

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARS ve İĞDIR CİVARINDAKİ KÖPEKLERDE
DIROFILARIA IMMITIS'İN PREVALANSI ve POTANSİYEL
VEKTÖR SİVRİSİNEK TÜRLERİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

**Araş.Gör. Gencay Taşkın TAŞÇI
Parazitoloji Anabilim Dalı**

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Yunus KILIÇ**

2011-KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARS ve İĞDIR CİVARINDAKİ KÖPEKLERDE
DIROFILARIA IMMITIS'İN PREVALANSI ve POTANSİYEL
VEKTÖR SİVRİSİNEK TÜRLERİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

**Araş.Gör. Gencay Taşkın TAŞÇI
Parazitoloji Anabilim Dalı**

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Yunus KILIÇ**

**Bu çalışma TÜBİTAK (Proje No: 108 O 588) ve KAÜ Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar
Yönetim Kurulu Başkanlığı (Proje No: 2008-VF 019) tarafından desteklenmiştir.**

2011-KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Parazitoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Araş. Gör. Gencay Taşkın TAŞÇI tarafından hazırlanmış olan, "Kars ve Iğdır civarındaki köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in prevalansı ve potansiyel vektör sivrisinek türleri üzerine araştırmalar" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek OY..BİRLİĞİ..... ile K.A.B.U.L......edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 08/04/ 2011

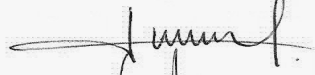
Adı Soyadı

İmza

Başkan Prof. Dr. M. Özkan ARSLAN



Üye Prof. Dr. Yunus KILIÇ



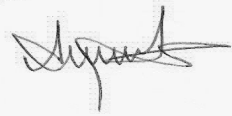
Üye Prof. Dr. Zati VATANSEVER



Üye Doç. Dr. Alparslan YILDIRIM

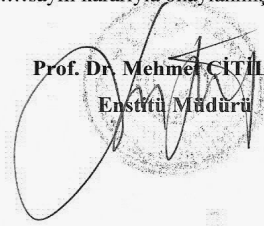


Üye Doç. Dr. Adnan ALDEMİR



Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 28:04:2011.....gün ve 11/10/.....sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet CİTİL
Enstitü Müdürü



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No:</u>
İÇİNDEKİLER	III
TABLO LİSTESİ	V
SİMGELER ve KISALTMALAR	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
ÖNSÖZ	IX
1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER	1
1.1. <i>Dirofilaria immitis</i> 'in Sistematikteki Yeri ve Tarihçe	2
1.2. <i>Dirofilaria immitis</i> 'in Konakları ve Yerleştiği Yerler	4
1.2.1. <i>Dirofilaria immitis</i> 'in Sonkonakları	4
1.2.2. <i>Dirofilaria immitis</i> 'in Vektörleri	5
1.3. Morfoloji	10
1.3.1. Erişkinler	10
1.3.2. Mikrofilerler	12
1.4. Biyolojik Gelişme	13
1.4.1. <i>Dirofilaria immitis</i> 'in Vektördeki Gelişimi	13
1.4.2. <i>Dirofilaria immitis</i> 'in Sonkonaktaki Gelişimi	14
1.5. Patogenez ve Klinik Bulgular	16
1.5.1. Patogenez	16
1.5.2. Klinik Bulgular	18
1.6. Epidemiyoloji	20
1.7. Teşhis	23
1.8. Tedavi	25
1.9. Korunma ve Kontrol	27
1.10. <i>Dirofilaria immitis</i> 'in Zoonotik Önemi	31
1.11. <i>Dirofilaria immitis</i> 'in Yaygınlığı	34
1.11.1. Dünyada <i>Dirofilaria immitis</i> 'in Yaygınlığı	34
1.11.2. Türkiye'de <i>Dirofilaria immitis</i> 'in Yaygınlığı	36

2.	MATERYAL ve METOT	39
2.1.	MATERYAL	39
2.1.1.	Sivrisinek Örneklerinin Toplanması	39
2.1.2.	Köpeklerden Kan Örneklerinin Toplanması	41
2.2.	METOT	46
2.2.1.	Sivrisineklerin Tür Teşhislerinin Yapılması	46
2.2.2.	Membran Filtrasyon-Asit Fosfataz Histokimyasal Boyama Yöntemi	46
2.2.3.	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)	49
2.2.4.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	51
2.2.4.1.	DNA Ekstraksiyonu	51
2.2.4.2.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Elektroforez	52
2.2.5.	İstatistiki Analizler	54
3.	BULGULAR	55
4.	TARTIŞMA	69
5.	SONUÇ	80
6.	ÖZET	82
7.	SUMMARY	84
8.	KAYNAKLAR	86
9.	ÖZGEÇMİŞ	105

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1.1. Dünya’da köpeklerde <i>Dirofilaria</i> ve <i>Acanthocheilonema</i> cinsi nematodların yayılışı	35
Tablo 1.2. Türkiye’de köpeklerde <i>Dirofilaria</i> ve <i>Acanthocheilonema</i> cinsi nematodların yayılışı	37
Tablo 2.1. Materyal toplanan odaklar ve kan alınan köpek sayıları	43
Tablo 2.2. İncelenen köpeklerin yaşa göre dağılımı	44
Tablo 2.3. İncelenen köpeklerin cinsiyete göre dağılımı	44
Tablo 2.4. İncelenen köpeklerin renklerine göre dağılımı	45
Tablo 2.5. İncelenen köpeklerin ırka göre dağılımı	45
Tablo 3.1. Sivrisinek toplanan odaklar	55
Tablo 3.2. Kars ve Iğdır yöresindeki köylerde MF-Asit Fosfataz, ELISA ve PZR yöntemleri ile köpeklerde <i>Dirofilaria immitis</i> ’in yaygınlığı	57
Tablo 3.3. <i>Dirofilaria immitis</i> pozitif köpeklerin yöntemlere göre durumları	58
Tablo 3.4. MF-Asit Fosfataz ve PZR yöntemlerine göre <i>Dirofilaria immitis</i> ’in pozitiflik durumları	59
Tablo 3.5. ELISA ve PZR yöntemlerine göre <i>Dirofilaria immitis</i> ’in pozitiflik durumları	60
Tablo 3.6. MF-Asit Fosfataz ve ELISA yöntemlerine göre <i>Dirofilaria immitis</i> ’in pozitiflik durumları	60
Tablo 3.7. Kars ve Iğdır yöresinde <i>Dirofilaria immitis</i> ile enfekte köpeklerde gizli (okult) enfeksiyon	64
Tablo 3.8. Yaşa göre enfekte köpek sayısı ve enfeksiyon oranları	65
Tablo 3.9. Cinsiyete göre enfekte köpek sayısı ve enfeksiyon oranları	66
Tablo 3.10. Köpek rengine göre enfekte köpek sayısı ve enfeksiyon oranları	67
Tablo 3.11. Köpek ırkına göre enfekte köpek sayısı ve enfeksiyon oranları	68

SİMGELER ve KISALTMALAR

ALP	: Alkalın fosfataz
ALT	: Alanin aminotransferaz
AP	: Anal delik
AST	: Aspartat aminotransferaz
bp	: Baz pair (baz çifti)
CK	: Kreatin kinaz
DEC	: Diethylcarbamazine
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: Deoksiribonükleozid trifosfat
EDTA	: Etilendiamintetraasetikasit
EKG	: Elektrokardiografi
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EP	: Boşaltım deliği
(EP)	: Beklenen oranlardaki uyumluluk değeri
EtBr	: Etidyum bromür
E/S	: Ekskresyon/ Sekresyon
g	: g force
GPS	: Global Positioning System (Küresel Konumlama Sistemi)
HCl	: Hidroklorikasit
IgE	: Immunglobulin E
IgG	: Immunglobulin G
IgM	: Immunglobulin M
i.m.	: intra muscular (kas içi)
i.v.	: intra venöz (damar içi)
kDA	: Kilo Dalton
mA	: Miliamper
MF-Asit Fosfataz:	Membran Filtrasyon- Asit Fosfataz Histokimyasal Boyama yöntemi
MgCl ₂	: Magnezyumklorür

VII

mM	: Milimolar
μ l	: Mikrolitre
μ m	: Mikrometre
Na ₂ CO ₃	: Sodyum karbonat
nm	: Nanometre
OP	: Gözlenen oranlarda uyumluluk değeri
pmol/ μ l	: Pikomol/mikrolitre
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TBE	: Tris-Borik asit-EDTA
U/kg	: Ünite/ kilogram
UV	: Ultra Viyole

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. <i>Dirofilaria immitis</i> 'in vektörlerinden biri olan <i>Culex theileri</i> (orjinal)	9
Şekil 1.2. <i>Dirofilaria immitis</i> 'in erişkin dişi ve erkeği	12
Şekil 1.3. <i>Dirofilaria immitis</i> mikrofilere (Orjinal)	13
Şekil 1.4. Sivrisineğin malpigi kanalında 1. dönem larva (L ₁)	14
Şekil 1.5. <i>Dirofilaria immitis</i> 'in biyolojik gelişimi	15
Şekil 1.6. Caval sendrom: kalbin sağ tarafında erişkin <i>Dirofilaria immitis</i>	17
Şekil 1.7. <i>Dirofilaria immitis</i> ile enfekte köpekte göğüs ve karın boşluğunda sıvı toplanması (Asites)	19
Şekil 1.8. Caval sendromda hemoglobüri (soldaki), normal idrar (sağdaki)	19
Şekil 2.1. Sivrisinek örnekleri toplamak için kurulan cibinlik	40
Şekil 2.2. Cibinlik içerisindeki sivrisinekler toplanırken	40
Şekil 2.3. Kars ve Iğdır İllerinde materyal toplanan merkezler	42
Şekil 2.4. Köpeklerden kan örnekleri alınırken	43
Şekil 2.5. Membran Filtrasyon Tertibatı	47
Şekil 2.6. Membran Filtrasyon Testi	49
Şekil 2.7. DiroCHEK ELISA kiti	50
Şekil 2.8. DiroCHEK ELISA kitinin içerisindeki solusyonlar	51
Şekil 2.9. Macherey- Nagel marka DNA Ekstraksiyon kiti	52
Şekil 3.1. MF-Asit Fosfataz yöntemi ile tespit edilen <i>D. immitis</i> mikrofilere	61
Şekil 3.2. PZR yöntemi ile tespit edilen 542 bp'lik bölgedeki 5.8S-ITS2-28S genine ait bant sırası.	62
Şekil 3.3. ELISA yöntemi ile antijen tespit edilen serum örneklerinden bazıları	63

ÖNSÖZ

Kars ve Iğdır illeri Türkiye'nin en doğusunda yer alan illerdir ve bu illerin en önemli geçim kaynağı hayvancılıktır. Koyun veya sığır sürülerinin vahşi hayvan saldırılarından korunması amacıyla da bu illerde oldukça fazla sayıda köpek yetiştirilmektedir. Dolayısıyla köpekler yöre insanı için son derece önemli hayvanlardır.

Dirofilaria immitis köpekler başta olmak üzere, kedi, tilki, kurt, kaplan gibi karnivor hayvanlarda kalbe ve dolaşım sistemine yerleşerek ciddi patolojik bozukluklara hatta ölümlere sebebiyet verebilen bir parazittir. *Dirofilaria immitis* dünyanın birçok ülkesinde olduğu gibi Türkiye'de de görülen bir helminto-zoonozdur ve insan sağlığını önemli ölçüde tehdit etmektedir. Kars ve Iğdır yöresinde köpeklerin bu hastalıktan korunabilmesi için hastalığın yaygınlığının tespit edilmesi, hastalığı bulaştıran vektör sivrisinek türlerinin belirlenmesi, hastalığa karşı gerekli koruyucu önlemlerin zamanında alınması gerekmektedir.

Bu çalışmada; köpeklerin sağlığını ciddi anlamda tehdit eden *Dirofilaria immitis*'in neden olduğu hastalığın Kars ve Iğdır illerindeki prevalansının ve hastalığın diğer köpeklere bulaşmasında vektör görevi üstlenen potansiyel sivrisinek türlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu tez çalışmasının yürütülmesi sırasında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. M. Özkan ARSLAN'a, tez çalışması boyunca bana her konuda yardımcı olan danışman hocam sayın Prof. Dr. Yunus KILIÇ'a, tezin laboratuvar çalışmaları sırasında bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Zati VATANSEVER'e, çalışmalarım esnasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi sayın Doç. Dr. Alparslan YILDIRIM'a, sivrisineklerin tür teşhisinin yapılmasında yardımcı olan Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat

Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi sayın Doç. Dr. Adnan ALDEMİR'e ve Yüksek Lisans Öğrencilerine, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri sayın Doç. Dr. Atila AKÇA, sayın Doç. Dr. Murat KARA, sayın Doç.Dr. Barış SARI'ya, tez çalışmasının istatistiki analizlerinin yapılmasına yardımcı olan sayın Dr. Cantürk ÇAPIK ve sayın Dr. Neriman MOR'a, Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi sayın Bio. Neslihan GÜNDÜZ'e ve Anabilim Dalı Doktora öğrencisi sayın Öğr. Gör. Aysel İTİK EKİNCİ'ye, projeye maddi destek sağlayan TÜBİTAK ve KAÜ Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Yönetim Kurulu Başkanlığı'na ve Akademik yaşamıma başladığım günden beri maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sevgili eşim Araş. Gör. Serap KORAL TAŞÇI'ya, anneme, babama, kardeşlerime ve emeği geçen herkese sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER

Evcilleştirildikleri ilk günden beri köpekler, insanlarla birlikte yaşayabilmiş, dost olabilmüş ve yaşamlarının bir parçası haline gelebilmiş hayvanlardır. Yunan mitolojisine göre köpek, Artemis'in arkadaşıdır. Köpeğin terbiyecisi de Apollon'dur. Homeros'tan günümüze kadar köpekler insanlara dost, arkadaş ve koruyucu olmuştur. İnsan-köpek dostluğu insanlara birçok alanda fayda sağlamıştır. Günümüzde, Dünya'da ve Türkiye'de çok sayıda aile, evinde veya bahçesinde, kırsal alanlarda sürülerin koruyucusu olarak köpek beslemekte, çeşitli resmi ve özel kuruluşlarda, güvenlik, avcılık, polisiye olayları aydınlatma, kurtarma gibi değişik amaçlar için de köpek yetiştirilmektedir. Bunun yanı sıra, ne yazık ki, çoğunlukla az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde, azımsanamayacak oranda da gelişmiş ülkelerde çok sayıda köpek sokaklarda başıboş dolaşmaktadır (63-65,207).

Günlük yaşamdaki insan-köpek dostluğu bazı sorumlulukları ve sorunları da beraberinde getirmiştir. İnsanlar bu dostluğun gereği olarak köpeklerin sağlıkları ile ilgilenme ve onları hastalıklardan koruma görevini üstlenmiştir. Bu durum köpekler açısından olduğu kadar insanlar açısından da büyük önem taşımaktadır. Sayıları günümüzde 200' ü aşan zoonoz hastalıkların da aralarında bulunduğu birçok hastalık insanlar ve köpekler arasında müşterek seyretmektedir. Köpekler, taşıdıkları birçok hastalığı insanlara da bulaştırabilmektedir. Köpeklerden insanlara bulaşabilen çok sayıda paraziter hastalık da bulunmaktadır (22,63-65).

Günümüzde parazitoloji alanında, özellikle de hastalıkların teşhisi yönünde önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Ancak paraziter hastalıklar, diğer enfeksiyöz hastalıklara nazaran yıllarca daha az ilgi görmüştür. Bunun nedenleri şöyle sıralanabilmektedir:

1- Paraziter hastalıkların yıllarca geri kalmış veya az gelişmiş ülkelerinin bir sorunu olarak görülmesi, gelişmiş ülkelerde de paraziter hastalıklar konusunda yeterli çalışmaların yapılmaması,

2- Paraziter hastalıkların, özellikle de helmint hastalıklarının düşük mortalite ve yüksek morbidite oranlarıyla seyreden hastalıklar olarak değerlendirilmesi,

3- Paraziter hastalıkların tanısında kullanılan bazı metotların oldukça karmaşık olması ve parazitlerin biyolojik gelişimlerinden kaynaklanan güçlüklerin tanıyı zorlaştırması.

Yukarıda sıralanan nedenler ile, paraziter hastalıkların yaygınlığı, nüfus artışına ve hijyen şartlarının olumlu yönde değişmesine rağmen hızla artmıştır. Dolayısıyla paraziter hastalıkların yarattığı tehlike göz ardı edilemeyecek boyutlara ulaşmıştır (111).

Köpeklerde görülen paraziter hastalıkların durum tespitini yapmak amacıyla, gerek Türkiye’de ve gerekse Dünya’da birçok araştırma yapılmıştır. Yapılan araştırmalarda köpeklerin büyük bir kısmının çeşitli endo ve ektoparazitlerle enfekte veya enfeste olduğu görülmüştür. Bu köpekler, taşıdıkları parazitlerin yumurtaları, larvaları veya erişkin formlarıyla insan ve hayvan sağlığı açısından ciddi tehdit oluşturmaktadırlar. Bu araştırmalar neticesinde anlaşılmaktadır ki, paraziter hastalıklar az gelişmiş ülkelerde yaygındır ancak gelişmiş ülkelerde de görülmektedir (21,24,35,69,115,151,176).

1.1. *Dirofilaria immitis*’in Sistematikteki Yeri ve Tarihçe

Dirofilaria immitis sadece köpeklerde hastalık oluşturması ile değil, zoonoz karakterli olması açısından da Dünya’da artan bir öneme sahiptir.

Önemli filarial nematod enfeksiyon etkenlerinden olan ve başta köpekler olmak üzere birçok karnivor hayvanda ve insanlarda görülen *Dirofilaria immitis*’in sistematikteki yeri aşağıda sıralı olarak verilmiştir (11-13,75,185).

Alem: Animalia
 Şube: Nematelminthes
 Sınıf: Nematoda
 Sınıf altı: Secernentea
 Takım: Spirurida
 Üstaile: Filarioidea
 Aile: Onchocercidae
 Altaile: Dirofilarinae
 Cins: *Dirofilaria*
 Tür: *Dirofilaria immitis*

Dirofilariosis, başta köpekler olmak üzere birçok karnivor hayvanda ve nadir olarak da insanlarda görülen bir paraziter enfeksiyon olup, sayıları 40 civarında olan *Dirofilaria* cinsindeki (*Dirofilaria immitis*, *D. (Nochtiella) repens*, *D. striata*, *D. conjunctiva*, *D. subdermata*, *D. spectans*, *D. acutiuscula*, *D. tenuis*, *D. ursi*, *D. malayi*, *D. timori*, *D. loa*, *D. corynodes*, *D. roemeri*, *D. scapiceps* vs.) nematodlar tarafından oluşturulan bir helminto-zoonozdur (23,84,118,160,172,185).

Köpeklerde en sık rastlanan tür olan *Dirofilaria immitis* dünyada ilk kez 1856 yılında doğa bilimci ve fizikçi Joseph Leidy tarafından Alabama'dan Filadelfiya'ya getirilen bir köpekte tanımlanmıştır. Önceleri *Filaria immitis* olarak isimlendirilmiş ancak 1911 yılında Railliet ve Henry isimli iki Fransız bilim adamının *Dirofilaria* cinsini belirlemesiyle parazit, *Dirofilaria immitis* (Leidy,1856) Railliet ve Henry, 1911 ismi ile taksonomideki yerini almıştır (90).

Dirofilaria cinsi içerisinde yer alan türlerden *Dirofilaria striata* Molin tarafından 1858 yılında, *D. conjunctivae* Addario tarafından 1885 yılında, *D. corynodes* Linstow tarafından 1899 yılında, *D. roemeri* de yine Linstow tarafından 1905 yılında, *D. (Nochtiella) repens* Railliet ve Henry tarafından 1911 yılında, *D. ursi* Yamaguti tarafından 1941 yılında, *D. tenuis* Chandler tarafından 1942 yılında, *D. magnilarvatum* ise Price tarafından 1959 yılında tanımlanmıştır (11,118,172).

Filarioidea üstalesinde yer alan diğer filarial nematodlardan *Dipetalonema grassii* 1907 yılında Noè tarafından bildirilmiştir. *Dipetalonema (Acanthocheilonema) reconditum* 1889 yılında Grassi tarafından, *Dipetalonema*

dracunculoides 1870 yılında Cobbold tarafından bir kurtta, 1912 yılında da Railliet ve arkadaşları tarafından köpeklerde bildirilmiştir. *Brugia malayi* 1927 yılında Brug tarafından, *Brugia pahangi* 1956 yılında Buckley ve Edeson tarafından, *Brugia patei* 1958 yılında Buckley, Nelson ve Hensch tarafından bildirilmiştir (11).

