

T.C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DİYARBAKIR'IN DİCLE VE HANI İLÇELERİNDEKİ KÖPEKLERDE  
LEISHMANİASİS'İN KLİNİK, HEMATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL  
BULGULARI, SEROLOJİK TANISI VE PCR İLE TIPLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ  
Veteriner Hekim Özgür Yaşar ÇELİK

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Servet SEKİN

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR 2014

T.C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DİYARBAKIR'IN DİCLE VE HANI İLÇELERİNDEKİ KÖPEKLERDE  
LEISHMANİASİS'İN KLİNİK, HEMATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL  
BULGULARI, SEROLOJİK TANISI VE PCR İLE TİPLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ  
Veteriner Hekim Özgür Yaşar ÇELİK

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Servet SEKİN

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

Doktora Tezi Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü  
tarafından 12-VF-85 nolu proje olarak desteklenmiştir.

DİYARBAKIR 2014

T.C.  
DICLE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MÜDÜRLÜĞÜ

“Diyarbakır’ın Dicle ve Hani İlçelerindeki Köpeklerde Leishmaniasis’in Klinik, Hematolojik ve Biyokimyasal Bulguları, Serolojik Tanısı ve PCR ile Tiplendirilmesi” isimli Doktora Tezi 06/01/2014 tarihinde tarafımızdan değerlendirilerek başarılı bulunmuştur.

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Servet SEKİN  
Tezi Teslim Eden : Veteriner Hekim Özgür Yaşar ÇELİK

Jüri Üyesinin

	Ünvanı	Adı Soyadı
Başkan	Prof.Dr.	Servet SEKİN
Üye	Prof.Dr.	Sema GÜRGÖZE
Üye	Prof.Dr.	Tekin ŞAHİN
Üye	Doç.Dr.	Hasan İÇEN
Üye	Yrd.Doç.Dr.	Aynur ŞİMŞEK

Yukarıdaki imzalar tasdik olunur.

07/01/2014

Prof. Dr. Salih HOŞOĞLU  
Dicle Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimi aldığım süre içerisinde bilgi ve tecrübeleriyle tez çalışmamın her aşamasında yol gösteren ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Klinik Bilimler Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Servet SEKİN'e,

Tez çalışmam süresince teorik ve pratik tecrübelerini paylaşan hocam İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Doç. Dr. Hasan İÇEN'e,

Tez çalışmam süresince gösterdiği ilgi, hoşgörü ve desteğinden dolayı İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Aynur ŞİMŞEK'e,

Yüksek lisans ve Doktora eğitimi sürecini paylaştığımız Dr.Veteriner Hekim Akın KOÇHAN'a,

Araştırma ve çalışmaya her zaman hazır olan Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd.Doç.Dr. İbrahim Halil YILDIRIM'a

Kan örneklerinin toplanmasında yardımcı olan meslektaşlarım Veteriner Hekim Sait TAN ve Veteriner Hekim Çağdaş TOPAL'a

Doktoramın tamamlanmasını sabırla bekleyen Aileme ve

Tez çalışmamı 12-VF-85 no'lu proje ile destekleyen Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri komisyonu Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

### Ön sayfalar

ONAY SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
Ön sayfalar .....	iii
ŞEKİLLER .....	vii
TABLolar.....	viii
KISALTMALAR .....	ix

### Özet sayfalar

ÖZET.....	x
SUMMARY .....	xii

### Tez metni

1.GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1.TARİHÇE.....	4
2.2.ETİYOLOJİ.....	5
2.3.TAKSONOMİ.....	8
2.4.MORFOLOJİ .....	10
2.4.1. Amastigot Form.....	10
2.4.2. Promastigot Form .....	11
2.5.EPİDEMİYOLOJİ.....	11
2.5.1.Dünyada Leishmaniasis.....	12
2.5.2.Türkiye’de Leishmaniasis .....	13
2.6.VEKTÖR.....	17
2.6.1. Kum Sineklerinin Genel Morfolojik ve Biyolojik Özellikleri .....	18

2.6.2. Kum Sineklerinin Yaşam Döngüsü.....	18
2.7.REZERVUARLAR.....	21
2.8.HAYAT DÖNGÜSÜ .....	21
2.9.PATOGENEZ .....	22
2.10.LEİSHMANİASİS'İN KLİNİK FORMLARI .....	23
2.10.1. Visseral Leishmaniasis .....	23
2.10.2. Kutanöz Leishmaniasis .....	24
2.10.3. Mukokutanöz Leishmaniasis.....	24
2.10.4. Diffüz Kutanöz Leishmaniasis .....	24
2.10.5. Kala-azar Sonrası Deri Leishmaniasis'i .....	25
2.10.6. Canin Leishmaniasis .....	25
2.11.KLİNİK VE LABORATUVAR BULGULAR.....	26
2.11.1.Klinik Bulgular.....	27
2.11.2.Laboratuar Bulguları .....	28
2.12.İMMUNOLOJİ.....	28
2.13.TANI .....	29
2.13.1. Direkt Tanı Yöntemleri .....	30
2.13.1.1. Mikroskopik Muayene .....	30
2.13.1.2. Histopatoloji.....	30
2.13.1.3. İmmunohistokimya.....	31
2.13.1.4. Kültür .....	31
2.13.1.5. Laboratuar Hayvanlarında Parazit İzolasyonu .....	31
2.13.1.6. Ksenodiagnosis.....	32
2.13.1.7. Polymerase Chain Reaction (PCR) .....	32
2.13.1.8. Quantitative Buffy Coat (QBC) .....	32
2.13.2. İndirekt Tanı Yöntemleri.....	33

2.13.2.1. Antikor Tespiti .....	33
2.13.2.2. Antijen Tespiti .....	33
2.13.2.3. Indirect Immunofluorescent Antibody Test (IFAT).....	34
2.13.2.4. Counterimmunoelectrophoresis (CIE) .....	34
2.13.2.5. Direct Agglutination Test (DAT) .....	35
2.13.2.6. Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) .....	35
2.13.2.7. Immunochromatographic Strip Tests (ICT) .....	35
2.13.2.8. Western Blotting (WB) .....	36
2.13.2.9. Flow Cytometry (FC) .....	36
2.13.2.10. Rapid Immunomigration Test .....	36
2.13.2.11. Immunoblotting .....	37
2.13.3. Hücresel İmmünite .....	37
2.13.3.1. Montenegro Testi .....	37
2.13.3.2. Lymphocyte Proliferation Assay (LPA) .....	37
2.14.PROGNOZ .....	38
2.15.SAĞALTIM .....	38
2.16.PROFİLAKSİ.....	42
2.16.1.Vektör Mücadelesi .....	42
2.16.2.Aşı Uygulamaları .....	43
3.GEREÇ VE YÖNTEM .....	45
3.1.Gereç .....	45
3.1.1.Çalışma Alanı .....	45
3.1.2.Hayvan Materyali .....	46
3.1.3.Kullanılan Aletler .....	46
3.1.4.Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	46
3.1.5.Kullanılan Diğer Malzemeler .....	47

3.2.Yöntem .....	47
3.2.1. Klinik Muayene.....	47
3.2.2.Kan Örneklerinin Alınması .....	47
3.2.3.Kan Analizleri .....	47
3.2.4.Testler.....	47
3.2.6. İstatistiksel Analizler.....	50
4.BULGULAR .....	51
4.1. Klinik Bulgular.....	51
4.2. Hematolojik Bulgular .....	52
4.3. Biyokimyasal Bulgular.....	53
4.4. Test Sonuçları.....	53
5.TARTIŞMA .....	54
6.SONUÇ VE ÖNERİLER .....	60
KAYNAKLAR.....	61
ÖZGEÇMİŞ .....	71



**ŞEKİLLER**

Şekil 1. Leishmania amastigotları .....	10
Şekil 2. <i>L. donovani</i> ile in vitro enfekte makrofajlar.....	11
Şekil 3. Leishmaniasis yönünden risk altındaki ülkeler .....	13
Şekil 4. Kumsineğinin yaşam döngüsü. ....	20

**TABLolar**

Tablo 1. Leishmania türleri ve neden oldukları hastalıklar.....	7
Tablo 2. Leishmania türlerinin sınıflandırılması.....	9
Tablo 3. Bölgelerimizde bildirilen Visseral Leishmaniasis olguları .....	13
Tablo 4. Bölgelerimizde bildirilen kutanöz Leishmaniasis olguları .....	15
Tablo 5. Canin Leishmaniasiste klinik bulgular.....	27
Tablo 6. Leishmaniasisli köpeklerde laboratuvar bulguları .....	28
Tablo 7. Leishmaniasis tedavisinde kullanılan ilaçlar ve dozları.....	41
Tablo 8. PCR Karışımı .....	49
Tablo 9. PCR Koşulları .....	49
Tablo 10. Çalışma grubu köpeklerde klinik bulgular.....	51
Tablo 11. Çalışma ve kontrol grubu köpeklerdeki hematolojik bulgular.....	52
Tablo 12. Çalışma ve kontrol grubu köpeklerin biyokimyasal bulguları.....	53

**KISALTMALAR**

ALP	:	Alkalen fosfataz
ALT	:	Alanin aminotransferaz
AST	:	Aspartat aminotransferaz
BUN	:	Blood Urea Nitrogen
CanL	:	Canine Leishmaniasis
DKL	:	Diffüz Kutanöz Leishmaniasis
IFAT	:	Indirect Immunofluorescent Antibody Test
IL	:	Inter Leukin
KL	:	Kutanöz Leishmaniasis
MKL	:	Mukokutanöz Leishmaniasis
PCR	:	Polimerase Chain Reaction
PKDL	:	Post Kala-azar Dermal Leishmaniasis
Sb	:	Sodyum Stiboglukonat
TGF	:	Transforming Growth Factor
TNF	:	Tümör Nekroz Faktör
VL	:	Visseral Leishmaniasis
WHO	:	World Health Organisation

## ÖZET

Leishmaniasis, 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 350 milyon insanı tehdit eden bu hastalık hem veteriner hem de beşeri alanda bir halk sağlığı problemidir. Leishmaniasis; Visseral leishmaniasis (VL), Kutanöz leishmaniasis (KL), Post Kala azar dermal leishmaniasis (PKDL), Diffuz kutanöz leishmaniasisi (DKL), Mukokutanöz leishmaniasis (MKL), Kanin leishmaniasis (CanL) olmak üzere çeşitli formlarda görülmektedir.

İnsanlar, kemirgenler, yabani kaninler ve kedilerin tesadüfen konakçı oldukları canin leishmaniasis'te hastalığın kontrol altına alınmasında en önemli rezervuar köpeklerdir. Akdeniz ülkelerinde yapılan serolojik çalışmalarda, köpeklerdeki seroprevalans oranının %1–37 arasında değiştiği saptanmıştır. Hastalığın tanısında serolojik yöntemlerin rezervuarlardaki seroprevalansın saptanmasında önemli olduğu bildirilmektedir.

Çalışmamızda Diyarbakır'ın Dicle ilçesine bağlı Dede ve Durabeyli köyleri ile Hani ilçesine bağlı Sergen ve Çardaklı köylerinde, visseral leishmaniasis'in en önemli rezervuarı durumunda olan köpeklerde canin leishmaniasis seroprevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır. Söz konusu köylerden alınan 120 kan örneği immunokromatografik test, Indirect immunofluorescent antibody test (IFAT) ve Polimerase Chain Reaction (PCR) yöntemleriyle incelenmiş ve örneklerin hiç birinde seropozitiflik saptanmamıştır.

Daha verimli sonuç alınabilmesi için söz konusu ilçelerdeki sahipsiz ve yakalanamayan başıboş köpekler ile çevre köylerdeki köpekler üzerinde de benzer çalışmalar yapılarak çalışma alanının genişletilmesinin ve Phlebotomus türlerinin belirlenmesinin uygun olacağı düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Kanin leishmaniasis, immunokromatografik tanı, İndirekt Flouresan Antikor Testi (IFAT), Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), Dicle, Hani, Diyarbakır.

## SUMMARY

Leishmaniasis is an infectious disease transmitted by Phlebotominae spp., and caused by various species of *Leishmania* parasites. According to WHO leishmaniasis thread 350 million people in 88 country in America, Africa, Asia and Mediterranean region. Clinical forms of leishmaniasis are particularly diverse representing different disease; Visceral leishmaniasis (VL), Cutaneous leishmaniasis (CL), Post Kala azar dermal leishmaniasis (PKDL), Diffuz cutaneous leishmaniasisi (DCL), Mucocutaneous leishmaniasis (MCL), Canin leishmaniasis (CanL).

The dogs are the most important reservoir for under control of the disease. Humans, rodents, wild canins and cats can be incidental host. The prevalance of the disease has been found between 1% and 37% in dogs in the Mediterranean region. It is shown that serologic methods is more applicable in the diagnosis of visceral leishmaniasis in reservoirs.

In this study, we aimed to determine seroprevalence of the canine leishmaniasis in dogs that are regarded as the main reservoirs for Visceral Leishmaniasis in Dede, Durabeyli/Dicle/Diyarbakir and Sergen, Çardaklı/Hani/Diyarbakir. We used immunochromatographic test, IFAT and PCR methods for determine anti-leishmania antibodies in samples gathered from 120 dogs. We found no seropositive dogs in this study.

For beter understanding of disease should make same study in stray dogs which are in the villages and in the other close villages.

**Key Words:** Canine leishmaniasis, immunochromatographic tanı, Indirect immunofluorescent antibody test (IFAT), Polimerase Chain Reaction (PCR), Dicle, Hani, Diyarbakır.

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

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, 2, 3). İnsanlarda hastalık oluşturabilen 2 ana grupta 15'in üzerinde leishmania türü olduğu bildirilmektedir. Bunlar Eskidünyada (Asya, Avrupa, Afrika) *Leishmania major*, *Leishmania tropica*, *Leishmania aethiopica* ve *Donovani* kompleksi (*L. donovani*, *L.infantum*) iken Yenidünyada (Amerika) *Leishmania mexicana*, *Leishmania amazonensis* ve *Viannia* kompleksi (*L.brasiliensis*, *L.guianensis*) içermektedir. Leishmaniasis, viseral (VL), kütanöz (KL), difüz kütanöz (DKL) ve mukokütanöz (MKL) olmak üzere de başlıca 4 formda klinik tablo oluşturabilir (3, 4, 5).

Halk sağlığı açısından önemi uzun yıllar boyunca anlaşılmayan leishmaniasis, 1976 yılından itibaren Dünya Bankası ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO)' nün ortak programları olan Tropikal Hastalıklar Araştırma ve Eğitim Özel programı kapsamına alınmıştır. Hastalığın altmış yıl öncesine kadar sadece belirli bölgelerde lokalize olduğu düşünülürken günümüzde Antartika dışında neredeyse tüm kıtalarda özellikle gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde görüldüğü bildirilmektedir. 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 (6-10).

Ülkemizde Kutanöz leishmaniasis, özellikle Şanlıurfa, Osmaniye, Adana, Hatay, Diyarbakır, Kahramanmaraş ve Mersin illerinde endemik olarak görüldüğü bildirilmektedir. Son zamanlarda bu illerde bir artışa ilaveten değişik nedenlerle bu bölgelerden diğer yerleşim yerlerine yapılan seyahatler sonucunda, nonendemik bölgelerdeki yerli halkta da sporadik olgular görülmeye başlamıştır. Bu durum, gelecek için büyük tehdit oluşturmakta, hatta hastalığın endemik olarak görüldüğü illerimizde epidemilerin görülebileceği kaygılarını da arttırmaktadır. Visseral

leishmaniasis olguları başta Ege ve Akdeniz Bölgeleri olmak üzere bütün bölgelerimizde görülebilmektedir (11, 12).

*Leishmania* cinsine ait türlerin yaşam evrelerinde morfolojik olarak, memeli konakta görülen “amastigot” ve vektörde görülen “promastigot” şekli olmak üzere iki farklı şekli bulunmaktadır (13, 14). Parazitin taşınmasında 40 türden fazla Phlebotom (Asya, Avrupa, Afrika) ve 30 tür Lutzomyia (Amerika kıtası) rol almaktadır (15). İnsanlar için Leishmaniasis’in 20 türü patojeniktir (16).

Hastalığın formlarından en yaygını kutanöz form olmakla birlikte vital organları etkilediğinden dolayı Visseral form en ciddi seyreden formdur (9, 10). 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. (11, 12). Köpeklerin doğal konakçısı olduğu ve klinik enfeksiyon meydana getiren *Leishmania* türleri; *L. infantum*, *L. chagasi*, *L. tropica*, *L. peruviana*’dır. Köpeklerde klinik leishmaniasis vakalarının çoğunda tespit edilen, Akdeniz, Asya ve Latin Amerika bölgelerinde endemik olarak görülen *Leishmania infantum* kronik ve şiddetli seyreden Canin Leishmaniasis (CanL)’e neden olmakta ve Türkiye’yi de içine alan tüm Akdeniz kıyı şeridinde görülmektedir. Bu türün vektörlüğünü, *Phlebotomus ariasi*, *P. major*, *P. perniciosus*, *P. longicuspis*, *P. chiensis*, *P. mongolensis*, *P. papatasi* yapmaktadır. (3, 4, 5). *L. chagasi*; Güney Amerika’da Canin Leishmaniasise neden olan bir türdür. *Lutzomyia longipalpis*, *Lu. evansi*, *Lu. gomezi* türleri tarafından nakledilmektedir. *L. tropica*; tüm Akdeniz ve komşu ülkelerde görülür. Evcil köpekler doğal konakçı olarak bilinmektedir. Vektör olarak, *Phlebotomus perfilievi*, *P. papatasi* ve *P. sergenti* tespit edilmiştir (10, 11, 12).

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. CanL tanısı oldukça zor olabilir bu yüzden eksiksiz



bir fiziki muayene ile parazitolojik, serolojik ve moleküler tanı tekniklerinin bir arada kullanılmasının ardından kesin tanı konulabilir (16, 17, 18).

Ülkemizde ve diğer Akdeniz ülkelerinde yapılan çalışmalarda köpeklerde Visseral leishmaniasisin oldukça yaygın olduğu gösterilmiştir. Bugün artık köpeklerin *L.infantum* için rezervuar oldukları konusunda herhangi bir şüphe yoktur. Visseral leishmaniasis saptanan bir bölgede kontrol stratejilerinin belirlenmesi için köpeklerdeki enfeksiyon oranı ve dağılımlarının yanı sıra canin leishmaniasis epidemiyolojisinin bilinmesi gerekmektedir (18,19).

Dünyanın birçok bölgesinde görülen ve Dünya Sağlık Örgütü tarafından önemli paraziter zoonoz hastalıklardan biri olarak kabul edilen Leishmaniasis için köpeklerinde aralarında bulunduğu geniş bir memeli grubunun rezervuar olması insan sağlığı ve ülkemiz ekonomisi açısından Canin Leishmaniasis'in nasıl bir risk oluşturduğunu açıkça göstermektedir.

Bu araştırmada 10.05.2013-20.06.2013 arasında Diyarbakır'ın Dicle ve Hani ilçelerinde köpeklerde Rapid test (Biopronix Leishmania IC), IFAT (Indirect Fluorescent Antibody Test) ve PCR (Polymerase Chain Reaction) yöntemleri kullanılarak canin leishmaniasis seroprevalansının saptanması, hastalığın klinik ve laboratuvar bulgularının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2.GENEL BİLGİLER

Dünya üzerinde 350 milyon insanın risk altında olduğu leishmaniasis hala tam anlamıyla yeterli ilgi gösterilmeyen hastalıklardandır. Son 10 yılda tanı, sağaltım ve koruma anlamında önemli başarılar kaydedilmiş ve sağaltımda kullanılan birkaç önemli ilacın fiyatı düşürülmüştür. Bu gelişmeler ulusal ve bölgesel kontrol programlarının sürdürülebilirliğini kolaylaştırmıştır. Ancak kontrol programlarının işleyişi hala yeterli değildir. Leishmaniasis dünya çapında mortalite ve morbidite yönünden endişe göstermeye devam etmektedir (8, 9). Leishmaniasisin çeşitli formları olmakla birlikte ülkemizde Visseral leishmaniasis, Kutanöz leishmaniasis ve Canin leishmaniasis görülmektedir (20).

### 2.1.TARİHÇE

Tarihsel açıdan bakıldığında Doğu yarısı (Oriental sore) olarak bilinen kutanöz leishmaniasis oldukça eski bir hastalıktır. M.Ö. 7. Yüzyıla ait Kral Ashurbanipal kütüphanesinde leishmaniasise ait göze çarpan lezyonların açıklamalarının bulunduğu tabletler bulunmuştur. Bunlardan bir kısmının MÖ 1500-2500 yıllarına ait metinlerden elde edildiği düşünülmektedir. 10. yüzyılda İbn-i Sina'nın da dâhil olduğu Arap doktorlar tarafından kuzey Afganistanda Balkh yarısı diye adlandırılan kutanöz leishmaniasise dair ayrıntılı açıklamalar bulunmaktadır. (21, 22).

15-16. yüzyıla ait metinlerde, İspanyol mevsimsel tarım işçilerinin And dağlarından döndüklerinde cilt ülserlerine sahip oldukları bildirilmektedir. Sonraları ağız ve burunda oluşan şekil bozukluklarının cüzzamdan kaynaklanan lezyonlara yakın benzerliğinden dolayı hastalığa “beyaz lepra” denmiştir. Eskidünyada Hint’li doktorlar eski bir hastalık olan ve sonraları Visseral Leishmaniasis olarak tanımlanan hastalığa Sanskritçe “kala-azar” (kara ateş) terimini kullanmışlardır. Hastalığın kutanöz formuyla ilgili ilk ve en önemli bilgi bir Türk hastayı muayene ettikten sonra Alexander Russell tarafından 1756 yılında verilmiştir (23-26).

