Melez	Erkek	6	128	Örnek alınamadı
	22	Melez	Erkek	7	128	Örnek alınamadı
	23	Melez	Erkek	3	128	Örnek alınamadı
	24	Melez	Dişi	5	512	Pozitif
	25	Melez	Erkek	4	128	Örnek alınamadı
	26	Melez	Dişi	3	128	Örnek alınamadı
	27	Melez	Erkek	4	4096	Pozitif

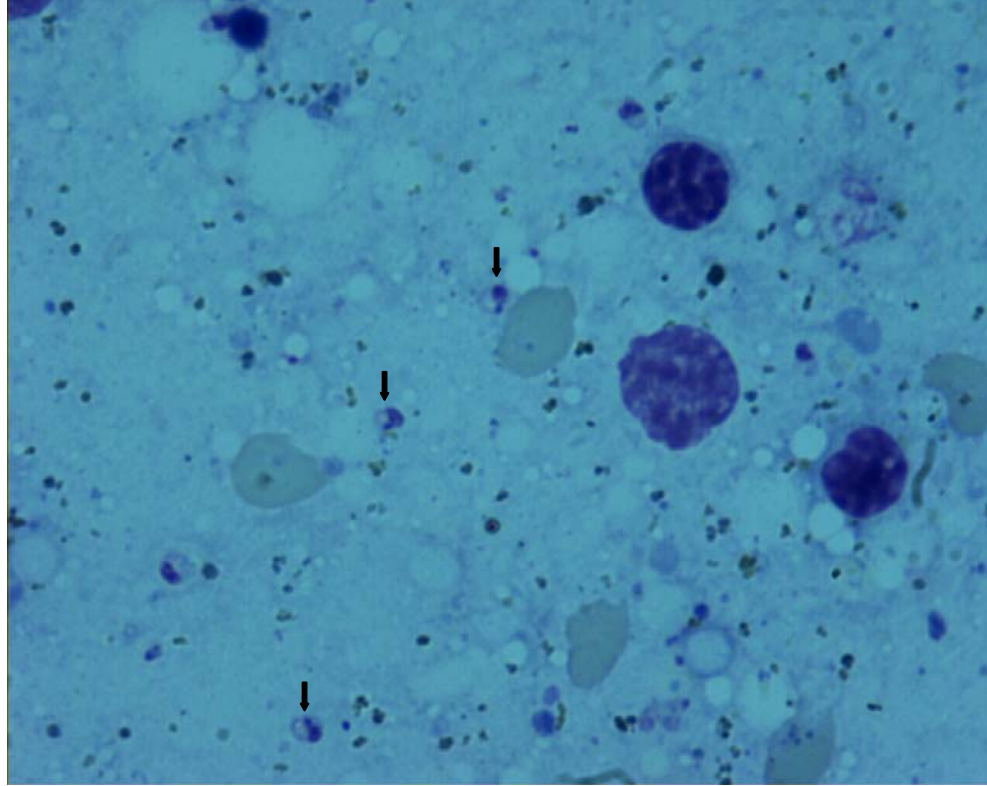
194'ü (% 64,6) dişi, 106 (% 45,4) tanesi erkek olan toplam 300 köpeğin, seropozitif bulunan 27 tanesinden 12'sinin (% 44,4) dişi, 15'inin (% 55,6) ise erkek olduğu belirlenmiştir. Dişi köpeklerde enfeksiyon oranı % 6,2 (194/12) olarak belirlenirken erkeklerde bu oran % 14,1 (106/15) olarak tespit edilmiştir. Cinsiyet ile seropozitiflik arasında istatistiksel bir önem ($p<0,05$) ve bu iki parametre arasında negatif bir korelasyon ($T = -2,317^*$) tespit edilmiştir. Yaş ile seropozitiflik arasında ise bir korelasyona rastlanmamıştır.

Seropozitif köpeklerin klinik muayenesinde 27 köpeğin 25'inde (% 92,5) CanVL ile ilgili klinik bulgular görülürken, 2'sinde (% 7,5) köpekte ise herhangi bir klinik bulgunun oluşmadığı belirlenmiştir. Klinik bulgu gösteren 25 köpeğin 22'sinde lenfadenopati (% 88), 14'ünde deri lezyonları (% 56), 13'ünde mukozalarda solgunluk (% 52), 9'unda kilo kaybı (% 36), 9'unda onychogryphosis (% 36) ve 2'sinde de keratokonjunktivitis (% 8) belirlenmiştir (Şekil 11).



Şekil 11. CanVL'in tespit edildiği bir köpeğin görünümü

CanVL yönünden seropozitif olan 16 köpekte hazırlanan popliteal lenf bezi aspiratlarının mikroskopik muayenesinde 11 köpekte amastigot görülürken (Şekil 12), 5 tanesinde parazitin amastigot formuna rastlanmamıştır.



Şekil 12. Seropozitif bir köpekten alınan popliteal lenf bezi aspiratında amastigot form (x1000)

4.2 Tartışma

Köpeklerin, *L. infantum*'un neden olduğu insan visseral leishmaniasis'inde de en önemli rezervuar olmaları ve immun sistemi baskılanmış hastalarda ciddi bir enfeksiyon riski oluşturmalarından dolayı, hastalığın köpekler arasında yayılımının, köpeklerden insanlara bulaşmasının kontrol edilebilmesi için enfekte hayvanların tespit edilmesinin gerekli olduğu bildirilmektedir (Asford ve ark., 1993).

CanVL'nin epidemiyolojik araştırılması, hastalığın klinik bulgularına, anti-*Leishmania* antikor titrelerine ve/veya parazitin tespiti temeline dayandırılır (Hoogstraal ve Heyneman, 1969). Hastalıkta görülebilen klinik bulguların spesifik olmaması veya asemptomatik enfekte köpeklerin bulunması, kültürlerin kontaminasyonu ve parazitolojik tanıda etkenin amastigot formlarının her zaman görülmemesinden dolayı büyük köpek popülasyonlarının bulunduğu yerleşim alanlarında CanVL'in prevalansının değerlendirilmesinde serolojik tanı yöntemleri sıklıkla kullanılmaktadır (Lanotte ve ark., 1979; Slappendel ve Ferrer, 1990; Ciaramella ve ark., 1997; Roura ve ark., 1999; Straus-Ayali ve Baneth, 2000; Mohebbi ve ark., 2005). CanVL'in seroprevalansının belirlenmesine yönelik serolojik çalışmalarda yüksek duyarlılığa sahip IFAT'nin yaygın olarak kullanıldığı bildirilmektedir (Mancianti ve Meciani, 1988; Ashford ve ark., 1993; Fisa ve ark., 1997). Bu çalışmada, 300 köpekten alınan serum örneklerinde IFAT ile uygulanması sonucunda 27 köpekte (% 9) anti-*Leishmania* antikor titresinin 1:128 ve üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

CanVL'in zoonotik bir hastalık olmasına rağmen, prevalansı ve insidansı hakkında ülkemizde sınırlı sayıda çalışma yapıldığı görülmektedir. Çalışmalar, Ege Bölgesinde endemik, diğer bölgelerde de sporadik olarak görüldüğünü ve seroprevalansının % 1,6-% 28,26 arasında değiştiğini göstermektedir (Ozbel ve ark.,1995; Coşkun ve ark., 1997; Schnur ve ark., 1997; Özensoy, 2001; Voyvoda ve ark., 2004; Ertabaklar ve ark., 2005).

