

Diyarbakır'ın Dicle ve Hani İlçelerindeki Köpeklerde Leishmaniasis'in Klinik, Hematolojik ve Biyokimyasal Bulguları, Serolojik Tanısı ve PCR ile Tiplendirilmesi

Özgür Yaşar ÇELİK¹, Servet SEKİN²

¹Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları ABD-Siirt

²Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları ABD-Diyarbakır

Özet

Leishmaniasis, halk arasında tatarcık olarak bilinen *Phlebotominae* sineklerinin kan emerken bulaştırdıkları, *Leishmania* spp. tarafından meydana getirilen insan ve hayvanlarda ölümcül olabilen paraziter bir hastalıktır. Ülkemizde Visseral leishmaniasis olguları başta Ege ve Akdeniz bölgeleri olmak üzere bütün bölgelerimizde görülmektedir. Akdeniz ülkelerinde yapılan çalışmalarda köpeklerde Visseral leishmaniasisin oldukça yaygın olduğu ve köpeklerin *L.infantum* için rezervuar oldukları bildirilmektedir. Bu çalışma Mayıs-Haziran 2013 tarihleri arasında Diyarbakır'ın Dicle (Dede ve Durabeyli köyleri) ve Hani (sergen ve çardaklı köyleri) ilçelerindeki sahipli köpeklerde *canine leishmaniasis* seroprevalansının araştırılması amacıyla yapılmıştır. Tekniğine uygun olarak 120 köpeğin vena cephalica antebraçii'lerinden EDTA'lı ve EDTA'sız tüplere kan örneği alındı. Alınan örnekler Rapid test, IFAT, PCR ile incelendi ve köpeklerin tamamı leishmaniasis yönünden negatif bulundu. Benzer çalışmaların bölgedeki sahipsiz köpekleri de kapsayacak şekilde yapılmasının daha iyi sonuçlar doğuracağı kanaatindeyiz.

Anahtar Sözcükler: Canine Leishmaniasis, IFAT, PCR, Köpek, Diyarbakır.

Clinical, hemtological and biochemical findings of Leishmaniasis in Dicle and Hani distrcirects of Diyarbakır, its serological diagnosis and typology with PCR*

Abstract

Leishmaniasis, is a parasitary disease which can be lethal in humans and animals. It is contaminated by *Phlebotominae* flies which are known in public as sandfly during blood sucking and disease is caused by *Leishmania* spp. In our country, visceral leishmaniasis subjects can be observed in all regions especially in Aegean and Mediterranean regions. In studies made in Meditteranean countries, it was observed that visceral leishmaniasis is very widespread in dogs and that dogs act as a reservoir for *L.infantum*. This study was conducted in May-June 2013 in Dicle (Dede and Durabeyli villages) and Hani districts (Sergen and Çardaklı villages) of Diyarbakır on possessed dogs with the aim of researching *canine leishmaniasis* seroprevalance. In accordance with the technique, blood samples were taken from vena cephalica antebraçii of 120 dogs and were placed into tubes which are including and not including EDTA. The taken samples were examined by Rapid test, IFAT, PCR and all of the dogs were found to be negative in terms of leishmaniasis. We think that a similar study to be conducted so as to cover non-possessed dogs in the region, will provide better results.

Key words: Canine Leishmaniasis, IFAT, PCR, dog, Diyarbakır.

Giriş

Leishmaniasis, yurdumuzda halk arasında yakarca veya tatarcık olarak bilinen *Phlebotominae* sineklerinin kan emerken bulaştırdıkları, memelilerin zorunlu hücre parazitleri olan *Leishmania* türleri tarafından meydana getirilen, insan ve hayvanlarda ölümcül olabilen paraziter bir hastalıktır. Orta ve Güney Amerika, Afrika, Asya ve Akdeniz Havza'sında yer alan 88 ülkede görülen bu hastalık giderek artan oranda karşılaşılan hem veteriner hem de beşeri alanda bir halk sağlığı problemidir (1-6).

Leishmaniasis; visseral (VL), kütanöz (KL), diffüz kütanöz (DKL) ve mukokütanöz (MKL) olmak üzere başlıca 4 formda klinik tablo oluşturabilir (3,7,8). Hastalığın formlarından en yaygını kütanöz form olmakla birlikte vital organları etkilediğinden dolayı Visseral form en ciddi seyreden formdur (9,10).