19. yüzyılın ikinci yarısında Ronald Ross tarafından Leishmania adı verilen paraziti Cunningham, Borovsky, Leishman, Donovan, Wright, Lindenberg ve Vianna

ayrı ayrı tespit etmişlerdir. 1904 yılında Cathoire ve Laveran, Leishmania parazitini çocuklarda “çocukların dalak anemisi” ile birlikte tespit etmişlerdir. 1908 yılında Tunus'ta Nicolle tarafından rezervuar köpeklerden tespit ettiği parazite *L.infantum* adını vermiştir (9, 27). Carini 1912 yılında Brezilyada bazı hastaların mukozal lezyonlarında Leishmaniayı tanımlamıştır. 1922 yılında Bramachari PKDL (Post Kala Azar Dermal Leishmaniasis) Hindistan'da tanımlamıştır. 1940'lı yılların başında Swaminath, Shortt ve Anderson Hindistan'da ve Adler ile Ber ise Filistin'de *L.donovani* ve *L. Tropica* (muhtemelen *L.major*) 'nın kum sinekleri (phlebotomus, Lutzomia) tarafından taşındığını göstermişlerdir. 1914 yılında Orta Asyada Rus Yakimoff ve Shakor Kutanöz Leishmaniasis 'in kuru, kentsel, ıslak ve kırsal formlarına neden olan paraziti fark etmişlerdir (9).

Yurdumuzda kala-azar'ın varlığını ilk yazan Kristamonas'tır. Bu hekim Trabzon'da kala-azar tespit ettiğini bildirmiştir (26). 19.yüzyılın başlarında Bağdat'ta 11 Osmanlı askerinin dalak ve karaciğer biyopsilerinden leishmanianın amastigot formu tespit edilmiştir. 1918 yılında İzmir'de visseral leishmaniasis olgusu bildirilmiştir (28). Yurdumuzda köpeklerde kala-azar bulunduğuna dair ilk beyan ise Dr. Nurettin ONUR'a aittir. İstanbul'da köpeklerde paraziti tespit ettiklerini bildirmiştir (26).

## 2.2.ETİYOLOJİ

Digenetik protozoon paraziti olan leishmanianın kompleks yaşam siklusu vertebralı konakları (kemirgenler, köpekler, insanlar) içeren intraselüler safha ve vertebrasız konakları içeren ekstraselüler safhayı içermektedir (10).

Visseral Leishmaniasisin etkenleri Eskidünya'da; *L.donovani*, *L.infantum*, *L.tropica*, Yenidünya'da *L.chagasi*, *L.amazonensis* 'tir. Kutanöz Leishmaniasisin etkenleri Eskidünya'da; *L.tropica* kompleks (*L.tropica*, *L.aethiopica*, *L.major*), *L.infantum*, Yenidünya'da; *L. mexicana* kompleks (*L.mexicana*, *L.pifanoi*, *L.amazonensis*, *L.garnhami*, *L.venezuelensis*), *L.braziliensis* kompleks (*L.peruviana*, *L.guyanensis*, *L.panamensis*, *L.lainsoni*, *L.colombiensis*), *L.chagasi*dir (9, 10, 14, 29).

Canin leishmaniasis'e neden olan leishmania türleri Eskidünya'da *L.infantum*, Yenidünya'da ise *L.chagasi*'dir (14.) Etkenlerin vektörlüğünü yenedünya ülkelerinde Lutzomia, eskidünya ülkelerinde ise phlebotomuslar yapmaktadır. Son zamanlarda Fas'ta yapılan bir çalışmada *L.tropica*'nın da canin visseral leishmaniasis'in etkeni olduğu bildirilmiştir. *L.infantum*'a bağlı enfeksiyon başlıca Akdeniz ve Orta doğu ülkeleri ile Portekizde görülmekle birlikte yapılan çalışmalarda kum sineklerinin bulunmadığı Fransa'nın kuzey bölgelerinde, İsviçre ve Hollanda'da sporadik olarak görüldüğü bildirilmiştir. *L.chagasi*'ye bağlı oluşan enfeksiyon ise Amerika'nın merkezinde ve güneyinde görülmektedir (12, 14).

Leishmania türleri ve neden oldukları hastalıklar tablo-1 de gösterilmiştir.

Tablo 1.Leishmania türleri ve neden oldukları hastalıklar (14, 29).

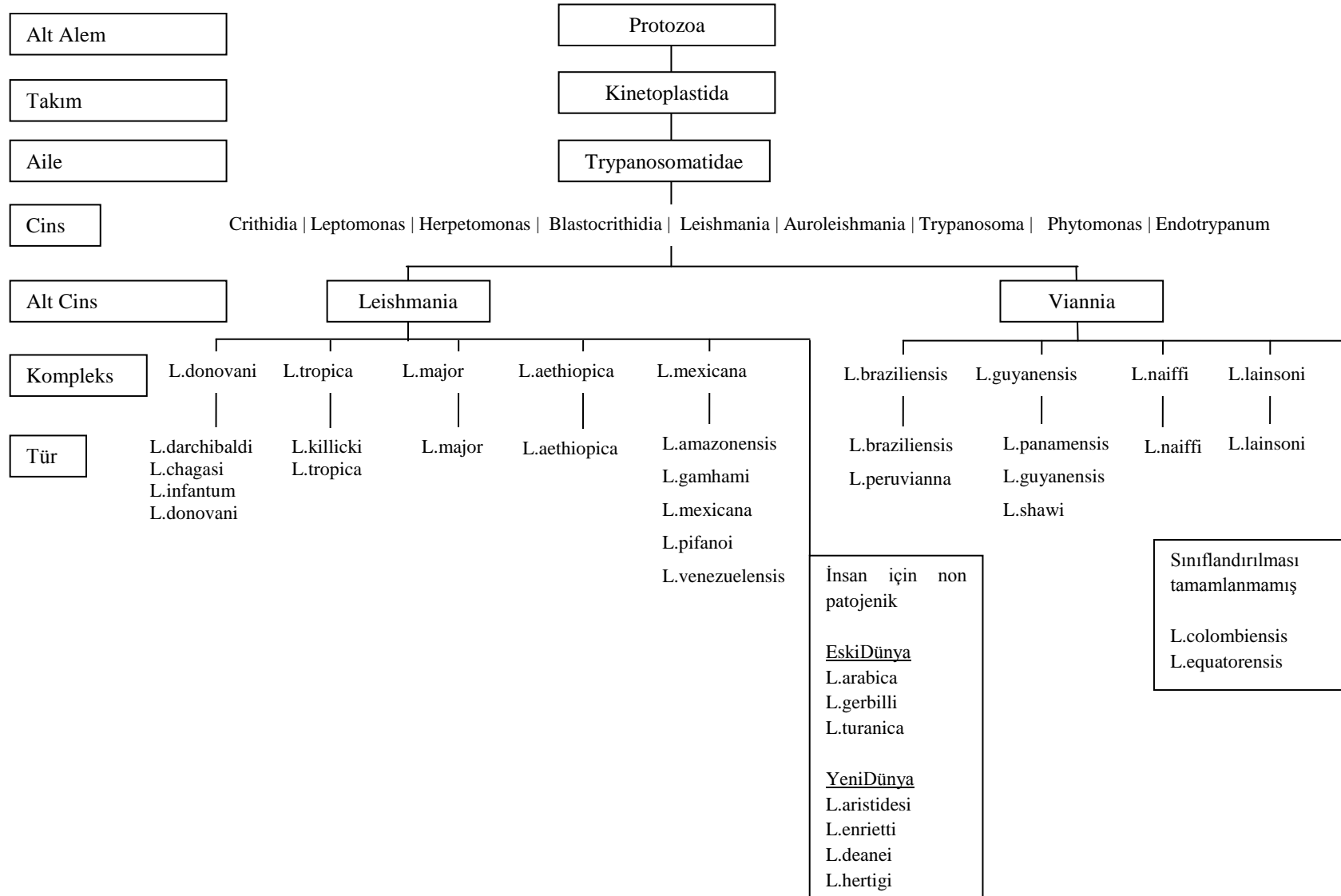
Hastalık	Leishmania Türleri	Coğrafik dağılım
Kutanöz Leishmaniasis	L.tropica kompleks L.tropica L.aethiopica L.major	Eskidünya
	L.mexicana kompleks L.mexicana L.pifanoi L.amazonensis L.garnhami L.venezuelensis	Yenidünya
	L.braziliensis kompleks L.peruviana L.guyanensis L.panamensis L.lainsoni L.colombiensis	Yenidünya
	L.infantum L.chagasi	Eskidünya Yenidünya
	L.donovani kompleks	
Visseral Leishmaniasis	L.donovani	Eskidünya
	L.infantum	Eskidünya
	L.chagasi	Yenidünya
	L.tropica	Eskidünya
	L.amazonensis	Yenidünya
Canin Leishmaniasis	L.infantum, L.tropica.	Eskidünya
	L.chagasi	Yenidünya

### 2.3.TAKSONOMİ

Leishmania türlerinin sınıflandırmasında başlangıçta coğrafik dağılım, vektör, çoğalma, antijenik özellikler ve klinik belirtiler gibi ekobiyolojik kriterler kullanılmıştır (Örneğin Guyana’da izole edilene *L.guyanensis*, Peru’da izole edilene *L.peruviana* denmiştir). Bununla birlikte biyokimyasal ve moleküler analizler göstermiştir ki patolojik ve coğrafik kriterler sınıflandırmada yetersiz kalmaktadır. 1970’ten beri Leishmania türlerini tanımlamada immünolojik, biyokimyasal ve genetik veriler gibi kriterler kullanılmıştır. Yeni metotlar sayesinde etken izolasyonu ve identifikasyonunda ilerleme sağlanmıştır. Bugün Leishmanianın 30 türü bilinmekte ve bu türlerin yaklaşık 20’sinin insanlar için patojenik olduğu bildirilmiştir (9, 30-34).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından Leishmania türlerinin sınıflandırılması tablo-2 de gösterilmiştir.

Tablo 2. Leishmania türlerinin sınıflandırılması (8).

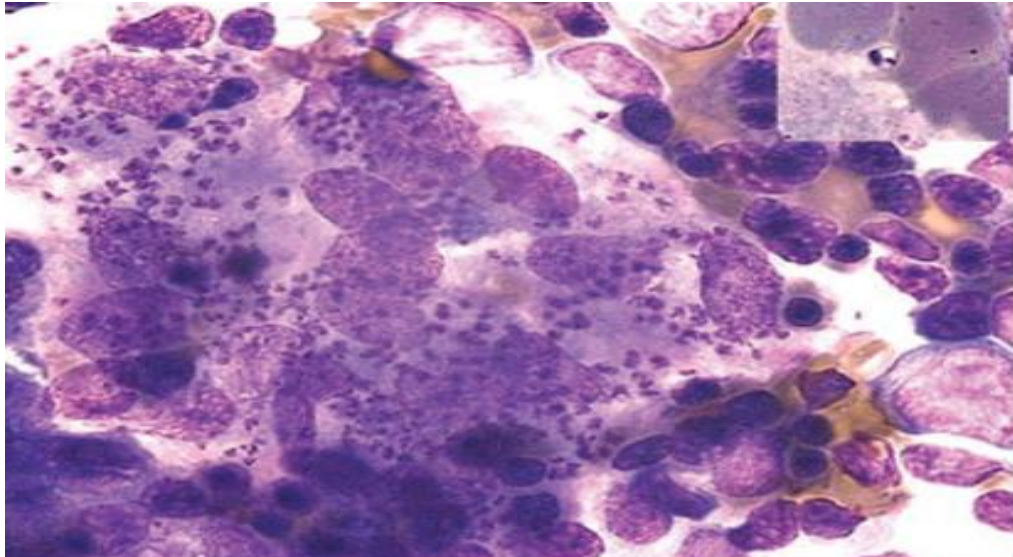


## 2.4.MORFOLOJİ

Leishmania yaşam siklusu boyunca iki temel morfolojiye sahiptir. Bunlardan birincisi memeli konaklarda görülen, retikuloendotelyal sistem (RES) hücreleri içine yerleşen intraselüler “amastigot form”, diğeri ise vektör artropodlarda görülen ekstraselüler “promastigot form”dur (35, 36).

### 2.4.1. Amastigot Form

Memeli konakta görülen bu form monositler, polimorf çekirdekli lökositler ve endotel hücrelerinde kümeler halinde, bu hücrelerin parçalanmasıyla dağılmış şekilde görünürler. Amastigot form kamçısız, yuvarlak veya oval şekilli, 2-5 µm boyutundadır. Wright ve Giemsa ile boyanan preparatlarda çekirdek koyu kırmızı olarak boyanır ve göreceli olarak büyüktür. Kinetoplast çekirdeğin önünde ve çekirdeğe yakın, parlak kırmızı-menekşe rengindedir (Şekil-1). Elektron mikroskobu incelemeleri amastigotun konak hücrenin oluşturduğu bir zarla örtülü olduğunu göstermiştir. Büyük olasılıkla da parazit bu zar nedeniyle kendini konak hücrenin ölümcül etkisinden korumakta ve çoğalmasını gerçekleştirmektedir. Aerob olan amastigot besinlerini konak hücreden sağlar ve boyuna ikiye bölünerek çoğalır (9, 36, 37, 38).

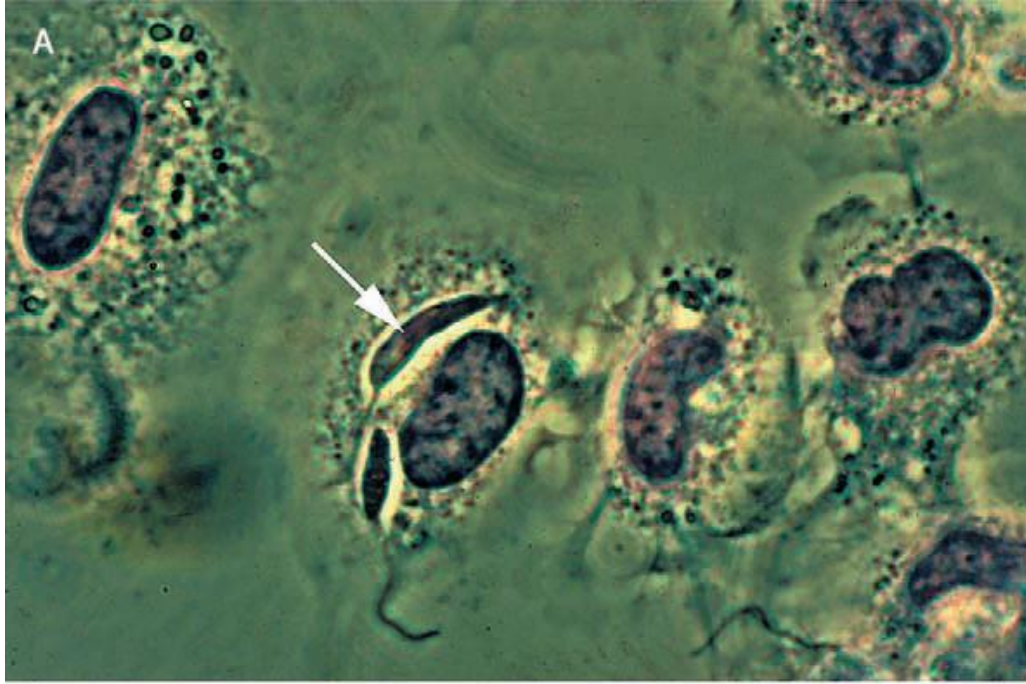


Şekil 1. Kemik iliğinden alınan aspiratta bol miktarda Leishmania amastigotları. Küçük resimde nükleus'u ve kinetoplast ile Amastigot görülmektedir (DNA içeren mitokondri) (39).



### 2.4.2. Promastigot Form

Vektör artropod bağırsağında, hücre dışında görülen bu form kamçılı, 15-20  $\mu\text{m}$  uzunlukta, 1.5-3.5  $\mu\text{m}$  genişlikte mekik şekilli bir yapıya sahiptir. Bu form'da hücre gövdesi uzamış ve iğ şeklini almıştır. Kinetoplast çekirdeğin önünde ve çekirdekten uzaktır. Buradan doğan serbest kamçı hücrenin önünden çıkar. Kamçı boyu 15-28  $\mu\text{m}$  uzunluktadır. Wright veya Giemsa ile boyalı preparatlarda sitoplazma ve kamçı mavi, çekirdek ve kinetoplast parlak kırmızı rekte görülürler (Şekil-2) (36, 37, 38, 40, 41).



Şekil 2. *L. donovani* ile in vitro enfekte makrofajlar. İnsan makrofajları tarafından fagosite edilen flagellalı iki promastigot (Ok ile gösterilen) (7).

### 2.5.EPIDEMİYOLOJİ

Antartika dışında bütün kıtalarda görülen Leishmaniasis Dünya Sağlık Örgütü tarafından bildirilen altı önemli hastalıktan biri olup dünya üzerinde 88 ülkede 350 milyon insanın risk altında olduğu bildirilmektedir. WHO'ya göre 12 milyona yakın insanın hasta olduğu ve her yıl yaklaşık 1-2 milyon insanın hastalığa yakalandığı bildirilmektedir. Küresel ısınma ve insan ekolojisinin değişmesine bağlı olarak

hastalığın artması beklenmektedir. Çok sayıda nonimmün insanın enfeksiyona ilk kez maruz kalması, bu insanların göçleri veya rezervuarlar nedeniyle epidemiler görülebilmektedir. Endemik bölgelere giden askeri personel, sivil işçiler ve diğer seyahat eden insanların enfeksiyona maruz kalmaları sonrasında hastalığı nonendemik bölgelere taşınmaları sonucunda da salgınlar görülebilir (8, 16, 41, 42).

### 2.5.1.Dünyada Leishmaniasis

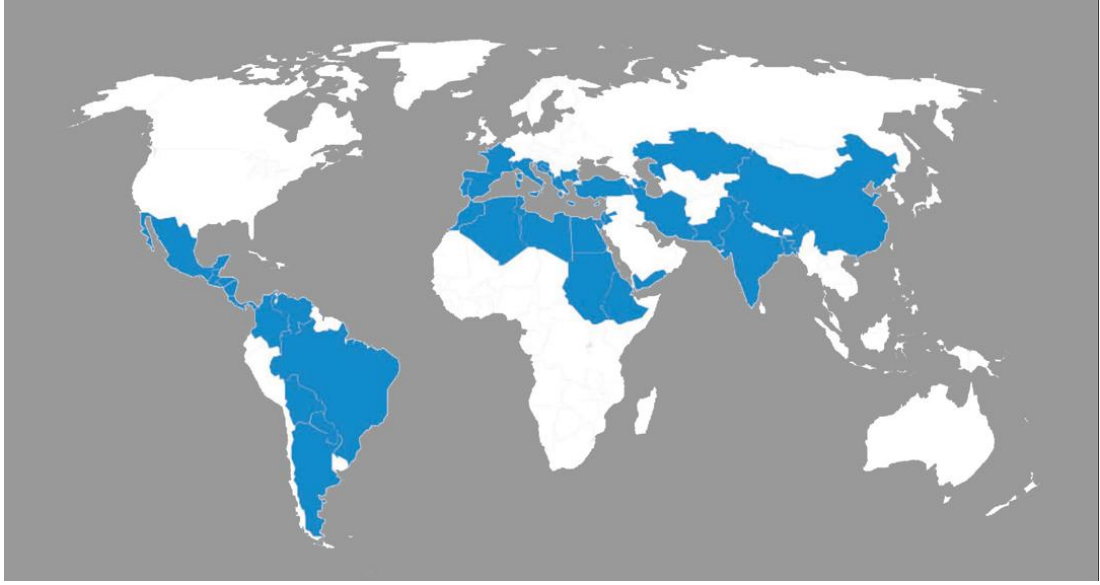
Leishmaniasis en çok tropik ve subtropik iklime sahip bölgelerde görülmektedir (43, 44).

Visseral Leishmaniasis: Dünyadaki olguların yaklaşık % 90'ı Hindistan, Bangladeş, Nepal, Sudan ve Brezilyada görülmektedir (8, 10, 14, 29). Visseral leishmaniasis rezervuarlarının köpekler, vahşi caninler (kurt, tilki, çakal) ve insanlar olduğu, akdeniz bölgesinde ise ana rezervuarın köpekler olduğu bildirilmektedir (28).

Kutanöz Leishmaniasis: Dünyadaki olguların yaklaşık % 90'ı Afganistan, Pakistan, Suriye, Sudi Arabistan, Cezair, İran, Brezilya ve Peruda görülmektedir (8, 10, 14, 29). Kutanöz leishmaniasisin rezervuarı olarak köpekler, kemirgenler ve insanlar bildirilmektedir (8).

Canin Leishmaniasis: Akdeniz ülkelerinde yapılan çalışmalarda hastalığın oldukça yaygın olduğu bildirilmektedir. Canin leishmaniasis'e neden olan leishmania türleri Eskidünya'da *L.infantum*, Yenidünya'da ise *L.chagasi*dir. Vektörü ise Eskidünya ülkelerinde *Phlebotomus*, Yenidünya ülkelerinde *Lutozomia* cinsi kumsinekleridir. Kaninler; Çin, Akdeniz bölgesi ve Amerika'da visseral leishmaniasis'e neden olan leishmania infantum için rezervuar durumundadırlar. Akdeniz Ülkelerinde canin leishmaniasis üzerine yapılan birçok epidemiyolojik araştırma, seroprevalansın % 1,6 ile % 44,9 arasında değiştiğini göstermektedir. Parazit hasta köpekten sağlıklı köpeğe kum sineğinin kan emmesi sırasında veya kan nakilleri sırasında taşınmaktadır. *L.infantum*'un seroprevalansı ekolojik özelliklerine bağlı olarak bölgeden bölgeye değişmekle birlikte tüm Akdeniz ülkelerinde benzerdir (8, 45). Köpekler üzerinde yapılan çalışmalarda canin leishmaniasis seroprevalansı İtalya'da ortalama %26.3, Fransa'da %3-%17, İspanya'da %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 bildirilmiştir. Güney Amerika'da yapılan araştırmalarda ise Margarita adasında % 33, Venezuela'da % 33 ve Brezilya'da % 36 - % 40.3 oranların da seroprevalans bildirilmiştir (46, 47, 48).