Ozbel ve ark. (2000) Manisa bölgesinde sokak köpeklerinde yaptıkları bir çalışmada hastalığın seroprevalansını % 3,6 ile % 19 arasında bulmuşlardır. Özensoy

Toz ve ark. (2005), hastalığın seroprevalansının İzmir'in Karaburun ve Urla bölgelerinde % 23 ile % 27 arasında değiştiğini bildirmektedirler. Voyvoda ve ark. (2004) Aydın/Merkez, Kuşadası ve İzmir/Selçuk ilçeleri ile Aydın/Merkeze bağlı Işıklı, Kuyulu ve Şevketiye Köylerinde yaptıkları çalışmada hastalığın seroprevalansının % 3,2 olduğunu tespit etmişlerdir. Ozensoy Toz ve ark. (2005b) Kuşadası'nda yaptıkları çalışmada, CanVL'in seroprevalansının % 16,6 olduğunu saptamışlardır. Ozensoy Toz ve ark. (2005a), hastalığın prevalansının Muğla'da % 3,8, Denizli'de % 20,7, Karabük'te % 8 olduğunu, Ertabaklar ve ark. (2005) ise Çorum'da hastalığın seroprevalansının % 3,7 ile % 28,26 arasında değiştiğini bildirmektedirler. Aslantaş ve ark., (2005) Ankara yöresinde yaptıkları seroepidemiolojik çalışmada CanVL'in seroprevalansını % 2,58 olarak bulmuşlardır. Doğan ve ark., (2001) tarafından Eskişehir yöresinde yapılan çalışmada ise hastalığın seroprevalansının % 25 olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, 6 farklı yerleşim alanında toplam 300 köpeğin değerlendirilmesinde CanVL'in seroprevalansı % 9 olarak belirlendi ve bu oranın ülkemizde yapılan diğer çalışmalardaki enfeksiyon oranları arasında (% 1,6-% 28,26) olduğu görüldü. CanVL'in seroprevalansının endemik olan bölgelerde oldukça değişkenlik göstermesi, vektör sineklerin varlığı ve popülasyonu, nem, ışık, hava gibi ekolojik durumlar, uygun rezervuarın bulunması ile konağın beslenmesi ve immun yanıtı gibi faktörlerle ilişkilendirilmektedir (Lanotte ve ark., 1979; Gradoni, 1999). Nitekim bu çalışmada, Aydın/Kuşadası yöresinde incelenen 78 köpekten 11'nin (14.1 %), İzmir/Selçuk yöresinde 65 köpekten 3'ünün (% 4.6), Manisa/Turgutlu bölgesinde 26 köpekten 1'inin (% 3.8) *L. infantum* ile enfekte olması, bu bölgelerde daha önce yapılan araştırmalarda belirtildiği gibi konağa yakın rezervuarların bulunması ve *Phlebotomus*'ların varlığı konusundaki bildirimleri desteklemektedir (Ozbel ve ark., 2000; Özensoy, 2001; Voyvoda ve ark., 2004; Ozensoy Toz ve ark., 2005b). Muğla/Marmaris bölgesinde 50 köpekten 1'inin (% 2), Muğla/Bodrum bölgesinde ise 50 köpekten 11'inin (% 22) *L. infantum* ile enfekte olması bu yerleşim alanlarında konağa yakın rezervuarların bulunabileceği ve *Phlebotomus*'ların varlığı ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada, Aydın/Merkez köpek barınağında incelenen 31 köpeğin *L. infantum* ile

enfekte olmaması, Voyvoda ve ark. (2004), daha önce yaptıkları çalışmayla benzerlik göstermektedir. Aydın bölgesinde incelenen köpeklerde enfeksiyona rastlanılmaması, hastalığın oluşumunda belirtilen faktörlerden bir veya bir kaçının bulunmamasıyla açıklanabilir.

CanVL'in seroprevalansı üzerine çevre ülkelerde ve Akdeniz havzasında yapılan çalışmalarda hastalığın seroprevalansının farklılıklar gösterdiği rapor edilmektedir (Moreno ve Alvar, 2002). Seroprevalansın Portekiz'de % 0,7 ile % 8,5 arasında değiştiği (Semiao-Santos ve ark., 1995), Fransa'da ise % 26,5 oranında olduğu bildirilmiştir (Moreno ve Alvar, 2002). İtalya Santa Anastasya'da 326 köpekte IFAT yöntemi kullanarak hastalığın seroprevalansının % 40,4 olduğu belirlenmiştir (Maroli ve ark. 2001). Gambino ve ark. (1997), Sicilya'da hastalığın seroprevalansını % 44,9 olarak tespit etmişlerdir. Moreno ve Alvar (2002) yaptıkları çalışmada, İtalya'nın Apulia bölgesinde hastalığın seroprevalansının % 14,5, Tuscany bölgesinde ise % 24 olduğunu, İspanya Priorato bölgesinde ise bu oranın % 18 olarak bildirmektedirler. Yunanistan'da *L. infantum*'un endemik olduğu (Sideris ve ark.,1999) ve köpeklerde hastalığın seroprevalansın % 22,4 olduğu bildirilmektedir (Gallego, 2001). CanVL'in enfeksiyon oranı Tunus'ta % 6 (Ben Sait ve ark., 1992), Cezayir'de % 37,5 (Belazzoug, 1987), Malta'da ise % 17,3 (Dye ve ark., 1998) olarak saptanmıştır. İsrail'de hastalığın seroprevalansının %11,5 (Baneth ve ark., 1998), Kıbrıs'da % 10 (Deplazes ve ark., 1998) olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada, CanVL'in seroprevalansının diğer çevre ülkelerle ve Akdeniz ülkeleriyle karşılaştırıldığında Portekiz, Kıbrıs, İsrail ve Tunus'ta yapılan çalışmalarla benzerlik göstermesi ve diğer bölgelere göre ise daha düşük oranda seyretmesi, çevre ülkelerde ve sıcak iklim kuşağında bulunan Akdeniz ülkelerinde *Phlebotom* türü sinek popülasyonlarının üremesi ve çoğalması, bu sineklerin popülasyonunu etkileyen tarımsal pestisid ilaçlamanın uygulanıp uygulanmaması, sahipli ve sahipsiz köpek popülasyonu, endemik bölgelere köpek transportunun olması ve klinik bulgu gösteren köpeklere etkili tedavinin uygulanmaması gibi faktörlere bağlanabilir (Papadopoulou ve ark., 2005).

CanVL'in yaş, ırk ve cinsiyet gibi predispozusyon yaratan faktörlere bağlı

olmadığı (Noli, 1999; Moreno ve Alvar, 2002); ancak gençlerde (≤ 2 yaş) ve yaşlı köpeklerde (>8 yaş), inkübasyon süresinin uzun olmasından dolayı hastalığın daha az görüldüğü bildirilmektedir (Denerolle ve ark., 1996; Noli, 1999). Diğer çalışmalarda (Slappendel, 1988; Denerolle ve ark., 1996; Ciaramella ve ark., 1997; Amusategui ve ark., 2003) olduğu gibi bu çalışmada da CanVL'in tanısı konulan seropozitif köpeklerin ergin yaşta (3 ile 7 yaş) oldukları belirlenmiştir. Bu durum, hastalığın seroprevalansının belirlenmesinde özellikle ergin köpeklerin dikkate alınmasının daha doğru sonuçlar verebileceği görüşünü düşündürmektedir.

CanVL'in ırk predispozisyonuna bağlı olmadığı ve hastalığın bütün ırklarda görülebileceği bildirilmektedir (Slappendel, 1988; Ciaramella ve ark., 1997; Moreno ve Alvar, 2002). Bu çalışmada seropozitif köpeklerin tamamı melez ırk köpeklerdi.

CanVL üzerine yapılan araştırmalarda hastalık her iki cinsiyette eşit oranda (Abranches ve ark., 1991; Ozon ve ark., 1995; Amustegui ve ark., 2003) görülmekle birlikte CanVL yönünden erkeklerin dişilere göre daha büyük oranda hastalıktan etkilenebildikleri rapor edilmiştir (Slappendel, 1988; Martinez ve Lleret, 1992; Denerolle, 1996; Ciaramella ve ark., 1997). Bu çalışmada, hastalığa yakalanan 27 köpekten 15'inin erkek (% 55,6), 12'inin (% 44,4) dişi olduğu belirlenmiştir. İncelenen toplam 194 dişi arasından 12 tanesinin (% 6,2) ve 106 erkek köpekten 15 tanesinin (% 14,1) seropozitif olması dikkati çekmiştir. Bu çalışmada yapılan istatistiksel analizde cinsiyet ile seropozitiflik arasında önemli düzeyde ($p<0,05$) bir ilişki bulunmuştur. Bu durum daha önce yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Ciaramella ve ark., 1997; Ozensoy ve ark., 1998; Noli, 1999; Moreno ve Alvar, 2002).

CanVL'de deri lezyonları, lokal veya generalize lenfadenopati, kilo kaybı, mukozalarda solgunluk ve göz lezyonları önemli klinik bulgulardır (Gothe,1991; Ciaramella ve ark., 1997; Strauss-Ayalı ve Baneth, 2000). Bu çalışmada seropozitif köpeklerin % 92,5 (25/27)'inde CanVL ile ilgili klinik bulgular görülürken, % 7,5 (2/27)'inde ise herhangi bir klinik bulguya rastlanmadı. Belirlenen klinik bulgular Akdeniz Ülkelerinde görülen CanVL'in klinik bulgularıyla benzerlik göstermektedir

(Abranches ve ark., 1991; Neogy ve ark., 1992; Ciaramella ve ark., 1997). Bu çalışmada seropozitif köpekler içersinde semptomatik köpeklerin oranının fazla olması hayvan barınaklarındaki bakım ve besleme koşullarının uygun olmayışı, konakçının immun yanıtındaki yetersizliği, hastalığın seyri, visseral leishmaniasis'in ve eşlik edebilen hastalıkların tedavi edilememesiyle ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz.