Kutanöz formların % 90'ı Afganistan, Pakistan, Suriye, Sudi Arabistan, Cezair, İran, Brezilya ve Peruda görüldüğü, Visseral leishmaniasis'in % 90'ı Hindistan, Bangladeş, Nepal, Sudan ve Brezilya'da görüldüğü rapor edilmiştir (9-14). Ülkemizde Kutanöz leishmaniasisin, özellikle Şanlıurfa, Osmaniye, Adana, Hatay, Diyarbakır, Kahramanmaraş ve Mersin illerinde endemik olarak görüldüğü bildirilmektedir (15,16). Visseral leishmaniasis olguları başta Ege ve Akdeniz Bölgeleri olmak üzere bütün bölgelerimizde görülebilmektedir (15,16).

Leishmania cinsine ait türlerin yaşam evrelerinde morfolojik olarak, memeli konakta görülen "amastigot" ve vektörde görülen

"promastigot" şekli olmak üzere iki farklı şekli bulunmaktadır (17,18). Parazitin taşınmasında 40 türden fazla Phlebotom (Asya, Avrupa, Afrika) ve 30 tür Lutzomyia (Amerika kıtası) rol almaktadır (19). İnsanlar için Leishmaniasis'in 20 türü patojeniktir (20). Doğada kertenkelelerde ve memelilerde görülen leishmaniasisin insan dışında en yaygın görüldüğü memeli türü köpeklerdir. Köpekler, klinik olarak hastalığa yakalanmalarının yanı sıra insanlar başta olmak üzere diğer memeliler için hastalığın rezervuarı olması açısından da önem taşımaktadır (15,16).

Hastalığa yakalanan köpekler dokuz ana klinik semptomdan bir veya daha fazlasını gösterir. Bunlar; deri lezyonları, kilo kaybı veya iştahsızlık, lokal veya genel lenfadenopati, oküler lezyonlar, epistaksis, topallık, anemi, renal yetmezlik ve diyaredir. Vücut sıcaklığında dalgalanmalar görülmekle birlikte genellikle normal veya normalin çok az üstündedir (20,21,22).

Bu çalışmada Diyarbakır'ın Dicle ve Hani ilçelerine bağlı 4 köydeki sahipli köpeklerden alınan kan örneklerinde *L.infantum* varlığının serolojik ve moleküler olarak tespiti amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Çalışma; farklı ırk ve yaşlarda olmak üzere Diyarbakır'ın Dicle ilçesinin Dede ve Durabeyli köylerinden 71, Hani ilçesinin Sergen ve Çardaklı köylerinden 49 olmak üzere toplam 120 köpek üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Kan alma işlemi öncesi hayvanların klinik muayeneleri yapıldı ve kaydedildi. Laboratuvar

muayeneleri için tekniğine uygun olarak vena cephalica antebrachi'den hematoloji tüplerine (EDTA'lı) 3 ml, biyokimya tüplerine (EDTA'sız) 8 ml kan örneği alındı. Alınan kan örnekleri 3000 devirde 10 dakika santrifüje edilip serumları ayrılarak analizler yapılmaya kadar (-20) °C de saklandı.

Çalışmada Leishmania varlığını tespit etmek için saha koşullarında hızlı tanı testi olarak Biopronix Leishmania IC test kiti, elde edilen serumların serolojik tanısı için IFAT (Indirect Immunofluorescent Antibody Test) yöntemi kullanılırken moleküler tanı için PCR (Polymerase Chain Reaction) yöntemi kullanılmıştır.

IFAT (Indirect Fluorescent Antibody Test) testinde, Serum örneklerinde *L. infantum*'a karşı gelişmiş antikor varlığını belirlemek için *L. infantum* suşu kaplı, ticari IFAT lamaları (Bio Veto Test, Fransa) kullanılmıştır. Test ticari firmanın önerileri doğrultusunda uygulanmış, fluoresan işaretleme amacıyla 1/100 dilüsyonda hazırlanmış olan ticari konjugat kullanılmıştır (rabbit anti-dog IgG fluorescein isothiocyanate conjugate, Sigma Chemical Company). Sonuçlar, pozitif ve negatif referans serumlarla karşılaştırılmış, 1/128 ve üzeri sulandırmalarda elde edilen reaksiyonlar pozitif, 1/64 sulandırmalar ise şüpheli pozitif olarak kabul edilmiştir. IFAT yöntemi Ankara'da Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Bulaşıcı Hastalık Kontrol Programları, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı'nda yapıldı.