1.2. *Dirofilaria immitis*'in Konakları ve Yerleştiği Yerler

1.2.1. *Dirofilaria immitis*'in Sonkonakları

Dirofilaria immitis'in erişkinleri köpekler başta olmak üzere, kedi, kurt, aslan, kaplan, geyik, tavşan, rakun, tilki, ayı, su samuru, dingo, fok balıkları, denizaslanı, at, şempanze, orangutan gibi hayvanlarda ve insanlarda görülmektedir. Parazit, konaklarında kalbin sağ ventrikülünde, sağ atriumunda, A. pulmonalis'de, V. cava cranialis'de, V. hepatica'da, bronşiolerde, periton boşluğunda, camera oculi anterior'da, interdigital kist ve apselerde, beyin arterlerinde, spinal kanalda, göz kapağı, burun kanatları, yanak, parmak arası gibi bazı organ ve dokularda görülebilmektedir (11,72,84,118,160,172,189).

Dirofilaria cinsi içerisinde yer alan türlerden *Dirofilaria (Nochtiella) repens* köpek, kedi, tilki, aslan ve sporadik olarak da insanların deri altı bağ dokusunda, *D. conjunctivae* insanların baş veya göz kapakları civarında fındık büyüklüğünde nodüller şeklinde, *D. roemeri* kanguruların arka bacak ve pelvis bölgesinde derialtı bağ dokularında veya kas içinde, *D. tenuis* insan ve rakunların derialtı bağ dokusunda, *D. striata* köpeklerde ve yabani kedilerde, *D. malayi* maymun ve insanlarda, *D. timori* insan ve kedide, *D. loa* insan, goril ve maymunda, *D. corynodes* maymunlarda, *D. ursi* ise insan, vaşak ve ayılarda görülmektedir (11,75,160,172,185,189).

Dipetalonema (Acanthocheilonema) reconditum'un erişkinleri köpek, sırtlan, çakal, gibi karnivorların perirenal doku, deri altı bağ dokusu ve vücut boşluğunda görülebilmektedir (11,84,118,172,185).

1.2.2. *Dirofilaria immitis*'in Vektörleri

Dirofilaria immitis'in vektörü olan sivrisineklerin bu güne kadar 3357 türü tespit edilmiştir (58,82,168,197). Diptera takımında, Nematocera alttakımında, Culicidae ailesinde, Toxorhynchitinae, Culicinae ve Anophelinae altailelerinde yer alan *Anopheles*, *Aedes*, *Psorophora*, *Culex*, *Myzorrhynchus*, *Taeniorhynchus*, *Ayzorrhynchus*, *Mansonia* ve *Armigenes* cinsi sivrisineklerin 70 kadar türü *Dirofilaria immitis*'e vektörlük yapmaktadır (75,94,126,132,168,172,189).

Sivrisineklerin bölgesel ve yöresel yayılımı üzerinde sıcaklık, nem, toprak, su, bitki örtüsü, iklim, yağış, rüzgar, hava akımı gibi çevresel faktörler rol oynamaktadır (126).

Erişkin sivrisinekler 3-10 mm uzunluğunda ve vücutları silindirik yapıda olup 3 bölümden oluşmaktadır. Baş kısmı yuvarlak bir yapıya sahiptir ve bir çift iri petek göz, bir çift 14-15 segmentten oluşan uzun anten, bir çift palp ve uzun bir hortum taşımaktadır. Antenler halka şeklinde kıllarla kaplıdır. Erkeklerde antenler üzerindeki kıllar daha yoğundur. Toraks kısmı 3 segmente ayrılmıştır. Protoraks, mezotoraks ve metatoraks olarak isimlendirilen her bir segmentten bir çift bacak çıkar. Mezotorakstan bir çift kanat, metatorakstan ise bir çift halter çıkar. Kanatlar aileye özgü damar yapısına sahip olup, dar ve uzundur. Abdomen ise silindirik yapıda olup, 10 segmentten oluşmuştur. Sivrisineklerin tür ayrımında kanat ve vücudu saran pulların renk ve desenlerinden faydalanılmaktadır. Erkeklerin tür ayrımında abdomenin sonunda bulunan segmente ait özelliklere de bakılır (59,94,126).

Dişi sivrisinekler yumurtalarını su yüzeyine değişik şekillerde bırakırlar. *Anopheles* ve *Aedes* cinsi sivrisinekler yumurtalarını su yüzeyine tek tek bırakırken, *Culex* cinsi sivrisinekler kümeler halinde bırakırlar. Yumurtalar, koryonun yanlara çıkıntı yapmasıyla oluşan ve yüzgeç adı verilen kabarcıklar sayesinde suya batmazlar (32,94,126).

Dişi sivrisinekler saniyede 100-8000 titreşim yayarlar. Erkekler de antenlerinin 2. segmentinde bulunan ve çok sayıda duyu hücresinden oluşmuş Johnson organı sayesinde bu titreşimleri alarak dişi sivrisineği bulurlar (59). Erişkin dişiler kan emdikten 2-3 gün sonra 50-200 arasında değişen sayıda yumurtayı su yüzeyine bırakırlar. Su yüzeyine bırakılan yumurta içerisinde kısa sürede embriyo gelişir ve 24

saat gibi bir sürede yumurta vitellüsünden beslenmeye başlar. Larvalar 2-3 gün içerisinde yumurta kabuğuna basınç yapar ve kabuğu patlatarak dışarı çıkarlar. Yumurtayı terk eden larva suda yüzmeye başlar. Larva, başın ön kısmında bulunan fırça benzeri uzantılar yardımıyla bakteri, alg, polen vs ile beslenmektedir. Bu nedenle de sivrisinekler yumurtlamak için genellikle bakteri ve polenlerin yoğun olduğu bulanık suları tercih ederler. Suyun pH'sı, tuz yoğunluğu, oksijen konsantrasyonu, azot miktarı, klor miktarı, suyun ve ortamın sıcaklığına bağlı olarak 10-15 gün içerisinde dört larva dönemi geçirirler. Larvalar 10 halkalı olup, kurtçuk şeklindedirler ve bacakları yoktur. Larvalar türlere göre değişmekle birlikte vücutlarının son kısmında sifon adı verilen yapılar sayesinde atmosferik havayı kullanabilirler. Anophelinae altailesinde bulunan türler sifon taşımadıklarından içinde buldukları suyun yüzeyine paralel dururken Culicinae altailesinde bulunan türler sifon taşıdıklarından içinde buldukları suyun yüzeyine dikey dururlar. *Anopheles* cinsi sivrisineklerin larvaları 15 °C'ın altındaki sıcaklıklarda gelişim gösterememektedir. *Culex* cinsi sivrisineklerin larvaları ise 10-35 °C arasındaki sıcaklıklarda gelişim gösterebilmektedir. *Anopheles* cinsi sivrisineklerin larvaları temiz, hafif akıntılı sularda, *Aedes* cinsi sivrisineklerin larvaları durgun sularda, *Culex* cinsi sivrisineklerin larvaları ise foseptik suları dâhil her türlü su birikintisinde gelişebilmektedir. Sivrisinekler dört larva dönemi geçirdikten sonra pupa safhasına girerler. Pupa dönemindeki sivrisineklerin baş ve toraksı birleşerek sefalotoraksı oluşturur. Larvaların fonksiyonel abdominal kasları vardır ki bu kaslar sayesinde hızlı hareket ederler. Sivrisinek pupalarının gelişebilmesi için 2-4 gün süreye ihtiyaç vardır. Pupa dönemindeki sivrisinekler herhangi bir şeyle beslenmezler. Pupalar iç basıncı artırmak amacıyla hava yutarlar ve iki gün sonra da pupayı delerek dışarı çıkan erişkin bireyler meydana gelir. Erişkin bir sivrisineğin kan emip yumurta üretmesine kadar geçen süre 2-7 gün sürmektedir. Bazı türler bir kez, bazı türler ise 2-3 kez yumurtladıktan sonra ölürlür. Sivrisineklerin yaşam süresi, Türkiye gibi ılıman iklim kuşağına sahip bölgelerde, yeterince kan emebilme, iklim, sıcaklık gibi faktörlere bağlı olarak bir ay kadardır. Bu süre tropikal bölgelerde 6 aya kadar uzayabilmektedir (32,59,94,126).

Sivrisineklerin erkekleri şekerli sıvılarla beslenirken dişilerin çoğunluğu antropofildirler yani insan kanı ile beslenir. Ancak hayvan veya insan kanı arasında

tercih yapmak durumunda kalıp hayvan kanını tercih eden türler de vardır. Sivrisinekleri hangi kokuların cezp ettiği ve konaklarını nasıl buldukları tam olarak bilinmemekle beraber laktik asit, karbondioksit, nem, sıcaklık, hareket gibi faktörlerin sivrisineğin konağını bulmasında etkili olduğu düşünülmektedir. Sivrisinekler düşük sıcaklıklarda kan emmeyi tercih etmezler ve deriye konduklarında sokmadan önce biraz dolanıp daha sonra hortumlarını 75 derece aç yapacak şekilde tutarlar. Sivrisineklerin besin kanalı, baş kısmındaki bir besin pompası ile bağlantılıdır. Cibarial pompa adı da verilen bu yapıdaki ince kıllar akışı ölçmekte ve duyu organlarını uyarmak suretiyle alınan besinin kan mı yoksa şekerli sıvı mı olduğunu tespit etmektedir (32,59,94,126).

Sivrisineklerin dişileri, konaklarından kan emerken konak derisi üzerine bazı farmakolojik maddeler içeren tükruk salgılarını da bırakırlar. Bu salgılar, anti-koagulan, damar genişletici, immun sistemi baskılayıcı özellikte olabilmektedir. Ayrıca tüm kan emen artropodlarda bulunan ve trombosit kümelenmesini önleyen, aynı zamanda anti-haemostatik bir madde olan apyrase, tükruk bezlerinde birikmekte ve artropod her kan emdiğinde bu madde konağa enjekte edilmektedir (32,94,126).

Sivrisineklerin dişileri genellikle memeli ve kanatlılardan kan emmeyi tercih ederler. Özellikle *Anopheles* cinsi sivrisinekler at, eşek, sığır, domuz gibi hayvanlardan kan emerler. Bu hayvanları bulamadıkları takdirde insana saldırırlar. Ayrıca bazı sivrisineklerin özellikle konutlara girmeme, kırsal alanda konaklarına saldırma gibi bir zorunlulukları yoktur. Bu sadece bir alışkanlıktan kaynaklanmaktadır. Sivrisineklerin konak seçimi, çevre şartlarına, konak popülasyonuna ve kan emme alışkanlığına bağlı olarak değişmektedir (126).

Hayvan barınakları hem endofilik (içerde dinlenen) hem de endofajik (içerde beslenen) sivrisinekler için, evler ise endofajik sivrisinekler için oldukça ideal habitatlardır (5,9).

Sivrisineklerin kan emmesinde, sivrisineğin fizyolojik durumu, ortamın sıcaklığı, nem, rüzgâr, ışık gibi faktörler önemli rol oynamaktadır. Örneğin güneşin battığı saatlerde aç kalmış dişi sivrisinekler üzerinde kuvvetli bir stimulan etki meydana gelmekte ve sivrisinekler genelde bu saatlerde kan emme ihtiyacı hissetmektedirler (32).

Sivrisinekler ektoparazit olarak insan ve diğer omurgalı konaklardan kan emmekte, kan emerken konakları rahatsız etmekte, bazı alerjik reaksiyonlara neden olmakta, bazen epidemiye kadar varabilen oranda hastalık etkenlerini insan ve diğer omurgalılara bulaştırabilmektedirler (94).

İtalya'da 2000-2002 yılları arasında yapılan bir çalışmada 2721 adet sivrisinek örneği toplanmış ve bunlardan 2534 (% 97.1) tanesinin *Aedes albopictus*, 162 tanesinin *A. geniculatus*, 11 tanesinin *Ae. caspius*, 9 tanesinin *Culex pipiens*, 2 tanesinin *Cx. modestus*, 1 tanesinin *Ae. vexans*, 1 tanesinin *Anopheles maculipennis* ve 1 tanesinin de *Culiseta annulata* türü olduğu anlaşılmıştır. Çalışmanın başladığı 2000 yılında 713 sivrisinek örneğinin toplandığı 69 havuzdan 19 unda (% 27.5), 2001 yılında 1216 sivrisinek örneğinin toplandığı 144 havuzdan 40 ında (% 27.8), 2002 yılında 605 sivrisinek örneğinin toplandığı 123 havuzdan 22 sinde (% 17.9) spesifik primerler (S2 ve S16) kullanılarak *D. immitis* DNA'sı belirlenmiştir (36).

Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan çalışmalarda *D. immitis*'in en yaygın vektörlerinin *Aedes vexans*, *Ae. albopictus*, *Anopheles punctipennis*, *An. crucians* ve *Culex quinquefasciatus* türü sivrisinekler olduğu belirtilmiştir (47,119).

Brezilya'da yapılan bir çalışmada, *D. immitis* ile enfekte olan ve olmayan iki köpekten 1573 adet *Culex quinquefasciatus* ve 1588 adet *Aedes aegypti* türü sivrisineğe kan emdirilerek bu sivrisineklerin vektörlük potansiyeli araştırılmıştır. Sivrisinekler kan emdikten 4 gün sonra L1 (sosis form), 8-9 gün sonra L2 ve 10. günde *Aedes aegypti*'nin, 14. günde de *Culex quinquefasciatus*'un L3 formunun gelişmiş olduğu düşünülerek sivrisinekler diseke edilmiştir. Diseksiyon sonrasında sivrisinek başına toplanan L3 sayısı kaydedilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, *Aedes aegypti* türü sivrisineklerden toplanan L3 sayısının *Culex quinquefasciatus* türü sivrisineklerden toplananlardan daha fazla olduğu görülmüş ve *Aedes aegypti* türü sivrisineklerin *D. immitis* için daha iyi bir vektör olabileceği kanaatine varılmıştır (30).

Kayseri yöresinde yapılan bir çalışmada, 46 odaktan 6153 adet sivrisinek toplanmış ve oluşturulan havuzlardan genomik DNA ekstrakte edilmiştir. Bu DNA'lar 16S rRNA ve cytochrome oxidase subunit 1 (CO1) gen bölgelerinden dizayn edilen iki ayrı primer kullanılarak PZR ile incelenmiş ve *Culex pipiens* ile *Aedes vexans*'ların baş, toraks (L3 dönemi-enfektif) ve gövdelerinden (L2 dönemi-

enfekte) oluşan havuzlarda *D. immitis* DNA'ları saptanmıştır. Çalışma sonucunda, başta *Aedes vexans* olmak üzere her iki sivrisinek türünün de Kayseri yöresinde *D. immitis*'e aktif olarak vektörlük yaptığı anlaşılmıştır (205).

Kayseri'nin Felahiye yöresinde yapılan bir başka çalışmada ise *Aedes vexans*'lardan oluşturulan havuzlarda *D. immitis* DNA'larına rastlanırken *Culex pipiens*'lerden oluşturulan havuzlarda *D. immitis* DNA'larına rastlanmamış, *Aedes vexans* türünün araştırma bölgesinde *D. immitis*'e aktif olarak vektörlük yaptığı görülmüştür (27).

Dirofilaria (Nochtiella) repens'in vektörleri *Anopheles*, *Aedes*, *Armigeres*, *Mansonia* ve *Culex* cinsi sivrisinekler ve Tabanidae ailesinden *Haematopoda variegata*'dır (11,172,185).

Dipetalonema (Acanthocheilonema) reconditum'un vektörleri ise *Culicoides* ve *Simulium* cinsi sivrisinekler, *Ctenocephalides felis*, *C. canis*, *Pulex irritans*, *P. simulans*, *Echidnophaga gallinacea* türü pireler, *Rhipicephalus sanguineus* türü keneler, *Heterodoxus spiniger* türü bitlerdir (8,11,118,172,185).



Şekil 1.1. *Dirofilaria immitis*'in vektörlerinden biri olan *Culex theileri* (Orijinal)

1.3. Morfoloji

Zoonoz özellikte bir parazit olan *Dirofilaria immitis*'in erişkin ve mikrofiler olmak üzere iki morfolojik formu vardır. Sonkonaklarda hem mikrofiler hem de erişkin formları görülebilirken, vektör sivrisineklerde sadece mikrofiler formları görülmektedir.

1.3.1. Erişkinler

Dirofilaria immitis'in olgunları beyaz renkli, ince, uzun, silindirik bir yapıya sahiptir ve vücutları kütikula tabakası ile kaplıdır. Vücut boşluğunda yüksek basınçlı bir sıvı olan hemolenf vardır. Kütikula hemolenfe karşı koyarak vücudun sertliğini ve şeklini meydana getirir. Hareket üstte ve altta yer alan kasların kasılıp gevşemesi ile sinuzoidal yani yılanvari bir şekilde olur (185).

Dirofilaria immitis'in erişkin dişileri 20-31 cm uzunluğunda, 1-1,3 mm genişliğinde olup, arka uçları düz sonlanır. Erişkin erkekleri ise 12-20 cm uzunluğunda ve 0,5-1 mm genişlikte olup, arka uçları helezon şeklinde kıvrılmıştır. İki spikülleri bulunmaktadır. Sağda bulunan spikül soldakinden daha kısadır. Sağdaki spikül 175-229 µm, soldaki ise 300-375 µm boyutlarındadır. Beş çift preanal ve 6 çift postanal papilleri vardır. Ayrıca kuyruk kısmında küçük bir kaudal kanat bulunmaktadır. Erişkinlerin baş kısmında amfid ve arka kısımlarında fasmid olarak adlandırılan kimyasal reseptörler ile papillerden oluşan dokunma duyusu reseptörleri bulunmaktadır (84,92,118,172,185,189,190).

Erişkinlerde genellikle yuvarlak ve basit yapıda ağız bulunmaktadır. Ağız lateral dudaklarla, bazı türlerde de kitini oluşumlarla çevrilidir. Özefagus 1,25-1,5 mm uzunluğunda olup, ön kısmı kassal, arka kısmı glandular parçalara bölünmüş olarak görülmektedir. Vulva posteriorda oesophagointestinal kavşağa yerleşmiş durumdadır ve ön uca olan uzaklığı 2,7 mm'dir. Bağırsaklar, dişilerde sindirim kanalı ve genital organlar dışarıya açılabilirdiği için anüs ile sonlanırken erkeklerde deferens kanalı ile birleşip kloaka ile sonlanmaktadır. Anüsün arka uca uzaklığı 175 µm'dir. Erişkinlerde nematodun her iki yanında seyreden ve yemek borusu civarında birleşen boşaltım deliği ile özefagusu çevreleyen bir sinir halkası ve bundan çıkıp

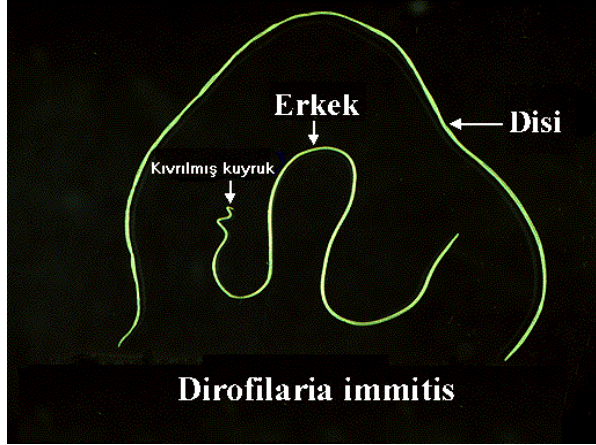
öne ve arkaya doğru uzanan sinir iplikçiklerinden oluşan bir sinir sistemi bulunmaktadır. Erişkin parazitler doku sıvıları ve plazma ile beslenmektedirler (75,84,130,172,185).

Ovovivipar olan erişkinlerin genital sistemi dişilerde ovaryum, ovidukt, resepteculum seminis, uterus, vagina ve vulvadan oluşurken, erkeklerde tek bir testis, deferens kanalı, vesicula seminalis ve kaslı ejakulatör kanal vardır. Erkeklerde ayrıca telemon ve iki adet spiculum vardır ki bunlar çiftleşmede görev alan yardımcı erkeklik organlarıdır. Erkeklerde gubernaculum yoktur. Bu organların görevi erkeğin dişiye tutunmasını ve vulvanın açılmasını sağlamaktır. Çiftleşme, dişilerin feromon salgılaması ve bu salgı vasıtasıyla erkeğin dişiye bulması ile gerçekleşmektedir. Çiftleşme sonrasında atılan yumurtaların içerisinde larva gelişmiş olabilir ve larva yumurtayı uterusda terk ederek dışarıya çıkabilir (75,118,185).