CanVL'de lenf yumruları veya kemik iliğinden hazırlanan preparatlarda parazitin amastigot formunun direkt görülmesi en güvenilir tanı yöntemlerindendir (Badaro ve ark., 1986; Saridomichelakis ve ark., 2005). Ancak parazitin amastigot formunun tüm hastalarda tespitinin mümkün olmadığı bildirilmektedir (Ferrer, 1992). Sideris ve ark. (1999) yaptıkları çalışmada 1:200' den daha düşük anti-*Leishmania* antikor titresinine sahip köpeklerin lenf bezi aspiratının muayenesinde köpeklerin hiçbirinde amastigotların görülmediğini bildirmektedirler. Doğal olarak enfekte olan CanVL'li köpeklerin popliteal lenf bezi aspiratlarında amastigotların görülme olasılığının hastalığın şiddeti ile ilişkili olabileceği, hastalığın ilerlemiş safhasında amastigotların görülme olasılığının artmasına karşın başlangıç safhasında ise bu oranın düştüğü rapor edilmektedir (Abranches ve ark 1991). Bu çalışmada, seropozitif 27 köpeğin 16'sının popliteal lenf bezi aspiratlarından hazırlanan preparatlarının 11'inde parazitin amastigot formu görülürken 5'inde amastigot belirlenemedi. Bu durum CanVL'in tanısının popliteal lenf bezi aspiratlarından hazırlanan preperatlarda amastigot formunun görülmesiyle ilgili yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Abranches ve ark., 1991; Sideris ve ark., 1999; Pasa ve ark., 2005).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Dünya Sağlık Örgütü leishmaniasis'in kontrolü amacıyla, insan leishmaniasis olgularının tespiti ve tedavisinin, enfekte köpeklerin tespitinin ve uyutulmasının veya etkin tedavisinin ve vektör kontrolü gibi önlemlerin alınmasının gerekli olduğunu önermektedir (WHO, 1999). Ancak bu önerilerin, kullanılan insektisidlere karşı vektörün (Roush, 1993) ve tedavide kullanılan ilaca karşı etkenin direnç kazanması (Oullette ve Papadopoulou, 1993) gibi nedenlerden dolayı ciddi sıkıntılar ortaya çıkarmasıyla hastalıktan korunmak için köpeklerin *Phlebotomus*'larla temasının azaltılması ve visseral leishmaniasis'e karşı aşının veya daha etkili bir tedavi protokolünün geliştirilmesi gibi alternatif stratejilerin uygulamaya geçirilmesinin gerekli olduğu önerilmektedir (Tesh, 1995; Killick-Kendric ve ark., 1997).

Sonuç olarak, bu çalışmada Aydın/Kuşadası, İzmir/Selçuk, Manisa/Turgutlu, Muğla/Bodrum, Muğla/Marmaris bağlı yerleşim alanlarındaki barınak köpeklerinde visseral leishmaniasis'in varlığı belirlenmiştir. Bu verilerin gelecekte insan ve köpeklerde yapılacak çalışmalarda bir referans olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Ülkemizde Veteriner Hekimlerin ve Beşeri Hekimlerin bu hastalık hakkında bilgilendirilmesi, CanVL'in insan sağlığı için potansiyel bir risk oluşturması ve bu hastalığın ulusal ekonomideki kayıpları açısından düşünüldüğünde hastalığın saptandığı bölgelerde gerekli korunma önlemlerinin alınması gerekmektedir. Rezervuar olan semptomatik ve asemptomatik köpeklerin ve hastalığa yakalanan insanların tespiti amacıyla seroprevalans çalışmalarının ortaklaşa ve düzenli olarak yürütülmesinin gerekli olduğu kanısındayız.

ÖZET

Ege Bölgesinde Köpeklerde Visseral Leishmaniasis'in Seroprevalansı

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) belirlediği zoonoz hastalıklar arasında, en önemlilerinden biri olarak kabul ettiği leishmaniasis, ılıman, tropikal ve subtropikal iklim kuşağında yaşayan insan, evcil ve yabani memelilerin infeksiyöz bir hastalığıdır. İnsanlarda ve hayvanlarda pek çok farklı hastalık formları görülebilmesine rağmen hastalık ülkemizde, insanlarda visseral (VL) ve kutanöz (CL) form, köpeklerde ise visseral (CanVL) form olarak karşımıza çıkmaktadır. Akdeniz ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de insanlarda görülen visseral leishmaniasis'in (Kala-Azar) doğadaki asıl rezervuarını evcil ve yabani köpekler oluşturmakta ve hastalığın bir bölgede endemik veya sporadik olarak seyretmesinde en önemli rolü oynamaktadırlar.

Köpek visseral leishmaniasis'in (CanVL) insan sağlığı için potansiyel bir risk oluşturması ve bu hastalığın ulusal ekonomideki kayıplar açısından düşünüldüğünde hastalığın saptandığı bölgelerde gerekli korunma önlemlerinin alınabilmesi, bölgedeki Veteriner Hekimler ve Hekimlerin durumdan haberdar edilerek, bu hastalığı tanı ve ayırıcı tanıda göz önünde bulundurmalarının sağlanması için klinik olarak birçok hastalıkla karışabilen köpek visseral Leishmaniasis'in tespit edildiği bölgelerde prevalansı ve insidansı hakkında detaylı araştırmaların yapılması gerekmektedir. Ülkemizde, seyahatlerin özellikle Akdeniz ikliminin hakim olduğu bölgelere kayması ve bu bölgedeki köpeklerde hastalığın görülmesi, visseral leishmaniasis'in son yıllarda Ege Bölgesinde önemini arttırmaktadır.

Bu çalışmada, Ege bölgesinde (İzmir/Selçuk, Aydın/Merkez, Aydın/Kuşadası, Manisa/Turgutlu, Muğla/Bodrum, Muğla/Marmaris) sokak köpeklerinde CanVL'in seroprevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla, İzmir/Selçuk, Manisa/Turgutlu, Aydın/Merkez, Aydın/Kuşadası, Muğla/Marmaris ve Muğla/Bodrum Hayvan Barınaklarında bulunan 300 adet sokak köpeğinin ırk, yaş ve cinsiyeti belirlenerek fiziksel muayeneleri yapılmış ve hastalığın

serolojik tanısı amacıyla serum örnekleri toplanmıştır. Alınan serum örneklerinde, anti-*Leishmania* antikorları IFAT tanı yöntemiyle belirlenmiş ve ulaşılabilen köpeklerin popliteal lenf bezinden hazırlanan sürme preparatlarda parazitin amastigot formları belirlenmeye çalışılmıştır.

Bu çalışmada, 300 köpekten 27'sinde (% 9) köpek visseral leishmaniasis'in varlığı belirlenmiştir. Seropozitif bulunan 27 köpeğin 11'inin Aydın/Kuşadası, 3'ünün İzmir/Selçuk, 1'inin Manisa/Turgutlu, 1'inin Muğla/Marmaris, 11'inin de Muğla/Bodrum hayvan barınaklarından olduğu saptanmıştır.

CanVL yönünden seropozitif olan 16 köpekte hazırlanan popliteal lenf bezi aspiratlarının mikroskopik muayenesinde 11 köpekte amastigot görülürken (Şekil 11), 5 köpekte parazitin amastigot formuna rastlanmamıştır.

Seropozitif köpeklerin klinik muayenesinde 27 köpeğin 25'inde (% 92,5) CanVL ile ilgili klinik bulgular görülürken, 2 köpekte (% 7,5) ise herhangi bir klinik bulgunun oluşmadığı belirlenmiştir.

Bu verilerin gelecekte insan ve köpeklerde yapılacak çalışmalarda bir referans olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Ülkemizde Veteriner Hekimlerin ve Beşeri Hekimlerin bu hastalık hakkında bilgilendirilmesi, CanVL'in insan sağlığı için potansiyel bir risk oluşturması ve bu hastalığın ulusal ekonomideki kayıpları açısından düşünüldüğünde hastalığın saptandığı bölgelerde gerekli korunma önlemlerinin alınması gerekmektedir. Rezervuar olan semptomatik ve asemptomatik köpeklerin ve hastalığa yakalanan insanların tespiti amacıyla seroprevalans çalışmalarının ortaklaşa ve düzenli olarak yürütülmesinin gerekli olduğu kanısındayız.