PCR (Polymerase Chain Reaction): DNA izolasyonu; Bio Basic Ez Spin Column DNA izolasyonu kit aracılığıyla, kit üreticisinin önerdiği protokol esas alınarak gerçekleştirildi. PCR yöntemi Dicle Üniversitesi, Veteriner

Fakültesi Genetik Anabilim dalında yapılmıştır. İstatiksel analizler için SPSS V.16 (Statistical Package for the Social Sciences) programından yararlanıldı. Guruplar arasındaki karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Bulgular

Klinik muayene sonucu 18 (% 15) köpekte deri lezyonları, 5 (% 4) köpekte topallık ve 4 (% 3) köpekte oküler lezyonlar saptanırken hastalığın diğer semptomları olan kilo kaybı, lokal veya genel lenfadenopati, epistaksis, anemi ve diyare gibi semptomları saptanmadı.

Alınan kan örneklerinin sonuçları incelendiğinde total lökosit değerleri minimum 6.50, maksimum 16, % lenfosit değerleri minimum 13, maksimum 29.50, % monosit değerleri minimum 3, maksimum 9.50, % granülosit değerleri minimum 52.50, maksimum 80.50, RBC değerleri minimum 5, maksimum 8, % Htc değerleri minimum 36.50, maksimum 54.50, Hb değerleri minimum 11.50, maksimum 18 olarak tespit edildi. Serum örneklerinin sonuçları incelendiğinde AST değerleri minimum 12, maksimum 18, ALT değerleri minimum 10, maksimum 57, ALP değerleri minimum 19, maksimum 80, BUN değerleri minimum 8.50, maksimum 26, Total Protein değerleri minimum 5.40, maksimum 7.50, Kreatin değerleri minimum 0.40, maksimum 1.80 olarak saptandı. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tam kan ve biyokimya parametrelerinde tespit edilen farklılıklar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı ($P>0.05$).

Leishmania varlığını tespit etmek için saha koşullarında kullanılan hızlı tanı testi, tanıda altın standart olarak kullanılan IFAT yöntemi ve

moleküler tanıda kullanılan PCR yöntemlerinin uygulanması sonucunda Dicle ve Hani ilçelerinin 4 köyündeki sahipli 120 köpekten alınan örneklerin tümü leishmaniasis yönünden negatif bulunmuştur.

Tartışma ve Sonuç

Ülkemizin de içinde bulunduğu Akdeniz havzası başta olmak üzere Antartika dışında neredeyse tüm dünyada görülen leishmaniasis, WHO tarafından bildirilen altı önemli hastalıktan biridir (10,20,23). Leishmaniasisin çeşitli formları olmakla birlikte ülkemizde visseral leishmaniasis, kutanöz leishmaniasis ve canin leishmaniasis görülmektedir (6). İnsanlar, kemirgenler, kurt, çakal, tilki ve kedilerin tesadüfen konakçı olmalarının yanında en önemli rezervuarın evcil köpekler olduğu bildirilmektedir (24,25). Enfeksiyon bulaştıktan sonra hastalığın asemptomatik, oligosemptomatik ve semptomatik gibi farklı formları gelişebilmektedir (7,26). Enfekte köpeklerin yaklaşık yarısında klinik bulguların bulunmadığı asemptomatik olan köpeklerin en az semptomatik köpekler kadar enfektif oldukları bildirilmektedir (27). Canin leishmaniasisin ırk, yaş ve cinsiyet gibi predispozisyon yaratan faktörlere bağlı olmadığı ancak 2 yaş altı ve 8 yaş üzeri köpeklerde inkübasyon süresinin uzun olmasından dolayı hastalığın daha az görüldüğü ve erkeklerin dişilere oranla daha fazla etkilendiği bildirilmektedir (28-31).

Canin leishmaniasis tanısının oldukça zor olabilmesi nedeniyle eksiksiz bir fizik muayene ile parazitolojik, serolojik ve moleküler tanı tekniklerinin bir arada kullanılmasının ardından kesin tanı konulabilir (21).

Araştırmamızda tespit ettiğimiz deri lezyonları (%15), topallık (%4) ve oküler lezyonlar (%3), araştırmacıların (16, 18, 21, 22, 32, 39) bulgularıyla paralellik göstermekte ancak bulgularımızın leishmaniasise ait olmadığı tespit edilmiştir.