Dirofilaria (Nochtiella) repens'in iplik şeklindeki erkekleri 5-7 cm uzunluğunda, 370-450 µm genişliğindedir. Dişileri ise 10-17 cm uzunluğunda, 460-650 µm genişliğinde olup, vulva anterior uçtan 1.15-1.62 mm uzaklıktadır ve sağda 2-6, solda 4-5 preanal papil taşımaktadırlar. *D. (Nochtiella) repens*'de de spikulumlar eşit değildir. Sağdaki spikulum 180-210 µm, soldaki ise 460-590 µm boyutlarındadır. Erişkinler sonkonağın derialtı bağ dokusunda görülmektedir. *Dirofilaria immitis*'e oranla daha az patojendir (75,84,118,172,185).

Rakun ve insanlarda görülen *Dirofilaria tenuis*'in erişkin erkekleri 4-4,8 cm uzunluğunda ve 190-260 µm genişliğinde, dişileri ise 8-13 cm uzunluğunda ve 260-360 µm genişliğindedir. Sol spikulum 210-270 µm, sağ spikulum ise 100-130 µm uzunluğunda olup 6-9 preanal, 4-5 postanal papil bulunmaktadır. Vulva ön uçtan 0.98-1.60 mm uzaklıktadır (118).

Dipetalonema (Acanthocheilonema) reconditum'un erişkin erkekleri 9-17 mm uzunlukta ve 92-106 µm genişliktedir. Kuyrukları ise helezon şeklinde kıvrılmıştır. Dişiler ise 20-32 mm uzunluğunda, 146-180 µm genişliktedir. Sol spikulum 220-300 µm uzunluğundadır ve bir sap, kıvrık bir orta kısım ve terminal kanattan oluşur. Sağ spikulum ise 92-104 µm uzunluğundadır. Dişilerin kuyruğu 180-300 µm uzunluğundadır ve arkaya doğru gittikçe sivrileşen üç çıkıntı yaparak sonlanmaktadır. Vulva anterior uçtan 680-920 µm uzaklıktadır (118,172,185). Olgunlarının ön kısmında peribukkal kitinöz bir halka ile lateral apolet benzeri oluşumlar veya dişler bulunmaktadır.



Şekil 1.2. *Dirofilaria immitis*'in erişkin dişi ve erkeği (92).

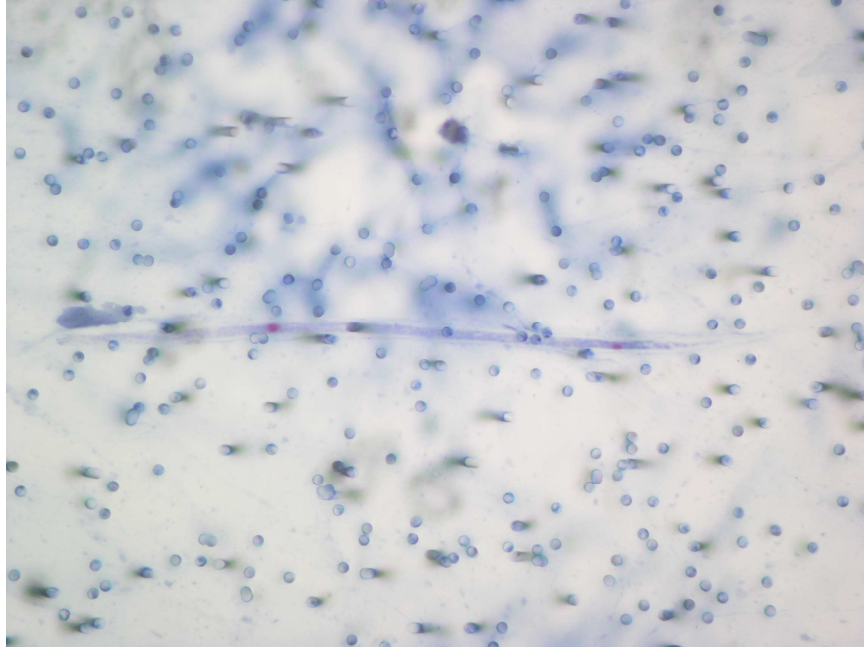
1.3.2. Mikrofilerler

Dirofilaria immitis'in 5 larval dönemi (L1, L2, L3, L4 ve L5) bulunmaktadır. Filarioidea üstailesinde bulunan parazitlerin larvalarına mikrofiler, beşinci dönemde olan larvalara ise genç erişkinler denilmektedir. Parazitin genital organları 4. dönemde gelişmeye başlar ve 5 dönemde gelişimini tamamlar (185).

Dirofilaria immitis'in mikrofilerlerinde kılıf bulunmamaktadır. Mikrofilerlerin uzunluğu 218-329 μm , genişliği ise 5-7 μm kadardır (11,84,118,172,185). *Dirofilaria immitis*'in mikrofilerlerindeki sinir tıması ön uçtan itibaren vücut uzunluğunun % 24 ünde, boşaltım deliği % 33 ünde, boşaltım hücresi % 39 unda, R1 hücresi % 68 inde, R2 hücresi % 75 inde, R3 hücresi % 75 inde, R4 hücresi % 79 unda, anal delik hücresi % 82 sinde ve son hücre nükleusu % 93 ünde yer almış olarak görülmektedir (84,118,189).

Dirofilaria (Nochtiella) repens'in mikrofilerleri de kılıfsızdır ve uzunlukları 260-360 μm , genişlikleri ise 5-8 μm kadardır (84,118). *D. tenuis*'in mikrofilerleri ise 370-390 μm uzunluğunda, 5-7 μm genişliğinde görülmektedir (118).

Dipetalonema (Acanthocheilonema) reconditum'un mikrofilerleri kılıfsız, 269-283 μm uzunlukta, 4,3-5,8 μm genişlikte olup ön uçta 4 μm uzunluğunda sefalik çengel bulunmaktadır (11,84,118,160,172,185).



Şekil 1.3. *Dirofilaria immitis* mikrofilari (Orjinal)

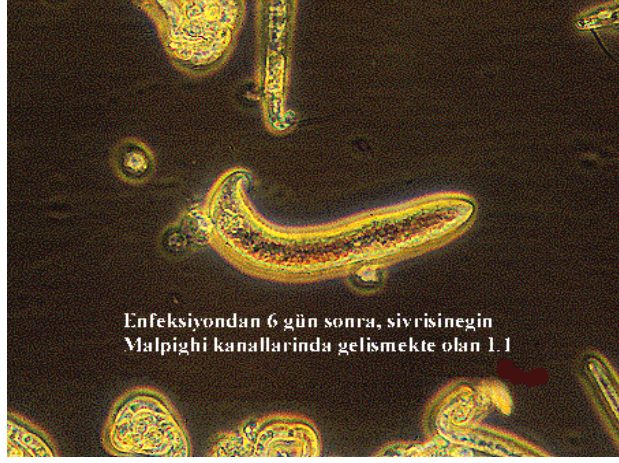
1.4. Biyolojik Gelişme

Erişkin dişi *Dirofilaria immitis*'in uterusunda gelişen yumurtalar ince vitellin bir membranla çevrilidirler ve embriyonun gelişip uzamasıyla birlikte bu membran bir kılıfa dönüşmektedir. Mikrofiler yumurtadan çıkarken bu kılıf kaybolur ve perifer kana geçen mikrofilerler kılıfsız olarak görünür (43).

1.4.1. *Dirofilaria immitis*'in Vektördeki Gelişimi

Dirofilaria immitis diheteroxene gelişme gösteren bir nematoddur. Dişi sivrisinekler, konaklarından kan emerken perifer dolaşımdaki veya lenf aralıklarındaki mikrofilerleri alırlar. Mikrofilerler 24 saatlik bir süre içerisinde sivrisineğin mide ve bağırsaklarına gelirler. Mikrofilerler 48 saat içerisinde ve ortalama 26 °C sıcaklıkta bağırsakları terk ederek malpigi tüplerine göç ederler ve distal hücrelere yerleşirler. Mikrofilerlerin alınmasının ardından 4. günden itibaren (enfeksiyondan 6 gün sonra) larvaların boyları kısalmış, kalınlıkları artmış ve “sosis form” şeklini alarak hareketsiz kalırlar (47,75,76,81,92,132,189).

Sosis form (şekil 1.4.) şeklindeki larvalar 10. günde malpigi kanallarında gömlek değiştirerek 2. dönem larvalar (L2) haline dönüşürler. Bu dönemde larvaların boyu uzamaya başlar. Larvalar hareket kabiliyeti kazanır, sindirim ve genital kanalları gelişmeye başlar. Enfeksiyondan 13 gün sonra ikinci gömlek değiştirme gerçekleşir. Gömlek değiştirme neticesinde “Minyatür olgun” da denen, aynı zamanda enfektif dönem olan yaklaşık 800-900 µm uzunluktaki 3. dönem larvalar (L3) gelişir. Enfektif 3. dönem larvalar sivrisineklerin konaktan kan emdiği ve L1’leri aldığı ilk günden 17-18 gün sonra malpighi kanallarından çıkarak hemosel yoluyla labiuma gelirler (17,81,84,189).



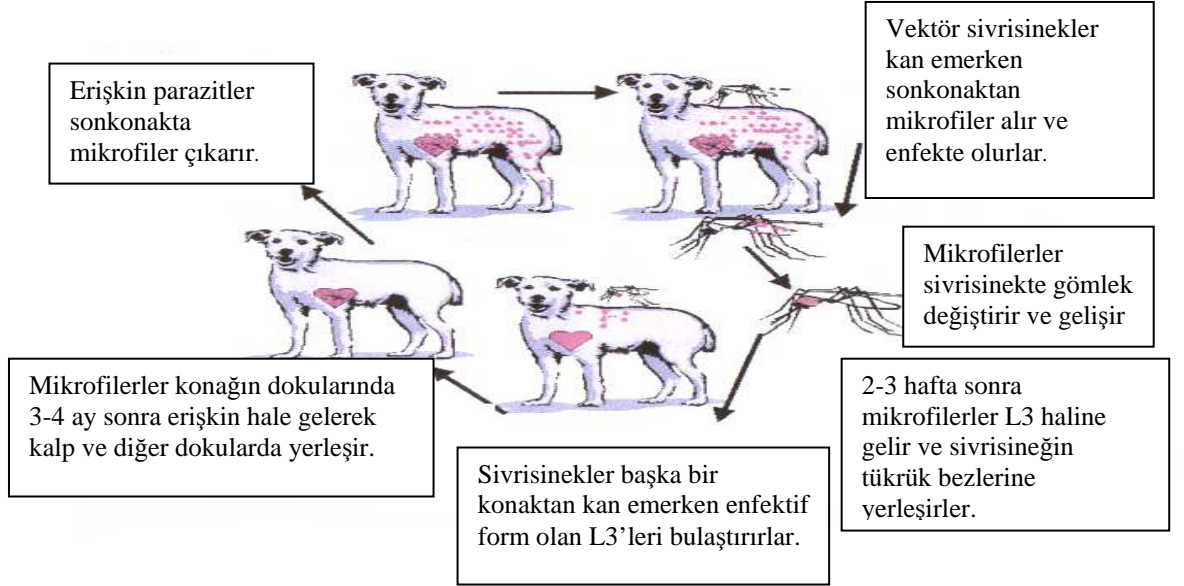
Şekil 1.4. Sivrisineğin malpigi kanalında 1. dönem larva (L₁) (92)

1.4.2. *Dirofilaria immitis*'in Sonkonaktaki Gelişimi

Sivrisinekler aynı veya farklı bir konaktan kan emerken mikrofilerler sineğin dudak uçlarına gelirler. Sivrisineğin konağı sokması sırasında açtığı kanaldan vektörün ağız parçalarıyla birlikte konak vücuduna girerler (32,65,92,118,185).

Köpekler, vektör sivrisineklerin dişilerinin kan emmeleri esnasında *Dirofilaria immitis*'in üçüncü dönem larvaları ile enfekte olmaktadır. Sivrisinek tarafından köpeğe bulaştırılan larva (L₃) sayısı 10-12 arasında değişir. Enfektif üçüncü dönem larvalar (L3), aktif hareketlerle son konağın derialtı, seroza altı, kas veya yağ dokusuna göç ederler. Bu dokularda 3-12 günlük bir süre içerisinde, tekrar gömlek değiştirerek dördüncü dönem larvalar (L4) haline gelirler. Dördüncü dönem larvalar

da (L4) enfeksiyondan 50-70 gün sonra bir gömlek daha değiştirerek, yaklaşık 18 mm boyutlarındaki beşinci dönem larvalar (L5) veya genç erişkinler olarak isimlendirilen forma ulaşırlar. Genç erişkinler enfeksiyondan 70 gün sonra sağ kalbe gelip yerleşirler ve 90. güne kadar göçlerini tamamlayarak seksüel olgunluğa ulaşırlar. Vektör sivrisineklerin sonkonaktan kan emdiği ilk günden yaklaşık 190-197 gün (6-7 ay) sonra sonkonağın perifer damarlarında mikrofilere rastlanabilmektedir. *D. immitis* için prepatent süre 6-9 (ortalama 6,5) ay sürmektedir (13,47,81,86,92,172,189).



Şekil 1.5. *Dirofilaria immitis*'in biyolojik gelişimi (14).

1.5. Patogenez ve Klinik Bulgular

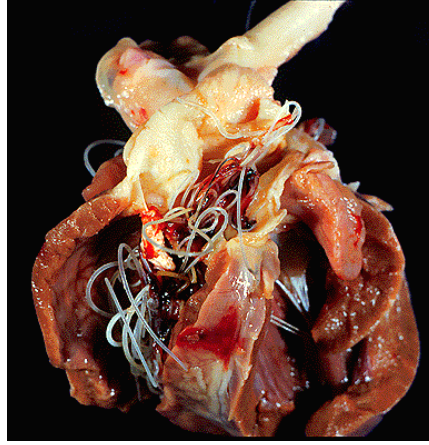
1.5.1. Patogenez

Son konaklar üzerinde patojen etkiyi L5, erişkin ve bazen de mikrofiler formları meydana getirmektedir. L3 ve L4 formlarının konak üzerinde herhangi bir patojen etkisi bulunmamaktadır. Ayrıca patojenite parazitin türüne, yerleşim yerine, sayısına, konağa, konağın bağışıklık durumuna bağlı olarak değişmektedir (92,107,185).

Dirofilaria immitis'in erişkinlerine sağ atrium'da, sağ ventrikülüs'de ve üst pulmoner arterlerde çok fazla sayıda rastlanabilmektedir. Erişkin parazitler Arteria pulmonalis'in intima katmanında irritasyona neden olurlar. Buna bağlı olarak endarteritis, endarteritisten dolayı da intimada kalınlaşma fibrozis ve trombüs oluşumu şekillenir. Trombüsler de akciğerde emboli oluşmasına neden olurlar. Ayrıca damarlarda daralma meydana gelir. Daralma sonucunda da pulmoner hipertansiyon ortaya çıkar. Erişkinler küçük dolaşımda durgunluk meydana getirerek akciğer ödemine, büyük dolaşımda durgunluk meydana getirerek asitese neden olurlar (16,75,84,172,185).

Kalbin sağ ventrikülüsüne yerleşen *Dirofilaria immitis*'in erişkinleri pompalanan kan miktarının azalmasına sebebiyet vermektedirler. Hastalığın "Caval Sendrom" olarak tanımlanan bu formu en ağır form olup genellikle köpeklerin ölümü ile sonuçlanmaktadır. Bu formda kalpteki erişkin parazit sayısı 50'nin üzerinde olduğunda sağ ventrikülüste tıkanma meydana gelir ve parazitler sağ atriuma geçer. Erişkin parazit sayısı 100'den fazla olduğunda ise sağ atrium ve ventrikülüs'ün yanı sıra vena cava caudalis ve vena hepatica tamamen parazitlerle dolar ve kalpten pompalanan kan miktarı oldukça azalır. Caval sendromda erişkin parazitler posterior vena cavaya geçerek karaciğerdeki venöz kan basıncını artırır (pasif venöz konjesyon) ve parankim dokuda hasara neden olurlar. Bu durumda karaciğer yetmezliği meydana gelir, alyuvarlarda kolesterol miktarı artar ve bu hücrelerin yapısı bozulur. Böylece köpeklerde hemoliz, anemi, hemoglobinuri ve bilirubinemi gibi klinik belirtiler şekillenir (15,81,92,95,107,185,201).

Erişkin parazitlerden dolayı pulmoner arterlerde yangısal bir reaksiyon oluşmakta, endotelde dejenerasyon şekillenmekte ve kanda pıhtılaşma meydana gelmektedir. Yangısal reaksiyon neticesinde arterlerde proliferasyon ve dolayısıyla tromboz ve vasküler permeabilite artışı oluşmaktadır. Permeabilite artışı da intersitisyel ve alveolar ödeme neden olmaktadır. Sağ ventrikülün yetersizliği ayrıca sağ ventriküler dilatasyondan, pulmoner hipertansiyondan ve sağ ventriküler hipertrofidan (cor pulmonale) kaynaklanmaktadır (15,75,81,92,201).



Şekil 1.6. Caval sendrom: kalbin sağ tarafında erişkin *Dirofilaria immitis* (92)

Dirofilaria immitis ile enfekte köpeklerde mikrofililer glomeruler epitelde traumalara ve amyloidosis oluşumuna sebebiyet verdikleri için böbreklerde glomerulonefritis şekillenebilmektedir. Ayrıca erişkinler vücutta parazit antijenlerine karşı antikor oluşumuna, antikorlarla antijenlerin birleşmesi neticesinde immun kompleks oluşumuna, bu immun komplekslerin taban membranında birikmesi neticesinde de böbreklerde glomerulonefritis şekillenmesine neden olmaktadır (75,78,81,92,185,201).

Dirofilaria immitis'in mikrofilierleri de patolojik lezyonların oluşmasına neden olmaktadır. Mikrofilier yoğunluğunun fazla olması durumunda vücutta parazite karşı antijen-antikor kompleksleri oluşmakta ve Tip-2 aşırı duyarlılık reaksiyonları oluşarak, hayvanlarda kaşıntılı-ülserli-nodüllü, kaşıntılı-papüllü-kabuklu, eritamatöz, allopsik, seboreik gibi değişik dermatitis tabloları şekillenebilmektedir (81,84,185).

Parazitin vücuda girmesiyle ortaya çıkan yangı hücrelerindeki artış ve pulmoner kapillarlardaki mikrofililerin yüksek antikor seviyesinden dolayı yıkımlanması sonucu akciğerlerde non-enfeksiyöz pneumoni yani pulmoner eozinofilik granulomatosis oluşabilmektedir. Ayrıca parazitlerin akciğerde ölümü neticesinde pulmoner tromboembolizm ve dolayısıyla akciğer parankim dokusunda periarteriel granulomlar gelişebilmektedir (15,92,95,195,201).

Dirofilaria immitis ile enfekte bir hayvandan alınan kan, daha önce bu hastalığa yakalanmış ve parazite karşı duyarlı hale gelmiş bir başka hayvana verilirse o hayvanda anafilaktik şok oluşabilmektedir (185).

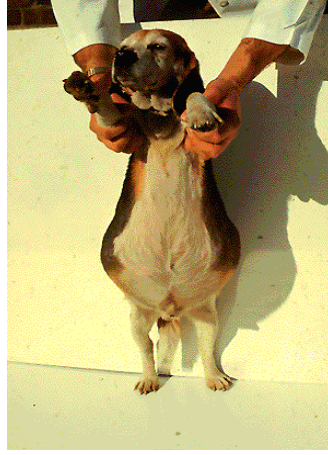
Yapılan bir çalışmada *D. immitis* ile enfekte köpeklerde, kalp için spesifik olan CK enzimi ile AST, ALT, ALP gibi karaciğer enzim seviyelerinin önemli derecede, serum total protein ve glikoz değerlerinin ise önemsiz derecede arttığı kaydedilmiştir. (101).