SUMMARY

Seroprevalence of Visceral Leishmaniasis in Dogs in Aegean Region

Leishmaniasis which is the most important zoonotic diseases as declared by World Health Organisation (WHO) is infectious diseases of human beings, domestic and wild mammals in temperate, tropical and subtropical regions. While there are several forms of the disease in human and animals, in Turkey visceral leishmaniasis (VL) and cutaneous leishmaniasis (CL) forms of the disease in humans and canine visceral leishmaniasis (CanVL) form in dogs were recognized. In Turkey like in many other Mediterranean countries, infected wild and domestic dogs constitute the main reservoir of the parasite causing visceral leishmaniasis (Kala-Azar) and play a key role in epidemiology of the disease in an area, whether it is endemic or sporadic.

Canine visceral leishmaniasis (CanVL) is a potential risk for human health. When the economical loss due to the disease is thought, after an endemic area is recognized the effective implementation of control measures should be taken, Veterinary Practitioners and medical doctors in such area must be informed about diagnosis and differential diagnosis of the diseases. Additionally, detailed epidemiological surveys should be performed in order to obtain information about the incidence and prevalence of the disease where the canine visceral leishmaniasis is diagnosed. In view of the fact that, in our country, most of the traveling has been drifted to areas dominating Mediterranean climate where the dogs are infected with leishmaniasis, visceral leishmaniasis has become very important in Aegean region in recent years. .

In this study, it was aimed to determine seroprevalence of the disease in kennel dogs in İzmir/Selçuk, Manisa/Turgutlu, Aydın/Centre, Aydın/Kusadasi, Muğla/Marmaris and Muğla/Bodrum.

For this purpose, with the determination of the breed, age and sex, physical examination of 300 stray dogs in kennels from İzmir/Selçuk, Manisa/Turgutlu, Aydın/Centre, Aydın/Kusadasi, Muğla/Marmaris and Muğla/Bodrum, serum samples were collected in order to make the serological diagnosis of the disease. In the serum samples, anti-*Leishmania* antibodies were determined using IFAT diagnostic procedure

and amastigote forms of the the parasite was tried to be dedected in smears from popliteal lymph nodes of the dogs which could be attained.

In this study, the presence of visceral leishmaniasis was determined in 27 (9 %) of the 300 dogs. It was also determined that eleven of the 27 seropositive dogs were from Aydin / Kusadasi, 3 from Izmir / Selcuk, 1 from Manisa / Turgutlu, 1 from Mugla / Marmaris and 11 from Mugla / Bodrum.

However, amastigotes were seen in the microscobic examination of the aspirates prepared from the popliteal lymph node from the 11 of the 16 CanVL seropositive dogs, in other 5 dogs amastigotes could not be seen.

Clinical signs associated with the CanVL could be noticed in 25 (92,5 %) of the 27 seropositive dogs, however in two (7,5 %) dogs any clinical sign could not be seen.

It was consider that the result of this study may be used as a reference to further studies on human and dogs. In our country, there is need for; giving information for the veterinary and human practitioners on the disease and necessary protection precautions should be made in the regions that the disease was determined considering the facts that CanVL is a potensial risk for human and may cause loss in national economy. We are in oppinion that the seroprevelance studies should be performed regulary and together in order to detect the human patients and the symphthomatic and asympthomatic dog which are the reservoirs for the disease.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamda ilgi, yardım ve hoşgörüsünü eksik etmeyen danışmanım Yrd. Doç. Dr. Serdar PAŞA'ya teşekkürü bir borç bilirim

Her konuda yardımlarını esirgemeyen Doç Dr. Hüseyin VOYVODA'ya, özellikle serolojik çalışmalarda yardımlarını esirgemeyen Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Yusuf ÖZBEL'e, Prof. Dr. Seray ÖZENSOY TÖZ'e, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Hatice ERTABAKLAR'a, Laborant Cengiz GÜLER'e, Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Tülin KARAGENÇ'e, saha çalışmalarında beni yalnız bırakmayan Veteriner Hekim Barış SARUHAN'a, çalışmanın yapıldığı yerleşim bölgelerindeki yardımlarını esirgemeyen meslektaşlarıma ve özellikle tez yazım aşamasında göstermiş oldukları yardım ve sabırdan dolayı başta Araş. Gör. Göksel BAYRAMLI olmak üzere tüm İç Hastalıkları ABD öğretim üyeleri ve yardımcılara teşekkür ederim.

Beni bugünlere getiren aileme ve sevgili eşim Tülay ATASOY'a sabır ve özverilerinden dolayı teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

ABRANCHES P., M.C. SILVA-PEREIRA, F.M. CONCEICAO-SILVA, G.M. SANTOS-GOMES, J.G. JANZ, 1991. Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. J Parasitol., 77(4); 557-561.

ACEDO-SANCHEZ C., F. MORILLAS-MARQUEZ, M.C. SANCHIZ-MARIN, J. MARTIN-SANCHEZ, 1998. Changes in antibody titres against *Leishmania infantum* in naturally infected dogs in southern Spain. Vet Parasitol., 75(1); 1-8.

AISA M.J., S. CASTILLEJO, M. GALLEG0, R. FISA, M.C. RIERA, M. DE COLMENARES, S. TORRAS, X. ROURA, J. SENTIS, M. PORTUS, 1998. Diagnostic potential of Western blot analysis of sera from dogs with leishmaniasis in endemic areas and significance of the pattern. Am J Trop Med Hyg., 58(2); 154-159.

AKMAN L., H.S. AKSU, R.Q. WANG, Y. OZBEL, S. OZENSOY, M.Z. ALKAN, M.A. OZCEL, G. CULHA, K. OZCAN, S. UZUN, H.R. MEMISOGLU, K.P. CHANG, 2000. Multi-site DNA polymorphisim analyses of *Leishmania* isolates define their genotypes predicting clinico-epidemiology of leishmaniasis in a specific region. J Eucaryotic Microbiol., 47(6).

ALVAR J., R. MOLINA, M. SAN ANDRES, M. TESOURO, J. NIETO, M. VITUTIA, F. GONZALEZ, M.D. SAN ANDRES, J. BOGGIO, F. RODRIGUEZ, A. SAINZ, C. ESCACENA, 1994. Canine leishmaniasis: clinical, parasitological and entomological follow-up after chemotherapy. Ann Trop Med Parasitol., 88(4); 371-378.

AMUSATEGUI I., A. SAINZ, F. RODRIGUEZ, M.A. TESOURO, 2003. Distribution and relationships between clinical and biopathological parameters in canine leishmaniasis. Eur J Epidemiol., 18(2); 147-156.

ASHFORD D.A., R. BADARO, C. EULALIO, M. FREIRE, C. MIRANDA, M.G. ZALIS, J.R. DAVID, 1993. Studies on the control of visceral leishmaniasis: validation of the Falcon assay screening test--enzyme-linked immunosorbent assay (FAST-ELISA) for field diagnosis of canine visceral leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg., 48(1); 1-8.

ASHFORD D.A., M. BOZZA, M. FREIRE, J.C. MIRANDA, I. SHERLOCK, C.

EULALIO, U. LOPES, O. FERNANDES, W. DEGRAVE, R.H. BARKER, R. BADARO, J.R. DAVID, 1995. Comparison of the polymerase chain reaction and serology for the detection of canine visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg.*, 53(3); 251-255.

ASHFORD D.A., J.R. DAVID, M. FREIRE, R. DAVID, I. SHERLOCK, M.C. EULALIO, D.P. SAMPAIO, R. BADARO, 1998. Studies on control of visceral leishmaniasis: impact of dog control on canine and human visceral leishmaniasis in Jacobina, Bahia, Brazil. *Am J Trop Med Hyg.*, 59(1); 53-57.

ASHFORD R.W., S. BETTINI, 1987. "Ecology and epidemiology: Old World, The Leishmaniasis in Biology and Medicine, Eds, PETERS, W. And KILLICK-KENDRICK, R., Academic Press, London, Vol.1, 366-414 s.

ASLANTAS O., V. OZDEMIR, S. KILIC, C. BABUR, 2005. Seroepidemiology of leptospirosis, toxoplasmosis, and leishmaniosis among dogs in Ankara, Turkey. *Vet Parasitol.*, 129(3-4); 187-191.

BADARO R., T.C. JONES, E.M. CARVALHO, D. SAMPAIO, S.G. REED, A. BARRAL, R. TEIXEIRA, W.D. JOHNSON, 1986. New perspectives on a subclinical form of visceral leishmaniasis. *J Infect Dis.*, 154(6); 1003-1011.

BANETH G., G. DANK, E. KEREN-KORNBLATT, E. SEKELES, I. ADINI, C.L. EISENBERGER, L.F. SCHNUR, R. KING, C.L. JAFFE, 1998. Emergence of visceral leishmaniasis in central Israel. *Am J Trop Med Hyg.*, 59(5); 722-755.