L. infantum'un seroprevalansı ekolojik özelliklere bağlı olarak bölgeden bölgeye değişmekle birlikte tüm Akdeniz ülkelerinde benzer olduğu ve yapılan araştırmalar sonucu seroprevalansın % 1,6 ile % 44,9 arasında değiştiğini bildirmektedir (10,32). İtalya'da ortalama % 26.3, Fransa'da % 3- %17, İspanya'da ortalama %11.5, Portekiz'de % 8.5, Yunanistan'da %25.6, Tunus'ta % 6, Cezayir'de % 37.5, Malta'da % 17.3, İsrail'de % 11.5, İran'da % 21.6- % 40.6, Kıbrıs'ta % 10 seroprevalansa sahiptir. Güney Amerika'da ise daha yüksek seroprevalans (%34.71) bildirilmiştir (29,26,33). Ülkemizde 1993'ten bu yana visseral leishmaniasis hastalarının bulunduğu bölgelerde sınırlı sayıdaki köpekte yapılan incelemelerde canin leishmaniasis oranının, Manisa'da %3,6-%25, Muğla'da %3.8, Karabük'te %8, Aydın'da % 9.4, İzmir'de % 25 olduğu bildirilmiştir. Ülkemizde bugüne kadar 22 ilde araştırılan canin leishmaniasisin görülme sıklığının %3-%45 arasında değiştiği ve genel seroprevalans oranının %15,76 olduğu bildirilmektedir (22).

Yapılan birçok çalışmada leishmaniasis tanısında IFAT testinden yararlanılmakta ve canin leishmaniasis seroprevalansının belirlenmesinde altın standart olarak kullanılmaktadır. IFAT ile enfeksiyonun erken safhalarında leishmaniasis tespit edilebilirken 6-9 aylık bir sağaltımdan sonra tespit edilememektedir. Testin duyarlı (%96) ve spesifik (%98) olmasından dolayı

WHO tarafından referans serolojik test olarak kabul edilmektedir (10,34,35,36).

Balcıoğlu ve arkadaşlarının (22) Antalya'da IFAT yöntemi kullanılarak yaptıkları bir araştırmada köpeklerin % 7.95'i pozitif, %13.63'ü sınırda pozitif bulunduğu bildirilmiştir. Ege bölgesinde yapılan bir çalışmada (32) serumların IFAT ile incelenmesi sonucu köpeklerin % 9'unun *L. infantum* ile enfekte olduğu saptanmıştır. Aydenizöz ve arkadaşlarının (37) Kırıkkale'de IFAT yöntemi kullanarak yaptıkları çalışmada % 2 seropozitiflik saptanmıştır. Tamer ve arkadaşlarının (27) Kocaeli'de yaptıkları araştırmada köpeklerden alınan kan serumlarının IFAT yöntemi ile incelenmesinin sonucu olarak %3.07 lik bir seropozitiflik bildirilmişlerdir. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesinde bir köpekte IFAT ile yapılan test sonucu seropozitif olduğu bildirilmiştir (38). Kuşadası'nda IFAT testi kullanarak yapılan bir başka çalışmada (39) köpeklerin %16.60 seropozitif olduğu bildirilmiştir. Özbel ve arkadaşlarının (40) Manisa'da yaptıkları bir araştırmada köpeklerin %4.9'unun seropozitif olduğu saptanmıştır. Töz ve arkadaşlarının (41) 109 köpek üzerinde IFAT ve rK39 testleri kullanarak yaptıkları çalışmada toplam 10 (%9.1) köpeğin testlerin herhangi biriyle seropozitif veya sınırda seropozitif olduğunu ifade etmişlerdir.

İçen ve arkadaşlarının (42) Diyarbakır'da IFAT yöntemi kullanarak yapmış oldukları bir çalışmada köpek serumlarının tümü *L. infantum* yönünden seronegatif bulunmuştur. IFAT yöntemi kullanılarak Edirne'de yapılan diğer bir çalışmada (43) toplam 37 köpekten kan alınmış ve köpek serumlarının hiçbirinde IgG antikor varlığına rastlanılmamıştır. İstanbul'un farklı

yörelerindeki sokak köpeklerinde visceral leishmaniasis seroprevalansının araştırılması için yapılmış bir çalışmada toplam 152 kan serumu IFAT ile anti-*Leishmania infantum* IgG antikorları yönünden incelenmiş ve köpeklerin tamamı seronegatif bulunmuştur (44). Çanakkale yapılan bir çalışmada (45) 27 köpekten kan örnekleri alınarak IFAT yöntemiyle incelenmiş ve hiçbir köpekte seropozitiflik tespit edilmediği bildirilmiştir. Erzurum köpek barınağında yapılan bir çalışmada (46) 72 köpekten alınan kan serumları IFAT testiyle incelenmiş ve kan serumu örneklerinin hiçbirinde leishmaniasis saptanmadığı bildirilmiştir.