Şekil 3. Visseral ve Kutanöz leishmaniasis yönünden risk altındaki ülkeler (8).

### 2.5.2. Türkiye'de Leishmaniasis

Visseral Leishmaniasis: Yurdumuzda ilk olarak Trabzon'da tespit edilmiştir (26). 19. yüzyılın başlarında Bağdat'ta 11 Osmanlı askerinin dalak ve karaciğer biyopsilerinden leishmanianın amastigot formu bulunmuştur. 1918 yılında İzmir'de visseral leishmaniasis olgusu bildirilmiştir. Ege ve Akdeniz bölgeleri başta olmak üzere hemen hemen tüm bölgelerimizde görülmektedir. Ülkemizde Ege, Akdeniz ve İç Anadolu bölgelerinde sporadik olarak görülen visseral leishmaniasise *L.infantum*'un neden olduğu bildirilmektedir (49). Akdeniz ülkelerinde leishmana infatumun taşınmasında rol alan vektör *Phlebotomus ariasi* ve *P.perniciosus* olarak bildirilmesine rağmen (50) ülkemizde Ege bölgesinde yapılan çalışmalarda *P. sergenti*, *P. paptasi*, *P.major*, *P. alexandri*, *P. tobbi*, *P. perfiliewi* ve *P.simici* tespit edilmiştir. Batı Karadeniz bölgemizde ise *P.syriacus* muhtemel vektör olarak bildirilmektedir (28).

Tablo 3. Sağlık Bakanlığı verilerine göre 1997-2000 yılları arasında bölgelerimizde bildirilen Visseral Leishmaniasis olguları (28).

Bölgelerimiz/Yıllar	1997	1998	1999	2000	Toplam	Toplam (%)
Akdeniz	51	13	5	9	78	48.5
Ege	8	8	4	10	30	18.6
İç Anadolu	8	10	9	3	30	18.6
Marmara	1	1	1	9	12	7.5
Güneydoğu Anadolu	1	1	1	2	5	3.1
Karadeniz	2	1	1	1	5	3.1
Doğu Anadolu	0	0	1	0	1	0.6
Toplam	71	34	22	34	161	100

Kutanöz Leishmaniasis: Türkiye’de ilk olarak 1833’te bildirilmiştir. Dr. Servet Tevfik Bey ve Reinhart’ın birlikte yaptıkları araştırmaları 1910 yılında “Şark Çıbanı ve Amili Marazi” adıyla bir broşür halinde yayımlamışlardır. 1916 yılında Dr. Hulusi Behçet Edirne merkez hastanesinde bulunan Halepli erlerde parazit aranması sırasında kaldırılan kabukların altında epitelyum uzantılarını çivi arazi adıyla adlandırmış ve bunların tanım bakımından önemine dikkat çekmiştir (26). Kendiliğinden iyileşen antroponotik kutanöz leishmaniasis Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz bölgelerinde endemik olarak görülmektedir. Aynı zamanda İç Anadolu ve Ege bölgesinden de bildiri yapılmıştır. Kutanöz leishmaniasis’in en çok görüldüğü Şanlıurfa’da hastalık etkeni olarak *L.tropica* identifiye edilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar sonucunda Güneydoğu Anadolu bölgesinde *L.tropica*’nın vektörü olarak *P.sergenti* veya *P.papatasinin* olabileceği ve bu bölgede *P.sergenti*’nin kutanöz leishmaniasis’in primer vektörü olduğu bildirilmektedir (28).

Tablo 4. Sağlık Bakanlığı verilerine göre 1994-2000 yılları arasında bölgelerimizde bildirilen kutanöz Leishmaniasis olguları (28).

Bölgelerimiz/ Yıllar	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	Toplam	Toplam %
Güneydoğu Anadolu	4.185	2.810	2.410	482	802	275	272	11.236	61.7
Akdeniz	1.494	1.036	1.447	714	606	708	818	6.823	37.5
İç Anadolu	13	4	0	6	10	17	22	72	0.4
Ege	0	0	0	30	22	6	12	70	0.4
Karadeniz	0	0	0	0	0	2	9	11	0.1
Doğu Anadolu	0	0	0	0	0	2	2	4	0.0
Marmara	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
Toplam	5.692	3.850	3.857	1.232	1.440	1.010	1.135	18.216	100

Canin Leishmaniasis: Türkiye’de canin leishmaniasise dair ilk beyan İstanbul’da köpeklerde paraziti tespit ettiklerini bildiren Dr. Nurettin ONUR’a aittir (26). Türkiye’de özellikle Akdeniz bölgelerinde görülen *L. infatum*’un neden olduğu iç organlar leishmaniasisi görülmektedir. Bu türde evcil köpekler hem konak, hem de rezervuar durumundadır. Ayrıca Türkiye’de antroponotik tipte epidemilerle karakterize, kuru tip lezyonlar oluşturan *L. tropica*’da görülmektedir (30). Dünya üzerinde birçok ülkede insanlarda leishmaniasis görülen yerlerde köpeklerdeki enfeksiyon oranı belirlenmiştir. Ülkemizde ise son zamanlarda yapılan çalışmalar sayesinde köpeklerdeki enfeksiyon oranları belirlenebilmektedir. Ülkemizde Canin leishmaniasis’in epidemiyoloji üzerine yapılan sınırlı çalışmalarda seroprevalansın % 1,6 ile % 28,26 arasında değiştiğini göstermektedir (51).

Antalya’da incelenen 176 köpek serum örneğinin 14 (%7,95)’ü seropozitif, 24 (%13,63)’ ü sınırda seropozitif, 138’i ise negatif olarak saptanmıştır. Seropozitif bulunan köpeklerin sadece ikisinde (%14,2) zayıflama, tüy dökülmesi, tırnak uzaması, burun çevresinde yara gibi klinik bulgular gözlenmiştir (18). Ege bölgesinde IFAT yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada (45) incelenen 300

köpekten 27'sinin (% 9) *L. infantum* ile enfekte olduğu saptanmıştır. Kırıkkale'nin farklı yörelerindeki köpeklerde Mikrokültür Yöntemi (MKY) ve IFAT ile karşılaştırmalı olarak visseral leishmaniosisin prevalansını belirlemek için yapılan bir çalışmada (52) toplam 50 köpekten alınan kanların tamamı MKY ile negatif olarak saptanmıştır. IFAT ile *anti-Leishmania infantum* IgG antikorları yönünden incelenmesinde ise sadece bir köpekte 1/128 titrede (%2) seropozitiflik tespit edilmiştir. Kocaeli ilimizde yapılan bir çalışmada (53) 65 sokak köpeğinden alınan serum örnekleri İndirekt fluoresan anti kor testi (IFAT) ve ELISA ile değerlendirilmiştir. IFAT ve ELISA ile 2 (%3,07) köpek seropozitif saptanmıştır. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne getirilen bir köpekten alınan kan örneği, IFAT ile yapılan serolojik kan muayenesinde *L. infantum*'a karşı spesifik IgG antikor pozitifliği 1/1024 titrasyonunda pozitif bulunmuştur (54). Kuşadası'nda yapılan bir çalışmada çeşitli ırklardan toplam 253 köpek canin leishmaniasis açısından incelenmiştir. Toplam 42 köpeğe serolojik ve/veya parazitolojik olarak köpek leishmaniasisi tanısı konulmuştur (55).

Diyarbakır Büyükşehir Belediyesi hayvan barınağında bulunan ve yaşları 1-7 arasında değişen 66 dişi, 34 erkek toplam 100 sağlıklı köpekte IFAT yöntemi kullanılarak yapılan çalışma sonucuna göre köpek serumlarının tümü *L. infantum* yönünden seronegatif bulunmuştur (56). Edirne ilimizde yapılan bir araştırmada (57) köpeklerden ırk, cinsiyet ve yaş ayrımı yapılmaksızın toplam 37 köpekten kan alınmış ve IFAT ile köpek serumlarının hiçbirinde IgG antikor varlığına rastlanılmamıştır. İstanbul'un farklı yörelerindeki sokak köpeklerinde visseral leishmaniasis seroprevalansının araştırılması için yapılmış bir çalışmada (58) toplam 152 kan serumu IFAT ile *anti-Leishmania infantum* IgG antikorları yönünden incelenmiş ve köpeklerin tamamı seronegatif bulunmuştur. Kayseri ve civarındaki köpeklerde Canin leishmaniasis yaygınlığının Nested-Polymerase Chain Reaction (PCR) tekniği ile araştırılması amacıyla yapılan bir araştırmada (12) rastgele seçilen toplam 300 asemptomatik köpekten kan alınmıştır. Nested-PCR sonuçlarına göre muayene edilen 300 köpekten hiçbirinde *Leishmania* spp. DNA'sına rastlanmamıştır. Çanakkale ili, Kepez ve Ayvacık ilçelerinde yapılan bir çalışmada (59) 27 köpekten kan örnekleri alınmış ve fizik muayeneleri yapılmıştır. IFA testi ile 27 köpek serumu değerlendirilmiş ve hiçbir köpekte seropozitiflik tespit edilmemiştir. Erzurum köpek

barınağında yapılan bir araştırmada (60) 72 köpekten alınan kan serumları IFAT testiyle incelenmiş ve kan serumu örneklerin hiçbirinde leishmaniasis seropozitifliği bulunmadığı bildirilmiştir.

## 2.6.VEKTÖR

Leishmania hastalığının vektörlüğünü Yenidünyada Lutzomyia, Eskidünyada ise Phlebotomuslar yapmaktadır. Leishmania parazitinin taşınmasında 40 türden fazla phlebotomus (Asya, Avrupa, Afrika) ve 30 tür Lutzomyia (Amerika kıtası) rol almaktadır (61-65). Leishmania türlerine vektörlük yapan sineklerin taksonomisi aşağıdaki gibidir;

Anaç	.....	Arthropoda
Anaç Bölümü	.....	Antennata
Sınıf	.....	İnsecta
Dizi	.....	Diptera
Alt Dizi	.....	Nematocera
Aile	.....	Psychodidae
Alt Aile	.....	Phlebotominae

Yapılan birçok çalışmada Phlebotominae alt ailesi 6 cinse ayrılmaktadır. Yenidünya'da; *Brumptomyia*, *Warileya* ve *Lutzomyia*, Eskidünya'da; *Chinius*, *Phlebotomus* ve *Sergentomyia*'dır (66, 67, 68).

Ülkemizde Leishmania hastalığına vektörlük yapan kesin phlebotomus türleri; leishmania donovani İnfantum için *Phlebotomus pernicious tobbi*, *Phlebotomus major anandale*, leishmania tropica için *Phlebotomus Papatasi scopoli*. Leishmaniasise vektörlük yapan muhtemel phlebotomus türleri; Leishmania d. infantum için *Phlebotomus Perfiliewi parrot*, *Phlebotomus Papatasi scopoli*, *Phlebotomus Chinensis*, *Phlebotomus Kandelakii Shurenkova*, Leishmania tropica

için *Phlebotomus Sergenti (alexandri sinton)*, *Phlebotomus Caucasicus Marzinowsky* (63).

### **2.6.1. Kum Sineklerinin Genel Morfolojik ve Biyolojik Özellikleri**

Çoğu yetişkin vektörün boyu 2.5- 3.5 mm dir. Yetişkinler gümüşümsü griden nerdeyse siyaha kadar değişen çeşitli renklerde olup kürk izlenimi veren dar ve dik pullarla kaplıdır. Yetişkinlerin dinlenme halinde kanatlarının “V” şeklini alması karakteristik bir özelliktir. Uçuşları zayıftır ve hareketleri kendilerine özgü atlamalı hareket şeklindedir. (62, 67, 68).

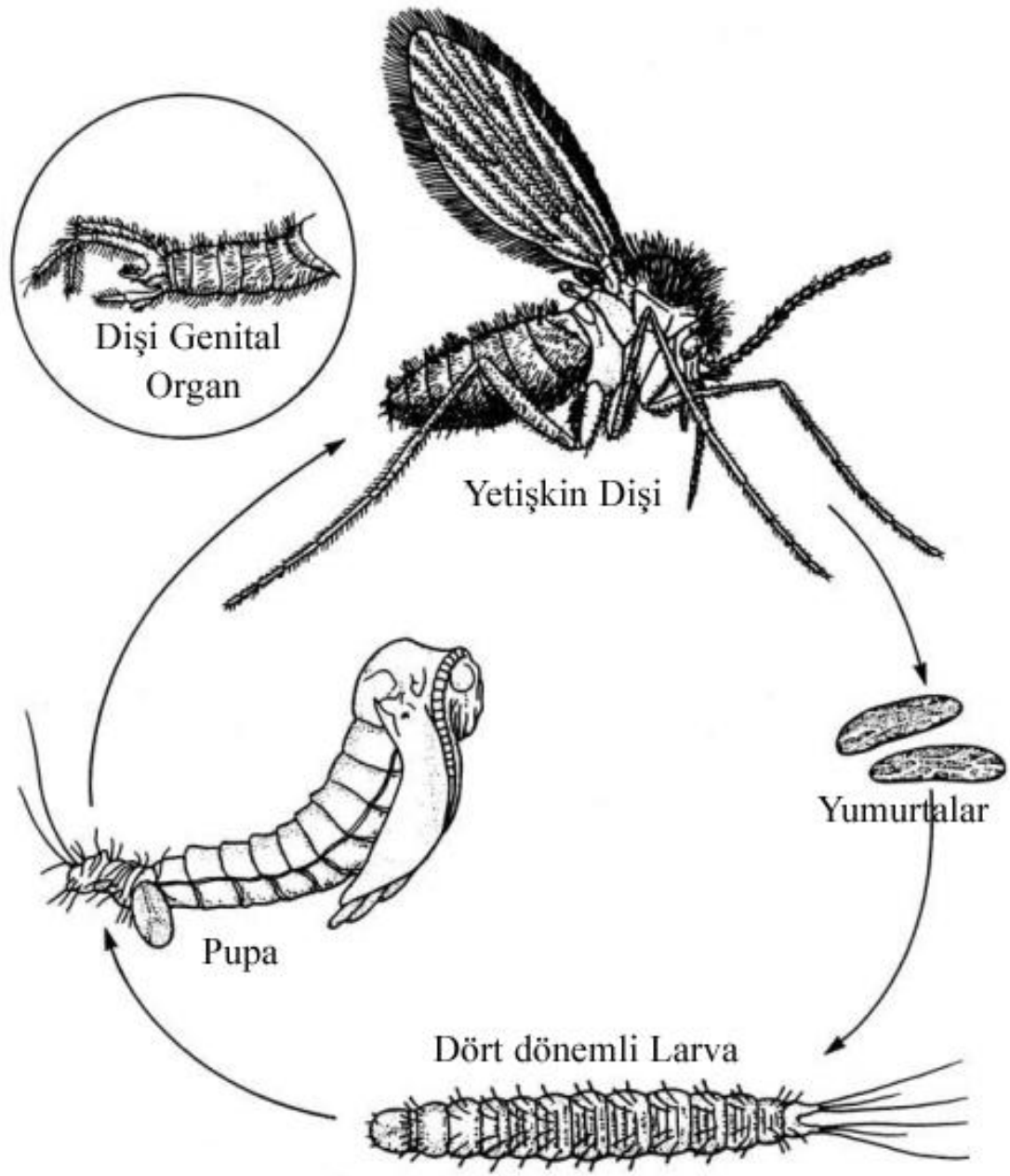
Kum sinekleri gündüzleri ev, ahır, kümes, duvar çatlakları, ağaç kovukları, kemirgen yuvaları, mağaralar gibi mikro iklimi uygun yapıda olan rüzgârdan ve yağmurdan korunmuş genel olarak sıcak ve oldukça nemli yerlerde yaşarlar. Bu canlıların en önemli özelliği, ortam nemi yüksek olan alanları seçmeleridir. Kum sinekleri soğuğa karşı hassastırlar. Dişiler, akşam alacakaranlıktan sonra genellikle geceleri sokma aktivitesi gösterirler. Aktivite, gece yarısına doğru oldukça artar. Güneş ışığından çok etkilenirler. Birçok davranış özellikleri sivrisinek erginlerine benzer. Bu yüzden, sivrisineklere karşı yapılan mücadele çalışmalarından, çok yüksek oranda etkilenirler. Kum sineklerinin yalnızca dişileri yumurtalarını beslemek için kan ile beslenir. Konağına sessizce ve küçük zıplamalar şeklinde yavaşmaktadır. Bu yüzden üreme alanlarından fazla uzaklaşmamaktadırlar (8, 68, 69).

### **2.6.2. Kum Sineklerinin Yaşam Döngüsü**

Çiftleşen dişi kumsinekleri yumurtaların gelişimini sağlamak için kanla beslenirler. Dişi kumsinekleri döllendikten 8-10 gün sonra ortalama 20-50 kadar yumurta bırakır. Yumurtalar oval biçimde, uzun ve kabuğu koyu kahverengi olup gelişebilmeleri için orantılı nemin yüksek olması gerekir. 4-10 gün içinde yumurtadan larva çıkar. Nemli yerler (çöp, çürümüş bitkiler, foseptikler vs.) kum sineklerinin yumurta ve larvalarının gelişebilmesi için çok uygun alanlardır. Uzun kurtçuk biçiminde olan ve güneş ışığından olumsuz etkilenen larvalar protein bakımından zengin olan katı maddeleri çiğneyerek beslenirler. Larvaların gelişme dönemi yüksek sıcaklıklarda bir ay gibi kısa olabilirken düşük sıcaklıklarda üç aya



kadar çıkabilir. Larva evresinden sonra nispeten hareketsiz olan pupa evresine geçerler ve bu evre ortam şartlarına göre 4-6 gün sürer. Çiftleşme, konak arama, dişilerde kan emme, yumurtalar için substrat arama ve yumurtlama durumları bulunan yetişkinlik dönemi nispeten kısa, nadiren 3 haftadan fazladır. Yaşamları boyunca bir dişi genel olarak bir kez kan emer (62, 67, 68, 70, 71).



Şekil 4. Kumsineğinin yaşam döngüsü. Yaklaşık ölçek: yumurta 0.25x0.8 mm, larva 8-12 mm, Pupa ağırlığı 0.4-0.65 mg, yetişkin dişi boyu 3-4 mm (62).

## 2.7.REZERVUARLAR

Leishmania yönünden değerlendirildiğinde bir konağın rezervuar olabilmesi için; sayıca bol ve uzun ömürlü olmalı, enfeksiyona yakalananların oranı yüksek ve bazı hallerde %10 üstünde olmalı, rezervuarda enfeksiyonun gidişi uzun sürmeli, enfeksiyon konağı ağır hastalandırmamalı ve öldürücü olmamalı, parazitler deri ve kanda bol olmalı, konak ve vektörler arasında temas sıkı olmalıdır (70, 71, 72). Epidemiyolojik olarak Akdeniz ülkelerinde zoonotik form (asıl rezervuarı köpekler), Doğu Afrika ve Hindistan'da antroponotik (rezervuarı insanlar) form görülmektedir. Dünya üzerinde *L.infantum* yönünden köpek, tilki, çakal ve kurtların enfeksiyona yakalandığı, rezervuar olduklarına dair bir bilgi olmamakla birlikte ratların ve keseli sıçanların da enfeksiyona maruz kaldığı bildirilmektedir. Canin leishmaniasis'te en önemli rezervuar evcil köpekler olmasına rağmen, insan, kemirgenler, yabani canin ve kedilerin de tesadüfen konakçı olabildikleri bildirilmektedir. Akdeniz ülkelerinde *L.infantum* ve Güney Amerika'da ise *L.chagasi*'nin başlıca rezervuarının köpekler olduğu ve bu sebeple hastalığın insanlara bulaşması açısından en önemli kaynağın köpekler olduğu bildirilmektedir (73-77).

## 2.8.HAYAT DÖNGÜSÜ

Leishmania türleri yaşam döngülerini biri omurgalı, diğeri omurgasız iki konak vücudunda tamamladıklarından diheteroksen parazitler grubuna girerler. Yaşam döngüsünde eşeyli üreme görülmediğinden konakları son veya ara konak olarak tanımlanamaz. Omurgalı konak memeliler veya sürüngenler, omurgasız konak ise kumsinekleridir. Omurgasız konak aynı zamanda parazitin vektörü olup, omurgalı konağı paraziti bulaştırırlar (36, 44).

Hastalığın taşınmasında sadece dişi kumsineği rol alır. Uçuş menzili birkaç kilometre olan dişi kumsineği yumurtalarının gelişimi için kana ihtiyaç duyar. Enfekte bir canlıdan (insan, rodent, köpek veya vahşi karnivorlar) kan emdiğinde parazitin "amastigot" formuyla enfekte makrofajları da alır. Makrofajların tatarcığının midesinde parçalanması ile serbest kalan amastigotlar 4 ile 25 gün arasında kumsineği içerisinde gelişip promastigot forma dönüşür ve ikiye bölünme tarzında çoğalır. Promastigotlar ön mideye oradan da özefagusa geçerler. Vektör yeni bir

canlıdan kan emdiği sırada promastigotları da nakleder. Vücutta makrofajlar paraziti fagosite ederler. Makrofajlar her ne kadar lizozim enzimiyle paraziti yok etmeye çalışsa da parazit hayatta kalır ve kamçılarını kaybederek amastigot forma dönüşür. Parazit bölünmeler tarzında çoğalmaya başlar, makrofaj yırtılır ve amastigotlar yayılmaya başlayarak yeni makrofajları enfekte eder ve süreç kendini tekrarlar. Bunun sonucunda farklı Leishmania türleri vücudun farklı yerlerine yönelirler. İnkubasyon periyodu üç aydan birkaç yıla kadar değişmektedir. Kumsineği uçtuğu sırada ses çıkarmadığından dolayı fark edilmez. Çok küçük olduğu için görülemeyebilir. Genellikle aktif olduğu zaman günün ilk ışıkları ve akşam saatleridir, sıcak havalarda aktiviteleri azalır (8, 30, 43, 44, 72).