BANETH G., P.H. KASS, C.L. JAFFE, 1999. A comparative study of immunological, hematological and biochemical parameters in symptomatic and asymptomatic canine visceral leishmaniasis. In : Proceedings of the 9th Annual Congress of the European Society of Veterinary Internal Medicine, Perugia, Italy, 131 s.

BANETH G., S.E. SHAW, 2002. Chemotherapy of canine leishmaniosis. *Vet Parasitol.*, 106(4); 315-324.

BELAZZOUG M., 1987. La leishmaniose canine en Algerie. *Maghreb Veterinaire*, 3; 11-13.

BELKAID Y., S. MENDEZ, R. LIRA, N. KADAMBI, G. MILON, D. SACKS, 2000. A natural model of *Leishmania major* infection reveals a prolonged "silent" phase

of parasite amplification in the skin before the onset of lesion formation and immunity. J Immunol., 165(2); 969-977.

BEN SAID M., A. JAIEM, M. SMOORENBURG, S.J. SEMIAO-SANTOS, M.S. BEN RACHID, A. EL HARITH, 1992. Canine leishmaniasis in the region of Enfidha (Central Tunisia). Assessment of seroprevalence with direct agglutination (DAT) and indirect immunofluorescence (IFAT). Bull Soc Pathol Exot., 85(2);159-163.

BERRAHAL F., C. MARY, M. ROZE, A. BERENGER, K. ESCOFFIER, D. LAMOUREUX, S. DUNAN, 1996. Canine leishmaniasis: identification of asymptomatic carriers by polymerase chain reaction and immunoblotting. Am J Trop Med Hyg., 55(3);273-277.

BETTINI S., L. GRADONI, 1986. Canine leishmaniosis in the Mediterranean area and its implications for human leishmaniosis. Insect Sci Appl., 7; 241-245.

BLANC C., A. ROBERT, 1984. Cinquieme observation de kala-azar congenital. La Presse Medicale, 13; 1751.

BOELAERT M., S. RIJAL, S. REGMI, R. SINGH, B. KARKI, D. JACQUET, F. CHAPPUIS, L. CAMPINO, P. DESJEUX, D. LE RAY, S. KOIRALA, P. VAN DER STUYFT, 2004. A comparative study of the effectiveness of diagnostic tests for visceral leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg., 70; 72-77.

BOURDOISEAN G., T. MARCHAL, J.P. MAGNOL, 1997. Immunohistochemical detection of *Leishmania infantum* in formalin-fixed, paraffin-embedded section of canine skin and lymph nodes. J Vet Diagn Invest., 9; 439-440.

BURACCO P., O. ABATE, R. GUGLIELMINO, E. MORELLO, 1988. Osteomyelitis and arthrosynovitis associated with *Leishmania donovani* infection in dog. J Small Anim Pract., 38; 29-30.

BURNS J.M., W.G. SHREFFLER, D.R. BENSON, 1993. Molecular characterization of a kinesin-related antigen of *Leishmania chagasi* that detects specific antibody in African and American visceral leishmaniasis. In:Proceedings of the Natl Acad Sci USA (90), 775-779 s.

CAMPINO L., G. SANTOS-GOMES, M.J. RICA-CAPELA, S. CORTES, P.

ABRANCHES, 2000. Infectivity of promastigotes and amastigotes of *Leishmania infantum* in a canine model for leishmaniosis. Vet Parasitol., 92; 269-275.

CAVALIERO T., P. ARNOLD, A. MATHIS, T. GLAUS, R. HOFMANN-LEHMANN, P. DEPLAZES, 1999. Clinical, serologic, and parasitologic follow-up after long-term allopurinol therapy of dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. J Vet Intern Med., 13(4); 330-334.

CIARAMELLA P., G. OLIVA, R. DE LUNA, L. GRANDONI, R. AMBROSIO, L. CORTESE, A. SCALONE, A. PERSECHINO, 1997. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. Vet Rec., 141; 539-543.

COSKUN Ş., H. BATMAZ, L. AYDIN, F. YILMAZ, 1997. Seroprevalence of *Leishmania infantum* infection of dogs in the western part of Turkey. T Parasitol Derg., 21; 287-291.

COTRAN R.S., V. KUMAR, T. COLLINS, 1999. Robbin's pathologic basis of disease. W.B.S. Saunders Company. Philadelphia.

COUTINHO M.T., L.L. BUENO, A. STERZIK, R.T. FUJIWARA, J.R. BOTELHO, M. DE MARIA, O. GENARO, P.M. LINARDI, 2005. Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. Vet Parasitol., 128(1-2); 149-155.

DENEROLLE P., 1996. Leishmaniosis canine: difficulte du diagnostic et du traitement. Pratique Medicale et Chirurgienne des Animaux deCampagne, 31; 137-145.

DENEROLLE P., G. BOURDOISEAU, 1999. Combination allopurinol and antimony treatment versus antimony alone and allopurinol alone in the treatment of canine leishmaniasis (96 cases). J Vet Intern Med., 13(5); 413-415.

DEPLAZES P., F. GRIMM, M. PAPAPRODROMOU, T. CAVALIERO, M. GRAMICCIA, G. CHRISTOFI, N. CHRISTOFI, P. ECONOMIDES, J. ECKERT, 1998. Canine leishmaniosis in Cyprus due to *Leishmania infantum* MON 1. Acta Trop., 71(2); 169-178.

DESJEUX, P., 2001. Worldwide increasing risk factors for leishmaniasis. Med Microbiol Immunol., 190 (1-2); 77-79.

DOGAN N., Y. OZBEL, S. OZENSOY, O. BOR, Y. AKGUN, 2001. Prevalence of human and canine visceral leishmaniasis Eskişehir city and surrounding, Turkey. In “Worldleish2”, Crete, Abstract Book, 78 s.

DYE C., R KILLICK-KENDRICK, M.M. VITUTIA, R. WALTON, M. KILLICK-KENDRICK, A.E. HARITH, M.W. GUY, M.C. CANAVATE, G. HASIBEDER, 1992. Epidemiology of canine leishmaniasis: prevalence, incidence and basic reproduction number calculate from a cross-sectional serological survey on the island of Gozo, Malta. *Parasitol.*, 105; 31-41.

ENGWERDA C.R., P.M. KAYE, 2000. Organ-specific immune responses associated with infectious disease. *Immunol Today.*, 21(2); 73-8.

ERTABAKLAR H., S. OZENSOY TOZ, A. TAYLAN OZKAN, S. RASTGELDI, I.C. BALCIOGLU, Y. OZBEL, 2005. Serological and entomological survey in a zoonotic visceral leishmaniasis focus of North Central Anatolia, Turkey: Corum province. *Acta Trop.*, 93(3); 239-246

ERTABAKLAR H., S. ÖZENSOY TÖZ, N. ŞAKRU, E. KELEŞ, Y. ÖZBEL, 2001. Muğla İli Göktepe Köyünde çocuklarda ve köpeklerde visseral leishmaniasis'in araştırılması. *T Parazit Derg.*, 25(2);128-131.

EVANS D., 1987. *Leishmania*. In: In vitro methods for parasite cultivation. Ed, TAYLOR, A.E.R., BAKER, J.R., Academic Press, London, 52-75 s.

FERNANDEZ-PEREZ F.J., S. MENDEZ, C. DE LA FUENTE, M.T. GOMEZ-MUNOZ, M. CUQUERELLA, J.M. ALUNDA, 1999. Short report: improved diagnosis and follow-up of canine leishmaniasis using amastigote-based indirect immunofluorescence. *Am J Trop Med Hyg.*, 61(4); 652-653.

FERRER L., 1992. Leishmaniasis. In “Current Veterinary Therapy”, W.B. Saunders, Philadelphia, 266-269 s.

FERRER L., 1997. Leishmaniasis: update in diagnosis and therapy. In: Proceeding of the Fourteenth Annual Congress of the European Society of Veterinary Dermatology, Pisa, 33-36 s.

FERRER, L., M.J. AISA, X. ROURA, M. PORUS, 1995. Serological diagnosis and treatment of canine leishmaniasis. *Vet Rec.*, 136; 514-516.

FERRER L., R. RABANAL, M. DOMINGO, J.A. RAMOS, A. FONDEVILA, 1988. Identification of *Leishmania* amastigotes in canine tissues by immunoperoxidase staining. Res Vet Sci., 44 ; 194-196.

FISA R., M. GALLEGRO, S. CASTILLEJO, M.J. AISA, T. SERRA, C. RIERA, J. CARRIO, J. GALLEGRO, M. PORTUS, 1999. Epidemiology of canine leishmaniosis in Catalonia (Spain). The example of the Priorat focus. Vet Parasitol., 83; 87-97.