1.5.2. Klinik Bulgular

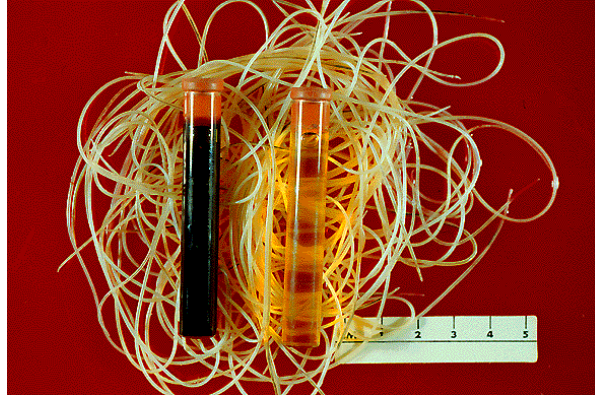
Dirofilaria immitis diğer hayvanlardan ziyade köpeklerde daha sık görülen bir nematoddur. Bazı köpekler *Dirofilaria immitis* ile enfekte oldukları halde herhangi bir klinik belirti göstermemektedirler. Klinik belirtiler, köpekte bulunan erişkin parazit sayısına, köpeğin yaşına, hastalığın köpekte bulunma süresine, parazitin köpektaki yerleşim yerine, köpeğin genel durumuna bağlı olarak değişiklik gösterir (84,185).

Parazit ile enfekte köpeklerde klinik belirtilerin görülebilmesi için köpeklerde 25 den fazla sayıda erişkin parazitin bulunması gerekmekte, parazit sayısının 100 ün üzerinde olması durumunda ise enfeksiyon ağır bir seyir izlemektedir. Klinik bulgu olarak, köpeklerde solunum güçlüğü, kuru ve kısık öksürük, sağ kalp yetmezliğinden dolayı kısa mesafeli koşulardan sonra bile yorulma, hareket güçlüğü, proteinüri, hematüri, hipoalbuminemi bronchopneumoni, karın ve göğüs boşluğunda sıvı toplanması (asites), burun kanaması gibi belirtiler görülür. Hastalığın en şiddetli formu olan Caval sendrom şekillenmiş bir köpekte ses kısıklığı, salyada kan izleri ve çabuk soluma, taşikardi, kollaps, sinkop (bilinç kaybı), asfeksi, anoreksi, kaşeksi, ekstremitelerde ödem, kalp ve akciğerde patolojik sesler, değişik tipte dermatitler,

iştahsızlık, aşırı zayıflama, sarılık, hepatomegali, idrarda safra tuzları, proteinüri, hematüri, hemoglobüri, hipoalbuminemi, bilirubinemi, bilirubinüri ve 1-2 gün içerisinde ölüm görülür (15,84,92,162,172,185,201).



Şekil 1.7. *Dirofilaria immitis* ile enfekte köpekte göğüs ve karın boşluğunda sıvı toplanması (Asites) (92)



Şekil 1.8. Caval sendromda hemoglobüri (soldaki), normal idrar (sağdaki) (92).

Dirofilaria immitis'in erişkinleri bazen kan yoluyla farklı doku ve organlara giderek yerleşebilmektedirler. Parazitler merkezi sinir sisteminde yerleştiğinde ataksi, salya artışı, konvülsyon, körlük, bitkinlik ve koma, göze yerleştiğinde ise gözyaşı akıntısı, fotofobi ve keratit gözlenir (92).

Diğer klinik belirtiler ise sekonder olarak enfeksiyonun etkisini sürdürdüğü organlara bağlı olarak şekillenmektedir. Endemik bölgelerde kardiovasküler bozukluklar ve akciğer komplikasyonları *Dirofilaria immitis*'i akla getirmelidir (84).

Dirofilaria immitis'le enfekte köpeklerin çoğunda elektrokardiografi (EKG) bulguları normal düzeylerde görülmektedir. Dinlenme esnasında enfekte köpeklerin elektrokardiogramları normal iken, kısa süreli koşma sonrasında T dalgası ters olabilmektedir (84,172). Ancak klinik tablonun ağır olduğu köpeklerin EKG'sinde sağ kalp hipertrofisini gösteren aritmi, sağ axis deviasyonu; toraks radyografisinde sağ ventriküler dilatasyon, akciğer arterlerinde genişlemeler ile akciğer loblarında intersitisyel veya alveoler infiltrasyon görülebilmektedir (29).

1.6. Epidemiyoloji

Dirofilaria immitis'in epidemiyolojisinde rol oynayan faktörler şunlardır:

- 1- Sıcaklık ve nem: Vektör sivrisinekler ancak belli bir sıcaklık ve nem aralığında yaşamlarını sürdürebilmektedir. Mikrofililerin vektör sivrisinekte gelişebilmesi için ideal sıcaklığın 24-32 °C arasında olması gerekmektedir. Hava sıcaklığı 16 °C'ın altına düştüğü takdirde mikrofililer sivrisinekte gelişme gösteremez (11,32,81,92,132,185,189).
- 2- Mevsim: Mikrofililer sayısı çevre sıcaklığına bağlı olarak yaz aylarında artış göstermektedir. Sivrisinek azlığından veya yokluğundan dolayı kış mevsiminde mikrofililerle bulaşma olmamaktadır. Nitekim parazite en sık oranda, sivrisinek popülasyonuna da bağlı olarak yaz aylarında rastlanmaktadır (32).
- 3- Vektör (arakanak) popülasyonu: Vektör sivrisinek sayısındaki artış, enfeksiyonun bulaşmasını kolaylaştırmaktadır (185).
- 4- Mikrofililer ve erişkin parazit sayısı: Klinik semptomların şiddeti köpekte bulunan erişkin parazit sayısı ile ilgilidir. Parazit sayısı ne kadar fazla ise hastalık o kadar şiddetli seyreder. Son konaktaki erişkin parazit sayısının 50'nin üzerinde olması ventrikulusta tıkanmaya, 100'den fazla olması ise kalbin sağ bölümünün tamamının parazitlerle dolmasına ve az miktarda kan pompalanmasına neden olmaktadır

(15,172,201). Sonkonak tarafından alınan mikrofilerlerin yaklaşık % 30-50'si erişkin hale gelebilmektedir (81).

5- Konak popülasyonu: Son konak sayısı ne kadar çok olursa vektör enfeksiyonu için de o kadar kaynak sağlanmış olur (185).

6- Konak bağışıklığı: Parazite karşı konakta herhangi bir bağışıklık gelişmesi söz konusu değildir. Ancak bazen immün kökenli reaksiyonlar oluşumu nedeniyle mikrofilerler ortadan kalkmakta ve erişkin dişiler steril kalabilmektedir (92,185,195,201).

7- Konağın yaşı: Konağın yaşının artmasıyla birlikte enfeksiyon oranının da arttığı görülmektedir (69,99,129,171,175).

8- Parazitin yaşam süresi: Erişkin parazitlerin üreme periyodu 2-7 yıl kadar sürebilmektedir. Mikrofiler ise 2-7,5 yıl canlı kalabilmektedir. Ayrıca erişkin parazit olmaksızın mikrofilerler kanda 2 yıl kadar canlı kalabilmektedirler (81,185,189,201).

9- İntrauterin bulaşma: *Dirofilaria immitis* mikrofilerlerinin transplasental yolla neonatal yavrulara geçişi de söz konusudur (172,185).

10-Mikrofileremi: *Dirofilaria immitis*'in mikrofilerleri günün her saatinde kanda görülebilmektedir. Ancak pulmoner arterler ile venalar arasındaki oksijen basıncı akşam ve gece saatlerinde düştüğü için mikrofilerler yoğun olarak akşam saatlerinde perifer kanda görülmektedirler. Yani larvalar nokturnaldır. Ayrıca toplam mikrofiler sayısının % 5-20 si perifer dolaşımında, geri kalanı ise iç organlarda özellikle de akciğerin küçük solunum kanallarının kan damarlarında bulunmaktadır (65,80,118,135,185,189).

Mikrofilerlerin kanda görülme saatleri ülkelere göre farklılık göstermektedir. Örneğin, Amerika Birleşik Devletleri'nde minimum mikrofileremi saat 11.00'da maksimum mikrofileremi ise 16.30'da görülmektedir. Fransa'da en az mikrofiler saat 8.00'da, en fazla mikrofiler ise saat 20.00'da; Çin Halk Cumhuriyeti'nde en az mikrofiler saat 06.00'da, en çok mikrofiler ise saat 18.00'da görülmüştür (84,172). Tanzanya'da ise en az mikrofiler saat 11.00'da, en fazla mikrofiler saat 22.00'da tespit edilmiştir (123). Kore'de yapılan çalışmada ise mikrofilereminin minimum olduğu saat 11.00, maksimum olduğu saat ise 21.00 olarak belirlenmiştir (154). Türkiye'de yapılan bazı çalışmalarda da en az mikrofiler sabah saat 6.00'da, en fazla mikrofiler ise 18.00-24.00 saatleri arasında görülmüştür (33,173).

Ayrıca konakta mikrofilere tespiti her zaman mümkün olmamakta, bazen köpeklerin %10-67'sinde erişkin parazit var olduğu halde mikrofiler görülememektedir. Bu duruma gizli (okult) enfeksiyon adı verilmektedir. Köpektaki erişkin parazitlerin aynı cinsiyette veya steril olması, immün reaksiyonlar neticesinde erişkin dişilerin mikrofiler üretiminin baskılanması veya mikrofilerlerin ortadan kalkmış olması, parazitlerin henüz gelişmemiş olması, özellikle kış aylarında mikrofilereminin düşük olması, mikrofilerisite etkili bir ilaç kullanımı gibi nedenlerden dolayı mikrofiler görülemeyebilmektedir. Bazen de köpekte mikrofiler tespit edilebilirken erişkin parazite rastlanamamaktadır. Mikrofilerlerin 2-7,5 yıl boyunca canlı kalabilmesi, mikrofilerlerin anneden yavruya transplasental yolla geçmiş olması, erişkin parazitlere karşı adultisit uygulanması gibi nedenlerden dolayı da erişkin parazitler görülemeyebilir (107,185,189,195,201).

Perifer kandaki mikrofiler yoğunluğunun zaman içerisinde basit harmonik bir dalga yapısını takip eden yükseliş ve düşüşüne periodisite adı verilmektedir. Periodisite, mikrofiler yoğunluğunun seyrine göre üç değişik formda sınıflandırılmaktadır:

A) Subperiodik Form: Dolaşımdaki mikrofiler yoğunluğunun belirli bir seviyede seyrederken belli zaman diliminde minimum ve maksimum değerlerin gözlemlendiği form.

B) Periodik Form: Dolaşımdaki mikrofiler yoğunluğunun çok az olduğu veya hiç olmadığı dönemde belli zaman diliminde maksimum değerlerin gözlemlendiği form.

C) Nonperiodik Form: Gün boyunca mikrofiler yoğunluğunda minimum seviyede değişikliğin görüldüğü form.

Periodisite ayrıca maksimum mikrofiler yoğunluğunun belirlendiği zaman dilimine göre de nokturnal (gece saatlerinde) ve diurnal (gündüz saatlerinde) form olarak sınıflandırılmaktadır (33,80). Yapılan bir çalışmada, *Dirofilaria immitis* ile enfekte iki köpekte perifer kandaki mikrofiler periodisitesi natif, sürme preparat, sayım kamarası ve membran filtrasyon yöntemleri ile araştırılmıştır. Köpeklerden 24 saat boyunca 2 saatlik aralıklarla kan alınmıştır. Bu işlem 2 gün arayla tekrarlanmış, sonuçta gözlenen ve teorik olarak beklenen mikrofiler yoğunlukları arasındaki en iyi uyumun membran filtrasyon testi ile olduğu, periodisitenin nokturnal ve subperiodik olduğu görülmüştür (33).

Dirofilariosisin bulaşmasında sivrisineğin yaşı, sivrisinek tarafından alınan mikrofiler sayısı, mevsim, sıcaklık gibi faktörler de rol oynamaktadır. Fazla miktarda mikrofilerli kan emen sivrisineklerin bir kısmı kan emdikten sonra ölmektedir (32). Özellikle kış aylarında sivrisinek olmaması veya çok az olması nedeniyle mikrofilerlerle bulaşma olmamaktadır. Mikrofilerlerin sivrisinekte gelişme gösterebilmesi için çevre sıcaklığının iki hafta boyunca 16 °C'ın altına düşmemesi gerekir. Sıcaklık bu değerin altına düşerse mikrofilerler sivrisinekte gelişme gösteremez (11).

Dirofilaria immitis'in prevalansı coğrafi yapıya ve yerleşim yerine göre değişebilmektedir. Yapılan çalışmalarda *Dirofilaria immitis*'in prevalansının dağlık alanlar ve şehirlere oranla deniz kenarında daha yüksek olduğu kaydedilmiştir (171). Türkiye'de yapılan çalışmalarda ise parazitin prevalansı şehir merkezlerine oranla köylerde daha yüksek oranda saptanmıştır (175). Turistlerin uluslararası seyahatlerini pet hayvanlarıyla birlikte yapmasının dirofilariosisin prevalansını artırabileceği unutulmamalıdır (128). Ayrıca prevalansın, ilaçla tedavi edilmemiş köpeklerde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (104).

1.7. Teşhis

Dirofilaria immitis'in teşhisinin yapılabilmesi için öncelikle hayvan sahibinden hastalığa yönelik olarak anemnez alınmalıdır. Hayvan sahibinden bölgedeki vektör sivrisinek popülasyonu ve hayvanda herhangi bir klinik belirti olup olmadığına dair bilgi alınmalıdır (108,185).

Dirofilaria immitis'i teşhis edebilmek amacıyla konvansiyonel, serolojik, moleküler biyolojik yöntemlerin yanı sıra radyolojik, ultrasonografik ve anjiyografik tanı yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerle mikrofilerlerin yanı sıra erişkin parazitlerin varlığı da tespit edilebilmektedir. Teşhis amacıyla kullanılan yöntemler şunlardır:

- a) Direkt Kan Muayenesi (Natif Yöntem) (48,100,143,185,195,201).
- b) Mikrohematokrit-Kapillar Sedimentasyon Yöntemi (48,143,195,201).
- c) Saponin Konsantrasyon Yöntemi (100,103,179).

- d) Modifiye Knott Tekniği (1,97,100,167,185,195,201).
- e) Membran Filtrasyon-Asit Fosfataz Histokimyasal Boyama Yöntemi (1,97,136,150,167,196,201).
- f) Serolojik Tanı Yöntemleri (49,76,89,97,142,143,185).
- g) Monoklonal antikorlar (3,142).
- h) Moleküler Biyolojik Yöntemler (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) (4,18,25,54,60,67,96,180)
- i) İmmunoblotting (139)
- i) Radyolojik, Anjiyografik, Ekokardiyografik, Elektrokardiyografik ve Ultrasonografik Yöntemler (57,75,107,108,134,172,189).

Mikrofilerlerin tür teşhisi yapılırken embriyolojik oluşumların yerlerine ve diğer morfolojik özelliklere bakılarak ayırım yapılabilmektedir. Bu embriyolojik oluşumların ön uca olan uzaklıkları ile mikrofilerlerin en ve boy ölçüleri dikkate alınarak tür ayırımı yapılmaktadır.

Tür teşhisleri yapılırken ayrıca mikrofilerlerin kandaki hareket tarzlarından, cm^3 kandaki sayılarından ve boyama yapıldığında boyanma sürelerinden de yararlanılmaktadır (65,118). Mikrofilerlerin hareket tarzları incelendiğinde, *Dirofilaria immitis*'in mikrofilerlerinin aniden başlayıp duran ve yılan vari kıvrılarak hareket ettikleri ancak mikroskop sahasını terk etmedikleri görülürken, *Acanthocheilonema (Dipetalonema) reconditum*'un mikrofilerlerinin ise ileri doğru düzgün bir şekilde hareket ettikleri, mikroskop sahasını terk ettikleri görülür (84,118).

Yapılan bir çalışmada, *Dirofilaria immitis* ile *Toxocara canis*, *Trichuris vulpis* ve *Ancylostoma caninum* arasında serolojik testlerde cross reaksiyon olup olmadığı araştırılmıştır. *D. immitis* ile enfekte serum örneği ile *T. vulpis* ve *A. caninum* crude extractları arasında cross reaksiyon tespit edilememiş ancak *T. canis*'e ait 44, 57, 88 ve 100 kDa ağırlığındaki protein bantlarının immunoblotting analizinde *D. immitis* ile güçlü bir cross reaksiyon belirlenmiştir. Bu durumun parazitin somatik yapılarındaki antijenik epitoplara bağlı olmasından kaynaklanabileceği belirtilmiştir (170).

Dirofilaria immitis ile *Dip. (Acanthocheilonema) reconditum*'u birbirinden ayırt etmeye yardımcı olan bir diğer fark da 1 ml kanda bulunan mikrofiler sayısıdır.

Dirofilaria immitis mikrofiler sayısı, *D. (Nochtiella) repens* ve *Dip. (Acanthocheilonema) reconditum* mikrofiler sayısından daha fazladır (84,118,172).

Yapılan bir çalışmada *D. immitis* mikrofilerlerinin tanısında kullanılan direkt kan muayenesinin sensitivitesi araştırılmış ve ml'de 50'den fazla mikrofiler bulunduğu takdirde direkt kan muayenesinin sensitivitesinin %100 olacağı kanısına varılmıştır (51).

Dirofilaria immitis'in teşhisinde kullanılan yöntemlerin sensitivite ve spesifiteleri karşılaştırıldığında köpekler için birden fazla teşhis metodunun birlikte kullanılması tavsiye edilmektedir. Ancak herşeye rağmen serolojik tekniklerin konvansiyonel parazitolojik tekniklerden daha duyarlı olduğu unutulmamalıdır (20).

1.8. Tedavi

Son yıllarda paraziter hastalıkların tedavisi, bu hastalıklardan korunma ve bu hastalıkları kontrol altında tutabilmek adına yoğun çabalar sarf edilmektedir. Bu amaçla, parazitlere karşı etkili aşilar geliştirilmeye çalışılmış, yeni kemoterapotik ajanlar üretilmeye başlanmış ve vektör kontrolü üzerine yoğunlaşmıştır. Bu çalışmaların sonuç verebilmesi, sensitif ve spesifik, prediktif ve prognozitik, ucuz ve kolay tanı metotlarının geliştirilmesine ve bu metotlarla sağlıklı verilerin toplanarak değerlendirilmesi neticesinde etkili korunma ve kontrol metotlarının ortaya konabilmesine bağlıdır (111).

Dirofilaria immitis ile enfekte bir köpeğin tedavisine başlamadan önce kalp, akciğer, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri yapılmalı, test sonuçlarına göre tedavi prensipleri belirlenmelidir. Aynı zamanda kullanılacak ilaçların dozunun da çok iyi ayarlanması gerekmektedir. Çünkü ilaç az miktarda verildiğinde erişkin parazitler ölmekte, çok miktarda verildiğinde ise hepatotoksik ve nefrotoksik etki nedeniyle karaciğer ve böbreklerde doku hasarı meydana gelmektedir (98,172,185).

Dirofilaria immitis'in tedavisinde önce erişkin parazitleri, daha sonra da mikrofileri öldürmek amaçlanmalıdır. Erişkin parazitlere karşı kullanılan ilaçlar şunlardır:

1- Thiacetarsamide Sodium (Arsenamide Sodium): İntra venöz (i.v.) olarak iki gün süreyle, günde 2 kez 2,2 mg/kg dozda uygulandığında erişkin parazitlere karşı etkili olmaktadır (15,84,92,97,125,172,185).

2- Melarsomine dihydrochloride: Üç-24 saat arayla, 2 gün süreyle ve 2,5 mg/kg dozda intramuskuler (i.m.) uygulandığında etkili olmaktadır. Hafif enfeksiyonlarda uygulama 4 ay sonra tekrarlanmalıdır. Ağır enfeksiyonlarda ise öncelikle hayvanlardaki diğer semptomlara yönelik tedavi uygulanarak genel durum düzeltilmeye çalışılır. Daha sonra 2,5 mg/kg dozda intramuskuler olarak melarsomine dihydrochloride tek doz olarak, bir ay sonra 24 saat ara ile iki doz olarak uygulanır (15,75,98,185).

3- Levamisole: Günlük 2,5 mg/kg dozda 2 hafta süreyle hergün uygulanır. Sonrasında 5 mg/kg dozda iki gün boyunca ve 2 hafta süreyle günde 10 mg/kg dozda uygulandığında etkili olur (62,185).

4- Prednisolan: Tedavi amacıyla 1-2 mg dozda birkaç gün oral yolla kullanılabilir (34,75).

Erişkin parazitlere yönelik olarak kullanılan ilaçlar tedavi esnasında tromboemboli oluşumuna neden olabilmektedir. Bunu engellemek için kanı sulandırıcı ve tromboz oluşumunu engelleyici ilaçlar da tedavi süresince kullanılmalıdır. Bu amaçla kullanılan ilaçlar ise şunlardır:

- a) Acetylsalicylic acid (Aspirin): Oral yolla 5-7 mg/kg 2-3 hafta süreyle kullanılabilir (34,185).
- b) Ticlopidine hydrochloride: Tedavi süresince hergün 108 mg/kg dozda verilebilir (185).
- c) Heparin: Her 8 saatte bir subcutan yolla 300 U/kg dozda uygulanabilir (185).