## 2.9.PATOGENEZ

Leishmania enfeksiyonları 3 patogenetik özelliğe sahiptir; (a) makrofajlar parazitin hedefidirler ve makrofajlar içerisinde çoğalabilirler. (b) hastalığın ortaya çıkması ve gelişmesi konağın inflamatuvar ve immun yanıtına bağlıdır. (c) Enfeksiyon dokularda kalmaya devam etmektedir. Leishmania yüksek monositik-makrofajik hücreler içerisinde tüm dokulara yerleşme eğilimine sahiptir (78). Enfekte vektörün bir canlıyı sokmasıyla beraber leishmanianın promastigot formları da nakledilir. Kandan etkenin yok edilmesinde RES (Retikulo Endotelial Sistem) hücreleri görev alır. Böylece RES hücreleri bir yandan proliferer olurken diğer yandan her birinde büyüme görülür. Leishmania parazitleri ilk olarak enfeksiyonun başlangıç yerinde makrofajlar içerisinde çoğalırlar. Eğer konak etkili bir immun yanıt oluşturamazsa parazit mononükleer hücreler içerisinde deriden kemik iliğine, dalağa ve karaciğere yayılarak kronik ve ölümcül olabilen hastalığın şekillenmesine neden olur. Sonuç olarak her organ RES hücreleri zenginliği oranında patolojik, anatomik değişiklikler gösterir. Bu yüzden ki hastalığı karakterize eden en önemli değişiklikler dalak, karaciğer, kemik iliği ve lenf bezlerinde gözlenmektedir (72, 79).

Dalak makroskopik olarak oldukça büyük ve serttir. Splenik lenfoid foliküllerin yerini parazitle dolu mononükleer hücreler alır, bu yüzden splenomegali gözlenir. Beyaz ve kırmızı pulpa hücrelerinde aşırı derecede çoğalma ve büyüme gözlenir. Kapsül kalınlaşması nadir olarak görülmektedir. Hipertrofiye bağlı ortaya çıkan hipersplenizm eritrosit, granülosit ve trombositlerin dalakta yıkımına neden

olmaktadır. Karaciğerde hipertrofi şekillenir, enfestasyonun zayıf olduğu hallerde sitoplâzmalarında tek tük parazit bulunur. Parazitler çoğaldığı takdirde kupffer hücrelerinde hipertrofi şekillenir ve buna bağlı olarak sinüzoid lümenini daraltırlar. Lobüllerin periferik kısımlarındaki parankim hücrelerinde genellikle yağlanma ve atrofi vardır. Kemik iliği hücreleri arasında myeloid ve retikulo endotelial hücreler eritrositlerden fazladır. Eritrositer seriden normoblastların sayısında önemli derecede azalma görülmektedir. Ayrıca ölümcül seyreden olgularda bağırsaklarda genişleme ile birlikte ülserasyonlar görülür. Kapiller kanamalara bağlı retinada multiple kanama odakları şekillenerek oküler lezyonlar görülmesine neden olur. Böbreklerde tubuler nekroz, membranoproliferatif glomerulonefritis, akciğerlerde konjesyon, çeşitli organlara ait damarlarda inflamasyon ve yangılı damar yırtılmasına bağlı kanamalar sonucu iskemik lezyonlar gibi patolojik bulgular görülür. Çok sayıda makrofaj, plazma hücresi ve az sayıda lenfosit içeren yangısal infiltrat, köpeklerde deri leishmaniosis için tipiktir (14, 27, 72, 79-82).

## **2.10.LEISHMANİASİS'İN KLİNİK FORMLARI**

Leishmaniasisin ifade edilmesi hem leishmania türüne ve hemde bu türler üzerinde ifade edilen zimodeme bağlıdır. Böylece bir zimodem visseral leishmaniasise neden olabilirken aynı türe ait diğer bir zimodem kutanöz leishmaniasise neden olabilir (39).

### **2.10.1. Visseral Leishmaniasis**

Leishmaniasis'in bu formu düzensiz ateş, kilo kaybı, karaciğer ve dalağın şişmesi ve anemi ile karakterizedir. Kutanöz formun aksine iç organları etkileyen bu form leishmaniasis formları içerisinde en tehlikeli olanıdır ve tedavi edilmediği takdirde veya sağaltıma rağmen ölümcüldür. İnkubasyon periyodu 3 aydan 8 aya kadar değişebilir. Deride pigmentasyon görülebilir. Tedavinin ardından hasta iyileşebildiği gibi kronik kutanöz leishmaniasis gelişebilir. Ölüm genellikle hastalığın ilerlemesine bağlı olarak sekonder bakteriyel enfeksiyonlardan dolayı gerçekleşmektedir. Visseral leishmaniasiste bazı olgular atipik olarak sunulmuş ve hastalığın akciğerler, plöra, oral mukoza, larinks, özefagus, mide, ince bağırsaklar, deri ve kemik iliğini etkilediği rapor edilmiştir. Visseral Leishmaniasisin doğadaki

kaynağını köpekler oluşturmaktadır ve köpeklerde görülebilen hastalığa “Canin Leishmaniasis” denmektedir (83, 84).

### **2.10.2. Kutanöz Leishmaniasis**

Kutanöz leishmaniasis; promastigotların enjekte edildiği yerde papül olarak başlar ve sonrasında, makrofajlar promastigotları fagosite ederek yıkılamaya çalışır. Promastigotlar makrofajlar içerisinde amastigotlara dönüşerek çoğalır ve yayılır. Diğer fagositlerin de bölgeye gelmesiyle nodül oluşur ve ardından ülserleşir. Genellikle kendiliğinden iyileşen bu formun ardından iyileşme bölgelerinde yara izleri kalabilmektedir. Olguların % 90’dan fazlasının iyileşmesi 3-18 ay sürebilir. İnkubasyon periyodu iki haftadan birkaç aya kadar sürebilirken Eskidünya kutanöz leishmaniasis’i ile ilgili olarak 3 yıla kadar olan olgu bildirilmiştir. Yenidünya kutanöz leishmaniasis’inde ise inkubasyon periyodu genellikle 2 ile 8 hafta arasındadır (39, 84, 85).

### **2.10.3. Mukokutanöz Leishmaniasis**

Güney Amerika’da “Espundia” olarak adlandırılan formda etken burun, ağız ve gırtlakta müköz membranlara zarar vererek yüzde bozulmalara neden olur. Bu durum önemli derecede mortaliteye neden olan güçlükle yemeye ve sekonder enfeksiyon riskinin artmasına neden olur. İnkubasyon periyodu 1-3 ay arasında olmakla birlikte ilk kutanöz ülserlerin iyileşmesinin ardından yıllar sonra meydana gelebilir (84, 85).

### **2.10.4. Diffüz Kutanöz Leishmaniasis**

Diffüz kutanöz leishmaniasis Yenidünya’da yaygın olmakla birlikte Doğu Afrikada *L. aethiopica* ile meydana gelmektedir. Leishmaniasis’in bu formu özellikle yetersiz bir immün yanıtın sonucunda görülmektedir. Yeterli immün yanıtın olmaması yüksek oranda parazitin görülmesine ve amastigotların makrofajlar aracılığı ile vücudun farklı bölgelerine yayılmasına neden olarak kutanöz nodüllerin veya plakların oluşmasına sebep olmaktadır. Genellikle tedaviden sonra nüksler görülmektedir (84, 85).

### 2.10.5. Kala-azar Sonrası Deri Leishmaniasis'i

Visseal leishmaniasisin iyileşmesinden sonra gelişir. PKDL gelişme aralığı değişkendir. Hastalık Afrika ve Hindistan'da hasta olanların küçük bir yüzdesinde görülmüştür. Deri lezyonları perioral bölgeden vücudun diğer bölgelerine yayılmış şekilde maküler, makülopapüler veya nodüler tarzdadır (84, 85).

### 2.10.6. Canin Leishmaniasis

Değişken klinik bulguları içeren canin leishmaniasis multisistemik bir hastalıktır. Akdeniz havzasında insanlarda ölümcül visseral leishmaniasise neden olan *Leishmania infantum*'un en önemli rezervuarını köpekler oluşturmaktadırlar. Enfeksiyon bulaştıktan sonra hastalığın asemptomatik, oligosemptomatik ve semptomatik gibi farklı formları gelişebilmektedir. Seropozitif köpeklerde hastalığa karakteristik vissero-kutanöz semptomlarını gösteren hastaların oranı %40-%50 arasındadır. Diğer taraftan ise hem semptomatik hem de asemptomatik olan seropozitif köpekler kumsineklerini enfekte etmektedirler. Hastalığın inkubasyon süresi parazitin virulansına ve konağın genetik yatkınlığına bağlı olarak birkaç aydan birkaç yıla kadar değişebilmektedir. Sağlıklı köpeklerde deneysel olarak hastalık yapılmaya çalışıldığında köpekte enfeksiyon gelişmeyebilir. Bu ya köpeğin dirençli olduğu veya erken/gizli enfekte olduğu gibi anlamlara gelirken aynı zamanda köpeğin hastalığı yenerek seronegatif olduğu anlamına da gelebilir. Enfekte köpeklerin bazıları asemptomatik veya birkaç hafif belirti gösterirler ki bunlar oligosemptomatik olarak adlandırılır. Yıllar geçtikçe kumsineklerinin ısırıklarına daha fazla maruz kalması nedeniyle seropozitif köpeklerde görülen prevalansın yaş ile orantılı olarak arttığı bildirilmektedir. Köpeklerde en sık görülen semptomların başında dermatitler gelmektedir. Kıl örtüsü ve deride şekillenen bozukluklar göz, burun, kulak etrafı gibi lokal kalabilirken tüm vücutta da görülebilir. Canin leishmaniasiste oküler lezyonlar, burun kanaması, poliuri, polidipsi, topallık, kusma, ishal, mukoz membranlarda sarılık gibi klinik semptomlar görülebilmektedir (4, 47, 86, 87, 88).

## 2.11.KLİNİK VE LABORATUVAR BULGULAR

Klinik bulgular 3 ay ile 7 yıl arasında görülmektedir. Köpeklerin büyük çoğunluğunda zayıf vücut kondüsyonu, generalize musküler atrofi, lenfadenomegali, tırnak bozuklukları, kilo kaybı ve dermatitis görülmektedir. Canin leishmaniasiste görülen dermal değişiklikler ekfoliyatif ülseratif, nodüler ve püstüler dermatitisi içerir. Canin leishmaniasiste dermal lezyonlar deride bulunan parazitlere karşı oluşan inflamatuvar tepki yüzünden şekillenmeyebilir çünkü normal görünümlü bir deriye sahip semptomatik bir köpeğin derisinde de çok sayıda parazit bulunabilir. Benzer parazitlerin hem normal görünümlü deriye sahip köpekte hemde makroskopik lezyonların bulunduğu semptomatik köpekte tespit edildiği bildirilmiştir. Enfeksiyondan böbrekler de etkilenmekte (nefritis, glomerulonefritis) ve belki de böbrek rahatsızlığı hastalarda tek belirgin anormallik olabilmektedir. Böbrek hastalığı asemptomatik proteinüriden nefrotik sendroma veya glomerulonefritis, tubulointerstisiyel nefritis, amiloidozis gibi böbrek yetmezliğine kadar ilerleyebilir (4, 86, 87, 88). Canin leishmaniasiste iskelet bozukluklarıyla ilgili yapılan bir çalışmada 58 köpeğin %45'inde yürüyüş anormallikleri olduğu bildirilmiştir (89). Oküler lezyonlar semptomatik köpeklerin %16- %80 inde görülmektedir. Bunlar anterior üveitis, konjunktivitis, kuru keratokonjunktivitis, blefaritis veya bunların kombinasyonundan oluşmaktadır (90).

Canin leishmaniasiste epistaksis, hematüri ve hemorajik diyare şekillenebilmektedir. Hastalıkta görülen hemostatik bozukluklar platelet fonksiyon bozukluğu, düşük platelet sayısı, platelet agregasyon anormallikleri, azalmış koagülasyon faktör aktiviteleri ve fibrinolyze neden olan platelet agregasyon anormallikleri ile açıklanmaktadır. Hastada görülen bol burun kanaması yalnızca hastalığın bir semptomu olabileceği bigi kontrol altına alınamazsa hastanın ölümüne yol açacak bir neden de olabilir (91). Kronik hastalık, ağır kan kaybı veya eritrositlerin immun sistem tarafından yıkılması sonucu şekillenen kronik renal hastalıktan veya düşük eritropoezisten dolayı semptomatik köpeklerin çoğunda anemi görülür (92).



### 2.11.1.Klinik Bulgular

Canin leishmaniasiste görülen klinik bulgular ile görülme (%) oranı tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Canin Leishmaniasiste klinik bulgular (4, 14, 92)

<b>Klinik bulgular</b>	<b>Oran (%)</b>
Büyümüş lenf yumruları	62-90 (%)
Mukoz membranlarda sarılık	58 (%)
Büyümüş dalak	10-53 (%)
Kaşeksi	10-48 (%)
Ateş	4-36 (%)
Epistaksis	6-10 (%)
Asites	1.3-3 (%)
Deri lezyonları	81-89 (%)
Tırnak uzaması	20-30.5 (%)
Nasal Hiperkeratoz	18.8 (%)
Nodüller	2.3-6
Göz problemleri	16-81 (%)

### 2.11.2.Laboratuvar Bulguları

Canin Leishmaniasis'te görülen Laboratuvar bulguları ile görülme (%) oranları tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Leishmaniasisli köpeklerde laboratuvar bulguları (14, 92, 93).

<b>Labaratuvar Bulguları</b>	<b>Oran (%)</b>
Trombositopeni	29.3-50 (%)
Lökositozis	24 (%)
Lökopeni	22 (%)
Nonjeneratif anemi	60-73.4 (%)
Hiperproteinemi	63.3-72.8 (%)
Hiperglobulinemi	70.6-100 (%)
Hipoalbuminemi	68-94 (%)
Düşük albumin/globulin oranı	76 (%)
Serum Karaciğer enzim aktivitelerinde artma	16 (%)
Üre ve Kreatin oranında artma	16-45 (%)
Hafif/ şiddetli proteinüri	71.5-85 (%)

### 2.12.İMMUNOLOJİ

Günümüzde Leishmania enfeksiyonlarına karşı şekillenen immun yanıtın hücresel olduğu savunulmaktadır (39). Enfekte vektör bir canlıdan kan emdiği sırada promastigotları da nakleder. Vücutta makrofajlar paraziti fagosite ederler (8). Memeli konakların genetik farklılıklarına, kısmen parazitin tür ve suşlarının genetik farklılıklarına, kısmen kumsineği sayısına bağlı olarak immun sistemin leishmania enfeksiyonuna verdiği karmaşık cevap sonucu enfeksiyon hızla iyileşebildiği gibi daha da kötü bir duruma gelebilmektedir (94).

Enfeksiyonun geleceği T helper-1 (Th1) veya Th2 yanıtına bağlıdır. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda aynı parazit epitoplalarının Th1 yanıtını indükleyerek hastalığın iyileşmesini sağlayabildiği gibi Th2 yanıtını indükleyerek hastalığın ilerlemesine neden olabildikleri gösterilmiştir.

Th1 immun yanıt ile Th CD4 hücrelerinin interleukin-2 (IL-2), IL-3, interferon gama (IFN-  $\gamma$ ) ürettikleri, sitotoksit T hücreleri, doğal öldürücüler ve makrofajlar tarafından hücre aracılı veya inflamatuvar immun yanıt oluşturdukları ve leishmania hastalığının iyileşmesi ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. Bu tip yanıtta IL-12 ve Tümör Nekroz Faktör (TNF)'ünde önemli rolü bulunmaktadır. Bu sayede promastigotlar aktive edilmiş makrofajlar tarafından oluşturulan vakuol içerisine alınarak fagosite edilir ve lizozomal enzimlerle yok edilir.

Th2 hücrelerinin ise enfeksiyonun ilerlemesine neden olan IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve leishmania etkenlerinin makrofajlar içerisinde yok edilmesini engelleyen TGF- $\beta$  (Transforming Growth Factor- $\beta$ ) ürettikleri görülmüştür (39, 94).

### **2.13.TANI**

Parazitolojik, serolojik ve moleküler tanı yöntemlerinin her geçen gün gelişmesine rağmen canin leishmaniasis tanısı hala bir sorun olarak görülmektedir. Bazı olgular (hepatosplenomegali, renal lezyonlar gibi) diyagnostik görüntüleme tekniği yardımıyla ortaya konabilir. Visseral leishmaniasisin tanısı oldukça karmaşıktır çünkü malaria, typhoid ve tüberküloz gibi yaygın görülen hastalıklarla visseral leishmaniasis aynı konağı paylaşabilir. Bu hastalıkların çoğu VL (koenfeksiyon durumlarda) ile birlikte mevcut olabilir ve bu durumda dalak, kemik iliği veya lenf düğümlerinde parazit ayırma bu durumu zorlaştırmaktadır. Canin leishmaniasisin laboratuvar tanısı parazit veya parazit DNA'sı tespitinde kullanılan direkt ve indirekt yöntemleri kapsamaktadır. Her testin duyarlılık, özgüllük, maliyet ve test kolaylığı gibi farklı düzeylerde avantajları ve dezavantajları olabilmektedir. İyi bir test yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmalı, tekrarlanabilir olmalı, uygulaması kolay olmalı, lokal laboratuvarlarda kullanabilmek için uyarlanabilmeli, gelişmiş donanım gerektirmemeli ve ilk aşamada leishmania ile enfekte tüm köpekleri algılayabilmelidir. Bu yüzden yapılacak çalışmalarda kullanılacak

laboratuvar testlerinin iyi belirlenmesi önemlidir (95-99). Ayrıca canin leishmaniasisin ayırıcı tanısı demodikosiz, sarkoptik uyuz, pire dermatiti, kutanöz neoplazi, infeksiyöz dermatit, transmissible venereal tümör, erlişiyozis, riketsiyozis ve babesiosis'i içermektedir (100).

### **2.13.1. Direkt Tanı Yöntemleri**

#### **2.13.1.1. Mikroskopik Muayene**

Yüksek özgüllüğünden dolayı bu yöntem leishmania tanısında hala altın standart olarak kullanılmaktadır. Kesin tanı enfekte organ/dokulardan (kemik iliği, lenf nodu, deri, periferik kan) hazırlanan boyanmış smearlardaki amastigotların mikroskopik gözlemi ile yapılabilir. Giemsa veya leishmania boylarıyla boyanmış smearlarda amastigotlar serbest halde veya monosit, makrofaj ve nötrofil içerisinde, 2-4 µm çapında, oval veya yuvarlak şekilde görülmektedir. Nükleus ile aynı düzlemde, nükleusa dik açıda koyu kırmızı veya menekşe renkli çubuk benzeri kinetoplast yer almaktadır (75). Bazı araştırmacılara (17) göre kemik iliği ve lenf nodları smearları mikroskopisi duyarlılığı %60-75 iken bazı araştırmacılar (75) göre bu değer %30-50 arasındadır. Splenik aspiratta ise duyarlılık %93.1-98.7 arasındadır (99, 101). Deneysel olarak yapılan çalışmalarda alınan kemik iliği örneklerindeki leishmania organizmaları, lenf nodlarından alınan aspirata göre daha fazla orandadır (102).

#### **2.13.1.2. Histopatoloji**

Canin leishmaniasise dair güçlü şüphe duyulursa ağırlıklı olarak fokal lezyonlarla karakterize dermatit ve deri hastalıkları varlığında histolojik muayene her zaman tavsiye edilmektedir. Canin leishmaniasiste lenfoplazmatik veya granulatöz-pyogranulatöz yangı ve/veya çeşitli organlarda vaskülit, işemik deri hastalıkları, dermoepitelyal kavşakta lenfoplazmositik dermatitis, dalak ve lenf nodlarında lenfoid hiperplazi gibi değişiklikler bulunabilir. Bahsedilen olgular eşliğinde histolojik değişiklikler olacaktır ancak hematoksilen-eozin boyama ile kesitlerde parazit saptanması imkânsızdır. Bu yüzden leishmania antijenlerine karşı antikolar kullanılarak immunohistokimyasal boyama yapımı uygun olacaktır. Eğer

bu yaklaşımın sonucu negatif olursa PCR ile leishmania genomu aramak için örnek kullanılabilir (103-105).

### **2.13.1.3. İmmunohistokimya**

İmmunohistokimyasal yaklaşımlar, yüksek parazit yükü olmayan organlarda hematoksilen-eozin boyama yöntemiyle yapılan tanıyı doğrulamak için kullanılan ek bir yöntemdir. Bu yöntem histolojik durumun açıkça hastalık belirttiği ancak parazitlerin mikroskop altında net olarak tanımlanamadığı durumlarda Canin leishmaniasis tanısını doğrulamak için iyi bir ek yöntemdir. Duyarlılığı parazit yüküne bağlı olduğundan dolayı bu yöntemler yanlış negatif sonuç verebildiği gibi ışık mikroskobu altında incelemeler sonucunda artefakların yanlışlıkla amastigotlarla karıştırılması sonucu yanlış pozitif sonuçta verebilmektedir. Yöntemin zaman alıcı ve invaziv olması epidemiyolojik araştırmalar için uygun olmadığını göstermektedir (106-108).