Çalışmamızda aldığımız kan serumlarının IFAT yöntemi ile incelenmesi sonucu hiçbir köpekte leishmaniasis seropozitifliğine rastlanmaması araştırmaların (42-46) bildirdikleri sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

PCR teknolojisi birçok paraziter hastalıkta olduğu gibi leishmaniasis tanısında da kullanılmaktadır. Bu tekniğin leishmania tanısı için duyarlılığı (%70-93) önemli oranda yüksektir (47). PCR'ın, semptomatik veya parazitolojik olarak doğrulanmış olgularda %89–100 duyarlılık gösterdiği bildirilmektedir (48,49). Bu yöntemle incelenen biyolojik materyal içerisinde var olan çok düşük miktarlardaki protozoonlara ait DNA belirlenebilmektedir. Buna karşın, nadir de olsa, uygun örnek alınamamasına ve örnekteki PCR inhibitörlerine bağlı olarak PCR ile yanlış sonuçlar alınabileceğine ve bu nedenlerle de PCR'ın diğer yöntemlere alternatif olarak değil de, diğer yöntemlerle birlikte uygulanmasının leishmaniasis tanı ve takibinde daha yararlı olacağı önerilmektedir (47-50).

Brezilya'da PCR yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada (51) en az bir klinik belirti gösteren köpeklerin %97.7'si seropozitif olduğu bildirilmiştir. Çin'in farklı bölgelerinde PCR yöntemi kullanılarak yapılan çalışmalarda (52) ortalama %25.15 pozitiflik saptandığı bildirilmektedir. Çin'in batısında PCR yöntemi kullanılarak yapılan diğer bir çalışmada PCR yöntemi %51,88 duyarlı bulunarak ELISA (%36,79) ve rK39 (%9,43) testine göre daha duyarlı bulunmuştur (53). İspanya'da PCR kullanılarak yapılan bir araştırmada (54) kemik iliğinden alınan örneklerden %17'sinin, konjunktival örneklerde %32'sinin, deri örneklerinde ise %51'inin pozitif olduğu bildirilmektedir. İsviçre'de PCR yöntemiyle yapılan araştırmada (55) köpeklerin %75'inin pozitif olduğu bildirilmiştir. İça ve ark. (16) Nested-PCR yöntemi kullanarak yaptıkları araştırmada rastgele seçilen toplam 300 asemptomatik köpekten kan alınmış ve tüm köpeklerin negatif olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda köpeklerden alınan kan örneklerinin PCR yöntemi ile incelenmesi sonucu hiçbir köpekte leishmaniasis saptanmaması İça ve ark. (16) bulgularıyla paralellik göstermektedir.

Araştırmacıların (38, 56-59) yaptıkları çalışmalarda leishmaniasisli köpeklerden alınan kan örneklerinin hematolojik analizi sonucu RBC, Htc ve Hb seviyeleri kontrol grubuna kıyasla düşük çıktığı ancak istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadığı bildirilirken WBC ve lenfosit değerlerinde artış görüldüğü ve bu lenfosit değerindeki artışın istatistiksel açıdan anlamlı bulunduğu bildirilmektedir. Yine araştırmacıların (56-59) yapmış oldukları analizlerde AST, ALT, ALP değerlerinde istatistiksel açıdan anlamsız

artma, total protein ve kreatin değerlerinde ise anlamlı bir artma bildirilirken diğer bir çalışmada (38) ALT ve kreatin değerlerinin normal sınırlarda olduğu bildirilmektedir.

Çalışmamızda da araştırmacıların (38, 56-59) çalışmalarına benzer olarak RBC, Htc ve Hb seviyelerinde bir düşüş görülmüş ancak istatistiksel açıdan önemsiz ($P>0.05$) bulunmuştur. Bu değerlerin düşük çıkması herhangi bir travmaya bağlı kan kayıpları, hemolize neden olabilen hastalıklar, renal yetmezlik, kronik hastalıklar, kemik iliği depresyonu, bakım ve beslenme yetersizlikleri gibi nedenlerden şekillenmiş olabilir.