Mikrofilere yönelik tedaviye, erişkin parazitlere yönelik ilaç uygulamalarından 3-6 hafta sonra veya erişkinlerden kaynaklanan komplikasyonlar ortadan kalktıktan sonra başlanmalıdır (45,165).

Mikrofilere karşı kullanılan ilaçlar şunlardır:

- 1- Ivermectin: Oral yolla 0,05 mg/kg tek doz uygulanabilmektedir (98,185).
- 2- Levamisole: Oral yolla 11 mg/kg dozda, 1 hafta- 1 ay arasında değişen sürede kullanıldığında mikrofilere karşı etkilidir (62,185).
- 3- Milbemycin oxime: Oral yolla 0,5 mg/kg dozda kullanılabilir (34,98,185).

4- Dithiazanine-iodide: Oral yolla 4mg/kg dozda bir hafta boyunca uygulanabilir (34,62).

Ayrıca aşırı duyarlılığa bağlı olarak ortaya çıkan dermatitis tablosu tedavi sonrasında kendiliğinden ortadan kalkmaktadır (185).

Erişkin parazitler uygun antelmentiklerle öldürüldükten sonra yerleştikleri yerlerde ortaya çıkabilecek olan komplikasyonları önlemek amacıyla cerrahi yolla (arteriotomi) ortamdan uzaklaştırılabilmektedir. Bu amaçla özellikle boyundaki geniş venalardan (vena jugularis gibi) girilerek erişkin parazitler alınabilmektedir. Ancak operasyon için respirasyon aleti gerekliliği, mortalitenin kemoterapiden daha yüksek olması, tüm erişkinlerin damardan çıkarılamaması gibi nedenlerden dolayı arteriotomi pek tercih edilmemektedir (34,91,92,161,185).

1.9. Korunma ve Kontrol

Köpekleri *Dirofilaria immitis*'ten korumak için L3 ve L4'lere karşı etkin bir antihelmentik ilaç kullanılmalıdır. Antihelmentik ilaç kullanımına sivrisineklerin görülmeye başlandığı dönemden bir ay önce başlanmalı ve sivrisineklerin ortadan kaybolduğu dönemin bir ay sonrasına kadar devam edilmelidir (34,185).

Köpekleri *Dirofilaria immitis*'ten korumak için kullanılan ilaçlar şunlardır:

1- Ivermectin: Ayda bir kez 0,006 mg/kg dozda kullanılabilir. İlacın bu dozu Koli ırkı köpeklerde toksik etki yaratmamaktadır. Ancak bu köpeklerin 8 saat süreyle gözetim altında tutulması gerekmektedir (34,75,137,149,185).

2- Moxidectin: Ayda bir kez 0.003 mg/kg dozda kullanılabilir. Koli ırkı köpeklerde 30 kat doza çıkılması durumunda ataksi, salivasyon, depresyon gibi bulgular görülebilir (34,75,137).

3- Milbemycin oxime: Ayda bir kez 0,5 mg/kg dozda kullanılabilir (34,75,185).

4- Diethylcarbamazine (DEC): Günde 5,5-6,5 mg/kg dozda yiyeceklerle birlikte verildiğinde immatür parazitler gelişmemektedir. İlacın şurup ve tablet formları da vardır (15,62,98,106).

5- Selamectin: Ayda bir kez 0,6 mg/kg dozda topikal olarak uygulandığında etkili olmaktadır (15,26,34,75).

Birisi *Dirofilaria (Nochtiella) repens*, diğeri de *D. immitis* ile doğal enfekte iki köpek üzerinde yapılan bir çalışmada, bir organik arsenik bileşiği olan “Aricyl^R” ile levamisole preparatı olan “Citarin-L^R” nin parazitler üzerine etkisi incelenmiştir. Tedaviye başlamadan önce akşam saat 18.00’da alınan 1 cm³ kandaki mikrofilere sayısı, *D. immitis* ile enfekte köpekte 2250, *D. (Nochtiella) repens* ile enfekte köpekte 2530 olarak saptanmıştır. Köpeklere de önce iki hafta boyunca her gün 2,5 mg/kg dozda, sonra iki hafta ara ile iki defa 5 mg/kg dozda, derialtı yolla Citarin-L^R (levamisol) enjeksiyonu yapılmıştır. Levamisole uygulamasından 45 gün sonra da erişkin parazitlere karşı, 2,2 mg/kg dozda günde 2 defa 2 gün süreyle damar içi yolla Aricyl (arsenik bileşiği) verilmiştir. Sonra köpeklere otopsi yapılmıştır. Köpeklerden birinin sağ ventrikülünde 7 adet canlı *D. immitis*, diğeri ise sırtında, derialtı bağ dokusunda 1 adet canlı *D. (Nochtiella) repens*’e rastlanmıştır. Citarin-L^R ile tedaviden bir ay sonra yapılan muayenede mikrofilere sayıları *D. immitis* ile enfekte köpekte 26, *D. (Nochtiella) repens* ile enfekte köpekte 20 olarak belirlenmiştir. Tedavi sonrasında Aricyl^R’nin olgun parazitlere karşı etkili olmadığı, Citarin-L^R’nin ise gerek *D. immitis* ve gerekse *D. (Nochtiella) repens*’in mikrofilere karşı oldukça etkili olduğu görülmüştür (173).

Eskişehir’de yapılan bir çalışmada, 1.Taktik Hava Üs Komutanlığı’na ait, *Dirofilaria immitis* ile enfekte, 6-11 yaş arası Alman Kurt ve Kangal ırkı 14 köpek kullanılmış, bunlardan 10 u tedavi, 4 ü kontrol grubu olarak ayrılmıştır. Tedavi grubu olarak ayrılan köpeklere 2 hafta süreyle oral yolla 2,5 mg/kg dozda levamisol (Citarin-L^R) verilmiştir. Bu uygulamadan 15 gün sonra aynı ilaç 5 mg/kg dozda tekrar verilmiştir. İlk uygulamadan 35 gün sonra 5 gün süreyle 0,2 mg/kg dozda ivermectin (Ivomec^R) verilmiştir. Hayvanların vücut direncini artırmak amacıyla tedavinin 1. ve 30. günlerde derialtı yolla 50 mg dozda organik arsenik bileşiği (Aricyl^R) verilmiştir. İlaç uygulamalarından 30 gün sonra yapılan kan muayenelerinde, tedavi grubu olarak ayrılan köpeklerin 7 sinde mikrofilere görülmüş, 3 ünde görülmemiştir. Ivermectin uygulamasından bir ay sonra ise tedavi grubundaki hiçbir köpekte mikrofilere görülmemiştir. Üç ay sonra yapılan muayenelerde ise tedavi grubundan bir köpekte mikrofilere görülmüş, diğerlerinde görülmemiştir.

Levamisolun parazitin mikrofilerlerine karşı yeterince etkili olmadığı, ivermectinin ise etkili bir ilaç olduğu ifade edilmiştir (61).

Bir başka çalışmada, *D. immitis* ile enfekte 9 köpeğe iki gün süreyle günde iki kez 2.2 mg/kg dozda thiacetarsamide sodium uygulanmış, uygulamayı müteakip halsizlik ve iştahsızlığın düzeldiği, öksürüğün 15-20 gün içinde ortadan kalktığı görülmüştür (29).

Gemlik'te yapılan bir araştırmada *D. immitis* ile enfekte oldukları tespit edilen köpeklere ard arda iki gün 0,2 mg/kg dozda ivermectin (Ivomec) derialtı yolla uygulanmış ve uygulama sonrası 7, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180 ve 210. günlerde kandaki mikrofiler sayıları belirlenmiştir. Yapılan analizlerde, ilaç uygulamaları sonrasında mikrofiler sayısında ciddi oranda azalma tespit edilmiştir. Çalışma neticesinde ivermectinin etkili bir mikrofilarisid olduğu, 0.2 mg/kg dozun köpeklerde herhangi bir olumsuz etki göstermediği, aynı dozun 3 ay aralıklarla tekrarlanması durumunda parazitin yayılışının kontrol altında tutulabileceği kanısına varılmıştır (46).

Heartgard-30 (ivermectin) ve Interceptor (milbemycin oxime) isimli ticari preparatlar köpekleri dirofilariosisten korumada, hem erişkin parazitleri hem de mikrofilerleri ortadan kaldırmada etkili bulunmuştur. Bu preparatların 30 günde bir kullanımı yeterli olmaktadır. Ancak bu preparatlar köpeklerde kısa süreli ishallerle neden olmaktadır. Ayrıca diethylcarbamazine içeren Filaribits Plus isimli ticari preparat enfektif larvaları öldürebilmekte ancak erişkin parazitlere karşı fazla etkili olamamaktadır (132).

Vektör sivrisineklerin kontrolünde kullanılan yöntemlerin genel amacı ise, üreme alanlarını kurutmak, larva ve erişkinlerle ayrı ayrı mücadele etmek, sivrisineklerin hayvan ve insan barınaklarına girmesini engellemek, sivrisinek popülasyonunu azaltmaktır. Bu amaçla yapılan mücadele yöntemleri şunlardır:

a) Çevre Düzenlemesi: Çevre düzenlemesi vektörün üremesini engelleyecek şekilde yapılmalıdır. Vektör kaynakları kurutulmalı ve patojen-vektör-insan bağlantısı kesilmelidir. Larva üreme alanlarına drenaj kanalları açılmalı, kanalizasyon sistemleri iyi yapılmalı, su birikintileri ve bataklıklar kurutulmalı veya buralara belli periyotlarla insektisitler püskürtülmeli, su seviyesi ve akıntı hızı değiştirilmeli, konutlar sivrisinek üreme alanlarından uzakta inşa edilmelidir (94,98).

Kişisel kontrol tedbirleri de sivrisinek saldırılarından korunmak adına önem taşımaktadır. Bu amaçla kapı ve pencerelerde sineklik kullanılması, uyurken cibinlik kullanılması, akşam ve geceleri açık alanda oturulmaması, vücudun açık kısımlarına repellent sürülmesi önerilmektedir (94,98).

b) Biyolojik ve Mikrobiyal Kontrol: Biyolojik kontrolde amaç, zararlı bir artropoda karşı o zararlının patojeni, avcısı veya onunla yarışan başka bir organizmanın toksik maddeleri gibi biyolojik ajanları silah olarak kullanmaktır. Bu biyolojik ajanlar sadece hedef canlıyı etkilemekte ve diğer canlılara zarar vermemektedir. Ayrıca bu ajanlara karşı direnç gelişimi de söz konusu değildir. Ancak bu ajanların, suya uygulandıklarında dibe çökmeleri, uygun olmayan yerlerde birikmeleri, çevreden zarar görebilmeleri gibi dezavantajları vardır. Sivrisineklerin kontrolünde biyolojik ajan olarak sivrisinek balığı da denen *Gambusia affinis* türü balıklar yetiştirilebilir ki, bu balıklar sinek larvalarını yiyerek beslenmektedir. Sivrisinek larvalarını enfekte edebilen *Romanomermis culcivorax* adlı bir nematod ile *Nosema algerae* adlı bir protozoon da biyolojik kontrol amacıyla kullanılmış, ancak her ikisinin de kötü hava şartlarından etkilenmesinden dolayı kontrol değerinin düşük olduğu görülmüştür. Sivrisineklere özgü patojen bir bakteri olan *Basillus thuringiensis israelensis* de larvalarla mücadele amacıyla kullanılmıştır (94).

c) Genetik Kontrol: Genetik kontrolde amaç, bir defaya mahsus laboratuvar ortamında üretilen bir genotipin doğadakilerle değiştirilmesidir. Bu amaçla kimyasal kısırlaştırıcılar veya radyasyon kullanılarak erkek bireyler kısırlaştırılıp doğaya bırakılır. Bu yöntemle, sivrisineklerin bir çiftleşme sonrasında çok sayıda yumurta ürettikleri için zamanla doğada kısır birey sayısında artış kaydedileceği düşünülmüştür. Ancak bu denemeler sonrasında kısırlaştırılan erkeklerin doğaya uyum sağlayamaması nedeniyle popülasyonda kayda değer bir azalma olmadığı görülmüştür. Son yıllarda moleküler genetikte kat edilen gelişmeler doğrultusunda, hastalık ajanlarına dayanıklı genleri taşıyan ve doğadakilerle yarışabilen transgenik sivrisinek ırkları elde etmeye yönelik çalışmalar yapılmaktadır (94).

d) Kimyasal Kontrol: Kimyasal kontrol amacıyla kullanılan insektisitler kısa zamanda, kesin ve etkin sonuç alınmasını sağlamaktadır. İnsektisitler, mide zehiri olarak, sistemik zehir olarak, solunum zehiri olarak, su kaybı yaratarak, hormonal ve kimyasal inhibitör olarak etki gösterirler. Ancak son yıllarda hedef organizma

dışındakileri de etkilemesi, çevrede birikmesi, organizmada direnç geliştirmesi, maliyeti artırması gibi nedenlerden dolayı insektisitlerin kullanılmasına yönelik tepkiler artmıştır. Bütün bu olumsuzluklara rağmen insektisit kullanımı akılcı ve bilimsel değerlendirmeler neticesinde yapıldığı takdirde vazgeçilmez hale gelmiştir. Kimyasal kontrol amacıyla Propoxur, Dichlorvos (DDVP), Fenthion, Chlorpyrifos gibi karbamatlı ve organik fosforlu insektisitlerin yanı sıra DEET gibi böcek kovucular (repellent) ile Deltamethrin, Permethrin ve Cypermethrin gibi sentetik piretroitler kullanılmaktadır (94,98).

1.10. *Dirofilaria immitis*'in Zoonotik Önemi

Dirofilaria immitis mikrofilerleri insanlara vektör sivrisineklerin kan emmesi esnasında bulaşır ve bu mikrofilerler pulmoner ve subcutan dokulara, nadiren mezenterium, periton, scrotum gibi dokulara gelerek yerleşir. Ancak mikrofilerler gelişen Tip 1 immun yanıt nedeniyle ergin döneme ulaşamaz ve ölürler. Yani insanlarda ergin parazitler görülmeyeceği gibi, yeni bulaş olmadıkça kanda mikrofiler de görülmez (102,189). Sadece bir vakada ergin, dişi parazite bir kadının pulmoner arterlerinde rastlanmıştır (156). İmmun yanıt nedeniyle ölen mikrofilerler emboli şeklinde akciğer arterlerine gelerek burada hemorajik enfarktüs ve granülom oluştururlar. *Dirofilaria immitis*'ten kaynaklanan pulmoner olgularda klinik belirtilere rastlanmamakta, ancak bazen vaskülit, pulmoner enfarktüs ve parazitin çevresinde granülomlar oluşabilmektedir (184,189).

İnsanlarda dirofilariosise neden olan diğer türler ise *Dirofilaria (Nochtiella) repens* ve *D. tenuis*'tir (172,184). *Dirofilaria (Nochtiella) repens*'in olgunları sonkonakların derialtı bağ dokusunda, nadiren büyük damarlarda, periton boşluğunda, mezenterlerde, akciğerlerde, merkezi sinir sisteminde, paraoküler bölge, göz kapağı, burun kanatları, yanak, parmak arası, sırt ve karın gibi değişik bölgelerde derialtı nodülleri şeklinde, mikrofilerleri ise perifer kanda ve lenf aralıklarında görülür. Parazit gelişen immun yanıt nedeniyle insanlarda cinsel olarak olgunlaşmamakta ve mikrofileremi olmamaktadır. Klinik olarak genellikle bir

belirtiye rastlanmaz ancak bazen göğüs ağrısı, öksürük, hemoptizi, kaşıntılı-ağrılı şişkinlikler, ateş ve eozinofili görülebilir (65,93,172,184,189).

İnsanlarda dirofilariosisin tanısında güçlükler yaşanmaktadır. Derialtında veya gözde oluşan lezyonlar kolayca fark edilebilmekte iken akciğerdeki lezyonlar genellikle radyolojik veya diğer görüntüleme yöntemleri ile saptanabilmektedir. İnsanlarda mikrofilariemi ve belirgin derecede eozinofili olmadığı için tanıda çoğunlukla cerrahi yöntemlere başvurulmaktadır. Cerrahi yöntemlerle erginleşmemiş parazit elde edildiği zaman kütikulasının kalınlığına ve şekline bakılmaktadır. *Dirofilaria immitis*'in kütikulası 140-300 µm kalınlıkta ve düz olup, uzunlamasına çizgiler taşımamaktadır. *D. (Nochtiella) repens* ve *D. tenuis*'in kütikulası ise 220-600 µm kalınlıkta olup longitudinal ve enlemesine çizgiler taşımaktadır. Bu nedenle tanıda histopatolojinin önemi artmaktadır (189).

İnsanlarda dirofilariosisin teşhisinde Western Blot ve ELISA gibi serolojik yöntemlerin yanı sıra PZR, DNA dizi analizi gibi moleküler yöntemler de kullanılabilir. Moleküler yöntemlerin tanı amacıyla kullanılmasındaki zorluk cerrahi yolla parazitten parça elde edilmesinin gerekliliğidir. Ayrıca parazit ile enfekte insanlarda *Dirofilaria immitis*'in somatik veya ES antijenlerine karşı vücutta IgM, IgG ve IgE türü antikorlar gelişmektedir. Parazitin erişkin ve larval formlarında yüzey antijenleri de farklıdır. L3 formunda 6 ve 35 kDa'luk, erişkinlerde ise 14.5, 16, 17.5 kDa'luk polipeptidler ile 20 ve 40 kDa'luk glikoproteinler baskındır. Ancak her larval dönemin immun sistemden korunma yolu farklıdır. Ayrıca parazitin antijenik yapısının karışık olmasından dolayı serolojik tanıda zorluklar yaşanmaktadır (189).

İnsanlardaki pulmoner dirofilariosis olgularında 35 kDa ve 22 kDa'luk polipeptid karışımı tanıda spesifiktir. Ayrıca son zamanlarda parazite karşı P22U ve PLA2 kodlarıyla isimlendirilen rekombinant antijenler geliştirilmiştir. Ancak pulmoner dirofilariosis vakalarında tüberküloz, mantar enfeksiyonları, tümör ve tromboemboliler, derialtına yerleşenlerde ise neoplazmalar göz önünde bulundurulmalıdır (189).

Dirofilariosisin endemik olduğu bölgelerde yapılan serolojik çalışmalarda parazite özgü antikorların % 20 civarında tespit edilmesine rağmen çoğu olgunun gözden kaçtığı sanılmaktadır. *Dirofilaria immitis*'in insanlarda görülme oranı son yıllarda artmaktadır. Japonya'da 1998-2004 yılları arasında 24 kişide *Dirofilaria*

immitis kaynaklı vaka saptanmıştır. 1990–2003 yılları arasında 15 ülkeden toplam 130 kişide pulmoner dirofilariosis vakası gözlenmiştir (189).

Dirofilariosis, insanlarda nadiren görülmekle beraber dünyanın birçok yerinde sporadik olarak seyretmektedir (93,189). İnsanlarda dirofilariosis, Türkiye, Amerika'nın sıcak ve tropik kesimleri, Güney Asya, Avrupa, Afrika, Japonya, Yunanistan, Brezilya, Ukrayna, Hindistan, Sri Lanka, Avustralya ve İsrail'de görülmüştür (75,109,184,189). Dünyanın çeşitli yerlerinde 1957 yılında 37 kişide, 1962 yılında 44 kişide (118), son 30 yılda Florida'da yaklaşık 100 kişide (132) *Dirofilaria immitis* vakası rapor edilmiştir.

Dirofilariosis için en yüksek prevalans % 66 oranında İtalya'da tespit edilmiştir. Fransa'da % 22, Yunanistan'da % 8, İspanya'da % 4 oranında prevalans belirlenmiştir. Vakaların çoğunluğunun *Dirofilaria (Nochtiella) repens*'ten kaynaklandığı görülmüştür (184,189).

El Salvador'un Sonsonate şehrinde 66 yaşındaki bir kadında erişkin, olgunlaşmamış *D. immitis*'e rastlanmıştır. Kadında o güne kadar herhangi bir semptom gözlenmemiş, ancak sağ akciğer röntgeninde 5 cm büyüklüğünde düğme şeklinde bir görüntü elde edilmiştir. Granulomanın histolojik muayenesinde küçük arterlerin içerisinde boyu 602 µm, kutikulası 10–12 µm olan *D. immitis* erişkini tespit edilmiştir (156).