### **2.13.1.4. Kültür**

Farklı dokuların in vitro kültürü parazit tespitinin duyarlılığını arttırabilir. Tüm leishmania suşları aynı oranda gelişmez ve aynı köpekte tüm dokular ve organlar aynı paraziter yüke sahip değildir. Birkaç tüpte yapılacak inokulasyon tanı duyarlılığını arttıracaktır. Testin %100 özgül olmasına rağmen, sonuçlarda gecikme, mikrobiyal kontaminasyona duyarlılık, parazit yükü bağımlılığı gibi dezavantajlarından dolayı günümüzde daha az kullanılmaktadır. Diğer taraftan izoenzimatik tanımlama için yeterli sayıda parazit elde edilmesinde, deneysel enfeksiyon modellerinde, in vitro ilaç taramasında ve hatta moleküler tanımlamada hala gereklidir (109, 110).

### **2.13.1.5. Laboratuvar Hayvanlarında Parazit İzolasyonu**

Altın hamsterlara (*Mesocricetus auratus*) inokulasyon sonrasında leishmania parazitinin varlığı ortaya konabilir. Bu yöntemde sonuç elde edebilmek için birkaç ay gerekebilir. Toplanan klinik materyal ile kullanılabilen bu yöntemde önemli kontaminasyon riskide bulunmaktadır. İnokulasyondan sonra her hafta hayvan

hepatosplenomegaly gibi enfeksiyon belirtileri yönünden muayene edilmelidir. Dalak veya lenf nodlarında amastigotlar görülebilir (75).

#### **2.13.1.6. Ksenodiagnosis**

Bu metotla laboratuarda yetiştirilen bazı kum sineklerinin, hatalıktan şüpheli köpeklerden kan emmesinden birkaç gün sonra sineklerin bağırsaklarında promastigotların varlığı araştırılmaktadır. Yöntem oldukça duyarlı olmasına rağmen pratikte uygulanabilirliği zayıftır. Bu teknik ile *L.infantumun* bulaşması, ilaçla tedavisi ve klinik rolü üzerinde önemli epidemiyolojik soruları çözümlmek için kullanılabilir (111).

#### **2.13.1.7. Polymerase Chain Reaction (PCR)**

Bu yöntem birçok parazitik hastalıkta olduğu gibi leishmaniasis tanısında da kullanılmaktadır. Diğer testlere oranla daha duyarlı olan bu yöntem, visceral leishmaniasis tanısı için potansiyel bir teknik olarak perifer damarlardan alınan kan örnekleri kullanılarak yapılmaktadır (112, 113). Bu tekniğin leishmania tanısı için duyarlılığı (%75) , mikroskopik (%26.3) ve kültür (%42.3) gibi diğer testlere göre önemli oranda yüksektir (99). Bu yöntemle incelenen biyolojik materyal içerisinde var olan çok düşük miktarlardaki protozoonlara ait DNA belirlenebilmektedir. Kullanılan en yaygın üç teknik; Conventional PCR, Nested PCR ve Quantitative (Real time) PCR'dır (114).

#### **2.13.1.8. Quantitative Buffy Coat (QBC)**

QBC yöntemi Leishmania Chagasi ile enfekte köpeklerde kemik iliği ve periferal kanda amastigotların tespitine yönelik kullanılması önerilen diğer bir yöntemdir. Bu yöntemle yapılan çalışmalar duyarlılığın %97 olduğunu göstermiştir (115).

## 2.13.2. İndirekt Tanı Yöntemleri

### 2.13.2.1. Antikor Tespiti

Son yıllarda visseral leishmaniasis tanısında yükselmiş globulin seviyesine bağlı nonspesifik metodlar kullanılmaktadır. İmmunglobulinleri tespit eden bazı testler arasında Napier'in formol gel veya aldehyde testi ile Chopra antimony test gelmektedir. Testler yükselmiş globulin düzeyine bağlı olduğundan konak durumuna göre testler pozitif çıkabilmektedir. Antikor tespiti için alışılmış yöntemler arasında complement fixation testi, indirect hemagglutination testi, IFA testi ve immunoelectrophoresis yer almaktadır. Leishmaniasise karşı vücut diğer hastalıklarda da görülen antikorları üretir. Parazit antijenlerine karşı bu antikorların yüksek düzeyde bulunması visseral leishmaniasis tanısını kolaylaştırmaktadır. Birçok serolojik metod bu antikorları tespiti için kullanılmaktadır. Antikorların özgüllüğü testte kullanılan antijen veya epitoplara bağlıdır. Parazit grup, cins, tür ve spesifik antikorları içeren bir dizi antikor üretimini stimüle eder. Bu nedenle duyarlılık kullanılan test ve metoda bağlı olabilmekle birlikte özgüllük kullanılan serolojik prosedüre oranla kullanılan antijene bağlıdır. Antikor üretimi başlangıçta, geç fazda veya asemptomatik köpeklerde düşük olmasına rağmen enfekte köpeklerde zaman içerisinde gittikçe artan antikor titresini gösterir. Semptomatik köpeklerde hematolojik ve protein değişikliklerinden ayrı olarak güçlü humoral yanıt gelişir. Bununla birlikte sadece anti-leishmania antikorlarının varlığı tek başına hastalığın kesin işareti değildir. Bu nedenle canin leishmaniasis tanısında birden fazla serolojik test kullanılması ve 3 ay sonra testlerin tekrarlanması tavsiye edilmektedir (107, 116).

### 2.13.2.2. Antijen Tespiti

Enfeksiyon teşhisi için mükemmel bir yöntemdir. Antikor bazlı tanısal yöntemlere göre daha özgündür. Antijen seviyesi parazit yükü ile ilişkilidir. Özellikle antikor yanıtının zayıf olduğu durumlarda bu metod daha iyi bir tanı sağlayacaktır. 72-75 kilodalton (kDa) (duyarlılık %96, özgüllük %100) ve 123 kDa iki polipeptit fraksiyonları Visseral leishmaniasis hastalarının idrarlarında saptanmıştır. Bu

antijenler üç haftalık başarılı bir tedavi süresinden sonra saptanamamaktadır. Bu teknik bir test olarak umut vaad etmektedir (117).

### **2.13.2.3. Indirect Immunofluorescent Antibody Test (IFAT)**

Testin çalışma prensibi antikorların tespitini içermektedir. Herhangi bir antikor varlığı promastigotları bağlayacaktır ve pozitiflik fluorescent anti-antibodie testi ile gösterilirken aynı zamanda antikor titresi de ölçülebilmektedir. IFAT ile enfeksiyonun erken safhalarında hastalık tespit edilebilirken 6-9 aylık bir sağaltımdan sonra tespit edilememektedir. Eğer antikorlar düşük titrelerde kalırsa bu muhtemelen nüks olacağı anlamına gelmektedir. Test duyarlı (% 96) ve özgül (% 98) bir testtir bu yüzden Dünya hayvan sağlığı örgütü tarafından referans serolojik test olarak kabul edilmektedir. Ancak uygulanabilmesi laboratuvar koşullarını gerektirdiğinden sahada kullanılamamaktadır (118-120).

### **2.13.2.4. Counterimmunoelectrophoresis (CIE)**

Bu yöntem anti-leishmania antikorların tespitine yöneliktir. Elektrik akımı kullanılan bu yöntemde antikor ve antijen göçü tamponlu jel sayesinde hızlanmaktadır. Elektroforezise maruz bırakılan serum örneğinde Leishmania antijenleri ve antikorlar arasındaki etkileşimden dolayı kollojel bir strip üzerinde mavi presipitasyon yayı oluşumuyla karakterizedir. Yapılan çalışmalarda bazı araştırmacılar (121) ciddi klinik leishmaniasis semptomları gösteren köpeklerde bu yöntemin duyarlılığını %96.1, hafif belirtiler gösterenlerde %80 ve asemptomatik köpeklerde ise %72.7 olarak belirtirken, bazı araştırmacılar (110) ise duyarlılığı %85.5, özgülüğü %94.7 olarak belirtmektedir. Bu yöntem ile spesifik immunglobulin gerektirmediğinden dolayı farklı konaklardan alınan serum örnekleri aynı anda analiz edilebilmektedir. Testin hızlı olması, birkaç saat içerisinde sonuçların alınabilmesi, maliyetin az olması, testin gerçekleştirilmesi için basit ekipmanların gerekmesi, bu yöntemi epidemiyolojik çalışmalar için tercih testlerden biri haline getirmektedir (116).



### **2.13.2.5. Direct Agglutination Test (DAT)**

Test yüksek duyarlılık, özgül ve pahalı olmayan basit bir testtir. Bu testin uygulanmasında başlangıçta sıvı antijen kullanılmıştır. Soğuk zincir gerektirmesi ve kısa ömürlü olması testin dezavantajıdır. Günümüzde ortam sıcaklığında nakledilebilen dondurularak kurutulmuş antijenler geliştirilmiştir. DAT kullanılarak yapılan bir meta-analizi çalışmasında duyarlılık %94.8, özgüllük %85.9 olarak tahmin edilmektedir. DAT'ın başlıca dezavantajı, çoklu pipetleme ihtiyacı, nispeten uzun bir inkübasyon süresi, antijenin yüksek maliyeti ve kalite kontrollü antijen üretiminin sınırlı olmasıdır. Antikor bazlı diğer testlerde olduğu gibi hatalığın tedavisinden sonra DAT pozitif sonuç vermeye devam eder. Bu yüzden tedavi testi olarak veya nüks tanısında kullanılamaz (122).

### **2.13.2.6. Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)**

ELISA testi Visseral leishmaniasis'in serolojik tanısında kullanılmaktadır. Testin duyarlılığı ve özgüllüğü kullanılan antijene bağlıdır. En umut verici sonuçlar rK39 antijeni kullanılarak yapılanıdır ki duyarlılık %100, spesifite %96 'dır (123). Serum ölçülmek üzere leishmania antijenleri kaplı mikroplaklara yerleştirilir. Pozitif durumlarda spektrofotometre tarafından ölçülebilir kolorimetrik reaksiyon gözlenir (111). Bu antijenlere karşı oluşan antikor titreleri aktif hastalıkta, kemoterapinin izlenmesinde ve klinik nüks tahmininin yapılmasında direkt ilişkilidir. Kalifiye personel, gelişmiş teçhizat ve elektrik gereksinimleri nedeniyle ELISA'nın endemik bölgelerde Visseral leishmaniasis tanısında kullanılmasını güçleştirmektedir (123).

### **2.13.2.7. Immunochromatographic Strip Tests (ICT)**

rK39 antijeni kullanan bu test son yıllarda popüler hale gelmiştir. rK39 antijeni, L.chagasi'nin son derece korunaklı kinesin bölgesinde kodlanmış 117 baz çifti tarafından kodlanan 39 amino asit içermektedir. Mikro Elisa formatında bu antijen oldukça yüksek duyarlılık göstermiştir. Tek-test formatlı olması, kolay kullanımı ve acil müdahalelerde hızlı cevap vermesi veteriner hekimlerin işlerini kolaylaştırmaktadır. rK39 testi visseral leishmaniasis tanısında hassas ve güvenilir bir testtir. İlk klinik ölçümlerde duyarlılık %100, özgüllük %98 olarak

gözlemlenmiştir. Bir rK39 testi meta-analizi çalışmasında sonuçlar duyarlılık %98.4-100 ve özgüllük %81.2-96.4 olarak bildirilmiştir. Sudan'da yapılan bir çalışmada duyarlılık (%69.2-85.6) diğer yerlere göre daha düşük bulunmuştur (97, 102, 124).

#### **2.13.2.8. Western Blotting (WB)**

Western blot analizi tüm parazit antijenlerinin düşük serum antikor titresi oluşturduğu durumlarda duyarlı olduğu kabul edilen bir yöntemdir. Ayrıca canin visseral leishmaniasis'in tanısında yüksek duyarlılığa sahip olduğu kanıtlanmıştır. Son zamanlarda deneysel canin leishmania infantum enfeksiyonunun tanısı ve prognozunun geliştirilmesi yönünde kantitatif bilgisayarlı western blot testleri değerlendirilmektedir (125, 126). Ancak spesifik antikor varlığı tespit edilmesinde kullanılan bu test teknik uzmanlık gerektirmesi, zaman alıcı olması ve pahalı olması nedeniyle rutin olarak kullanılmamaktadır (127).

#### **2.13.2.9. Flow Cytometry (FC)**

Elektronik bir tanı cihazından geçirilen akışkan bir sıvı içerisinde askıda bulunan mikroskobik partikülleri sayma ve sıralama işlemleri yapan bir tekniktir. Akım sitometrisi ile bir süspansiyon halindeki hücre ya da partiküller, lazer ışığı ile aydınlatılmakta olan bir bölmeden geçirilir. Hücrelerin ışığın önünden geçerken verdikleri sinyaller toplanarak analiz edilir. Fiziksel ve/veya kimyasal eş zamanlı, çok değişkenli analiz yapmaya imkân tanır. Yöntem hızlı, doğru ve tekrarlanabilir olduğundan sağlıkta ve araştırma laboratuvarlarında gittikçe yararlı bir araç haline gelmektedir. Her saniyede binlerce partikül analiz edilebilmekte ve partiküller belirli özelliklerine göre ayrılıp izole edilebilmektedir (96, 128).

#### **2.13.2.10. Rapid Immunomigration Test**

Uygulaması kolay olan bu testin tanısallık yeterliliği ELISA ve IFAT'tan düşüktür. Özgüllüğü ortalama yükseklikte iken (%30), duyarlılığı düşüktür (%70).

Ayrıca test yanlış negatif sonuçlara da neden olabilmektedir. Bu durumda eğer tanısallık bir şüphe varsa farklı bir test ile çalışma genişletilmelidir. Testin pozitif çıktığı durumda ise antikor titresi ölçülememekte ancak hastalara uygulanan tedavi yanıtı izlenebilmektedir (111).

### **2.13.2.11. Immunoblotting**

Bu test çeşitli leishmania antijenlerine karşı detaylı antikor yanıtı sağlar. IFAT ve ELISA testlerine göre daha duyarlı olan test pahalıdır ve uygulaması zaman almaktadır. Uygulaması önemli derecede beceri gerektiren bu test Visseral leishmaniasis tanısında idareli kullanılmaktadır (129).

### **2.13.3. Hücresel İmmünite**

#### **2.13.3.1. Montenegro Testi**

Leishman testi olarak ta bilinen Montenegro deri testi leishmania antijenlerine gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu gösterir. Montenegro testi bazı araştırmacılara (130) göre  $3 \times 10^{6-8}/\text{ml}$ , bazı araştırmacılara (131) göre ise  $5 \times 10^7/\text{ml}$ . olan ve phenol veya merthiolate tuz çözeltisinde dilüe edilmiş inaktif promastigot süspansiyonunun (0.5 ml) deri içi enjeksiyonundan oluşmaktadır. Kontrol amaçlı olarak dilüent deri üzerinde farklı noktalara enjekte edilmektedir. 48-72 saatlerdeki okumalarda 5 mm çapın üzerinde serlik oluşumu pozitif kabul edilir. Genellikle subklinik enfeksiyon, visseral leishmaniasis'in erken döneminde veya başarılı bir tedaviden sonra test pozitif çıkarken aktif hastalık sırasında test negatif çıkmaktadır (130, 131).

#### **2.13.3.2. Lymphocyte Proliferation Assay (LPA)**

Bu yöntem lenfosit aktivasyonu ve hücre aracılı bağışıklık yanıtını belirlemek için kullanılır. B-hücreleri kendilerine spesifik antijenler ile karşılaştıklarında, T hücrelerinin de yardımı ile proliferasyona uğrarlar. T hücreleri antijen sunan hücreler ve sitokinler tarafından aktive edildiklerinde proliferasyona uğrarlar. B ve T hücre proliferasyonları spesifik bağışıklık yanıtın başlamasına neden olur. Hücre çoğalması genellikle uyarım endeksi (uyarılmış hücreler/ uyarılmamış hücreler) olarak ifade edilir. Uyarılma endeksi 2'den büyük değerler pozitif olarak kabul edilir. Dayanıklı ve asemptomatik köpekler leishmania antijenlerine güçlü bir proliferatif yanıt sunarlar (130, 132).

## 2.14.PROGNOZ

Hastanın prognozu hastalığın hangi aşamada olduğuyula yakından ilgilidir. Kutanöz formlar kendiliğinden iyileşebildiği gibi iyileşme yerlerinde yara izleri bırakabilmektedir. Ancak iç organları etkileyen visseral formda tedavi yapılmadığı takdirde veya tedavi edilmesine rağmen hastayı ölüme götüreceğinden prognoz oldukça kötüdür. Hastalara uygulanan tedavinin asıl amacı, paraziti elimine ederek hastanın tamamiyle tedavi edilmesini sağlamaktır. Ancak tedavi edilen hayvanlarda nüks oranları oldukça yüksektir. Her nüks sonrası 21-42 gün meglumin antimoniat verilmesi halinde köpeklerin %75 olasılıkla en azından 4 yıl hayatta kaldığı bildirilmiştir. Böbrek fonksiyonları bozulan köpeklerin prognozu iyi değildir. Uzun süreli ve aralıklı olarak allopurinol verilmesinin hastanın klinik olarak rahatlamasına ve hastanın korunmasına yardımcı olduğu bildirilmektedir. Hastalar iyileştiklerinde genellikle canlıyı ömür boyu reenfeksiyonlardan koruyan kalıcı bir bağışıklık oluşur (14, 38, 133, 134).

## 2.15.SAĞALTIM

Leishmaniasisin en yaygın formu kutanöz form olmakla birlikte Vital organları etkilediğinden dolayı visseral form en ciddi seyreden formdur. Kutanöz formu kendiliğinden iyileşebilir ancak visseral formun Sağaltımı yapılmazsa ölümle sonuçlanma oranı 2 yıl içinde % 100'e ulaşabilmektedir. Uygun tedavinin ölüm oranını % 5-10'a kadar düşürebildiği bildirilmektedir (8). Dünyada leishmaniasis tedavisi için tercih edilen ilk ilaç pentavalent antimoniallerdir. Ancak bu ilaçlara direncin şekillendiği durumlarda gelişmiş kombinasyonlar uygulamak için bu ilaçların yerini miltefosine, paromomycin ve liposomal amphotericin almaktadır (135). İlaçla tedavide hastanın immun sisteminin durumu da etkilidir. T hücre bağışık yanıtın yokluğunda antimonların aktivitlerinin de azaldığı bildirilmektedir. Ayrıca son yıllarda önemli bir sorun olarak karşımıza çıkan ilaç direnci tedavi başarısızlığındaki en temel faktörlerdendir. *L.donovani* ve *L.tropica* gibi antroponotik türlerde ilaç direnci ile karşılaşmaktadır. Diğer leishmania türleri genellikle zoonotik karakterdedir ve bu nedenle ilaç direncinin yayılımı pek mümkün değildir (136).

İnsanlarla kıyaslandığında canin leishmaniasis tedaviye daha dirençlidir. İnsanlarda olduğu gibi köpeklerde de sıklıkla kullanılan ilaçlar meglumine antimoniate, sodium stibogluconate gibi pentavalent antimonlardır. Subkutan (SC) yolla meglumin uygulaması en yaygın kullanılanıdır. Ancak uygulamada iki günde bir 200-300 mg/kg İntravenöz (IV) den günlük 100 mg/kg IV veya SC dört hafta boyunca değişen doz rejimleri bulunmaktadır. Pentavalent antimonlar oldukça pahalı olmakla birlikte yan etkileri de görülebilmektedir. Antimonlar ile günlük uygulanan ve 2 aydan uzun süren tedavi kardiyak, renal veya hepatik yetmezliği bulunan hastalarda riskli kabul edilmektedir. Uygulanan tedavi sırasında belirgin klinik iyileşme görüldüğü bildirilmiştir ancak nöksler oldukça yaygındır. Ayrıca Pentavalent antimonlar ile yapılan uzun süreli tedavi hastalığın direncinin artmasına da neden olabilmektedir (14). Antimona cevap vermeyen hastalarda oral yoldan miltefosin kullanılabilir. Amfoterisin-B 0,75-1,0 mg/kg dozunda 15 gün süre ile infüzyon şeklinde kullanılarak, tek başına antimon bileşiğine yanıt vermeyen VL'de onunla birlikte ya da ondan sonra kullanılır (137). Canin leishmaniasiste aminosidine kullanımı ilacın kısmi etkinliği ve yüksek toksisitesi nedeniyle tartışmalıdır. Liposomal amphotericin-B'nin IV uygulanması klinik kür ile sonuçlanmış ancak lenf nodlarından alınan aspiratlarda nerdeyse tedavi edilen tüm köpeklerin parazitler için pozitif olduğu bildirilmektedir. Amphotericin-B, Streptomyces nodosus aktinomisetlerinden elde edilen makrolid grubu bir preparattır. Özellikle anti-fungal olmasına karşın bazı protozoonlarda da etkinliği saptanmıştır. Bu ilaç nefrotoksik özelliği sebebiyle fazla tercih edilmemektedir. Ancak bu dezavantaj lipozomalize formülasyonları ile giderilmeye çalışılmıştır (30). Kutanöz leishmaniasiste flukanazol ve ketokonazol da kullanılabilir. Ketokonazol oral yolla günde 3 defa 200 mg ile 4 hafta süreyle kullanılır (137). Allopurinol RNA sentezini bloke ederek leishmania türlerinin gelişimini engeller. Allopurinol ile yapılan 10-15 mg/kg/gün oral, 2-4 ay süreli bir tedavide klinik kür sağlandığı, uzun süre kullanımına bağlı olarak herhangi bir yan etki ortaya çıkmadığı ancak nökslerin oluşabildiği bildirilmektedir. Klinik hafifleme sağlanıncaya kadar Allopurinol ve Antimon kombinasyonu (100 mg/kg/gün meglumine ve 30 mg/kg/gün allopurinol Oral) ile yapılan tedavi ve ardından bir ay boyunca haftada bir idame allopurinol (20 mg/kg/gün) tedavisi, 10-44 aylık bir periyotta klinik hafifleme ile sonuçlandığı

bildirilmektedir (14). Bu ilaçların, intramuskuler yapılan uygulamalarında muskuler fibrozis ve abse oluşumu gibi yan etkileri olduğundan subkutan kullanımı tavsiye edilmektedir (30). Yapılan benzer diğer bir çalışmada bu ilaçların kombinasyonunun uygulandığı 1 aylık tedavinin ardından 8 ay boyunca 30 mg/kg/gün allopurinol uygulaması yapılan köpekler 5 yıl süreyle izlenmiş ve bu köpekler sadece meglumin ya da sadece allopurinol ile tedavi edilen köpekler karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak Allopurinol idameli kombinasyon tedavisinin klinik iyileşme oranının daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Böyle uzun süreli tedavi gerektiren durumlarda meglumin ve allopurinol kombinasyonu veya sadece allopurinol canin leishmaniasis tedavisinde güncel olarak tavsiye edilmektedir (14).