FISA R., M. GALLEGRO, C. RIERA, M.J. AISA, D. VALLS, T. SERRA, M. DE COLMENARES, S. CASTILLEJO, M. PORTUS, 1997. Serologic diagnosis of canine leishmaniasis by dot-ELISA. J Vet Diagn Invest., 9(1); 50-55.

FONT A., X. ROURA, D. FONDEVILLE, J.M. CLOSA, J. MASCORT, L. FERRER, 1996. Canine mucosal leishmaniasis. J Am Anim Hosp Assoc., 32; 137.

GALLEGO S.L., 2001. *Leishmania infantum* and dog: Immunological and epidemiological studies about infection and diseases. Tesi doctoral, Facultat de veterinaria, Universitat autonoma de Barcelona.

GAMBINO G., A. BASILE, C. MOCCIARO, N. CHIFARI, M. GRAZIA ZISA, G. CORRIERE, L. MIRA, E. PICCIONE, P. MANSUETO, R. TANTILLO, G. VITALE, S. MANSUETO, 1997. La leishmaniosi canina in provoncia di Catania: situazione epidemiological del 1993-1994. Giornale Italiano di Malattie Infettive., 3; 293-297.

GANGNEUX J.P., A. SULAHIAN, Y.J. GARIN, R. FARINOTTI, F. DEROUIN, 1996. Therapy of visceral leishmaniasis due to *Leishmania infantum*: experimental assessment of efficacy of AmBisome. Antimicrob Agents Chemother., 40(5);1214-1218.

GARCIA-ALONSO M., A. BLANCO, D. REINA, F.J. SERRANO, C. ALONSO, C.G. NIETO, 1996. Immunopathology of the uveitis in canine leishmaniasis. Parasite Immunol., 18(12); 617-623.

GASANZADE G.B., V.M. SAF'IANOVA, T.A. TAGI-ZADE, A. AGAEV, E.A. GADZHIBEKOVA, M.A. SAVINA, K.H.K.H. ALIEVA, L.P. EMEL'IANOVA, G.B. SHAL'MIEV, A.Z. FARAMAZOV, 1990. An outbreak of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in Geokchai District, Azerbaijan SSR. Med Parazitol (Mosk)., 2; 41-45.

GAVGANI A.S.M., H. MOHITE, G.H. EDRISSIAN, M. MOHEBALI, C.R. DAVIES, 2002. Domestic dog ownership in Iran is a risk factor for human infection with *Leishmania infantum*. Am J Trop Med Hyg., 67(5); 511-515.

GINEL P.J., R. LUCENA, R. LOPEZ, J.M. MOLLEDA, 1998. Use of allopurinol for maintenance of remission in dogs with leishmaniasis. J Small Anim Pract., 39(6); 271-274.

GOTHE R., 1991. Leishmaniosen des Hundes in Deutschland: Erregerfauna und -biologie, Epidemiologie, Klinik, Pathogenese, Diagnose, Therapie und Prophylaxe. Kleintierprax., 36; 69-84.

GRADONI L., 1999. Epizootiology of canine leishmaniasis in southern Europa. In: Canine leishmaniasis: an update. Proceedings of the International canine leishmaniasis forum ed, KILLICK-KENDRICK, R., Barcelona, Spain, 32-39 s.

GUARGA J.L., J. MORENO, J. LUCIENTES, M.J. GRACIA, M.A. PERIBANEZ, J. ALVAR, J.A. CASTILLO, 2000. Canine leishmaniasis transmission: higher infectivity amongst naturally infected dogs to sand flies is associated with lower proportions of T helper cells. Res Vet Sci., 69(3); 249-253.

HERWALDT B.L., J.D. BERMAN, 1992. Recommendations for treating leishmaniasis with sodium stibogluconate (Pentostam) and review of pertinent clinical studies. Am J Trop Med Hyg., 46(3); 296-306.

HOOGSTRAAL H., D. HEYNEMAN, 1969. "Leishmaniasis in the Sudan Republic 30-Final epidemiologic report" Am J Trop Med Hyg, 18; 1091-1210.

KAR K., 1995. "Serodiagnosis of Leishmaniasis" Critical Rev Microbiol., 21 (2); 123-152.

KILLICK-KENDRICK R., M. KILLICK-KENDRICK, C. FOCHEUX, J. DEREURE, M.P. PUECH, M.C. CADIERGUES, 1997. Protection of dogs from bites of phlebotomine sandflies by deltamethrin collars for control of canine leishmaniasis. Med Vet Entomol., 11(2); 287-292.

KOEHLER K., M. STECHELE, U. HETZEN, M. DOMINGO, G. SCHONIAN, H. ZAHNER, E. BURKHARDT, 2002. Cutaneous leishmaniasis in a horse in southern Germany caused by *Leishmania infantum*. Vet Parasitol., 109; 9-17.

KOUTINAS A.F., Z.S. POLIZOPOULOU, M.N. SARIDOMICHELAKIS, D. ARGYRIADIS, A. FYTIANOU, K.G. PLEVRAKI, 1999. Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996). J Am Anim Hosp Assoc., 35; 376-383.

KOUTINAS A.F., M.N. SARIDOMICHELAKIS, M.E. MYLONAKIS, L. LEONTIDES, Z. POLIZOPOULOU, C. BILLINIS, D. ARGYRIADIS, N. DIAKOU, O. PAPADOPOULOS, 2001. A randomised, blinded, placebo-controlled clinical trial with allopurinol in canine leishmaniosis. Vet Parasitol., 98(4); 247-61.

KUMAN H.A., N. ALTINTAŞ, 1996. Protozoon Hastalıklar. Ege Üniversitesi Basımevi. İzmir, 79-100 s.

LACHAUD L., S. MARCHERGUI-HAMMAMI, E. CHABBERD, J. DEREURE, J.P. DEDET, P. BASTIEN, 2002. Comparison of six PCR methods using peripheral blood for detection of canine visceral leishmaniasis. J Clin Microbiol., 40(1); 210-215.

LAMOTHE J., 2001. Activity of amphotericin B in lipid emulsion in the initial treatment of canine leishmaniasis. J Small Anim Pract., 42(4); 170-175.

LANOTTE G., J.A. RIOUX, J. PERIERES, Y. VOLLHARDT, 1979. Ecology of leishmaniasis in the south of France. 10. Developmental stages and clinical characterization of canine leishmaniasis in relation to epidemiology. (author's transl). Ann Parasitol Hum Comp., 54(3); 277-295.

LAPPIN M.R., 1992. Protozoal Diseases. In: Small Animal Practise ed, MORGAN, R.V. Churchill livingstone inc., 1231-1234 s.

LISTE F., M. GASCON, 1995. Allopurinol in the treatment of canine visceral leishmaniasis. Vet Rec., 137(1); 23-24.

LOPEZ R., R. LUCENA, M. NOVALES, P.J. GINEL, E. MARTIN, J.M. MOLLEDA, 1996. Circulating immune complexes and renal function in canine leishmaniasis. Zentralbl Veterinarmed B., 43(8); 469-74.

MANCIANTI F., M.L. FALCONE, C. GIANNELLI, A. POLI, 1995. Comparison between an enzyme-linked immunosorbent assay using a detergent-soluble *Leishmania infantum* antigen and indirect immunofluorescence for the diagnosis of canine leishmaniosis. Vet Parasitol., 59; 13-21.

MANCIANTI F., N. MECIANI, 1988. Specific serodiagnosis of canine leishmaniasis by indirect immunofluorescence, indirect hemagglutination, and counterimmunoelectrophoresis. *Am J Vet Res.*, 49(8); 1409-1411.

MANCIANTI F., F. PEDONESE, A. POLI, 1996. Evaluation of dot enzyme-linked immunosorbent assay (dot-ELISA) for the serodiagnosis of canine leishmaniosis as compared with indirect immunofluorescence assay. *Vet Parasitol.*, 65(1-2); 1-9.

MANCIANTI F., S. SOZZI, 1995. Isolation of *Leishmania* from a newborn puppy. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*, 89(4); 402.

MANSON BAHR P.E.C., 1996. Old World Leishmaniasis. In: C OX, f.e.g., Ed, *Illustrated History of Tropical Diseases*. The Wellcome Trust, London, 207-217 s.

MAROLI M., V. MIZZON, C. SIRAGUSA, A. D'OORAZI, L. GRADONI, 2001. Evidence for an impact on the incidence of canine leishmaniasis by the mass use of deltamethrin-impregnated dog collars in southern Italy. *Med Vet Entomol.*, 15(4); 358-363.