Kolombiya'da Amazon nehri kenarında Hindistan'dan gelen insanların yerleştiği bölgede, 55 kişiden 18'i rasgele seçilmiş ve erişkin somatik antijenleri ile E/S antijenlerinin kullanıldığı iki farklı ELISA testiyle dirofilariosisin prevalansı araştırılmıştır. Knott Testi ile de mikrofilere aranmış ancak insanlarda mikrofilere rastlanmamıştır. Erişkin somatik antijenlerinin kullanıldığı ELISA ile 9 kişi, E/S antijenlerinin kullanıldığı ELISA ile ise 8 kişi seropozitif bulunmuştur (192).

Japonya'da dört kişide *D. immitis* olgusu saptanmıştır. Bu olguların dördünün de ortak noktası hiçbirinde solunum sistemine ait semptomların görülmemesi ve köpeklerde temasın olmamasıdır. Hastaların röntgen muayenelerinde sağ akciğerin orta kısmında yuvarlak nodüller görülmüştür. Üç hastanın hematolojik değerleri normal olarak tespit edilirken, bir hastada eozinofili belirlenmiştir. Histolojik muayenede koagülasyon nekrozu, fibrozis, nodül kenarında granülasyon tespit edilmiştir. Gümüş boyamayla da nodül içerisindeki yapılar görülmüştür.

Immunohistokimyasal olarak somatik kas hücreleri anti-dirofilaria antikorları ile boyanmıştır (88).

Dirofilaria (Nochtiella) repens Türkiye’de ilk kez 1944 yılında bildirilmiştir. Eskişehir’de ilk kez 1998 yılında *D. (Nochtiella) repens*’e bir kadında rastlanmıştır. Yapılan histolojik muayene sonrasında *D. (Nochtiella) repens* için tipik olan çok katlı kütikula ve dış kütikular tabakadaki belirgin longitudinal uzantılar görülmüştür (93).

Adana’da bir erkeğin gözünde 44 mm uzunluğunda 320 µm genişliğinde *D. (Nochtiella) repens*’in subkonjunktival olarak yerleştiği görülmüştür (109).

Kuzey Kore’de rutin muayene için hastaneye gelen bir kişide ilk kez karaciğerin sağ lobunda *D. immitis* görülmüştür. Aynı hastanın kan serumu ile yapılan antikor ELISA testi ile *D. immitis* pozitif sonuç alınmıştır (102).

Dirofilariosisin erkeklerde kadınlara göre 2:1 oranında görülmekte olduğu ve 50-60 lı yaş grubunda daha sıklıkla rastlandığı ifade edilmiştir (184).

İnsanlarda dirofilariosis vakalarının tedavisinde parazitlerin cerrahi yolla çıkarılması ve destek tedavisi önerilmektedir. İlaç olarak ise ivermectin ve DEC 2 mg/kg dozda dört hafta süreyle kullanılmalıdır (189).

Endemik bölgelerde insanların enfeksiyondan korunması için sivrisineklerle mücadele edilmesi ve repellent veya cibinlik kullanılması gerekmektedir (189).

1.11. *Dirofilaria immitis*’in Yaygınlığı

1.11.1. Dünyada *Dirofilaria immitis*’in Yaygınlığı

Dirofilaria immitis ilk kez 1856 yılında Leidy tarafından Alabama’dan Filadelfiya’ya getirilen bir köpekte bildirilmiştir (90). Dünya’da *Dirofilaria* ve *Acanthocheilonema* cinsi nematodların köpeklerdeki yaygınlığı üzerine yapılan çalışmalar ve kullanılan teşhis yöntemleri Tablo 1.1’de gösterilmiştir.

Tablo 1.1. Dünya’da köpeklerde *Dirofilaria* ve *Acanthocheilonema* cinsi nematodların yayılışı

Ülke	Teşhis yöntemi	İncelenen köpek sayısı	Prevalans (%)	Parazit Türü	Literatür No
Hindistan	NB	112	15.2	<i>D. immitis</i>	99
Kanada	SY	344.031	0.16-0.59	<i>D. immitis</i>	104,138
Malezya	MY, SY	764	25.8	<i>D. immitis</i>	153
ABD	SY, MM	5980	0.5	<i>D. immitis</i>	182
			0.1	<i>A. reconditum</i>	
	MM	6977	6.16	<i>D. immitis</i>	148
			5.37	<i>A. reconditum</i>	
	NB	61	55	<i>D. immitis</i>	89
	NB	87	39	<i>D. immitis</i>	68
	SY, MM	4350	0.4	<i>D. immitis</i>	181
			1.1	<i>A. reconditum</i>	
MM	103	21.4	<i>D. immitis</i>	147	
		9.7	<i>A. reconditum</i>		
Missouri, Missisipi nehri kenarı	MM	11823	3.8	<i>D. immitis</i>	152
			0.1	<i>A. reconditum</i>	
Irak	NB	20	15	<i>D. immitis</i>	176
Mozambik	MM	13	30.7	<i>D. immitis</i>	164
			7.6	<i>A. reconditum</i>	
Hollanda	MM	631	10	<i>D. immitis</i>	87
	MM, SY	7	7	<i>D. immitis</i>	128
Japonya	NB	500	46.8	<i>D. immitis</i>	135
Avustralya	NB, SY, MM	404	15	<i>D. immitis</i>	24
	MM	1428	1.2	<i>D. immitis</i>	44
Montana	MM, SY	3490	0.6	<i>D. immitis</i>	105
Kuzey Kore	SY	848	40	<i>D. immitis</i>	171
	MM, SY	127	10.2-28.3	<i>D. immitis</i>	116
İtalya	MM, SY	2406	13.5	<i>D. immitis</i>	71
			0.6	<i>N. repens</i>	
Kolombiya	MM, SY	13	69.2	<i>D. immitis</i>	192
İspanya	MM, SY, MY	Toplam 2802	0-67.02	<i>D. immitis</i>	19,35,129,169
		188	3.7	<i>A. reconditum</i>	129
		114	84.6	<i>D. repens</i>	35
Arjantin	MM	*	0-71	<i>D. immitis</i>	191
	SY	782	5.1	<i>D. immitis</i>	157
Brezilya	MM, SY, NB	Toplam 5185	0-73.5	<i>D. immitis</i>	10,20,31,40,73,74,115
Tayvan	NB, MM,SY	244	40.6	<i>D. immitis</i>	194
	SY	664	13.4	<i>D. immitis</i>	69
	NB	837	57	<i>D. immitis</i>	198
	MM	1228	26.5	<i>D. immitis</i>	198
Meksika	NB, MM, MY	Toplam 1333	1.3-59.8	<i>D. immitis</i>	28,38,41
Almanya	SY	332	0	<i>D. immitis</i>	146
Gabon	SY	198	13.6	<i>D. immitis</i>	55
Dominik Cumhuriyeti	SY	104	18.2	<i>D. immitis</i>	66

MM: Mikroskopik Muayene; NB: Nekropsi bulgusu; SY: Serolojik Yöntem; MY: Moleküler Yöntem

*Kaç örnekte tespit edildiği bilinmiyor

Dirofilaria immitis diğer hayvanlarda da görülebilen bir nematodtur. Yapılan çalışmalarda ABD’de koyotelerde (*Canis latrans*) % 16 oranında (133), İtalya’da kedilerde % 16 oranında (113), Avustralya’da 8 kırmızı tilkide (122), Kuzey Kore’de bir hayvanat bahçesinde Avrasya su samurunda (124), Nebraska’da 39 koyote ve 1 kırmızı tilkide (147), Japonya’da 8 rakunda (131) ve bir kar leoparında (130) *D. immitis*’e rastlanmıştır.

Dirofilaria immitis ile enfekte köpeklerde antikor yanıtını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, bir grupta larva inokülasyonundan 16 hafta sonra, bir grupta da 11 hafta sonra antikor titreleri belirlenebilmiştir (79).

İspanya’da Barcelona yakınlarında Baix Llobregat bölgesinde ışık tuzakları kullanılarak *Dirofilaria immitis*’in enfektif dönemi olan L3’ü araştırmak için yakalanan 2245 adet sivrisinek iki farklı yöntemle incelenmiş ve *Dirofilaria immitis* için *Culex pipiens*’in diğer türlere oranla daha iyi bir vektör olduğu, ancak diğer sivrisineklerle de *Dirofilaria immitis*’in rahatça bulaştırılabileceği belirtilmiştir (19).

Brezilya’da 1995-1999 yılları arasında yapılan çalışmada 6579 dişi sivrisineğin muayenesinde 8 adet *Culex quinquefasciatus* türü sivrisineğin *D. immitis* larvalarıyla enfekte olduğu görülmüştür (31).

1.11.2. Türkiye’de *Dirofilaria immitis*’in Yaygınlığı

Dirofilaria immitis Türkiye’de ilk kez 1951 ve 1959 yıllarında yabancı orijinli iki köpekte bulunmuştur (84,145). Daha sonra yapılan çalışmalarda prevalansın % 0 ile % 65.4 arasında değiştiği görülmüştür (2,53).

Konya’da yapılan bir çalışmada otopsi yapılan 4 köpeğin *D. immitis* ile enfekte olduğu görülmüştür (39). Kayseri’de yapılan bir çalışmada *D. immitis* ile enfekte köpeklerin 8 inde (% 29.6) gizli enfeksiyon tespit edilmiştir (202,204). Elazığ’da bir çalışmada 53 köpekte *Dirofilaria* cinsi nematod larvasına rastlanmış (177), Elazığ, Mersin, Sakarya, Kocaeli ve Ankara’dan toplanan 211 tam kan ve serum örneğinin incelendiği bir başka çalışmada ise 27 sinde (% 12.8) seropozitiflik saptanmış, ancak aynı örneklerle yapılan PZR’de parazite özgü bantlar elde edilememiştir (166).

Türkiye’de *Dirofilaria* ve *Acanthocheilonema* cinsi nematodların köpeklerdeki yaygınlığı üzerine yapılan çalışmalar ve kullanılan teşhis yöntemleri Tablo 1.2’de gösterilmiştir.

Tablo 1.2. Türkiye’de köpeklerde *Dirofilaria* ve *Acanthocheilonema* cinsi nematodların yayılışı

Şehir	Teşhis Yöntemi	İncelenen köpek sayısı	Parazit türü	Prevalans (%)	Literatür No
Afyon	MM	137	<i>Dirofilaria sp.</i>	3,6	110
Ankara	NB	627	<i>D. immitis</i>	0,6	145
	NB	27	<i>D. immitis</i>	12,1	206
	NB	33	<i>D. immitis</i>	9,1	207
	MM, SY	280	<i>D. immitis</i>	9,3	139
	MM	300	<i>D. immitis</i>	6,3	201
	SY	32	<i>D. immitis</i>	28	29
	MM	50	<i>D.repens</i>	4	63
Aydın	MM	158	<i>D. immitis</i>	13,9	193
	MM, SY, NB, MY	122	<i>D. immitis</i>	12,3	158
Bursa	NB	100	<i>D. immitis</i>	2	183
	MM	168	<i>D. immitis</i>	3	46
	MM	1000	<i>D. immitis</i>	0,2	199
Elazığ	MM	283	<i>D. repens</i>	7,1	177
	MM, NB	120	<i>D. immitis</i>	5	178
			<i>D. repens</i>	2,5	
	MM, SY	120	<i>D. immitis</i>	9,1	23
SY, MY	211	<i>D. immitis</i>	12,8	166	
Erzincan	MM, SY	100	<i>D. immitis</i>	12	112
Eskisehir	MM, NB	20	<i>D. immitis</i>	30	162
	MM	146	<i>Dirofilaria sp.</i>	1,4	110
Gemlik	MM	168	<i>D. immitis</i>	2,98	46
Hatay	MM, SY	269	<i>D. immitis</i>	26	200
Iğdır	SY	100	<i>D. immitis</i>	40	159
İstanbul	MM	286	<i>A. reconditum</i>	0,7	186
	SY	263	<i>D. immitis</i>	1,5	141
İzmir	SY	117	-	-	141
	MM, SY, NB, MY	28	-	-	158
Kars	NB	42	<i>D. immitis</i>	14,3	188
	MM	209	<i>Dirofilaria sp.</i>	14,83	179
Kayseri	NB	50	<i>D. immitis</i>	12	174
	MM, SY, MY	280	<i>D. immitis</i>	9,6	202,204
Kırıkkale	MM, SY	172	<i>D. immitis</i>	5,8	203
Samsun	SY	100	-	-	53
Sivas	NB	60	<i>D. immitis</i>	5	22
	NB	50	<i>D. immitis</i>	6	21
Şanlıurfa	MM	92	<i>Dirofilaria sp.</i>	7,6	175
Van	MM, SY	106	<i>D. immitis</i>	46,2	2
	SY	101	<i>D. immitis</i>	17,8	77

MM: Mikroskopik Muayene; NB: Nekropsi bulgusu; SY: Serolojik Yöntem; MY: Moleküler Yöntem

Kars'ta dirofilariosis, Iğdır yöresinde ise *Dirofilaria immitis*'in prevalansı ile ilgili birer çalışma varken (159,179), gerek Kars gerekse Iğdır yöresinde *D.immitis*'in vektörlüğünü yapan potansiyel sivrisinek türlerinin dağılımının belirlendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada Dünya'nın çeşitli ülkerinde olduğu gibi Türkiye'de de son yıllarda önem kazanan ve bir helminto-zoonoz olan *Dirofilaria immitis*'in Membran Filtrasyon-Asit Fosfataz Histokimyasal Boyama, ELISA ve PZR yöntemleri ile Kars ve Iğdır civarındaki yaygınlığının yanı sıra gizli enfeksiyonların tespit edilmesi, ırk, yaş, cinsiyet gibi epidemiyolojik faktörlerin enfeksiyonun yayılmasındaki rolünün ortaya konulması ve aynı zamanda bu bölgelerde *Dirofilaria immitis*'in muhtemel vektörleri olan sivrisinek türlerinin ve bu vektörlerin dağılımında rol oynayan ekolojik faktörlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. MATERYAL

2.1.1. Sivrisinek Örneklerinin Toplanması

Bu çalışmanın yürütüldüğü alan Kars Platosu ve Iğdır Ovası'ndan oluşmaktadır. Bu iki farklı ekosistem yapısında Kars Platosu'nun genel özelliklerini yansıtabilecek şekilde bu platodaki Kümbetli Köyü; Iğdır Ovası'nda Zülfikar Köyü sivrisinek toplama alanı olarak belirlendi. Sivrisinek örnekleme Temmuz, Ağustos ve Eylül 2009 süresince ayda bir kez, Kümbetli ve Zülfikar köylerinde kurulan hayvan cibinlikleriyle gerçekleştirildi. Cibinlikler kurulurken, önce cibinliklerin sabit durmasını sağlayan 230 cm yüksekliğindeki demirlerin uç kısmı yere çakıldı ve 200 x 200 x 150 cm ebatlarındaki cibinlikler bağlama yerlerinden demirlere bağlandı. Sivrisineklerin içeri girebilmesi için cibinlikler yerden 30 cm kadar yüksekte olacak şekilde ayarlandı. Akşam saat 18.00 den sonra bu köylerden ikişer köpek belirlenerek cibinlikler içerisine konuldu. Hayvan sahiplerinden alınan bilgiler doğrultusunda köpeklerin yaşı, cinsiyeti, adı, ırkı, köpek sahibinin adı, soyadının yanı sıra odağın vejetasyon ve arazi özellikleri, odağın sıcaklığı, nem oranı, cibinliklerin kurulduğu tarih, saat ve GPS yardımıyla odağın koordinatları kaydedildi. Ertesi gün sabah saat 6.30 civarında sivrisineklerin toplanması için köpekler cibinliklerden dışarı çıkarıldı ve odağın sıcaklığı, nem oranı, sivrisineklerin toplandığı tarih ve saat tekrar kaydedildi. Toplanan sivrisinekler plastik bardakların içerisine alınarak ve bardakların ağzı tül ile kapatılarak aynı gün Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Ekoloji Laboratuvarı'ndaki iklim odasına getirildi. Her bir cibinlikten toplanan sivrisinek örnekleri ayrı muhafaza kabinlerine alındı ve kabinlere sivrisineklerin toplandığı yer ve tarih yazıldı. Daha sonra *Dirofilaria immitis*'in L3 formunun gelişimini sağlamak amacıyla 15 gün boyunca canlı kalabilmeleri için sinekler içme suyu ve şekerli su ile beslendi.



Şekil 2.1. Sivrisinek örnekleri toplamak için kurulan cibinlik



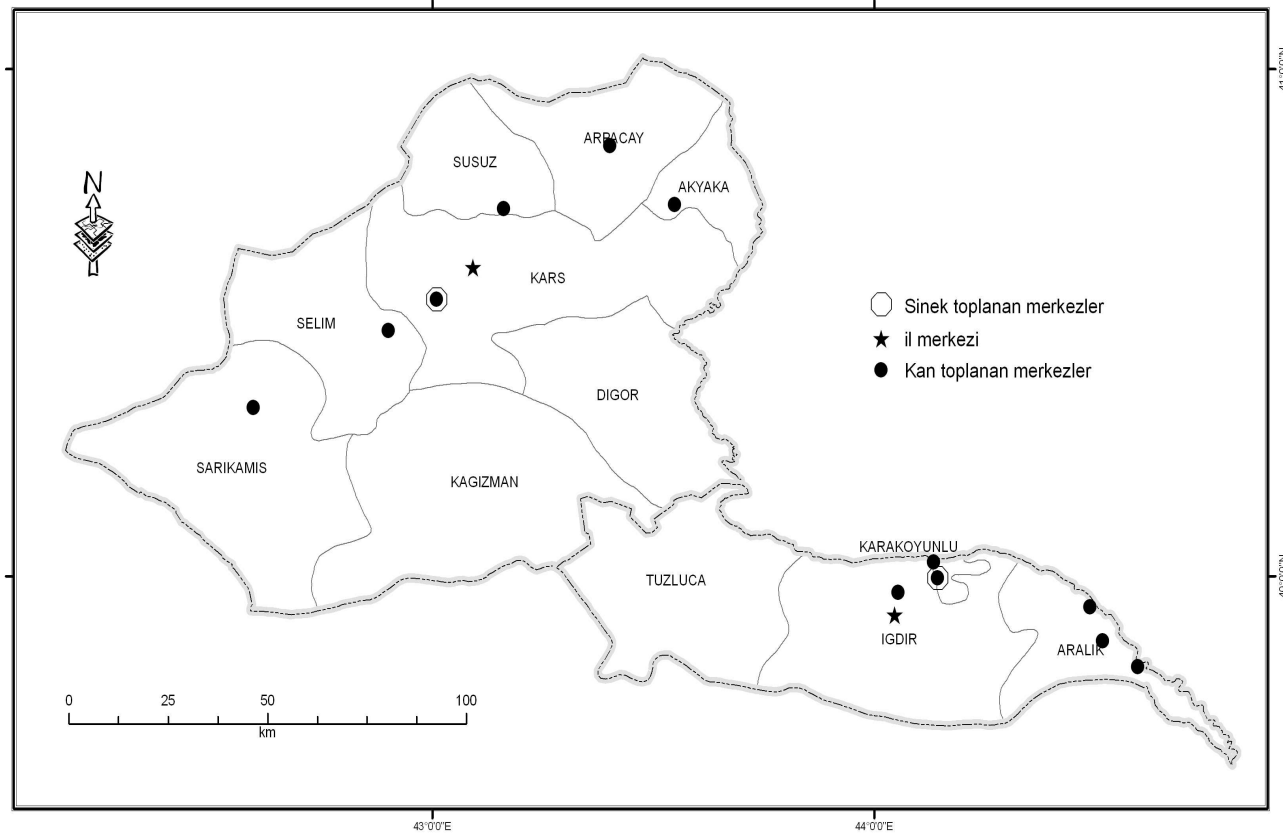
Şekil 2.2. Cibinlik içerisindeki sivrisinekler toplanırken

2.1.2. Köpeklerden Kan Örneklerinin Toplanması

Epidemiyolojik çalışmalarda incelenecek numune sayısının belirlenmesinde yararlanılan ilgili literatür (37) doğrultusunda, 1 Eylül-31 Ekim 2009 tarihleri arasında, 12 odaktan rastgele seçilen değişik yaş, cinsiyet, ırk ve renkte, sahipli, dışarıda barındırılan ve tedavi veya koruyucu amaçla herhangi bir ilaç uygulanmamış 240 köpeğin *V.cephalica antebrachii*'sinden 16⁰⁰-20⁰⁰ saatleri arasında heparinli, EDTA'lı ve normal tüplere kan örnekleri alındı. Kan örneği alınan köpeklerin yerleşim yeri, varsa adı, ırkı, yaşı, rengi ve cinsiyeti, hayvan sahibinin adı, köpekte herhangi bir klinik belirti olup olmadığı, kan alma tarihi ve zamanı kaydedildi.