Visseral ve Kutanöz leishmaniasis tedavisinde kullanılan ilaçlar Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7. Visseral ve Kutanöz leishmaniasis tedavisinde kullanılan ilaçlar ve dozları (136)

İlaç	Sendrom	Önerilen Doz	Açıklama
<b>PARANTERAL KULLANIM</b>			
Pentavalan antimonlar (IV veya IM)	VL	20 mg Sb kg/gün, 28 gün	Tedavinin uzatılması toksik etkileri arttırabilir.
	KL	20 mg Sb kg/gün, 20 gün	Eskidünya Kutanöz leishmaniasis'inde daha kısa süreli uygulamalar yeterli olabilir.
Amfoterisin B (IV)	VL	0.5-1 mg/kg/gün veya gūnaşırı (Toplam doz 15-20 mg/kg)	Toplam doz ve süre hastanın yaşadığı bölge, immün sistemin durumuna bağlı olarak değiştirilebilir.
	KL	0.5-1 mg/kg/gün veya gūnaşırı (Toplam doz 1.5-2 g)	
Amfoterisin B'nin yağlı formülleri (IV)	VL	2-5 mg/kg/gün (toplam doz 15-21 mg/kg) tercihen 1.,5.,10. günlerde verilmesi önerilir.	Toplam doz ve süre hastanın yaşadığı bölge, immün sistemin durumu ve kullanılan ilacın formülüne bağlı olarak değiştirilebilir.
Pentamidin isetonat (IM)	VL	4mg/kg gün aşırı veya haftada 3 gün toplam 15-30 doz	Toksik etkileri sebebiyle tedavide 2. Seçenek olarak kullanılırlar.
	KL	3mg/kg/gün aşırı toplam 4 doz veya 2mg/kg/gūnaşırı toplam 7 doz 12-20 mg/kg/gün toplam 3 hafta.	
Paromomisin sulfat (IV veya IM)	VL	12-20 mg/kg/gün toplam 3 hafta	Hindistanda tek veya antimonlarla kombine olarak kullanılmaktadır.
Rekombinan Interferon gama (SC veya IM)	VL	100mcg/m <sup>2</sup> /gün veya gūnaşırı (erişkin dozu)	Komplike olgularda kombine tedavide yararlıdır.
<b>ORAL KULLANIM</b>			
Miltefosin	VL	100-150mg (2.5 mg/kg)/gün, 28 gün	Teratojen
Ketokonazol	KL	600mg/gün, 28 gün (Erişkin dozu)	Eskidünya KL olguları için uygun
Flukonazol	KL	200mg/gün 6 hafta	Eskidünya KL olguları için uygun
Itrakonazol	KL	Günde iki defa 200 mg 28 gün boyunca (erişkin dozu)	Eskidünya KL olguları için uygun
Dapson	KL	Günde iki defa 100 mg 6 haftaboyunca (erişkin dozu)	Hindistandaki umut verici sonuçların aksine Yenidünya KL olgularında etkisiz bulunmuştur.
Allopurinol	KL	300-600mg/gün 28 gün boyunca	Kombinasyon tedavilerinde yararlıolabileceėi söylenmektedir.
<b>LOKAL/TOPIKAL KULLANIM</b>			
Intralezyoner antimon bileşikleri	KL	Haftalık veya gūnaşırı lezyon içine uygulanır.	Enfekte olmayan, skarsız, az sayıda, yeni lezyonlar için uygun
Paromomisin sülfat pomad	KL	Günde iki defa 2 hafta lezyon üzerine uygulanır.	

Tüm Dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir hastalık olarak görülen leishmaniasisin beşeri ve veteriner saha tedavisinde antimon bileşiklerinden yararlanılmasının, yanıt alınamayan olgularda ise toksik etkileri dikkate alınarak Miltefosin gibi preparatların kullanım alanına hızla sokulmasının tedavide başarı oranını arttıracığı bildirilmektedir (137).

## **2.16.PROFİLAKSİ**

Leishmaniasiste erken tanı ve tedavi, vektör mücadelesi, rezervuar kontrolü ve endemik bölgelerde yapılacak eğitim çalışmaları hastalıktan korunmanın önemli unsurlarıdır (138). *Leishmania infantuma* bağlı şekillenen hastalık gerek köpekler ve gerekse insanlar için tehlikeli durumundadır. Özellikle rezervuar durumundaki asemptomatik köpekler ile tedavisinin yapılmasına rağmen nüks olgularının görülebileceği semptomatik köpekler oldukça sıkıntılıdır. Hem insan hem de hayvan sağlığı açısından hastalığın köpeklerde hızlı tanı ve kesin tedavisinin yapılması gerekmektedir (52).

### **2.16.1.Vektör Mücadelesi**

Kum sinekleri gündüzleri ev, ahır, kümes, duvar çatlakları, ağaç kovukları gibi mikro iklimi uygun yapıda olan rüzgârdan ve yağmurdan korunmuş genel olarak sıcak ve oldukça nemli yerlerde yaşarlar. Kumsineklerinin beslenme, dinlenme, üreme alanları gibi yaşam şekilleri ve biyolojik durumlarının çok çeşitlilik göstermektedir. Kum sinekleri uygulama tekniğine, süresine ve hedef türlere bağlı olarak insektisidlere karşı oldukça duyarlıdır. Gerek Eskidünya gerekse Yenedünya ülkelerinde DDT (Dikloro Difenil Trikloretan) ve Pyrethroid ler kum sineklerinin kontrolünde kullanılmaktadır. Ergin kum sineklerinin mücadelesi, ergin sivrisinek mücadelesine benzerdir, bu yüzden bir bölgede yapılan sivrisinek mücadelesinden kumsinekleride etkilenmektedir (68, 69, 139, 140). Kalıcı insektisitlerle yapılan vektör kontrolü yöntemleri sadece belirli bir alanı etkilemektedir. Vahşi doğada şekillenen bulaşmaları önleyememektedir (140).

Laboratuar denemelerinde hayvanlar üzerinde kullanılan düşük dozlardaki avermektin grubu ilaçların kum sineklerinin erginleri üzerinde oldukça ölümcül



olduğu bildirilmektedir (69, 141). Hastalığın ortaya çıktığı yerlerde köpekler üzerinde çalışma yapılmalı seropozitif bulunan köpekler sağaltıma alınmalıdır. Dikkat edilmesi gereken nokta parazitin direnç gösterebileceğidir. Köpeklerin serolojik kontrolleri 3 ayda bir yapılırken ilaç kullanımı yaşam boyu devam etmelidir. Eğer tedavi olanağı bulunmuyorsa veya klinik olarak ağır ise hayvan hakları ve etik kurallar gözetilerek uyutulması tavsiye edilmektedir (137). Özellikle köpeklerde ilaçlı tasmaların kullanılması sonucu köpeklerden kan emmek isteyen vektör ya ölecektir ya da ilaç yüzünden uzaklaşacaktır. Bu nedenle insanlar hayvanlarını düzenli olarak avertmek grubu ilaçlarla ilaçlamaları hastalığın yayılmasını önlemede etkili olabilmektedir (69, 141)

Kum sineklerinin beslenmek için kan arayışları genellikle rüzgara karşı, yere yakın ve konak tarafından bırakılan ipuçlarını (CO<sub>2</sub>, sıcaklık, nem) takip eden küçük uçuşlar tarzında olmaktadır (69). Bu nedenle duvarlara üzerine püskürtülecek ilaçlar veya diğer bariyerler kum sineklerine karşı (özellikle *P. sergenti*) iyi birer engel olabilirler. Yerleşim yerlerinde yapılan kontrollü deneylerde Prallethrin evaporasyonu ile kutanöz leishmaniasis etkenleri olan *P.papatasi* ve *P.sergenti*'nin yatak odasından eliminasyonunun sağlandığı gösterilmiştir. Güncel olarak kullanılan insekt kovucuları N-dietthyl-3-methylbenzamide (DEET), citronella, picaridin içermektedirler. Uzun etkili DEET'ler kene, sivrisinek, kum sinekleri ve diğer eklem bacaklılara karşı mükemmel koruma sağlayan en etkili kovucular olarak kabul edilmektedir. (142-144).

### **2.16.2.Aşı Uygulamaları**

Leishmaniasis insanlık için önemli bir hastalık olmasına, immunolojisi hakkında yeterli bilgiye sahip olunmasına ve yapılan klinik ve deneysel çalışmalar ile hastalığın aşılama ile önlenebileceği gösterilmesine rağmen leishmaniasise karşı herhangi bir aşı mevcut değildir. Tüm leishmania türleri büyük sayılarda antijen paylaşmaktadırlar. Eğer leishmaniasis etkenlerinin yaygın olan türlerine karşı universal bir aşı geliştirilmiş olsaydı tüm epidemiyolojik durumlarda kullanmak oldukça masraflı olurdu. Örnek olarak, Hindistan'ta visseral leishmaniasis insidansı yaklaşık olarak %0.1-0.2 dir. O zaman bin kişiyi korumak için bir milyon kişinin aşılması gerekir. Gelişmiş ülkelerde olgu sayılarının az olması nedeniyle

buralardaki tedavi masrafları daha ekonomik olmaktadır. Ancak yine de hastalıktan korunmanın en ideal yolu aşı uygulamalarıdır. İnsanlarda kanıtlanmış tek aşı canlı *L. major* (leishmanizasyon) ile aşılama bazı hastalarda kabul edilemez lezyonlara neden olmasından dolayı devam etmemektedir. Brezilyada 1970lerde öldürülmüş parazitten yapılan aşılar cesaret verici sonuçlar ortaya koymuştur ancak leishmania promastigotlarının otoklavlanması ile elde edilen aşılarda uygulandığı çeşitli çalışmalarda KL'e karşı korunma %0-76 arasında tespit edilirken VL'e karşı elde edilen korunma %6'nın altında kalmıştır. Bilim adamlarının laboratuvarlarda keşfettiği "umut vaat eden" pek çok spesifik moleküle rağmen leishmaniasis aşısının piyasaya çıkabilmesi için daha uzun yıllar gerektiği anlaşılmaktadır. Son yıllarda yeni antijen ve adjuvantların birbiri ardına keşfedilmesine rağmen, bilim dünyası için endemik bir bölgeye ziyarete giderken sağlıklı bir kişinin leishmaniasisten korunmasında kullanılacak aşıya ulaşabilmesi için daha çok yol gidilmesi gerektiği anlaşılmaktadır (7, 145, 146).

### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1.Gereç

##### 3.1.1.Çalışma Alanı

Diyarbakır'da özellikle Dicle ve Hani ilçelerinde insanlarda Leishmaniasis olgularının bildirilmesine rağmen hastalığın olası rezervuarlarından olan köpekler üzerinde çalışma yapılmamış olması nedeniyle çalışma sahası olarak söz konusu ilçeler seçildi.

##### **Diyarbakır**

Güney Doğu Anadolu Bölgesinde yer alan Diyarbakır coğrafi yapı bakımından çevresi dağlık, tepelik, ortası çukur tekne özelliği almış bir platodur. Diyarbakır havzasının iklimi karasal özelliğinin biraz yumuşamasıyla Akdeniz iklimi özelliğine dönüşmüştür. Son yıllarda yapılan barajların ve DSİ'nin gerçekleştirdiği yapay göller ile çok geniş buharlaşma yüzeyleri oluşmuş ve bu nedenle de relatif nem oranında çok belirgin bir yükselme meydana gelmiştir. Böylece zaman içinde uzun yıllar sürecinde ekolojik yaşam dengesini genellikle mikro ve makro organizmalar için daha elverişli kılan bir biyoklimatik, bioekolojik ve mikrobiyolojik çevre oluşmuştur. Yaz ve sonbaharın yağışsız geçmesi bölgenin tropikal-karasal kütlelerin etki alanına girmesindedir (147).

##### **Dicle**

Diyarbakır'a uzaklığı 92 km olan Dicle, deniz seviyesinden 954 metre yüksektedir. İlçede yağışlar özellikle Ocak-Nisan aylarında artış göstermekte, Temmuz ve Ağustos'da yok denecek kadar azalmaktadır. Relatif nem yılın en az 10 ayında %65-70 oranında seyretmekte ancak Temmuz ve Ağustos aylarında %35 oranında olmaktadır (148,149).

##### **Hani**

Hani ilçesi, Diyarbakır'a 97 km uzaklıktadır. Denizden 1200 m yüksekte dağlık bir bölgede kurulmuş olan ilçede yağışlar özellikle Ocak-Nisan aylarında artış göstermekte, bu yağışlarda Güney Doğu Toroslar'ın etkisi hissedilmektedir. Temmuz

ve Ağustos'da yağışlar yok denecek kadar azalmaktadır. Relatif nem yılın en az 10 ayında %65-70 oranında seyretmekte ancak Temmuz ve Ağustos aylarında %35 oranında olmaktadır (148,149).

### **3.1.2.Hayvan Materyali**

Çalışma 10.05.2013-20.06.2013 tarihleri arasında farklı ırk ve yaşlarda olmak üzere Dicle ilçesinin Dede ve Durabeyli köylerinden 71, Hani ilçesinin Sergen ve Çardaklı köylerinden 49 olmak üzere toplam 120 köpek üzerinde gerçekleştirildi.

### **3.1.3.Kullanılan Aletler**

Kan Sayım Cihazı	:	( Hemavet CDC <sup>®</sup> - Mascot)
Auto Analyzer	:	(Airone 200 <sup>®</sup> - Crony)
Santrifüj	:	(NF 800R <sup>®</sup> - Nüve)
Otomatik Pipetler	:	(Ecomex)
Soğutucu	:	(Indesit)
Rapid Test	:	Biopronix Leishmania IC
Fluoresan mikroskopu	:	Olympus CH-40

### **3.1.4.Kullanılan Kimyasal Maddeler**

AST kiti	:	80125 (Biolabo)
ALT kiti	:	80127 (Biolabo)
ALP kiti	:	92214 (Biolabo)
BUN kiti	:	92132 (Biolabo)
Total protein kiti	:	800016 (Biolabo)
Kreatinin kiti	:	80107 (Biolabo)

### **3.1.5.Kullanılan Diğer Malzemeler**

Hematoloji Tüpü (K<sub>3</sub>EDTA-3ml)

Serum Tüpü (Jelli, 8 ml)

Serum Saklama Tüpü (Eppendorf, 2 ml)

## **3.2.Yöntem**

### **3.2.1. Klinik Muayene**

Kan alma işlemi öncesi hayvanların klinik muayeneleri yapılarak araştırmacılar tarafından (14,17,30) hastalıkla ilgili bildirilen semptomlar (Deri Lezyonları, Oküler lezyonlar, Topallık) kaydedildi.

### **3.2.2.Kan Örneklerinin Alınması**

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.

### **3.2.3.Kan Analizleri**

Hematoloji tüplerine alınan kan örnekleri Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı laboratuvarında kan sayım cihazı (Hemavet) ile tam kan analizleri yapıldı. Biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri oda ısısında bekletilip pıhtılaştıktan sonra 3000 devirde 10 dakika santrifüje edilip serumları ependorf tüplerine alındı ve analizler yapılmaya kadar (-20) °C de saklandı. Biyokimya analizleri Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan otoanalizör (Airone 200 Auto Analyzer) ile yapılarak AST, ALT, ALP, BUN, Total Protein ve Kreatinin konsantrasyonları ölçüldü.

### **3.2.4.Testler**

Çalışmada Leishmania varlığını tespit etmek için saha koşullarında hızlı tanı test kiti 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 kullanıldı.

**Biopronix Leishmania IC Test:** Leishmania IC testi indirek immunokromatografik bir testtir. Testte 2.pencere seviyesinde nitroselüloz membran üzerinde leishmania infantum antijenleri fiske edilmiştir. Testin doğru çalıştığını belirleyebilmek için 3.pencere seviyesinde spesifik bir protein yer almaktadır. 3 nolu pencereye serum örneği eklendiğinde leishmania spesifik immunglobulinler nitroselüloz membrana doğru hareket ederek fiske edilmiş antijenlere bağlanırlar. 1.pencereye dilüentin eklenmesiye monoclonal antikorlar koloidal gold ile sulandırılmış olur ve antijen-antikor kompleksini bağlayarak pozitif anlamına gelen kırmızı çizginin oluşmasını sağlar. Test 15 dakika içerisinde okunmalıdır aksi taktirde 15 dakikadan sonra yanlış pozitif sonuç verebilir.

**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). Lamelle kapatılan preparatlar fluoresan mikroskopunda (Olympus CH-40) 40X objektifle değerlendirilmeye alınmıştır. 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 işlemi; Kinetoplast DNA (kDNA)' yı çoğaltmak için K13A-K13B Primerleri kullanıldı (150).

K13A F-5' GTG GGG GAG GGG CGT TCT-3'  
K13B R-5' ATT TTA CAC CAA CCC CCA GTT-3'

Tablo 8.PCR Karışımı

PCR Karışımı	
ddH <sub>2</sub> O	4,6
Buffer	1
MgCl <sub>2</sub>	0,6
Dntp	0,8
Fw	0,2
Rw	0,2
Tag Polimeraz	0,1
DNA	2,5
<b>Toplam</b>	<b>10µl</b>

Tablo 9.PCR Koşulları

PCR Koşulları		
Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü
94	5'	1
94	45"	40
58	45"	
72	45"	
72	7'	1

Jel görüntüleri %2'lik agaroz jelde incelendi. PCR yöntemi Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim dalında yapıldı.

### **3.2.6. İstatistiksel Analizler**

İstatistiksel analizler için SPSS V.16 (Statistical Package for the Social Sciences) programından yararlanıldı. Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanıldı (151).

Araştırmamız için Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığının 14.02.2012 tarih, B.30.2.DİC.0.A8.00.00/20 sayılı yazısıyla, Etik Kurul onayı gerekmediği kararı verilmiştir.



## 4.BULGULAR

Farklı ırk ve yaşlardaki köpekler üzerinde yaptığımız çalışmada leishmaniasis semptomlarına benzer klinik bulgular gösteren köpekler (Tablo-10) kaydedildi. Alınan örneklerin hematolojik (Tablo-11) ve biyokimyasal (Tablo-12) analizleri yapıldı. Serolojik tanı için saha koşullarında immunokromatografik test kiti, laboratuvar koşullarında IFAT yöntemi ve moleküler tanı için PCR test yöntemi kullanıldı.

### 4.1. Klinik Bulgular

Klinik muayene sonucu 2, 6, 13, 28, 42, 44, 49, 50, 62, 70, 71, 73, 87, 92, 101, 105, 109, 120 sıra numaralı 18 (% 15) köpekte deri lezyonları, 10, 13, 30, 43, 120 numaralı 5 (% 4) köpekte topallık ve 10, 59, 62, 63 numaralı 4 (% 3) köpekte oküler lezyonlar saptanırken hastalığın diğer semptomları olan kilo kaybı, lokal veya genel lenfadenopati, epistaksis, anemi ve diyare gibi semptomları saptanmadı.

Tablo 10. Çalışma grubu köpeklerde klinik bulgular

Sıra No	Deri Lezyonları	Topallık	Oküler Lezyon
2	+	-	-
6	+	-	-
<b>10</b>	-	+	+
<b>13</b>	+	+	-
28	+	-	-
30	-	+	-
42	+	-	-
43	-	+	-
44	+	-	-
49	+	-	-
50	+	-	-
59	-	-	+
<b>62</b>	+	-	+
63	-	-	+
70	+	-	-
71	+	-	-
73	+	-	-
87	+	-	-
92	+	-	-
101	+	-	-
105	+	-	-
109	+	-	-
<b>120</b>	+	+	-

## 4.2. Hematolojik Bulgular

Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı laboratuvarında yapılan kan analizlerini içeren hemogram sonuçları tablo-11'de gösterilmiştir.

Tablo 11. Çalışma ve kontrol grubu köpeklerdeki hematolojik bulgular

	Hasta/ Kontrol	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart Sapma	P
WBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	Hasta	6,50	16,0	12,36	2,34	0,230
	Kontrol	6,0	16,0	11,06	3,67	
Lenfosit (%)	Hasta	13,0	29,50	23,45	5,08	0,226
	Kontrol	12,0	29,0	21,87	5,87	
Monosit (%)	Hasta	3,0	9,50	6,45	1,62	0,093
	Kontrol	3,0	9,0	5,80	2,08	
Granülosit (%)	Hasta	52,50	80,50	67,82	8,50	0,213
	Kontrol	55,0	77,0	66,64	9,18	
RBC ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	Hasta	5,0	8,0	6,55	0,70	0,112
	Kontrol	6,0	8,0	6,82	0,68	
Htc (%)	Hasta	36,50	54,50	43,36	5,26	0,547
	Kontrol	37,0	55,0	44,08	5,94	
Hb (g/dl)	Hasta	11,50	18,0	13,73	1,49	0,181
	Kontrol	12,0	18,0	14,42	1,98	

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.