MARTINEZ SALLES J., A. LLERET ROCA, 1992. Leishmaniasis canina: Un estudio retrospectivo. Spain: Premios Fundacion Purina. 32; 133-141.

MARTINEZ-SUBIELA S., F. TECLES, P.D. ECKERSALL, J.J. CERON, 2002. Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniasis. *Vet Rec.*, 150(8); 241-244.

MATHIS A., P. DEPLAZES, 1995. PCR and in vitro cultivation for detection of *Leishmania spp.* in diagnostic samples from humans and dogs. *J Clin Microbiol.*, 33(5); 1145-1149.

MOHEBALI M., H. HAJJARAN, Y. HAMZAVI, I. MOBEDI, S. ARSHI, Z. ZAREI, B. AKHOUNDI, K.M. NAEINI, R. AVIZEH, M. FAKHAR, 2005. Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniosis in the Islamic Republic of Iran. *Vet Parasitol.*, 129 (3-4); 243-251.

MOHEBALI M., M. TARAN, Z. ZARALI, 2004. Rapid detection of *Leishmania infantum* infection in dogs: Comparative study using an immunochromatographic dipstick rk39 test and direct agglutination. *Vet Parasitol.*, 121; 239-245.

MOLANO I., M.G. ALONSO, C. MIRON, E. REDONDO, J.M. REUENO, M.

SOTO, C.G. NIETO, C. ALONSO, 2003. A *Leishmania infantum* multi-component antigenic protein mixed with live BCG confers protection to dogs experimentally infected with *L. infantum*. Vet Immunol Immunopathol., 92; 1-13.

MORENO J., J. ALVAR, 2002. Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. Trends Parasitol., 18(9); 399-405.

MORENO J., J. NIETO, C. CHAMÍZO, F. GONZALEZ, F. BLANCO, D.C. BARKER, J. ALVA, 1999. The immune response and PBMC subsets in canine visceral leishmaniasis before, and after, chemotherapy. Vet Immunol Immunopathol., 71(3-4);181-195.

NEOGY A.B., I. VOULDOUKIS, O.A. SILVA, Y. TSELENTIS, J.C. LASCOMBE, T. SEGALIN, D. RZEPKA, L. MONJOUR, 1992. Serodiagnosis and screening of canine visceral leishmaniasis in an endemic area of Corsica: applicability of a direct agglutination test and immunoblot analysis. Am J Trop Med Hyg., 47(6); 772-777.

NOLIC., 1999. Canine leishmaniasis. Waltham Focus, 9(2); 16-24.

OK U.Z., I.C. BALCIOGLU, A. TAYLAN OZKAN, S. OZENSOY, Y. OZBEL, 2002. Leishmaniasis in Turkey. Acta Trop., 84(1); 43-48.

OLIVA G., L. GRADONI, P. CIARAMELLA, R. DE LUNA, L. CORTESE, S. ORSINI, R.N. DAVIDSON, A. PERSECHINO, 1995. Activity of liposomal amphotericin B (AmBisome) in dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. J Antimicrob Chemother., 36(6); 1013-1019.

OTRANTO D., P. PARADIES, M. SASANELLI, M. SPINELLI, R. SPINELLI, O. PRANDONISIO, 2004. Rapid immunochromatographic test for serodiagnosis of canine leishmaniasis. J Clin Microbiol., 42(6); 2769-2770.

OULLETTE M., B. PAPADOPOULOU, 1993. Mechanism of drug resistance in *leishmania*. Parasitol Today., 9; 150-153.

OZBEL Y., L. OSKAM, S. OZENTOY, N. TURGAY, M.Z. ALKAN, C.L. JAFFE, M.A. ÖZCEL, 2000. A survey on canine leishmaniasis in western Turkey by parasite, DNA and antibody detection assays. Acta Trop., 74(1); 1-6.

OZBEL Y., N. TURGAY, S. OZENSOY, A. OZBILGIN, M.Z. ALKAN, M.A.

OZCEL, C.L. JAFFE, L. SCHNUR, L. OSKAM, P. ABRANCHES, 1995. Epidemiology, diagnosis and control of leishmaniosis in the Mediterranean region. *Ann Trop Med Parasitol.*, 89, 1 (Suppl.); 89-93.

OZENSOY S., Y. OZBEL, N. TURGAY, M.Z. ALKAN, K. GUL, A. GILMAN-SACHS, K.P. CHANG, S.G. REED, M.A. OZCEL, 1998. Serodiagnosis and epidemiology of visceral leishmaniasis in Turkey. *Am J Trop Med Hyg.*, 59(3); 363-369.

OZENSOY TOZ S., H. ERTABAKLAR, S. PASA, İ.C. BALCIOĞLU, Y. OZBEL, 2005a. Canine Leishmaniasis In Turkey. Third World Congress on Leishmaniasis. 10-15 April. Palermo-Terrasini, Sicily, Italy.

OZENSOY TOZ S., Y. OZBEL, H. ERTABAKLAR, N. YILDIZLI, M. KORKMAZ, M.Z. ALKAN, 2005b. Comparisons of clinical findings and serological data in the diagnosis of canine leishmaniosis. *Turk J Vet Anim Sci.*, 29; 269-273.

OZON C., P. MARTY, C. VEYSSIERE, P. HAAS, Y. LE FICHOUX, 1995. Resultants d'une enquete sur la leishmaniose canine effectuee pentant une courte periode chez les veterinaires praticiens des Alpes-Maritimes. *Pratique Medicale et Chirurgienne des Animaux deCampagne*, 30; 199-201.

ÖZENSOY TÖZ S., M. KORKMAZ, İ.C. BALCIOĞLU, Y. ÖZBEL, H. ERTABAKLAR, S. RASTGELDİ, 2002. Karaburun ve Urla Bölgesinde Zoonotik Visseral Leishmaniasis. *T Parasitol Derg.*, 26(3); 234-238.

ÖZENSOY S., 2001. Leishmaniasis'de rezervuar olarak köpeklerin önemi.12. Ulusal Parazitoloji Kongresi, Elazığ. Program ve Özet Kitabı, 30 s.

PAPADOPOULOU C., A. KOSTOULA, D. DIMITRIOU, A. PANAGIOU, C. BOBOJIANNI, G. ANTONIADES, 2005. Human and canine leishmaniasis in asymptomatic and symptomatic population in Northwestern Greece. *J Infect.*, 50(1); 53-60.

PASA S., OZENSOY TOZ, S., VOYVODA, H., OZBEL, Y., 2005. Clinical and serological follow-up in dogs with visceral leishmaniosis treated with allopurinol and sodium stibogluconate. *Vet Parasitol.*, 128 (3-4); 243-249.

PENNISI M.G., M. DE MAJO, M. MASUCCI, D. BRITTI, F. VITALE, R. DEL MASO, 2005. Efficacy of the treatment of dogs with leishmaniosis with a combination of metronidazole and spiramycin. *Vet Rec.*, 156(11); 346-349.

POLI A. S. SOZZI, G. GUIDI, P. BANDINELLI, F. MANCIANTI, 1997. Comparison of aminosidine (paromomycin) and sodium stibogluconate for treatment of canine leishmaniasis. *Vet Parasitol.*, 71(4); 263-271.

PORTUS M., 1997. Diagnostico de laboratorio de la leishmaniosis autoctonas. *Lab 2000*, 12; 21-28.

PORTUS M., 1987. Diagnostico de laboratorio de la leishmaniosis canina. *Canis et felis*, 29; 45-51.

PUMAROLA M., L. BREVIK, J. BADIOLA, A. VARGAS, M. DOMINGO, L. FERRER, 1991. Canine leishmaniasis associated with systemic vasculitis in two dogs. *J Comp Pathol.*, 105(3); 279-286.

REALE S., L. MAXIA, F. VITALE, N.S. GLORIOSO, S. CARACAPPA, G. VESCO, 1999. Detection of *Leishmania infantum* in dogs by PCR with lymph node aspirates and blood. *J Clin Microbiol.*, 37(9); 2931-2935.

REITHINGER R., C.R. DAVIES, 2002. Canine leishmaniasis: novel strategies for control. The 2nd International Forum on Canine Leishmaniasis. Spain.

RHALEM A., H. SAHIBI, S. LASRI, C.L. JAFFE, 1999. Analysis of immune responses in dogs with canine visceral leishmaniasis before and after drug treatment. *Vet Immunol Immunopathol.*, 71(1); 69-76.

RIERA C., J.E. VALLADARES, 1996. Viable *Leishmania infantum* in urine and semen in experimentally infected dogs. *Parasitol Today.*, 12(10); 412.