Yine biyokimya analizlerinde araştırmacıların (56-59) bulgularına benzer olarak kontrol grubuna kıyasla AST, ALT, ALP, BUN, Total protein ve kreatin düzeylerinde bir artma görülmüş ancak istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca araştırmacılar göre (18, 57) Karaciğer enzim seviyeleri canin leishmaniasis olgularında düşük veya yüksek çıkabilmektedir. Bunun sonucu olarak karaciğer enzim testlerinin canin leishmaniasis tanısında faydalı olamayacağı bildirilmektedir. İskelet kasları ve düz kaslarda meydana gelebilecek travmalar, enterit, gastro intestinal sistem hasarları ve karaciğer harabiyetine neden olan herhangi bir neden sonucunda AST, ALT ve ALP değerlerinde artış şekillenebilmektedir. Sistemik komplikasyonlar, sepsis, sekonder enfeksiyonlar ve beslenme (gıda ve su alımı) böbrekler üzerinde olumsuz etki yaparak kreatin seviyesinin artışına neden olabilmektedir.

Sonuç olarak; benzer çalışmaların bölgedeki sahipsiz köpekleri de kapsayacak şekilde geniş alanda yapılmasının daha iyi sonuçlar doğuracağı kanaatindeyiz.

Kaynaklar

1. Roberts MTM. (2006). Current understandings on the immunology of leishmaniasis and recent developments in prevention and treatment. *British Medical Bulletin*; 75 and 76: 115–130.
2. Hommel M. (1999). Visceral leishmaniasis: biology of the parasite. *J Infect*; 39:101–11.
3. Capelli G. (2007). Asymptomatic and Symptomatic Dogs in Endemic areas, their role in the Epidemiology of Canine Leishmaniasis. The 2nd Canine Vector-Borne Disease (CVBD) Symposium. Mazara del Vallo, Sicily, Italy. 58-63.
4. Doğan N, Taylan-Özkan A, Babür C, Köse C. (2014). Sağlıklı görünümü Eskişehir sokak köpeklerinde leishmaniasis ve toksoplazmosis seroprevalansının araştırılması. *Türk Hij Den Biyol Derg*; 71(1): 27 - 34.
5. Gradoni L. (1995). Canine reservoir of zoonotic visceral leishmaniasis in the Mediterranean area: Epidemiology and control. *Inf Circ-WHO Mediterr Zoon Cont Cent*, 37: 12-13.
6. Özensoy S, Özbek Y, Turgay N et al. (1998). Serodiagnosis and epidemiology of visceral leishmaniasis in Turkey. *Am J Trop Med Hyg.*, 59(3); 363-369.
7. Baneth G, Koutinas AF, Solano-Gallego L, Bourdeau P, Ferrer L. (2008). Canine leishmaniasis—new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends Parasitol.* 24:324–330.
8. Quinnell RJ, Courtenay O, Garcez L, Dye C. (1997). The epidemiology of canine leishmaniasis: transmission rates estimated from a cohort study in Amazonian Brazil. *Parasitology* 115: 143–156.
9. Murray HW, Berman JD, Davies CR, Saravia NG. (2005). Advances in leishmaniasis. *Lancet*; 366: 1561–77.
10. www.who.int [Erişim tarihi 14.12.2012]
11. WHO Technical Report Series 949. (2010). Control Of The Leishmaniases. Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases, Geneva, 22–26.
12. Banuls AL, Hide M, Prugnolle F. (2007). Leishmania and the Leishmaniases: A Parasite Genetic Update and Advances in Taxonomy, Epidemiology and Pathogenicity in Humans. *Advances In Parasitology*. Vol 64.
13. Reithinger R, Dujardin JC, Louzir H, Pirmez C, Alexander B, Brooker S. (2007). Cutaneous leishmaniasis. *Lancet Infect Dis.*; 7: 581–96..
14. Krotoski MJ. *Medical Parasitology*. 8th .Ed. (1999). W.B.Saunders company-London. 147-154.
15. Özbek Y, Töz SÖ, Uzun S, Balcıoğlu C ve ark. (2005). Şark Çıbanı. Ed. Uzun R, Buzgan T. Onur matbaacılık ltd.Şti. Ankara.
16. İça A, İnci A, Yıldırım A, Atalay Ö, Düzlü Ö. (2008). Kayseri ve Civarında Köpeklerde Leishmaniasisin Nested-PCR ile Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 32 (3): 187 -191.
17. Joao A, Pereira MA, Cortes S, Santos-Gomes GM. (2006). Canine Leishmaniasis Chemotherapy: Dog's Clinical Condition and Risk of Leishmania Transmission. *J. Vet. Med.*; A 53:540–545.
18. Strauss-Ayali D, Baneth G. (2000). Canine Visceral Leishmaniasis. *International Veterinary Information Service (www.ivis.org)*, Ithaca, New York, USA. Document No. A0107.0300.
19. Otranto D, Paradies P, Lia P et al. (2007). Efficacy of a combination of 10% imidacloprid/50% permethrin for the prevention of leishmaniasis in kennelled dogs in an endemic area. *Veterinary Parasitology*; 144:270–278.
20. Desjeux P. (2004). Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*; 27:305–318.
21. Ferrer LM. (1999). Clinical aspects of canine Leishmaniasis. *Canine Leishmaniasis: an update*. Ed. Killick-kendrick R. Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum. Barcelona, Spain.
22. Balcıoğlu İC, Ertabaklar H, Paşa S, Özbek Y, Özensoy Toz S. (2009). Antalya İli ve İlçelerindeki Dört Köpek Barınağında Leishmaniasis Seroprevalansının Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*; 33 (1): 4 – 7.
23. Davies CR, Reithinger R, Campbell-Lendrum D, Feliciangeli D, Borges R, Rodriguez N. (2000). The epidemiology and control of