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında total lökosit, % lenfosit, % monosit ve % granülositteki artış ile RBC, % Htc ve Hb'deki azalma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı ( $P>0.05$ ).

### 4.3. Biyokimyasal Bulgular

Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları ABD laboratuvarında yapılan biyokimya analizleri tablo-12’de gösterilmiştir.

Tablo 12. Çalışma ve kontrol grubu köpeklerin serum biyokimyasal bulguları

	Hasta/ Kontrol	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart Sapma	P
AST (IU/L)	Hasta	12,0	18,0	14,19	0,91	0,103
	Kontrol	12,0	15,0	13,80	0,91	
ALT (IU/L)	Hasta	10,0	57,0	32,33	10,18	0,821
	Kontrol	16,50	50,0	32,18	10,51	
ALP (IU/L)	Hasta	19,0	80,0	46,57	15,09	0,582
	Kontrol	21,0	67,0	44,96	14,82	
BUN (mg/dL)	Hasta	8,50	26,0	17,92	4,53	0,689
	Kontrol	11,0	25,0	17,52	4,58	
TOTAL PROTEİN (g/dL)	Hasta	5,40	7,50	6,30	0,51	0,063
	Kontrol	5,40	7,0	6,08	0,52	
KREATİN (mg/dL)	Hasta	0,40	1,80	1,14	0,49	0,671
	Kontrol	0,40	1,80	1,12	0,49	

Alınan 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 AST, ALT, ALP, BUN, Total Protein ve Kreatindeki artış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı. ( $P>0.05$ ).

### 4.4. Test Sonuçları

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 ilçelerinden aldığımız 120 örneğin tümü leishmaniasis yönünden negatif bulunmuştur.

## 5.TARTIŞMA

Ülkemizin de içinde bulunduğu Akdeniz havzası başta olmak üzere Antartika dışında neredeyse tüm dünyada görülen leishmaniasis, WHO tarafından bildirilen altı önemli hastalıktan biridir (8, 16, 42). Leishmaniasisin çeşitli formları olmakla birlikte ülkemizde visseral leishmaniasis, kutanöz leishmaniasis ve canin leishmaniasis görülmektedir (20). İnsanlar, kemirgenler, kurt, çakal, tilki ve kedilerin tesadüfen konakçı olmalarının yanında en önemli rezervuarın evcil köpekler olduğu bildirilmektedir (73,74). Enfeksiyon bulaştıktan sonra hastalığın asemptomatik, oligosemptomatik ve semptomatik gibi farklı formları gelişebilmektedir (4,47). Enfekte köpeklerin yaklaşık yarısında klinik bulguların bulunmadığı asemptomatik olan köpeklerin en az semptomatik köpekler kadar enfektif oldukları bildirilmektedir (53). 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 (38, 46, 91, 92).

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 (17).

Araştırmacılar (14, 17, 18, 30, 45, 55) leishmaniasisli köpeklerin, deri lezyonları, kilo kaybı, lenfadenopati, oküler lezyonlar, epistaksis, topallık, anemi, renal yetmezlik, diyare, tırnak uzaması ve lenfadenopati gibi klinik semptomlardan bir veya daha fazlasını gösterebilmesinin yanında bu köpeklerin asemptomatik olabileceğini de bildirmektedirler.

Töz ve arkadaşlarının (55) Kuşadasında yaptıkları bir çalışmada visseral leishmaniasis semptomlarından kilo kaybının (%50), kutanöz leishmaniasis semptomlarından ise deri lezyonlarının (%38) en çok görüldüğü bildirilirken en az görülen semptomun epistaksis (% 11.9) olduğu bildirilmiştir. Köpeklerin % 30.9'unda ise hiçbir klinik semptoma rastlanmadığı bildirilmektedir. Ege bölgesinde yapılan bir araştırmada (45) deri lezyonları (% 56), keratokonjunktivitis (% 8) bildirilirken köpeklerin % 2'sinde herhangi bir klinik bulguya rastlanmadığı

bildirilmektedir. Edirne merkez kedi, köpek barınağında yapılan bir çalışmada (57) ise köpeklerde deri lezyonları (%11) görülmüş, diğer bulguların hiçbirine rastlanılmamıştır.

Araştırmamızda tespit ettiğimiz deri lezyonları (%15), topallık (%4) ve oküler lezyonlar (%3), araştırmacıların (14, 17, 18, 30, 45, 55) 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 (8, 45). 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 (46, 47, 48). 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 (18).

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 (8, 118-120).

Balcıoğlu ve arkadaşlarının (18) 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 (45) serumların IFAT ile incelenmesi sonucu köpeklerin % 9'unun *L. infantum* ile enfekte olduğu saptanmıştır. Aydenizöz ve arkadaşlarının (52) Kırıkkale'de IFAT yöntemi

kullanarak yaptıkları çalışmada % 2 seropozitiflik saptanmıştır. Tamer ve arkadaşlarının (53) 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 (54). Kuşadası’nda IFAT testi kullanarak yapılan bir başka çalışmada (55) köpeklerin %16.60 seropozitif olduğu bildirilmiştir. Özbel ve arkadaşlarının (152) Manisa’da yaptıkları bir araştırmada köpeklerin %4.9’unun seropozitif olduğu saptanmıştır. Töz ve arkadaşlarının (153) 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 (56) 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 (57) toplam 37 köpekten kan alınmış ve köpek serumlarının hiçbirinde IgG antikor varlığına rastlanılmamıştır. İstanbul’un farklı yörelerindeki sokak köpeklerinde visseral 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 (58). Çanakkale yapılan bir çalışmada (59) 27 köpekten kan örnekleri alınarak IFAT yöntemiyle incelenmiş ve hiçbir köpekte seropozitiflik tespit edilmediği bildirilmiştir. Erzurum köpek barınağında yapılan bir çalışmada (60) 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 (56-60) 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 (99). PCR’ın, semptomatik veya parazitolojik olarak doğrulanmış olgularda %89–100 duyarlılık gösterdiği bildirilmektedir (112, 154). 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 (39, 99, 112, 154).

Brezilya'da PCR yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada (98) en az bir klinik belirti gösteren köpeklerin %97.7'si seropozitif olduğu bildirilmiştir. Çin'in farklı bölgelerinde PCR yöntemi kullanılarak yapılan çalışmalarda (155) 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 (156). İspanya'da PCR kullanılarak yapılan bir araştırmada (94) kemik iliğinden alınan örneklerden %17'sinin, konjunktival örneklerde %32'sinin, deri örneklerinde ise %51'inin pozitif olduğu bildirilmektedir. İsviçre'de PCR yöntemiyle yapılan araştırmada (157) köpeklerin %75'inin pozitif olduğu bildirilmiştir. İça ve ark. (12) 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. (12) bulgularıyla paralellik göstermektedir.

Brezilya'da immunokromatografik test kullanılarak yapılan bir çalışmada (158) testin %61-75 spesifik, %72-77 duyarlı olduğu bildirilmiştir. Karabük'te yapılan bir çalışmada (159) köpeklerin % 8'inin seropozitif olduğu bildirilmiştir. Brezilya'da yapılan diğer bir çalışmada (160) testin %83 duyarlı, %100 spesifik olduğu bildirilmiştir. Çin'de yapılan bir araştırmada (156) rK39 yöntemi %9,43 duyarlı bulunmuştur. Sudan'da (161) rK39 ve DAT testlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada rK39 (%93) testi, DAT (%80) testine göre daha duyarlı bulunduğu bildirilmiştir. Özensoy ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada (20) köpeklerin % 3.6'sının seropozitif bulunduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada; Leishmania varlığını tespit etmek için saha koşullarında hızlı tanı testi olarak kullandığımız immunokromatografik hızlı tanı testi ile tüm köpekler seronegatif saptanmıştır.

Araştırmacıların (54, 162-165) 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. Lökosit seviyesinin ise normal, artmış veya azalmış olabileceği bildirilmektedir (4, 14). Retikulo endotelial sistemdeki hiperaktiviteye ve hemoglobin sentezindeki bozulmaya bağlı olarak leishmaniasisli köpeklerin %80'inde aneminin tespit edildiği bildirilmektedir (54).

Çalışmamızda da araştırmacıların (54, 162-165) çalışmalarına benzer olarak RBC, Htc ve Hb seviyelerinde bir düşüş görülmüş ancak istatistiksel açıdan önemsiz ( $P>0.05$ ) bulunmuştur. Bu değerlerin düşük çıkması her hangi 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 araştırmacıların (162-165) yapmış oldukları analizlerde serum örneklerinden AST, ALT, ALP değerlerinde istatistiksel açıdan anlamsız artma, total protein ve kreatin değerlerinde ise anlamlı bir artma bildirilirken diğer bir çalışmada (54) ALT ve kreatin değerlerinin normal sınırlarda olduğu bildirilmektedir. Araştırmacılara göre (14, 163) Karaciğer enzim seviyeleri canin leishmaniasis olgularında düşük veya yüksek çıkabilmektedir. Bunun sonucu olarak karaciğer enzim testlerinin canin leishmaniasis tanısında faydalı olamayacağı bildirilmektedir.

Çalışmamızda araştırmacıların (162-165) bulgularına benzer olarak kontrol grubuna kıyasla AST, ALT, ALP, BUN, Total protein ve kreatin düzeylerinde bir artma görülmüş ancak istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır. 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.

## 6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Ülkemizde başta Ege ve Akdeniz bölgeleri olmak üzere Şanlıurfa, Osmaniye, Adana, Hatay, Diyarbakır, Kahramanmaraş ve Mersin illerinde endemik olarak görülen leishmaniasis dünya üzerinde neredeyse bütün kıtalarda görülmektedir. Hastalığın endemik olarak görüldüğü yerlerde sağaltımın yapılmamasına bağlı olarak insanlarda ve hayvanlarda ölümcül olabilen sağlık problemleri meydana getiren leishmaniasisin en önemli rezervuarı durumunda olan özellikle başıboş köpeklerin kontrol altına alınması ve çevreye zarar vermeyecek şekilde vektör mücadelesinin yapılması gerekmektedir.

Leishmania varlığını saptamak 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 ilçelerinden aldığımız örneklerin tümü leishmaniasis yönünden negatif bulunmuştur.

Sonuç olarak; hem hastalığın tanısını koymada hem de doğru sağaltım seçeneklerinin belirlenmesinde söz konusu ilçelerdeki sahipsiz ve yakalanamayan başıboş köpekler ile çevre köylerdeki köpekler üzerinde de benzer çalışmalar yapılarak çalışma alanının genişletilmesinin leishmaniasis hakkında daha kapsamlı bilgi vereceği düşüncesindeyiz.

## KAYNAKLAR

1. Roberts MTM. Current understandings on the immunology of leishmaniasis and recent developments in prevention and treatment. *British Medical Bulletin*; 75 and 76: 115–130, 2006.
2. Hommel M. Visceral leishmaniasis: biology of the parasite. *J Infect*; 39:101–11, 1999.
3. Capelli G. Asymptomatic and Symptomatic Dogs in Endemic areas, their role in the Epidemiology of Canine Leishmaniosis. The 2nd Canine Vector-Borne Disease (CVBD) Symposium. Mazara del Vallo, Sicily, Italy. 58-63, 2007.
4. Baneth G, Koutinas AF, Solano-Gallego L, Bourdeau P, Ferrer L. Canine leishmaniosis—new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends Parasitol.* 24:324–330, 2008.
5. Quinnell RJ, Courtenay O, Garcez L, Dye C. The epidemiology of canine leishmaniasis: transmission rates estimated from a cohort study in Amazonian Brazil. *Parasitology* 115: 143–156, 1997.
6. Reithinger R, Dujardin JC, Louzir H, Pirmez C, Alexander B, Brooker S. Cutaneous leishmaniasis. *Lancet Infect Dis.*; 7: 581–96, 2007.
7. Murray HW, Berman JD, Davies CR, Saravia NG. Advances in leishmaniasis. *Lancet*; 366: 1561–77, 2005.
8. www.who.int [Erişim 14.12.2012].
9. WHO Technical Report Series 949. Control Of The Leishmaniases. Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases, Geneva, 22–26 March 2010.
10. Banuls AL, Hide M, Prugnolle F. Leishmania and the Leishmaniases: A Parasite Genetic Update and Advances in Taxonomy, Epidemiology and Pathogenicity in Humans. *Advances In Parasitology.* Vol 64, 2007.
11. Özbek Y, Töz SÖ, Uzun S, Balcıoğlu C, Gürel MS, Özkan AT, Uzun R, Uğurlu M. Şark Çıbanı. Ed. Uzun R, Buzgan T. Onur matbaacılık ltd.Şti. Ankara, 2005.
12. İça A, İnci A, Yıldırım A, Atalay Ö, Düzlü Ö. Kayseri ve Civarında Köpeklerde Leishmaniosisin Nested-PCR ile Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 32 (3): 187 - 191, 2008.
13. Joao A, Pereira MA, Cortes S, Santos-Gomes GM. Canine Leishmaniasis Chemotherapy: Dog's Clinical Condition and Risk of Leishmania Transmission. *J. Vet. Med.*; A 53:540–545, 2006.
14. Strauss-Ayali D, Baneth G. Canine Visceral Leishmaniasis. *International Veterinary Information Service (www.ivis.org)*, Ithaca, New York, USA, 2000. Document No. A0107.0300.
15. Otranto D, Paradies P, Lia P, Latrofa MS, Testini G, Cantacessi C, Mencke N, Galli G, Capelli G, Stanneck D. 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, 2007.
16. Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*; 27:305–318, 2004.

17. Ferrer LM. Clinical aspects of canine Leishmaniasis. Canine Leishmaniasis: an update. Ed. Killick-kendrick R. Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum. Barcelona, Spain, 1999.
18. Balcioğlu İC, Ertabaklar H, Paşa S, Özbel Y, Özensoy Toz S. Antalya İli ve İlçelerindeki Dört Köpek Barınağında Leishmaniasis Seroprevalansının Araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi; 33 (1): 4 - 7, 2009.
19. Gradoni L. Canine reservoir of zoonotic visceral leishmaniasis in the Mediterranean area: Epidemiology and control. *Inf Circ-WHO Mediterr Zoon Cont Cent*, 37: 12-13, 1995.
20. Özensoy S, Özbel Y, Turgay N et al. Serodiagnosis and epidemiology of visceral leishmaniasis in Turkey. *Am J Trop Med Hyg.*, 59(3); 363-369, 1998.
21. Cox FEG. History of human parasitology. *Clinical Microbiology Reviews*; 15(4):595–612, 2002.
22. Manson-Bahr PEC. Old World leishmaniasis. In FEG. Cox (ed.), *The Wellcome Trust illustrated history of tropical diseases* p. 206–217, 1996.
23. Bari A. Chronology of cutaneous leishmaniasis: An overview of the history of the disease. *Journal of Pakistan Association of Dermatologists*.16: 24-27, 2006.
24. Bray RS. Note on the history of cutaneous leishmaniasis in the Mediterranean and Middle East area. *Parasitologia*; 29: 175-9, 1987.
25. Hoare CA. Early discoveries regarding parasite of oriental sore. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*; 32: 67-92, 1938.
26. Unat EK. Leyişmanyazların tarihçesi. *Leishmaniasis (Kala-Azar ve Şark çıbanı)*, Ed.Yaşarol Ş. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:2; 1-10. 1981.
27. Altıntaş N. Leishmaniosis. Ed. Özcel MA. *Gap (Güneydoğu Anadolu Projesi) ve Parazit Hastalıkları*. Ege Üniversitesi Basımevi, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:11, 89-120, 1993.
28. Ok ÜZ, Balcioğlu İC, Özkan AT, Özensoy S, Özbel Y. Leishmaniasis in Turkey. *Acta Tropica*, 84, 43-48, 2002.
29. Krotoski MJ. *Medical Parasitology*.8th .Ed.,W.B.Saunders company-London. 147-154, 1999.
30. İça A. Köpeklerde Leishmaniosis. *Erciyes Üniv.Vet. Fak. Derg.*; 1(2):119-124,2004.
31. Bray RS. *Leishmania*. *Annual Review of Microbiology* 28, 189–217, 1974.
32. Lainson R, Shaw JJ. Evolution, classification and geographical distribution. In: *The Leishmaniases in Biology and Medicine*, Vol. 1 (W. Peters and R. Killick-Kendrick) London: Academic Press: 1–120, 1987.
33. Handman E, Curtis JM. *Leishmania tropica*: surface antigens of intracellular and flagellate forms. *Experimental Parasitology* 54,243–249, 1982.
34. Anthony RL, Williams KM, Sacci JB, Rubin DC. Subcellular and taxonomic specificity of monoclonal antibodies to New World *Leishmania*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 34, 1085–1094, 1985.
35. Wheeler RJ, Gluenz E, Gull K. The cell cycle of *Leishmania*: morphogenetic events and their implications for parasite biology. *Molecular Microbiology*: 79(3), 647–662, 2011.
36. Saygı G. *Paraziter Hastalıklar ve Parazitler*. Es Form Ofset Ltd.Şti. 88-105,2009

37. Orhan V, Yaşarol Ş. Leishmania'ların Morfolojisi, Fizyolojisi ve Evrimi. Leishmaniasis (Kala-Azar ve Şark çıbanı), Ed.Yaşarol Ş. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:2; 11-24. 1981.
38. Noli C. Canine leishmaniasis. *Waltam Focus*, 9(2); 16-24, 1999.
39. Piscopo TV, Mallia AC. Leishmaniasis. *Postgrad Med J*,82:649–657,2006.
40. Herwaldt BL. Leishmaniasis. *Lancet*; 354: 1191–99, 1999.
41. Desjeux P. Leishmaniasis. *Nat Rev Microbiol*; 2: 692, 2004.
42. Davies CR, Reithinger R, Campbell-Lendrum D, Feliciangeli D, Borges R, Rodriguez N. The epidemiology and control of leishmaniasis in Andean countries. *Cad Saúde Publica*; 16: 925–50,2000.
43. <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Leishmaniasis.htm> [Erişim 05.01.2013]
44. Banuls AL, Hide M, Prugnolle F. Leishmania and the Leishmaniasis: A Parasite Genetic Update and Advances in Taxonomy, Epidemiology and Pathogenicity in Humans. *Advances In Parasitology Vol 64*, 2007.
45. Atasoy A. Ege Bölgesinde Köpeklerde Visseral Leishmaniasis'in Seroprevalansı. Yüksek lisans tezi. T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Dalı. Aydın - 2005.
46. Moreno J, Alvar J. Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. *Trends in Parasitology Vol.18 No.9 September 2002*.
47. Sideris V, Papadopoulou G, Dotsika E, Karagouni E. Asymptomatic canine leishmaniasis in Greater Athens area, Greece. *European Journal of Epidemiology 15*: 271-276, 1999.
48. Torres FD, Brito MEF, Filho SPB. Seroepidemiological survey on canine leishmaniasis among dogs from an urban area of Brazil. *Veterinary Parasitology 140*,54–60, 2006.
49. Özbel Y, Töz ÖS, Leishmaniosis, Özcel MA. *Tıbbi Parazit Hastalıkları 1. Baskı*, İzmir: Mete Basım Matbaacılık Hizmetleri: 198-230, 2007.
50. Killick-Kendrick R, Killick-Kendrick M. Biology of sand fly vectors of Mediterranean canine leishmaniasis. *Canine Leishmaniasis: an update. Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum. Barcelona, Spain, 1999*.
51. Özbel Y, Turgay N, Özensoy S, Özbilgin A, Alkan MZ, Özcel MA, Jaffe CL, Schnur L, Oskam L, Abranches P. Epidemiology, diagnosis and control of leishmaniosis in the Mediterranean region. *Ann Trop Med Parasitol.*, 89, 1,89-93, 1995.
52. Aydenizöz M, Yağcı BB, Özkan AT, Duru SY, Gazyağcı AY. Kırıkkale'deki Köpeklerde Mikrokültür Yöntemi ve IFAT ile Visseral Leishmaniosis Prevalansının Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 34 (1): 1 5,2010.
53. Tamer GS, Polat E, Töz S, Altaş K. Kocaeli Sokak Köpeklerinde Visseral Leishmaniasis Seroprevalansı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 32 (3): 183 -186, 2008.
54. Gönül R, Arun SS, Dodurka T, Handemir E. Bir Köpekte *Leishmania infantum* Olgusu. *Turk J Vet Anim Sci*; 26:689-694,2002.
55. Töz SÖ., Özbel Y., Ertabaklar H. Comparisons of Clinical Findings and Serological Data in the Diagnosis of Canine Leishmaniosis. *Turk J Vet Anim Sci 29*:269-273,2005.
56. İçen H, Babür C, Bademkiran S, Çelebi B, Şimsek A, Özyurtlu N, Özkan AT. Diyarbakır Bölgesindeki Sahipsiz Köpeklerde Toxoplasmosis, Leishmaniasis ve Listeriozisin Seroprevalansı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*; 34 (1): 6 10, 2010.