RIERA C., J.E. VALLADARES, M. GALLEGÓ, M.J. AISA, S. CASTILLEJO, R. FISA, N. RIBAS, J. CARRIO, J. ALBEROLA, M. ARBOIX, 1999. Serological and parasitological follow-up in dogs experimentally infected with *Leishmania infantum* and treated with meglumine antimoniate. *Vet Parasitol.*, 84(1-2); 33-47.

ROURA X., A. SANCHEZ, L. FERRER, 1999. Diagnosis of canine leishmaniasis by a polymerase chain reaction technique. *Vet Rec.*, 144; 262 -264.

ROUSH R.T., 1993. Occurrence, genetics and management of insecticide

resistance. *Parasitol Today.*, 9; 174-179.

SANTOS-GOMES G.M., R. ROSA, C. LEANDRO, S. CORTES, P. ROMAO, H. SILVEIRA, 2002. Cytokine expression during the outcome of canine experimental infection by *Leishmania infantum*. *Vet Immunol Immunopathol.*, 88; 21-30.

SARIDOMICHELAKISI M.N., M.E. MYLONAKIS, L.S. LEONTIDES, A.F. KOUTINAS, C. BILLINIS, V.I. KONTOS, 2005. Evaluation of lymph node and bone marrow cytology in the diagnosis of canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*) in symptomatic and asymptomatic dogs. *Am J Trop Med Hyg.*, 73(1); 82-86.

SCHALLIG H.D.F.H., L. OSKAM, 2002. Review: Molecular biological applications in the diagnosis and control of leishmaniasis and parasite identification. *Trop Med Int Health.*, 7 (8); 641-651.

SCHALLIG H.D.F.H., L. CARDOSO, M. HOMMERS, N. KROON, G. BELLING, M. RODRIGUES, S.J. SEMIAO-SANTOS, H. VETTER, 2004. Development of a dipstick assay for detection of *Leishmania*-specific canine antibodies. *J Clin Microbiol.*, 42(1); 193-197.

SCHALLIG H.D.F.H., G.J. SCHOONE, E.G.M. BEIJER, C.C.M. KROOM, Y. OZBEL, S. OZENSOY, E.S. DA SILVA, L.M. CARDOSO, E.D. DA SILVA, 2002. Development of a fast agglutination screening test (FAST) for the detection of anti-*Leishmania* antibodies in dogs. *Vet Parasitol.*, 109; 1-8.

SCHALLIG H.D.F.H., G.J. SCHOONE, C.C.M. KROOM, A. HAILU, F. CHAPPUIS, H. VEEKEN, 2001. Development and application of 'simple' diagnostic tool for visceral leishmaniasis. *Med Microbiol Immunol.*, 190; 69-71.

SCHNUR L.F., M.A. OZCEL, S. AKSOY, L. OSKAM, M. KASAP, N. TURGAY, Y. OZBEL, M.Z. ALKAN, M. AK, S. OZENSOY, K. GUL, C.L. EISENBERGER, C.L. JAFFE, 1997. Human and canine leishmaniasis in Turkey. In "First World Congress on Leishmaniasis", Istanbul. *Acta Parasitol Turcica.*, 21; 1 (Suppl.); 150(Abstr).

SEMIAO-SANTOS S.J., A. EL HARITH, E. FERREIRA, C.A. PIRES, C. SOUSA, R. GUSMAO, 1995. Evora district as a new focus for canine leishmaniasis in Portugal. *Parasitol Res.*, 81(3); 235-239.

SIDERIS V., G. PAPADOPOULOU, E. DOTSIKA, E. KARAGOUNI, 1999. Asymptomatic canine leishmaniasis in greater Athens area, Greece. Eur J Epidemiol., 15; 271-276.

SLAPPENDEL R.J., (1988). Canine leishmaniasis. A review on 95 cases in the Netherlands. Vet Quarter., 10(1); 1-17.

SLAPPENDEL R.J., L. FERRER, 1990. Leishmaniasis. In Infectious diseases of the dog and cat ed, GREENE, C.E.. WB Saunders Co. Philadelphia, 769-777 s.

SLAPPENDEL R.J., L. FERRER, 1998. Leishmaniasis. In Infectious diseases of the dog and cat. ed, GREENE, C.E. WB Saunders Co. Philadelphia, 450-458 s.

SOTO M., J.M. REQUENA, L. QUIJADA, C. ALONSO, 1998. Multicomponent chimeric antigen for serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. J Clin Microbiol., 36(1); 58-63.

SPRENG D., 1993. Leishmanial polyarthritis in two dogs. J Small Anim Pract., 34; 58-63.

STRAUSS-AYALI D., G. BANETH, 2000. Canine visceral leishmaniasis. In "Recent Advances in Canine Infectious Diseases". www.ivis.org. Document No. A0107.0300.

STRELKOVA M.V., L.N. ELISEEV, E.N. PONIROVSKII, P.I. EROKHIN, T.A. RAKITSKAIA, T.A. VALEVICH, V.V. SYSOEV, V.A. ALLENOV, T.A. ADAMISHINA, T.I. DERGACHEVA, 1993. The isoenzyme identification of *Leishmania* isolates taken from greater gerbils, sandflies and human patients in foci of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Turkmenistan. Med Parazitol (Mosk)., 5; 34-37.

SYMMERS W.S., 1960. Leishmaniasis acquired by contagion: a case of marital infection in Britain. Lancet, 16(1); 127-132.

TESH R.B., 1995. Control of zoonotic visceral leishmaniasis: is it time to change strategies? Am J Trop Med Hyg., 52(3); 287-292.

TROTZ-WILLIAMS L.A., A.J. TREES, 2003. Systematic review of the distribution of the major vector-borne parasitic infections in dogs and cats in Europe. Vet Rec., 152(4); 97-105.

UNAT E.K., 1981. Leishmanyazların tarihçesi. in: Leishmaniasis ed, Ş. Yaşarol. 2.

Ulusal Parazoloji Kongresi, Ankara.

VALLADARES J.E., J. ALBEROLA, M. ESTEBAN, M. ARBOIX, 1996. Disposition of antimony after the administration of N-methylglucamine antimoniate to dogs. Vet Rec., 138(8); 181-183.

VALLADARES J.E., C. RIERA, J. ALBEROLA, M. GALLEG0, M. PORTUS, C. CRISTOFOL, C. FRANQUELO, M. ARBOIX, 1998. Pharmacokinetics of meglumine antimoniate after administration of a multiple dose in dogs experimentally infected with *Leishmania infantum*. Vet Parasitol., 75(1); 33-40.

VERCAMMEN F., D. BERKVENs, D. LE RAY, D. JACQUET, T. VERVOORT, 1997. Development of a slide ELISA for canine leishmaniasis and comparison with four serological tests. Vet Rec., 141(13); 328-330.

VERCAMMEN F., R. DE DEKEN, 1995. Treatment of canine visceral leishmaniasis with allopurinol. Vet Rec., 137(10); 252.

VOLF P., Y. OZBEL, F. AKKAFA, M. SVOBODOVA, J. VOTYPKA, K.P. CHANG, 2002. Sand flies (Diptera: Phlebotominae) in Sanliurfa, Turkey: relationship of *Phlebotomus sergenti* with the epidemic of anthroponotic cutaneous leishmaniasis. J Med Entomol., 39(1); 12-15.

VOYVODA H., S. PASA, S. OZENSOY TOZ, Y. OZBEL, H. ERTABAKLAR, 2004. Aydın'ın bazı ilçe ve köyleri ile İzmir'in Selçuk ilçesindeki köpeklerde Leishmaniosis ve Dirofilariosis'in prevalansı. Turk J Vet Anim Sci., 28; 1105-1111.

World Health Organization: Leishmaniasis control. Communicable Disease Surveillance and Response (CRS) (1999).

YAŞAROL Ş., Ü. SENCER, 1964. Ege'de kala-azar olayları ve rezervuarları üzerine araştırmalar. Türk Hijyen Tecrubi Biyol Derg., 24; 298-305.

ZERPA O., F. PRATLONG, M. ULRICH, J. CONVIT, 2001. Isolation of *Leishmania infantum*, zymodeme MON-1 from canine and human visceral leishmaniasis on Margarita Island, Venezuela. Mem Inst Oswaldo Cruz., 96(7); 901-902.

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Kayseri’de doğdum. İlkokul öğrenimimi Etlik İlkokulunda, ortaokulu öğrenimimi Yükseliş Koleji’nde, lise öğrenimimi ise Anıttepe Lisesinde Ankara’da tamamladım. 1997 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesine girerek 2002 yılında mezun olduktan sonra aynı yıl İç Hastalıkları Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Programını kazanarak Anabilim Dalı araştıma görevlisi kadrosuna atandım. Halen aynı görevi yürütmekteyim.