Köpek kan örneklerini toplamak amacıyla, önceden belirlenen odaklara saat 15.30 civarında gidilerek gerekli hazırlıklar yapıldı ve saat 16.⁰⁰-20.⁰⁰ saatleri arasında kan örnekleri alındı. Köpeklere, zararsız hale getirmek amacıyla sahiplerinin yardımıyla ağız maskesi takıldı ve kan alma sırasında eldiven, önlük, maske kullanıldı. Tekniğine uygun olarak *V. cephalica antebrachii*'nin seyrettiği bacak bölgesinin kılları jiletle temizlenerek % 70'lik alkolle dezenfekte edildi. Daha sonra EDTA'lı, Heparin'li ve normal tüplere plastik enjektörle ortalama 5'er ml kan alındı. Kan örnekleri incelenmek üzere Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na getirildi.

Heparin'li tüplere alınan kan örnekleri Membran Filtrasyon-Asit Fosfataz Histokimyasal Boyama yöntemi ile aynı gün veya +4 °C'da bekletilip ertesi gün incelemeye tabi tutuldu. Normal tüplere alınan kan örneklerinin laboratuvarında sanrifüj edilerek serumları çıkarıldı ve inceleninceye kadar -20 °C'da muhafaza edildi. EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri de yine inceleninceye kadar -20 °C'da muhafaza edildi.



Şekil 2.3. Kars ve Iğdır illerinde materyal toplanan merkezler



Şekil 2.4. Köpeklerden kan örnekleri alınırken

Materyal toplanan odaklar ile bu odaklardan toplanan numune sayıları Tablo 2.1’de verilmiştir.

Tablo 2.1. Materyal toplanan odaklar ve kan alınan köpek sayıları

Yerleşim Yeri	Kan Alınan Köpek Sayısı
Iğdır/ Karakoyunlu/ Zülfikar	15
Iğdır/ Merkez/ Akyumak	15
Iğdır/ Karakoyunlu/ Mürşitali	18
Iğdır/ Aralık/ Gödekli	22
Iğdır/ Aralık/ Hacıağa	24
Iğdır/ Aralık/ Merkez	26
Kars/ Merkez/Kümbetli	26
Kars/ Akyaka/ Şahnalar	20
Kars/ Arpaçay/ Tomarlı	20
Kars/ Susuz/ Çamçavuş	12
Kars/ Selim/ Benliahmet	25
Kars/ Sarıkamış/ Merkez	17
TOPLAM	240

İncelenen köpeklerin yaşa göre dağılımı Tablo 2.2’de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. İncelenen köpeklerin yaşa göre dağılımı

Yerleşim yeri	Yaş			İncelenen Köpek Sayısı
	0,5-3	4-6	≥7	
İğdır/ Karakoyunlu/ Zülfikar	11	3	1	15
İğdır/ Merkez/ Akyumak	9	3	3	15
İğdır/ Karakoyunlu/ Mürşitali	9	4	5	18
İğdır/ Aralık/ Gödekli	14	6	2	22
İğdır/ Aralık/ Merkez	21	3	2	26
İğdır/ Aralık/ Hacıağa	18	6	-	24
Kars/ Merkez/Kümbetli	16	5	5	26
Kars/ Akyaka/ Şahnalar	7	10	3	20
Kars/ Arpaçay/ Tomarlı	12	7	1	20
Kars/ Susuz/ Çamçavuş	4	7	1	12
Kars/ Selim/ Benliahmet	10	6	9	25
Kars/ Sarıkamış/ Merkez	11	6	-	17
TOPLAM	142	66	32	240

Yaşa göre dağılıma bakıldığında incelenen köpeklerin 142 sinin 0,5-3 yaş arası, 66 sının 4-6 yaş arası ve 32 sinin 7 yaş ve üzeri olduğu görüldü.

İncelenen köpeklerin cinsiyetlerine göre dağılımı Tablo 2.3’te gösterilmiştir.

Tablo 2.3. İncelenen köpeklerin cinsiyete göre dağılımı

Yerleşim yeri	Cinsiyet		İncelenen Köpek Sayısı
	Dişi	Erkek	
İğdır/ Karakoyunlu/ Zülfikar	4	11	15
İğdır/ Merkez/ Akyumak	1	14	15
İğdır/ Karakoyunlu/ Mürşitali	3	15	18
İğdır/ Aralık/ Gödekli	5	17	22
İğdır/ Aralık/ Merkez	13	13	26
İğdır/ Aralık/ Hacıağa	-	24	24
Kars/ Merkez/Kümbetli	5	21	26
Kars/ Akyaka/ Şahnalar	-	20	20
Kars/ Arpaçay/ Tomarlı	5	15	20
Kars/ Susuz/ Çamçavuş	1	11	12
Kars/ Selim/ Benliahmet	5	20	25
Kars/ Sarıkamış/ Merkez	6	11	17
TOPLAM	48	192	240

Cinsiyete göre dağılıma bakıldığında incelenen köpeklerin 192 sinin erkek ve 48 inin dişi olduğu görüldü.

İncelenen köpeklerin renklerine göre dağılımı Tablo 2.4'te gösterilmiştir.

Tablo 2.4. İncelenen köpeklerin renklerine göre dağılımı

Yerleşim yeri	Renk				İncelenen Köpek Sayısı
	Beyaz	Siyah	Gri	Kahverengi	
İğdır/ Karakoyunlu/ Zülfikar	12	1	-	2	15
İğdır/ Merkez/ Akyumak	9	3	-	3	15
İğdır/ Karakoyunlu/ Mürşitali	9	7	1	1	18
İğdır/ Aralık/ Gödekli	12	4	-	6	22
İğdır/ Aralık/ Merkez	14	6	1	5	26
İğdır/ Aralık/ Hacıağa	15	3	-	6	24
Kars/ Merkez/Kümbetli	13	1	3	9	26
Kars/ Akyaka/ Şahnalar	6	1	7	6	20
Kars/ Arpaçay/ Tomarlı	9	5	4	2	20
Kars/ Susuz/ Çamçavuş	7	3	2	-	12
Kars/ Selim/ Benliahmet	16	6	3	-	25
Kars/ Sarıkamış/ Merkez	-	5	-	12	17
TOPLAM	122	45	21	52	240

Vücut rengine göre dağılıma bakıldığında incelenen köpeklerin 122 sinin beyaz, 52 sinin kahverengi, 45 inin siyah ve 21 inin gri renkli olduğu görüldü.

İncelenen köpeklerin ırka göre dağılımı Tablo 2.5'te gösterilmiştir.

Tablo 2.5. İncelenen köpeklerin ırka göre dağılımı

Yerleşim yeri	İrk				İncelenen Köpek Sayısı
	Kangal	Kangal Melezi	Yerli	Karma	
İğdır/ Karakoyunlu/ Zülfikar	-	10	-	5	15
İğdır/ Merkez/ Akyumak	1	5	3	6	15
İğdır/ Karakoyunlu/ Mürşitali	3	1	13	1	18
İğdır/ Aralık/ Gödekli	3	3	12	4	22
İğdır/ Aralık/ Merkez	-	2	17	7	26
İğdır/ Aralık/ Hacıağa	3	5	14	2	24
Kars/ Merkez/Kümbetli	3	8	12	3	26
Kars/ Akyaka/ Şahnalar	1	4	14	1	20
Kars/ Arpaçay/ Tomarlı	4	3	13	-	20
Kars/ Susuz/ Çamçavuş	4	4	3	1	12
Kars/ Selim/ Benliahmet	2	8	14	1	25
Kars/ Sarıkamış/ Merkez	-	-	-	17	17
TOPLAM	24	53	115	48	240

Köpek ırklarına göre gruplama yapılırken, incelenen köpeklerin 115 inin yerli, 53 ünün kangal melezi, 24 ünün kangal ırkına ait olduğu görüldü. Geri kalan 48 köpeğin de ırklara göre sayılarının azlığı sebebiyle karma (Kars Çoban Köpeği, Kurt, Fino, Labrador, Alman Çoban Köpeği, Belçika Kurdu, Dalmaçyalı, Golden, Haski, İngiliz Pointer gibi köpek ırkları) grup içerisinde tasnifine karar verildi.

2.2. METOT

2.2.1. Sivrisineklerin Tür Teşhislerinin Yapılması

Sivrisineklerin tür teşhisleri ilgili teşhis anahtarları (126,168) ve bilgisayar programı (163) yardımıyla yapıldı.

2.2.2. Membran Filtrasyon-Asit Fosfataz Histokimyasal Boyama Yöntemi

Bu yöntem dolaşımdaki mikrofilerlerin tür teşhisinde kullanılmaktadır. Kırmızı-kahverengi azo boyası mikrofilerlerin çeşitli somatik doku ve hücrelerinde farklı bant veya nokta tarzında presipite olmaktadır. Bu amaçla sürme preparat veya membran filtreleri, ya hazır kit kullanılarak ya da naphtol AS-TR-phosphate boya solüsyonu hazırlanarak boyanmaktadır (1,150,196,201).

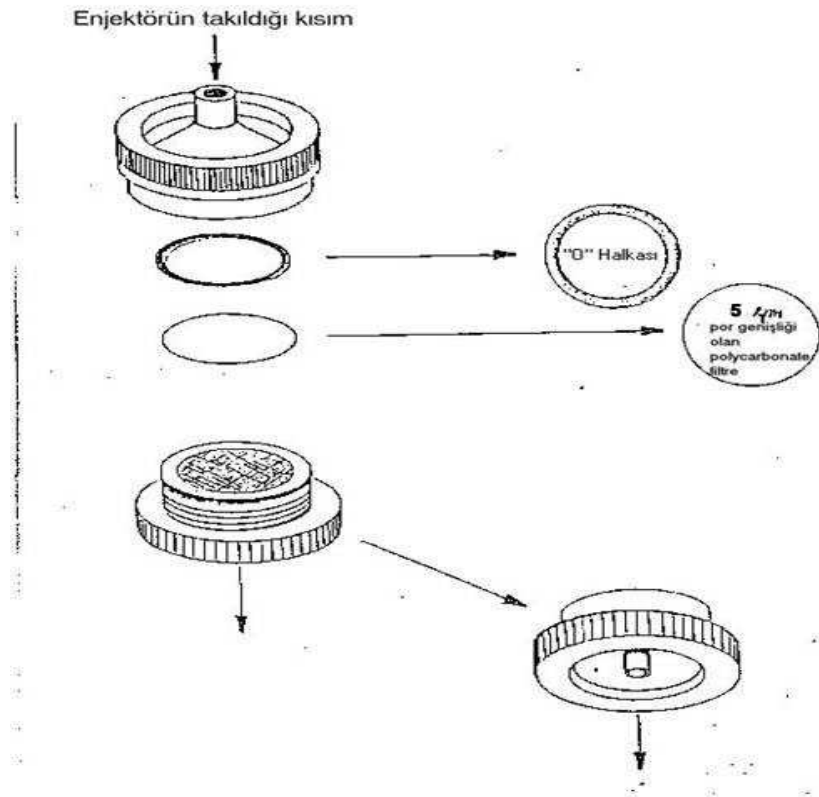
İncelenmek üzere alınacak kan örneklerinin heparin sitrat, heparin oxalate veya sodyum sitratlı tüplere konulması gerekmektedir. Zira antikoagulant madde olarak kullanılan EDTA, enzim aktivitesinin oluşması için gerekli magnezyumu bağlamakta ve reaksiyon gerçekleşmemektedir (196). Asit fosfataz aktivitesi *Dirofilaria immitis* mikrofilerlerinde boşaltım deliği (EP) ve anal delikte (AP) nokta şeklinde, *Dirofilaria (Nochtiella) repens* mikrofilerlerinde yalnızca anal delikte (AP) yüzük (halka) şeklinde, *Dipetalonema (Acanthocheilonema) reconditum* mikrofilerlerinde ise anterior uç ile boşaltım deliği arasında tüm vücut boyunca kırmızı-kahverenginde görülmektedir (1,150,195,196). Membran Filtrasyon Testi'ne başlarken öncelikle eritrositleri lize edici solüsyon hazırlandı. Bu solüsyon hazırlanırken;

- a) 8 gr Na₂CO₃
- b) 5 ml Triton X-100
- c) 1000 ml distile su bir şişe içerisinde iyice karıştırıldı.

Daha sonra Membran Filtrasyon yönteminin yapımına geçildi. Bir enjektöre heparinli tüpteki kan örneğinden 1 ml alındı. Üzerine 9 ml eritrositleri lize edici solüsyon (8 gr Na₂CO₃, 5 ml Triton X-100,1000 ml distile su) eklendi ve enjektör alt-üst edilerek birkaç dakika karıştırıldı. Daha sonra karışım, paslanmaz çelik filtre

tutucu (Millipore, XX3002500) içerisine önceden yerleştirilen 25 mm çapında 5 μ m por genişliğindeki polikarbonat membran filtreden (Millipore, TMTP02500) yavaşça geçirildi. Filtreye birkaç kez enjektörle sadece hava basıldı ve aynı enjektöre 10 ml distile su çekilerek tekrar filtreden geçirildi. Düzenek açıldı, filtre tutucudan çıkarılan filtreler daha sonra pens yardımıyla lam üzerine alındı ve filtre üzerine bir damla % 0,1'lik metilen mavisi damlatılıp lamel kapatılarak mikroskopta mikrofiler yönünden incelendi (1,201).

MEMBRAN FİLTASYON TERTİBATI



Şekil 2.5. Membran Filtrasyon Tertibatı (136,201)

Membran Filtrasyon yönteminde mikrofiler saptanan kan örneklerine Asit Fosfataz Histokimyasal Boyama yöntemi uygulandı. Bu yöntemde **LEUCOGNOST-SP** (MERCK,1.16304) ve **LEUCOGNOST-BASİC SET** (MERCK,1.16305) isimli ticari test kitleri kullanıldı. Kitteki prosedür takip edildi ve mikrofilerlerde boyama neticesinde reaksiyon oluşan bölgelere bakılarak mikrofilerlerin tür teşhisleri yapıldı (1,150,201).

Test kitlerinin içerdiği kimyasallar aşağıda listelenmiştir:

LEUCOGNOST-SP Test Kiti

Reagent 1: Naphthol-AS-OL-phosphoric acid

Reagent 2: sodyum acetate

Reagent 3: Pararosaniline-HCl solüsyonu (2N)

Reagent 4: Nitrite solüsyonu, % 4

Reagent 5: di-sodyum tartrate

LEUCOGNOST-BASİC SET

LEUCOGNOST® fiksasyon karışımı (500 ml)

Mayer's hemalum (2x500 ml)

Aquatex® (50 ml)

Boyama solusyonu hazırlanırken kitteki prosedür takip edildi ve 60 ml distile su içerisine 2 ml Reagent 1 ve 3 kaşık dolusu (yaklaşık 0.8 gr) Reagent 2 eklendi. Sonra başka küçük bir tüp içerisine önce 4-5 damla Reagent 3 sonra 4-5 damla Reagent 4 eklendi, karıştırıldı, bir dakika beklendikten sonra solusyona eklendi. Karışım filtre kâğıdından süzülerek başka bir kaba aktarıldı. Boya maksimum 3,5 saat süreyle etkili olduğu için boyanacak filtreler hazırlanır hazırlanmaz boyama işlemine geçildi.

Filtreler daha sonra test kitinin uygulanışı kısmındaki "Procedure without inhibition tartrate" protokolü takip edilerek fiksasyon karışımında 1 dakika tespit edilip oda ısısında kurutuldu. Filtreler daha önceden hazırlanan boya solüsyonu ile karanlık ortamda 2-3 saat boyanmaya bırakıldı. Bu sürenin sonunda filtreler distile su ile 10 saniye süreyle yıkandı. Daha sonra Mayer's hemalum solüsyonu ile 15-20 dakika boyanan filtreler çeşme suyu altında 2 dakika yıkandı, oda ısısında kurutuldu ve Aquatex® (Yapıştırıcı) damlatılıp lamel kapatılarak mikroskopta incelendi. Ayrıca mikrometrik oküler yardımıyla tespit edilen mikrofilerlerin boyutları ölçüldü.



Şekil 2.6. Membran Filtrasyon Testi (137,201)

2.2.3. Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA):

Dolaşımdaki *Dirofilaria immitis*'in erişkin dişilerine karşı oluşan antijenleri tespit etmek amacıyla hazırlanmış ticari bir ELISA kiti (DiroCHEK, Synbiotics Corp.,96-0230 USA) kullanıldı. Serum örnekleri kitteki prosedüre göre incelendi.

Prosedüre göre;

Antikor kaplı olan ELISA pleytindeki kuyuların birinci sütununa kitle birlikte gelen pozitif kontrolden 1 er damla damlatıldı. İkinci sütundaki kuyulara negatif kontrolden 1 er damla damlatıldı. Serum örnekleri kitle birlikte gelen pipet yardımıyla karıştırıldı. Serum örneklerinden 50 µl miktarda alınarak 3. kuyudan itibaren damlatıldı. Her bir kuyuya 1 er damla Reagent 1 (Konjugat) damlatıldı. Pleyt 15 saniye kadar diğer kuyulara sıçramamasına dikkat edilerek çalkalandı. On dakika inkübasyona bırakıldı. Pleytin içindeki sıvı boşaltıldı. Pleytin içinde hiç sıvı damlası kalmayacak şekilde kâğıt havluya vurularak kurutuldu. Pleyt daha sonra 5 kez

tazyikli distile su ile yıkandı ve kâğıt havluya vurularak kurutuldu. Her bir kuyuya 2 şer damla Reagent 2'den damlatıldı. Pleyt 15 saniye kadar diğer kuyulara sıçramamasına dikkat edilerek çalkalandı. Beş dakika inkübasyona bırakıldı. Sonuçlar kitteki mavi renk oluşumuna bakılarak belirlendi. Sonuçlar ayrıca üretici firmanın prosedürüne göre, spektrofotometrik olarak 630 nm filtrede (referans dalga boyu: 450 nm) ELISA okuyucusunda (Spectramax 384 plus) okutulularak teyit edildi. Cut off değeri negatif kontrolün optik dansite değerine 0.020 eklenerek elde edildi. Bu değerın üstünde çıkan sonuçlar pozitif kabul edildi (204).



Şekil 2.7. DiroCHEK ELISA kiti



Şekil 2.8. DiroCHEK ELISA kitinin içerisindeki solusyonlar

2.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

2.2.4.1. DNA Ekstraksiyonu

EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri ticari olarak hazırlanmış DNA ekstraksiyon kiti kullanılarak DNA ekstraksiyonuna tabi tutuldu. Bu amaçla Macherey-Nagel firmasınınca üretilen DNA ekstraksiyon kiti kullanıldı. Ekstraksiyon işleminde kitteki prosedür takip edildi.

Prosedüre göre: 1.5 ml'lik santrifüj tüplerinin içerisine sırasıyla 25 µl Proteinaz K, üzerine 200 µl EDTA'lı kan örneği ve 200 µl lizis buffer B3 eklendi. Karışım 10-20 saniye vortekslendi ve ardından 70 °C'daki su banyosunda 10-15 dakika bekletildi. Herbir örneğe 210 µl etanol eklenerek tekrar vortekslendi. Örnekler otomatik pipet yardımıyla, test kiti içerisinde gelen 2 ml'lik kolleksiyon tüp içerisinde bulunan Nucleospin Blood Column adlı özel tüplere aktarıldı ve 11.000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Nucleospin Blood Column başka bir kolleksiyon tüpe aktarıldı ve üzerine 500 µl Buffer BW eklenerek 11.000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Nucleospin Blood Column başka bir kolleksiyon tüpe aktarıldı ve üzerine 600 µl Buffer B5 eklenerek tekrar 11.000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Kolleksiyon tüp

içindeki sıvı boşaltılarak Nucleospin Blood Column tekrar kolleksiyon tüpe alındı ve 11.000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Nucleospin Blood Column 1.5 ml'lik başka bir santrifüj tüpünün içerisine alındı ve üzerine 70 °C'daki su banyosunda önceden ısıtılan Buffer BE adlı solusyondan her bir örneğe 100 µl eklendi. Buffer BE'nin Nucleospin Blood Column içerisindeki silikon membran üzerine boşaltılmasına dikkat edildi. Örnekler 1 dakika oda ısısında inkübasyona bırakıldı ve 11.000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Örnekler daha sonra amplifikasyon aşamasına kadar -20 °C'da saklandı.