57. Düzbeyaz A. Edirne Merkez İlçesi Kedi Ve Köpek Evindeki Köpeklerde Leishmaniasis Seroprevalansı. Yüksek Lisans Tezi. T.C.Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı . EDİRNE – 2006.
58. Handemir E, Öncel T, Kamburgil K. İstanbul Sokak Köpeklerinde Visseral Leishmaniasis Seroprevalansı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 28 (3): 123-125 2004.
59. Tok H, Sevil N, Töz S, Ertabaklar H, Balcıoğlu İC, Demir S, Özbel Y, Coskun M. Çanakkale İli Ayvacık Bölgesinde Zoonotik Visseral Leishmaniasisin Serolojik ve Entomolojik Olarak Araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 33 (2): 109 - 113, 2009.
60. Aktaş MS, Özkanlar YE, Özkan TA, Babür C, Balkaya İ. Erzurum İli Barınak Köpeklerinde Listeriosis ve Leishmaniasisin Seroprevalansının Araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 34 (2): 76 -80, 2010.
61. Kamhawi S. Phlebotomine sand flies and Leishmania parasites: friends or foes?. Trends in Parasitology Vol.22 No.9,2006.
62. Munstermann LE. Phlebotomine Sand Flies, the Psychodidae. Biology of disease vectors, ed. by William C. Marquard CW et al. Elsevier Academic Press . 141-151. 2005.
63. Doğan F. Leishmania Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi, Leishmaniaların Rezervuar ve Vektörleri. Leishmaniasis (Kala-Azar ve Şark çıbanı), Ed.Yaşarol Ş. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:2; 25-50. 1981.
64. Lewis DJ. A taxonomic review of the genus Phlebotomus (Diptera: Psychodidae). Bull. Brit. Mus. Nat. Hist. 45(2): 121– 209, 1982.
65. Fausto AM, Feliciangeli MD, Maroli M, Mazzini M. Ootaxonomic investigation of five Lutzomyia species (Diptera, Psychodidae) from Venezuela. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 96:197–204. 2001.
66. Aransay AM, Scoulica E, Tselentis Y, Ready PD. Phylogenetic relationships of phlebotomine sandflies inferred from small subunit nuclear ribosomal DNA, Insect Molec. Biol., 9 (2): 157-168. 2000.
67. Daldal N, Özbel, Y. Phlebotomus spp. Vektörlükleri ve kontrolü, Parazitoloji'de Arthropod hastalıkları ve vektörler. Türkiye Parazitoloji Derg. Yay. No: 13. 49-109. 1997.
68. Alten B, Çağlar SS. Vektör Ekolojisi Ve Mücadelesi. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü. 189-225,1998- ANKARA
69. Killick-Kendrick R. The Biology and Control of Phlebotomine Sand Flies. Clinics in Dermatology;17:279–289, 1999.
70. Değer S, Yaman M. Van Yöresi Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) Türleri. YYÜ Vet Fak Derg, 16 (1):55-59, 2005.
71. Çiçek H, Yaman M, Yağcı Ş, Karaer Z. Afyon yöresi Phlebotomus (Diptera: Psychodidae) türleri. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 52, 49-51, 2005.
72. Unat EK. Tıp Parazitolojisi. Tıp Parazitolojisi. 5th ed. İstanbul: Doyuran Matbaası. p. 564–9, 1995.
73. Davidson R. 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, 1999.
74. Bryceson ADM. Leishmaniasis. In: Cook Gordon C (Ed.), Manson's Tropical Diseases. 20th ed. London: WB Saunders Company LTD;; p. 1213–45, 1996.

75. Alvar J, Canavate C, Molina R, Moreno J, Nieto J. Canine Leishmaniasis. *Adv Parasitol*; 57: 1–88, 2004.
76. Mohebalı M, Hajjaran H, Hamzavi Y, Mobedi I, Arshi S, Zarei Z, Khoundi B, Naeini KM, Avizeh R, Fakhari M. Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniasis in the Islamic Republic of Iran. *Vet Parasitol.*, 129 (3-4); 243-251, 2005.
77. Gavvani ASM, Mohite H, Edrissian GH, Mohebalı M, Davies CR. Domestic dog ownership in Iran is a risk factor for human infection with *Leishmania infantum*. *Am J Trop Med Hyg.*, 67(5); 511-515, 2002.
78. Oliva G, Scalone A, Foglia Manzillo V, et al.: Incidence and time course of *Leishmania infantum* infections examined by parasitological, serologic, and nested-PCR techniques in a cohort of naive dogs exposed to three consecutive transmission seasons. *J Clin Microbiol* 44:1318-1322, 2006.
79. Solak S. *Layşmaniya Enfeksiyonlarının Patogenez ve Patolojisi. Leishmaniasis (Kala-Azar ve Şark çibani)*, Ed.Yaşarol Ş. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:2; 51-57. 1981.
80. Spreng D. Leishmanial polyarthritis in two dogs. *J Small Anim Pract.*, 34:559-563, 1993.
81. Chulay JD. Leishmaniasis. In: Dyson J (Ed), *Hunter's Tropical Medicine*. 7th ed. Pennsylvania: WB Saunders Company; 638–55. 112, 1991.
82. Rodriguez HJ, Mozos E, Mendez A, Perez J, Gomez-Villamandos JC. *Leishmania* infection of canine skin fibroblasts *in vivo*. *Vet Pathol.*, 33:469-473, 1996.
83. Pearson RD, Saosa AD, Jeronimo SM. *Leishmania* species: Visceral (Kala-Azar), Cutaneous and Mucosal Leishmaniasis. G.L. Mandell., J.E. Bennett, R. Dolin (Ed.) *Principles and Practice Of Infectious Diseases* (s. 2831-2841). Philadelphia: Churchill-Livingstone. 2005
84. Desjeux, P. Leishmaniasis. Guerrant, Walker, Weller (Ed.) *Tropical Infectious Diseases Principles, Pathogens and Practice*. Churchill and Livingstone. 884-1722, 2005.
85. Garcia LS. Leishmaniasis. *Diagnostic Medical Parasitology*. Washington DC. ASM Press, 205-234, 2001.
86. Eduardo AFC, Laura R, Mariana AFC, et al. Specific Serodiagnosis of Canine Visceral Leishmaniasis Using *Leishmania* Species Ribosomal Protein Extracts. *Clinical and vaccine immunology*, dec, p. 1774–1780, 2009.
87. Maroli M, Mizzoni V, Siragusa C, et al. Evidence for an impact the incidence of canine leishmaniasis by the mass use of deltamethrin-impregnated dog collars in southern Italy. *Medical and Veterinary Entomology* 15,358-363, 2001.
88. Agut A. Clinical and radiographic study of bone and joint lesions in 26 dogs with leishmaniasis. *Vet. Rec.* 153, 648–652, 2003.
89. Naranjo C. Characterization of lacrimal gland lesions and possible pathogenic mechanisms of keratoconjunctivitis sicca in dogs with leishmaniasis. *Vet. Parasitol.* 133, 37–47, 2005.
90. Ciaramella P. Altered platelet aggregation and coagulation disorders related to clinical findings in 30 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet. J.* 169, 465–467, 2005.
91. Ciaramella P. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet. Rec.* 141, 539–543, 1997.

92. Slappendel RJ, Ferrer L. Leishmaniasis. In *Infectious diseases of the dog and cat*. WB Saunders Co. Philadelphia.769-777, 1990.
93. Ginel PJ, Lucena R, Lopez R, Molleda MJ. Use of allopurinol for maintenance of remission in dogs with leishmaniasis. *Journal of Small Animal Practice*; 39: 271–274, 1998.
94. Solano-Gallego L, Morell P, Arboix M, Alberola J, Ferrer L. 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, 2001.
95. Lachaud L, Chabbert E, Dubessay P, et al. Value of two PCR methods for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis and the detection of asymptomatic carriers. *Parasitology* 125, 197–207, 2002.
96. Maia C, Campino L. Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. *Veterinary Parasitology* 158, 274–287, 2008.
97. Srivastava P, Dayama A, Mehrotra S, Sundar S. Diagnosis of visceral leishmaniasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 105, 1–6, 2011.
98. Quaresma PF, Murta SMF, Ferreira ECF, et al. 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, 2009.
99. Reis A, Martins-Filho O, Teixeira-Carvalho A, et al. Parasite density and impaired biochemical/ hematological status are associated with severe clinical aspects of canine visceral leishmaniasis. *Research in Veterinary Science* 81, 68–75, 2006.
100. Zijlstra EE, An MS, el-Hassan AM, et al. Kala-azar: a comparative study of parasitological methods and the direct agglutination test in diagnosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*;86:505–7, 1992.
101. Rosypal A, Troy G, Duncan R, et al. Utility of diagnostic tests used in diagnosis of infection in dogs experimentally inoculated with a North American isolate of *Leishmania infantum*. *J. Vet. Inter. Med.* 19, 802–809, 2005.
102. Xavier S, Andrade H, Haddad S, et al. Comparison of paraffinembedded skin biopsies from different anatomical regions as sampling methods for detecting *Leishmania* infection in dogs using histological, immunohistochemical and PCR methods. *BMC Vet. Res.* 2, 17, 2006.
103. Muller N, Zimmermann V, Forster U, et al.: PCR-based detection of canine leishmania infections in formalin-fixed and paraffin embedded skin biopsies: elaboration of a protocol for quality assessment of the diagnostic amplification reaction. *Vet Parasitol* 114(3):223-229,2003.
104. Moreira M, Luvizotto M, Garcia J, et al. Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for the diagnosis of leishmaniasis in dogs with different clinical signs. *Vet. Parasitol.* 145, 245–252, 2007.
105. Bourdoiseau G, Marchal T, Magnol J. Immunohistochemical detection of *Leishmania infantum* in formalin-fixed, paraffinembedded sections of canine skin and lymph nodes. *J. Vet. Diagn. Invest.* 9, 439–440, 1997.
106. Baneth G, Aroch I. Canine leishmaniasis a diagnostic and clinical challenge. *Vet. J.* 175, 14–15, 2008.



107. Hofman V, Brousset P, Mougneau E, et al. Immunostaining of visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* using monoclonal antibody (10–11) to the *Leishmania* homologue of receptors for activated C-kinase. *American Journal of Clinical Pathology* 120, 567–574, 2003.
108. Evans, D. Handbook on Isolation Characterization And Cryopreservation of *Leishmania*. World Health Organization, Geneva, Switzerland, p. 45, 1989.
109. Maia C, Ramada J, Cristo'va~o J, Campino L. Diagnosis of canine leishmaniasis: conventional and molecular techniques using different tissues. *Vet. J.*, doi:10.1016/j.tvjl.2007.08.009, 2007.
110. Gradoni L. The diagnosis of canine leishmaniasis. In: *Canine leishmaniasis: moving towards a solution*. Ed. R Killick-Kendrick Intervet International, Boxmeer, NL, 2002.
111. Martin Sanchez J, Lopez-Lopez MC, Acedo-Sanchez C, et al. Diagnosis of infection with *Leishmania infantum* using PCR-ELISA. *Parasitology* 122:607–615, 2001.
112. Mortarino M, Franceschi A, Manciant F, et al. Quantitative PCR in the diagnosis of *Leishmania*. *Parasitologia* 46, 163–167, 2004.
113. Sundar S, Rai M. Laboratory Diagnosis of Visceral Leishmaniasis. *Clinical And Diagnostic Laboratory Immunology*, Sept. p. 951–958, 2002.
114. Cortes S, Rolao N, Ramada J, Campino L. PCR as a rapid and sensitive tool in the diagnosis of human and canine leishmaniasis using *Leishmania donovani* s.l.-specific kinetoplastid primers. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 98(1):12-17, 2004.
115. Liarte DB, Mendonc IL, Luz FCO, et al. QBC for the diagnosis of human and canine American visceral leishmaniasis: preliminary data. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 34, 577–581, 2001.
116. Campino L, Santos-Gomes G, Rica-Capela M, et al. Infectivity of promastigotes and amastigotes of *Leishmania infantum* in a canine model for leishmaniosis. *Vet. Parasitol.* 97, 269–275, 2000.
117. De Colmenares M, Portus M, Riera C, et al. Short report: detection of 72-75-kD and 123-kD fractions of *Leishmania* antigen in urine of patients with visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg*;52:427–8, 1995.
118. Sassi A, Louzir H, Ben Salah A, et al. Leishmanin skin test lymphoproliferative responses and cytokine production after symptomatic or asymptomatic *Leishmania major* infection in Tunisia. *Clin Exp Immunol*;116:127–32, 1999.
119. Gradoni L, Gramiccia M. Leishmaniasis, In *OIE manual of standards for diagnostic tests and vaccine*, 4th ed. Office International des Epizooties, Paris, France, 803-812, 2000.
120. Dye C, Vidor E, Dereure J. Serological diagnosis of leishmaniasis; on detecting infection as well as disease. *Epidemol Infect*, 110: 647-56, 1993.
121. Mancianti F, Meciani N. Specific serodiagnosis of canine leishmaniasis by indirect immunofluorescence, indirect hemagglutination, and counterimmunoelectrophoresis. *Am. J. Vet. Res.*49, 1409–1411, 1988.
122. Chappuis F, Rijal S, Soto A, et al. A meta-analysis of the diagnostic performance of the direct agglutination test and rK39 dipstick for visceral leishmaniasis. *BMJ*;333:723, 2006.

123. Pathak K, Sundar S. Enzyme-linked immunosorbent assay for recombinant K39 antigen in diagnosis and prognosis of Indian visceral leishmaniasis. *Clin Diagn Lab Immunol*;8:1220–4, 2001.
124. Kumar R, Pai K, Pathak K, Sundar S. Enzyme-linked immunosorbent assay for recombinant K39 antigen in diagnosis and prognosis of Indian visceral leishmaniasis. *Clin Diagn Lab Immunol*;8:1220–4, 2001.
125. Riera C, Fisa R, Udina M, et al. Detection of *Leishmania infantum* cryptic infection in asymptomatic blood donors living in an endemic area (Eivissa, Balearic Islands, Spain) by different diagnostic methods. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 98, 102–110, 2004.
126. Talmi-Frank D, Strauss-Ayali D, Jaffe CL, Baneth G. Kinetics and diagnostic and prognostic potential of quantitative Western blot analysis and antigen-specific enzyme-linked immunosorbent assay in experimental canine leishmaniasis. *Clinical and Vaccine Immunology* 13, 271–276, 2006.
127. Ferroglio E, Centaro E, Mignone W, Trisciuglio A. Evaluation of an ELISA rapid device for the serological diagnosis of *Leishmania infantum* infection in dog as compared with immunofluorescence assay and western blot. *Vet. Parasitol.* 144, 162–166, 2007.
128. Karaboz İ, Kayar E, Akar S. Flow Sitometri ve Kullanım Alanları. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR.* 06, 2, 01-18. 2008.
129. Santos-Gomes G, Gomes-Pereira S, Campino L, Araujo MD, Abranches P. Performance of immunoblotting in diagnosis of visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus - *Leishmania* sp. Coinfected patients. *J Clin Microbiol*;38:175–8, 2000.
130. Pinelli E, Killick-Kendrick R, Wagenaar J, et al. Cellular and humoral immune responses in dogs experimentally and naturally infected with *Leishmania infantum*. *Infect. Immun.* 62, 229–235, 1994.
131. Haldar JP, Ghose S, Saha KC, Ghose AS. Cell-mediated immune response in Indian kala-azar and post kala-azar dermal leishmaniasis. *Infect. Immun.* 42:702–707, 1983.
132. Quinnell R, Courtenay O, Davidson S, et al. Detection of *Leishmania infantum* by PCR, serology and cellular immune response in a cohort study of Brazilian dogs. *Parasitology* 122, 53–261, 2001.
133. Alvar J, Molina R, San Andreas M. et al. Canine leishmaniasis: clinical, parasitological and entomological follow-up after chemotherapy. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*; 88: 371–378, 1994.
134. Özcel MA, İnci A, Turgay N, Köroğlu E. Tıbbi ve Veteriner İmmunoparazitoloji, Türkiye Parazitoloji Derneği.: 21: 155-166, 2007.
135. Ready PD. Leishmaniasis emergence in Europe. *Euro Surveill.*15(10), 2010.
136. Delibaş SB, Akısü Ç. Tıbbi Parazitolojide Tedavi. META Basım, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:20, 87-98,2005.
137. Ateş F, Or E, Körpınar MA, Gönül R, Bahçeci T. Leishmaniasisin Tedavisinde Antimon Bileşiklerinin Kullanımı. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22 (1), 53 – 57, 2011.
138. Neouimine NI. Leishmaniasis in the Eastern Mediterranean Region. *East Med Health J*; 2(1): 94–101, 1996.

139. Alexander B, Maroli M. Control of Phlebotominae sand flies. *Med. Vet. Entomol.* 17;1-18, 2003.
140. Warburg A, Faiman R. Research priorities for the control of phlebotomine sand flies. *Journal of Vector Ecology.* Vol. 36, Supplement 1,10-16,2011.
141. Kassem HA, Tewfick MK, El Sawaf BM. Evaluation of avermectins as sandfly control agents. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 95: 405-411, 2001.
142. Faiman R, Cuno R, Warburg A. Control of phlebotomine sand flies with vertical fine-mesh nets. *J.Med. Entomol.* 46: 820-831, 2009.
143. Sirak-Wizeman M, Faiman R, Al-Jawabreh A, Warburg A. Control of phlebotomine sandflies in confined spaces using diffusible repellents and insecticides. *Med. Vet. Entomol.* 22: 405-412, 2008.
144. Katz TM, Miller JH, Hebert AA. Insect repellents: historical perspectives and new developments. *J. Am. Acad. Dermatol.* 58: 865-871, 2008.
145. Modabber F. Leishmaniasis vaccines: past, present and future. *International Journal of Antimicrobial Agents* 36S, S58–S61, 2010.
146. Turgay N. Leishmaniasis Aşı Çalışmalarında Son Gelişmeler: Ne Zaman Aşılabiliriz?. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 29 (4): 232-234, 2005.
147. Aydın A. S., 2000'e Beş Kala Diyarbakır: Dicle Üniversitesi Basımevi; Diyarbakır, 1995, 1-399.)
148. Sarı İ. Şehrimiz Diyarbakır. Diyarbakır Büyükşehir Belediyesi Kültür Yayınları No:2, 65-66,1996.
149. [www.meteoroloji.gov.tr](http://www.meteoroloji.gov.tr)
150. Lachaud L., Marchegui-Hammami S., Chabbert E., Dereure J., Dedet JP., Bastien P. Comparison of six PCR Methods Using Peripheral Blood for Detection of Canine Visceral Leishmaniasis. *J.Clin. Microbiol.*2002.
151. Çelik MY. Nasıl? Biyoistatistik, Bilimsel Araştırma, SPSS. Dicle Üniversitesi, Diyarbakır, 2011.
152. Özbel Y., Oskam L., TÖZ SÖ et al. A survey on canine leishmaniasis in western Turkey by parasite, DNA and antibody detection assays. *Acta Tropica.* 74:1–6, 2000.
153. Töz SÖ, Ertabaklar H, Özbel Y, Balcıoğlu İC, Yıldızlı N, Alkan MZ. Seroprevalence of Canine Visceral Leishmaniasis in Kuşadası, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 29, 23-26, 2005.
154. Töz SÖ., Özbel Y., Atay MG et al. İnsan ve köpeklerden alınan klinik örneklerde Leishmaniasis Tanısı için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) uygulanması. *T.Parazitoloj Dergisi.* 26(3): 239–44, 2002.
155. Shang LM., Peng WP., Jin HT., et al. The prevalence of canine *Leishmania infantum* infection in Sichuan Province, southwestern China detected by real time PCR. *Shang et al. Parasites & Vectors.* 4:173, 2011.
156. Wang JY, Ha Y, Gao CH et al. The prevalence of canine *Leishmania infantum* infection in western China detected by PCR and serological tests. *Wang et al. Parasites & Vectors,* 4:69,2011.
157. Müller N., Zimmermann V., Forster U., et al. 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, 2003.
158. Reithinger R, Quinnell RJ, Alexander B. Et al. Rapid Detection of *Leishmania infantum* Infection in Dogs: Comparative Study Using an Immunochromatographic Dipstick Test, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, and PCR. *Journal Of Clinical Microbiology*, 2352–2356,2002.
  159. Özbel Y, Turgay N, Alkan MZ, Babaoğlu A, Özensoy Töz S, Babalıoğlu N,. Batı Karadeniz Bölgesinde zoonotik visseral leishmaniasis odağı: Karabük. *Türkiye Parazitol Derg*, 26(4): 362-366,2002.
  160. Lemos EM, Laurenti MD, Moreira MAB. Et al. Canine visceral leishmaniasis: Performance of a rapid diagnostic test (Kalazar Detect™) in dogs with and without signs of the disease. *Acta Tropica* 107:205–207.2008.
  161. Zijlstra EE, Daifalla NS, Kager PS, et al. rK39 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Diagnosis of *Leishmania donovani* Infection *Clinical And Diagnostic Laboratory Immunology*, 717–720, 1998.
  162. Freitas JCC, Nunes-Pinheiro DCS, Neto BEL, et al. Clinical and laboratory alterations in dogs naturally infected by *Leishmania chagasi*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 45(1):24-29, 2012
  163. Kargin Kırıl F, Seyrek K, Paşa S, et al. Some Haematological, Biochemical and Electrophoretic Findings in Dogs with Visceral Leishmaniasis. *Revue Méd. Vét.* 155, 4, 226-229.2004.
  164. Paludo GR, Aquino LC, Lopes BCC. Whole blood PCR test and laboratorial findings in natural canine visceral leishmaniasis in Brazil. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(11), Pages: 343-348,2013.
  165. Heidarpour M, Pourtaghi M, Khoshnegah J. Prevalence and risk factors for canine leishmaniasis in Mashhad, North- east of Iran. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*.Vol. 4, No. 1, 37-46,2012.

## **ÖZGEÇMİŞ**

1980 yılında Tunceli'nin Mazgirt ilçesinde doğdum. 2002 yılında kazandığım Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesinden 2007 yılında mezun oldum. 2008 yılında Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda doktora eğitimime başladım. Diyarbakır ili Sur ilçesi Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü'nde Veteriner Hekim olarak görev yapmaktayım.