- leishmaniasis in Andean countries. *Cad Saúde Publica*; 16: 925–50.
24. Davidson R. (1999). Leishmaniasis in humans, with particular reference to leishmaniasis with a canine reservoir. Canine leishmaniasis: an update. In: Killick-Kendrick R (Ed.). *Proceeding of the International Canine Leishmaniasis Forum: 1999 Aug 01; Barcelona Spain. France Hoeschst Roussel Vet: 72–7.*
 25. Bryceson ADM. (1996). Leishmaniasis. In: Cook Gordon C (Ed.), *Manson's Tropical Diseases. 20th ed. London: WB Saunders Company LTD;; p. 1213–45.*
 26. Sideris V, Papadopoulou G, Dotsika E, Karagouni E. (1999). Asymptomatic canine leishmaniasis in Greater Athens area, Greece. *European Journal of Epidemiology* 15: 271-276.
 27. Tamer GS, Polat E, Töz S, Altaş K. (1999). Kocaeli Sokak Köpeklerinde Visseral Leishmaniasis Seroprevalansı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 32 (3): 183 -186, 2008.
 28. Noli C. Canine leishmaniasis. *Waltam Focus*, 9(2); 16-24.
 29. Moreno J, Alvar J. (2002). Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. *Trends in Parasitology* Vol.18 No.9 September.
 30. Ciaramella P. (1997) A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet. Rec.* 141, 539–543.
 31. Slappendel RJ, Ferrer L.(1990). Leishmaniasis. In *Infectious diseases of the dog and. WB Saunders Co. Philadelphia.*769-777.
 32. Atasoy A. (2005). Ege Bölgesinde Köpeklerde Visseral Leishmaniasis'in Seroprevalansı. Yüksek lisans tezi. T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Aydın.
 33. Torres FD, Brito MEF, Filho SPB. (2006). Seroepidemiological survey on canine leishmaniasis among dogs from an urban area of Brazil. *Veterinary Parasitology* 140,54–60.
 34. Sassi A, Louzir H, Ben Salah A, et al. (1999). Leishmanin skin test lymphoproliferative responses and cytokine production after symptomatic or asymptomatic *Leishmania* major infection in Tunisia. *Clin Exp Immunol*;116:127–32.
 35. Gradoni L, Gramiccia M.(2000). Leishmaniasis, In *OIE manual of standards for diagnostic tests and vaccine, 4th ed. Office International des Epizooties, Paris, France, 803-812.*
 36. Dye C, Vidor E, Dereure J. (1993). Serological diagnosis of leishmaniasis; on detecting infection as well as disease. *Epidemiol Infect*, 110: 647-56.
 37. Aydenizöz M, Yağcı BB, Özkan AT, Duru SY, Gazyacı AY. (2010). Kırıkkale'deki Köpeklerde Mikrokültür Yöntemi ve IFAT ile Visseral Leishmaniasisin Prevalansının Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 34 (1): 1 5.
 38. Gönül R, Arun SS, Dodurka T, Handemir E. (2002). Bir Köpekte *Leishmania infantum* Olgusu. *Turk J Vet Anim Sci*; 26:689-694.
 39. Töz SÖ., Özbel Y., Ertabaklar H. (2005). Comparisons of Clinical Findings and Serological Data in the Diagnosis of Canine Leishmaniasis. *Turk J Vet Anim Sci* 29:269-273.
 40. Özbel Y., Oskam L., Töz SÖ et al. (2000). A survey on canine leishmaniasis in western Turkey by parasite, DNA and antibody detection assays. *Acta Tropica*. 74:1–6.
 41. Töz SÖ, Ertabaklar H, Özbel Y, Balcıoğlu İC, Yıldızlı N, Alkan MZ. (2005). Seroprevalence of Canine Visceral Leishmaniasis in Kuşadası, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 29, 23-26.
 42. İçen H, Babür C, Bademkiran S, Çelebi B, Şimsek A, Özyurtlu N, Özkan AT. (2010). Diyarbakır Bölgesindeki Sahipsiz Köpeklerde Toxoplasmosis, Leishmaniasis ve Listeriozisin Seroprevalansı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*; 34 (1): 6 10.
 43. Düzbeyaz A. (2006). Edirne Merkez İlçesi Kedi Ve Köpek Evindeki Köpeklerde Leishmaniasis Seroprevalansı. Yüksek Lisans Tezi. T.C.Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Edirne.
 44. Handemir E, Öncel T, Kamburgil K. (2004). İstanbul Sokak Köpeklerinde Visseral Leishmaniasis Seroprevalansı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 28 (3): 123-125.
 45. Tok H, Sevil N, Töz S, Ertabaklar H, Balcıoğlu İC, Demir S, Özbel Y, Coskun M. (2009). Çanakkale İli Ayvacık Bölgesinde Zoonotik Visseral Leishmaniasisin Serolojik ve Entomolojik Olarak Araştırılması.

- Türkiye Parazitoloji Dergisi, 33 (2): 109 - 113.
46. Aktaş MS, Özkanlar YE, Özkan TA, Babür C, Balkaya İ. (2010). Erzurum İli Barınak Köpeklerinde Listeriosis ve Leishmaniasisin Seroprevalansının Araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 34 (2): 76 -80.
47. Reis A, Martins-Filho O, Teixeira-Carvalho A, et al. (2006). Parasite density and impaired biochemical/ hematological status are associated with severe clinical aspects of canine visceral leishmaniasis. Research in Veterinary Science 81, 68–75.
48. Mortarino M, Franceschi A, Manciant F, et al. (2004). Quantitative PCR in the diagnosis of Leishmania. Parasitologia 46, 163–167.
49. Töz SÖ., Özbel Y., Atay MG et al. (2002). İnsan ve köpeklerden alınan klinik örneklerle Leishmaniasis Tanısı için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) uygulanması. T.Parazitol Dergisi. 26(3): 239–44.
50. Piscopo TV, Mallia AC. (2006). Leishmaniasis. Postgrad Med J,82:649–657.
51. Quaresma PF, Murta SMF, Ferreira ECF, et al. (2009). Molecular diagnosis of canine visceral leishmaniasis: Identification of Leishmania species by PCR-RFLP and quantification of parasite DNA by real-time PCR. Acta Tropica 111,289–294.
52. Shang LM., Peng WP., Jin HT.,et al. (2011). The prevalence of canine Leishmania infantum infection in Sichuan Province, southwestern China detected by real time PCR. Shang et al. Parasites & Vectors. 4:173.
53. Wang JY, Ha Y, Gao CH et al. (2011). The prevalence of canine Leishmania infantum infection in western China detected by PCR and serological tests. Wang et al. Parasites & Vectors, 4:69.
54. Solano-Gallego L, Morell P, Arboix M, Alberola J, Ferrer L. (2001). Prevalence of Leishmania infantum infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. Journal of Clinical Microbiology 39, 560–563.
55. Müller N., Zimmermann V., Forster U., et al. (2003). PCR-based detection of canine Leishmania infections in formalin-fixed and paraffinembedded skin biopsies: elaboration of a protocol for quality assessment of the diagnostic amplification reaction. Veterinary Parasitology 114:223–229.
56. Freitas JCC, Nunes-Pinheiro DCS, Neto BEL, et al. (2012). Clinical and laboratory alterations in dogs naturally infected by Leishmania chagasi. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 45(1):24-29.
57. Kargın Kırıl F, Seyrek K, Paşa S, et al. (2004). Some Haematological, Biochemical and Electrophoretic Findings in Dogs with Visceral Leishmaniasis. Revue Méd. Vét. 155, 4, 226-229.
58. Paludo GR, Aquino LC, Lopes BCC. (2013). Whole blood PCR test and laboratorial findings in natural canine visceral leishmaniasis in Brazil. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 7(11), Pages: 343-348.
59. Heidarpour M, Pourtaghi M, Khoshnegah J. (2012). Prevalence and risk factors for canine leishmaniasis in Mashhad, North-east of Iran. Iranian Journal of Veterinary Science and Technology.Vol. 4, No. 1, 37-46

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Özgür Yaşar ÇELİK
Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç
Hastalıkları Anabilim Dalı
E-posta: oyc@siirt.edu.tr