Şekil 2.9. Macherey-Nagel marka DNA Ekstraksiyon kiti

2.2.4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Elektroforez

Ekstraksiyon yapılarak elde edilen DNA örneklerine, 5.8S-ITS2-28S genine ait 542 bp'lik bölgedeki bant sırasını belirleyen DIDR-F1 (AGT GCG AAT TGC AGA CGC ATT GAG) ve DIDR-R1 (AGC GGG TAA TCA CGA CTG AGT TGA) primerleri (Genbank no: AF217800) kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu uygulandı.

Polimeraz Zincir Reaksiyonuna başlarken ilgili literatürler doğrultusunda (42,70,73,121,155,166) optimizasyon yapılarak, her bir reaksiyon için gerekli olan maddelerin miktarları belirlendi. Reaksiyon karışımının içerisine; Deiyonize su, 10X

reaction buffer (160 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 670 mM TrisHCl pH 8,8, %0,1 Tween-20), dNTP (10 mM), DIDR-F1 Primer (100 pmol/ μl), DIDR-R1 Primer (100 pmol/ μl), MgCl_2 (100 mM), Taq DNA polimeraz enzimi (5 U/ μl) ve kalıp DNA konuldu.

25 μl hacmindeki reaksiyon karışımı her bir örnek için;

2,5 μl 10X reaction buffer

0,5 μl dNTP

0,25 μl DIDR-F1 Primer

0,25 μl DIDR-R1 Primer

0,3 μl Taq DNA polimeraz enzimi

18,2 μl Deiyonize su

0,5 μl MgCl_2

2,5 μl kalıp DNA miktarlarında hazırlanarak Thermocycler (BIO-RAD MJ Mini) cihazına yerleştirildi.

Thermocycler cihazında;

- a) Başlangıç denatürasyon (94 °C, 5 dakika),
- b) Denatürasyon (94 °C, 30 saniye → 32 siklus),
- c) Annealing (63 °C, 40 saniye → 32 siklus),
- d) Ekstensiyon (72 °C, 40 saniye → 32 siklus),
- e) Final ekstensiyonu (72 °C, 7 dakika) ve 8 °C'da süresiz

şeklinde program ayarlandı. Amplifikasyon sonrasında örnekler cihazdan alındı ve elektroforez aşamasına kadar örnekler -20 °C'da bekletildi. Çalışmada Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'ndan temin edilen genomik DNA örnekleri pozitif kontrol olarak kullanıldı. Elektroforez aşamasında öncelikle Tris base, Borik asit ve EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid)'dan oluşan TBE buffer'dan 0,5X konsantrasyonda solusyon hazırlandı. Jel kabının hacminin 50 ml olduğu tespit edildi. Toz halindeki agarozdan 1 gr tartılarak 50 ml hacmindeki ve 0,5X konsantrasyondaki TBE buffer içerisine aktarıldı ve seyreltilmesi amacıyla mikrodalga fırın içerisinde 1-2 dk süreyle buhar çıkıncaya kadar kaynatıldı. Bu sayede % 2'lik agaroz jel hazırlanmış oldu. Mikrodalga fırından çıkarılan karışım bir süre soğumaya bırakıldı. El yakmayacak sıcaklığa düşünce karışımın içerisine DNA'nın jelde görünür hale gelmesini sağlayan 2,5 μl miktarında

etidyum bromür (EtBr konsantrasyonu 0,5 µg/ml) eklendi. Jel kabı içerisine 8 adet kuyudan ibaret olan tarak yerleştirildi. Karışım jel kabına aktarıldı ve katılması için 5-10 dk beklendi. Aktarma sonrasında jel üzerinde hava kabarcığı kalmamasına dikkat edildi. Elektroforez tankı 0,5X konsantrasyondaki TBE buffer ile dolduruldu. Jel katılaştıktan sonra tankın içerisine konuldu ve taraklar dikkatli bir şekilde çıkarıldı. Parafilm üzerine örnek sayısı kadar loading dye (2 µl) damlatıldı. Jelin ilk kuyusuna konulacak olan Moleküler Ağırlık Standardı (DNA Ladder) derin dondurucudan çıkarıldı, 15 µl miktarında DNA Ladder parafilm üzerindeki loading dye ile karıştırıldı. Karışım jelin ilk kuyusuna boşaltıldı. Aynı şekilde derin dondurucuda bekletilen örneklerden 15'er µl alındı ve 2 µl loading dye ile karıştırılarak jele yüklendi. Elektroforez tankının kapağı kapatıldı. Örnekler % 2'lik agaroz jelde 300 mA ve 150 volt elektrik akımında 25-30 dakika koşuruldu. Böylece negatif yüklü DNA'nın elektrik akımının tersi yönde ilerlemesini sağlanmış oldu. Süre bitiminde elektroforez tankının elektrik bağlantısı kesildi. Jel tankın içerisinden çıkarıldı ve Ultra Viyole (UV) transilluminatöre yerleştirildi. Oluşan görüntüler fotoğraflandı ve UV ışığı altında gerçekleştirilen görüntüleme sonrasında 542 bp'lik bölgede oluşan bantlar pozitif kabul edildi (73,155,166).

2.2.5. İstatistik Analizler

Elde edilen bulguların istatistik analizleri Chi-squared Test ile yapıldı (144).

Ayrıca çalışmada kullanılan üç yöntemin duyarlılıkları ikişerli olarak karşılaştırıldığında öncelikle yöntemlerde gözlenen oranlarda uyumluluk (OP) değeri ile beklenen oranlardaki uyumluluk (EP) değeri hesaplanmıştır. Daha sonra Kappa istatistik testi kullanılarak yöntemler arasındaki uyumluluk değeri hesaplanmıştır. Bu istatistiksel değerlerin hesaplanmasında aşağıdaki formülden yararlanılmıştır:

$$OP = (a+d)/n$$

$$EP = [(a+b)/n \times (a+c)/n] + [(c+d)/n \times (b+d)/n]$$

$$Kappa = (OP-EP)/(1-EP)$$

Kappa istatistik testine göre,

$\geq 75 \rightarrow$ çok iyi düzeyde

40-74 \rightarrow orta düzeyde

$\leq 40 \rightarrow$ zayıf düzeyde uyumluluk oranına tekabül etmektedir (56).

3. BULGULAR

Çalışma kapsamında, Kars ilinden Kümbetli ve Iğdır ilinden Zülfikar köylerinde Temmuz, Ağustos ve Eylül 2009 tarihlerinde ayda bir kez olmak üzere *Dirofilaria immitis*'in potansiyel vektörü olabilecek sivrisinek örnekleri toplandı. Cibinliklerden toplanan sivrisinek tür ve sayıları Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Sivrisinek toplanan odaklar

Köpek No	Odak Adı ve Odağın Koordinatları	Toplanan Sivrisinek Türü ve Sayısı
1	ZÜLFİKAR 39° 59.709' Kuzey 44° 8.705' Doğu Rakım: 853 metre	8 <i>Aedes vexans</i> 84 <i>Aedes dorsalis</i> 10 <i>Culex theileri</i>
2	ZÜLFİKAR	1 <i>Anopheles maculipennis</i> 4 <i>Aedes dorsalis</i> 1 <i>Culex pipiens</i>
1	KÜMBETLİ 40° 32.429' Kuzey 43° 0.101' Doğu Rakım: 1764 metre	16 adet <i>Culex theileri</i>
2	KÜMBETLİ	1 <i>Aedes dorsalis</i> 1 <i>Culex sp.</i> 20 <i>Culex theileri</i>
1	ZÜLFİKAR	24 <i>Aedes dorsalis</i> 17 <i>Culex theileri</i>
2	ZÜLFİKAR	5 <i>Aedes dorsalis</i> 4 <i>Culex theileri</i> 2 <i>Aedes vexans</i>
1	KÜMBETLİ	3 <i>Culex theileri</i>
2	KÜMBETLİ	6 <i>Culex theileri</i>
1	ZÜLFİKAR	3 <i>Culex theileri</i> 5 <i>Aedes dorsalis</i> 2 <i>Aedes vexans</i> 2 <i>Anopheles maculipennis</i>
2	ZÜLFİKAR	4 <i>Aedes dorsalis</i> 1 <i>Anopheles maculipennis</i>
1	KÜMBETLİ	2 <i>Culex theileri</i>
2	KÜMBETLİ	2 <i>Culex theileri</i> 1 <i>Anopheles maculipennis</i>

Seçilen odalarda cibinliklerin kurulduğu saatlerde nem oranının % 48-81 ve sıcaklık değerlerinin 21,3-32,5 °C arasında değiştiği, ertesi gün sivrisinek örneklerinin toplanması esnasındaki saatlerde ise nem oranının % 50-81 ve sıcaklık değerlerinin 12,8-32 °C arasında değiştiği görüldü.

Toplanan sivrisinekler incelendiğinde, Iğdır İline bağlı Zülfikar Köyü'nde daha fazla tür ve sayıda örnek olduğu tespit edilmiştir. Zülfikar Köyü'nden toplam 126 adet *Aedes dorsalis*, 34 adet *Culex theileri*, 12 adet *Aedes vexans*, 4 adet *Anopheles maculipennis* ve 1 adet *Culex pipiens* türü sivrisinek toplanırken, Kümbetli Köyü'nden toplam 49 adet *Culex theileri*, 1 adet *Aedes dorsalis*, 1 adet *Culex sp.*, 1 adet *Anopheles maculipennis* türü sivrisinek toplandı.

Çalışmanın ikinci aşamasında 1 Eylül-31 Ekim tarihleri arasında, dışarıda barındırılan, sahipli, tedavi amacıyla herhangi bir ilaç uygulanmamış, 12 odaktan toplam 240 köpekten kan örnekleri alındı. Kan örnekleri Membran Filtrasyon-Asit Fosfataz Histokimyasal Boyama Yöntemi (MF-Asit Fosfataz), Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemleriyle incelendi. Membran Filtrasyon-Asit Fosfataz Histokimyasal Boyama Yöntemi ile incelenen örneklerde, mikrofilerlerdeki boşaltım deliği (EP) ve anal delikte (AP) oluşan reaksiyon neticesinde bu bölgelerde kırmızı- kahverengi nokta şeklinde boyamalar tespit edildi. Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay ile test kitinde kan serumunda pozitif örneklerde mavi renk oluşumu görüldü. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile yapılan incelemede de pozitif örneklerde bant oluşumu gözlemlendi.

Membran Filtrasyon-Asit Fosfataz Histokimyasal Boyama Yöntemi (MF-Asit Fosfataz), Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemleriyle yapılan incelemeler neticesinde Kars ve Iğdır yöresindeki köylerde *Dirofilaria immitis* ile enfekte olduğu tespit edilen örnekler ile ilgili bilgiler Tablo 3.2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Kars ve Iğdır yöresindeki köylerde MF-Asit Fosfataz, ELISA ve PZR yöntemleri ile köpeklerde *Dirofilaria immitis*’in yaygınlığı

Yerleşim yeri	İncelenen Köpek Sayısı	MF-Asit Fosfataz	ELISA	PZR
Iğdır/ Karakoyunlu/ Zülfikar	15	3	8	4
Iğdır/ Merkez/ Akyumak	15	9	9	9
Iğdır/ Karakoyunlu/ Mürşitali	18	9	11	9
Iğdır/ Aralık/ Gödekli	22	5	7	5
Iğdır/ Aralık/ Merkez	26	5	13	6
Iğdır/ Aralık/ Hacıağa	24	10	13	14
Kars/ Merkez/Kümbetli	26	-	1	-
Kars/ Akyaka/ Şahnalar	20	7	4	7
Kars/ Arpaçay/ Tomarlı	20	-	-	1
Kars/ Susuz/ Çamçavuş	12	-	-	-
Kars/ Selim/ Benliahmet	25	4	6	5
Kars/ Sarıkamış/ Merkez	17	-	-	-
TOPLAM / Enfeksiyon % si	240	52 / %21.7	72 / %30	60 / %25

$$X^2 = 4,439$$

$$P = 0,109$$

Köpek kan ve serum örnekleri her üç yöntemle incelendiğinde, enfeksiyon oranları arasındaki farklılık istatistiki açıdan önemsiz ($p > 0.05$) bulundu.

Dirofilaria immitis’in yaygınlığını etkileyen epidemiyolojik faktörler, herhangi bir yöntemle (ELISA, PZR ve/veya MF-Asit Fosfataz) alınan pozitif sonuçlar dikkate alınarak istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir

Köpeklerden alınan kan veya serum örneklerinde *Dirofilaria immitis* pozitiflik durumu Tablo 3.3'te gösterilmiştir.

Tablo 3.3. *Dirofilaria immitis* pozitif köpeklerin yöntemlere göre durumları.

Yerleşim Yeri	Yöntem	Köpek No																Toplam
		1	3	7	8	9	10	12	13	15	17	19	20	21	22	23	24	
IĞDIR HACIAGA	MF-Asit Fosfataz	+	+	+		+	+		+		+	+	+			+		10
	ELISA	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+			+	+	13
	PZR	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		14
KARS TOMARLI	MF-Asit Fosfataz	32																1
	ELISA																	-
	PZR	+																1
KARS ŞAHNALAR	MF-Asit Fosfataz	49	50	52	54	57	62	64	67									8
	ELISA	+	+	+	+	+	+	+	+									7
	PZR	+	+	+	+	+	+	+	+									4
IĞDIR ZÜLFİKAR	MF-Asit Fosfataz	69	70	73	77	78	79	81	82	83								9
	ELISA	+	+	+	+		+	+	+	+								3
	PZR	+	+	+	+	+	+	+	+	+								8
KARS KÜMBETLİ	MF-Asit Fosfataz	97																1
	ELISA	+																-
	PZR	+																1
IĞDIR AKYUMAK	MF-Asit Fosfataz	111	112	113	114	115	117	119	120	121	125							10
	ELISA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							9
	PZR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							9
IĞDIR GÖDEKLİ	MF-Asit Fosfataz	126	127	129	138	140	142	145	146	147								9
	ELISA	+	+	+	+	+	+	+	+	+								5
	PZR	+	+	+	+	+	+	+	+	+								7
IĞDIR ARALIK	MF-Asit Fosfataz	148	149	150	153	154	45	173	175	176	182	184	185	187				13
	ELISA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				5
	PZR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				13
IĞDIR MÜRŞİTALİ	MF-Asit Fosfataz	155	156	158	159	160	162	167	168	169	170	171	172					6
	ELISA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					9
	PZR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					11
KARS BENLİAHMET	MF-Asit Fosfataz	192	193	197	202	203	207	211										7
	ELISA	+	+	+	+	+	+	+										4
	PZR	+	+	+	+	+	+	+										6
		+	+	+	+	+	+	+										5

Dirofilaria immitis'in teşhisinde kullanılan yöntemlerden herhangi birisi ile alınan pozitif sonuçlar değerlendirildiğinde *Dirofilaria immitis*'in Kars ve Iğdır yöresindeki prevalansının % 35.8 (86/240) olduğu görülmüştür.

MF-Asit Fosfataz ve PZR yöntemlerine göre *Dirofilaria immitis*'in pozitiflik durumları Tablo 3.4'de gösterilmiştir.

Tablo 3.4. MF-Asit Fosfataz ve PZR yöntemlerine göre *Dirofilaria immitis*'in pozitiflik durumları

MF- Asit Fosfataz	PZR		Toplam
	Pozitif	Negatif	
Pozitif	52(a)	0 (b)	52
Negatif	8 (c)	180 (d)	188
Toplam	60	180	240 (n)

$$X^2= 0,745$$

$$p=0,388$$

a: Her iki test ile pozitif, b: MF- Asit Fosfataz ile pozitif, PZR ile negatif

c: MF- Asit Fosfataz ile negatif, PZR ile pozitif d: Her iki test ile negatif

n: Toplam örnek sayısı

MF-Asit Fosfataz ve PZR yöntemleri kullanılarak elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında, her iki yöntemle 240 örneğin 52 sinde pozitif, 180 inde ise negatif sonuç alınmıştır. İncelenen 8 örnekte sadece PZR ile pozitiflik belirlenirken MF-Asit Fosfataz pozitif, PZR negatif örneğe rastlanmamıştır. MF- Asit Fosfataz ve PZR yöntemlerinin her ikisi de mikrofiler tespitine yönelik olduğu için karşılaştırma yapıldığında, yöntemler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). İki yöntem arasında gözlenen oranların uyumluluğu (OP) % 97 olarak belirlenirken, istatistiksel olarak iki test arasındaki uyumluluk % 92'lik oranı ile çok iyi düzeyde bir uyumluluk olarak tespit edilmiştir.

ELISA ve PZR yöntemlerine göre *Dirofilaria immitis*'in pozitiflik durumları Tablo 3.5'de gösterilmiştir.

Tablo 3.5. ELISA ve PZR yöntemlerine göre *Dirofilaria immitis*'in pozitiflik durumları

ELISA	PZR		Toplam
	Pozitif	Negatif	
Pozitif	46 (a)	26 (b)	72
Negatif	14 (c)	154 (d)	168
Toplam	60	180	240 (n)

$$X^2= 1,505$$

$$P=0,220$$

a: Her iki test ile pozitif, b: ELISA ile pozitif, PZR ile negatif

c: ELISA ile negatif, PZR ile pozitif, d: Her iki test ile negatif

n: Toplam örnek sayısı

Dirofilaria immitis yönünden ELISA ve PZR yöntemleri karşılaştırıldığında, her iki yöntemle 240 örneğin 46 sında pozitiflik, 154 ünde ise negatiflik saptanmış, ancak, 26 örnekte sadece ELISA ile, 14 örnekte de sadece PZR ile pozitiflik belirlenmiştir. Ayrıca yöntemler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($p>0,05$).

MF-Asit Fosfataz ve ELISA yöntemlerine göre *Dirofilaria immitis*'in pozitiflik durumları Tablo 3.6'da gösterilmiştir.

Tablo 3.6. MF-Asit Fosfataz ve ELISA yöntemlerine göre *Dirofilaria immitis*'in pozitiflik durumları

MF- Asit Fosfataz	ELISA		Toplam
	Pozitif	Negatif	
Pozitif	43 (a)	9 (b)	52
Negatif	29 (c)	159 (d)	188
Toplam	72	168	240 (n)

$$X^2=4,349$$

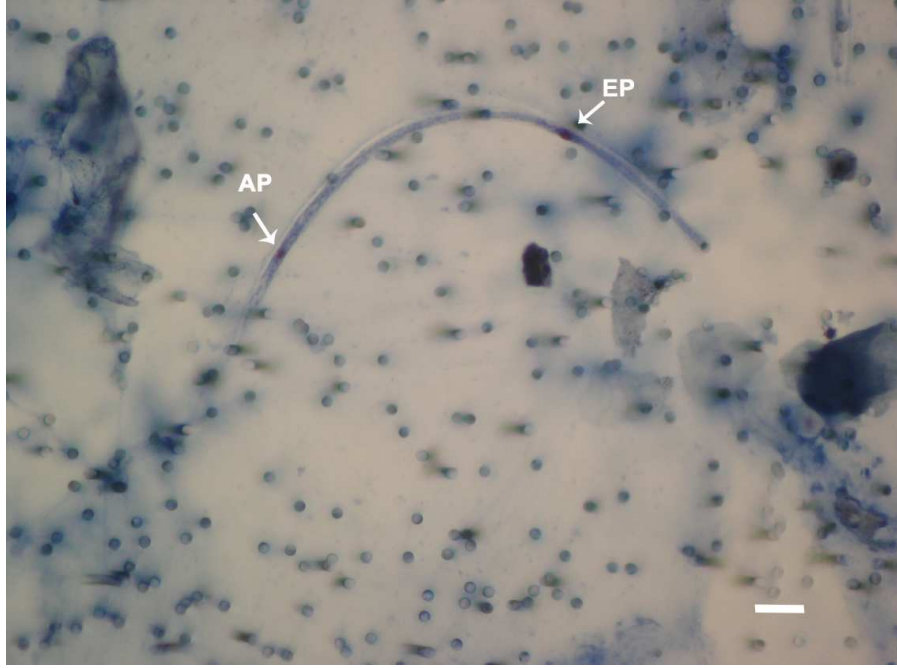
$$P= 0,037$$

a: Her iki test ile pozitif, b: MF- Asit Fosfataz ile pozitif ELISA ile negatif

c: MF- Asit Fosfataz ile negatif ELISA ile pozitif, d: Her iki test ile negatif

n: Toplam örnek sayısı

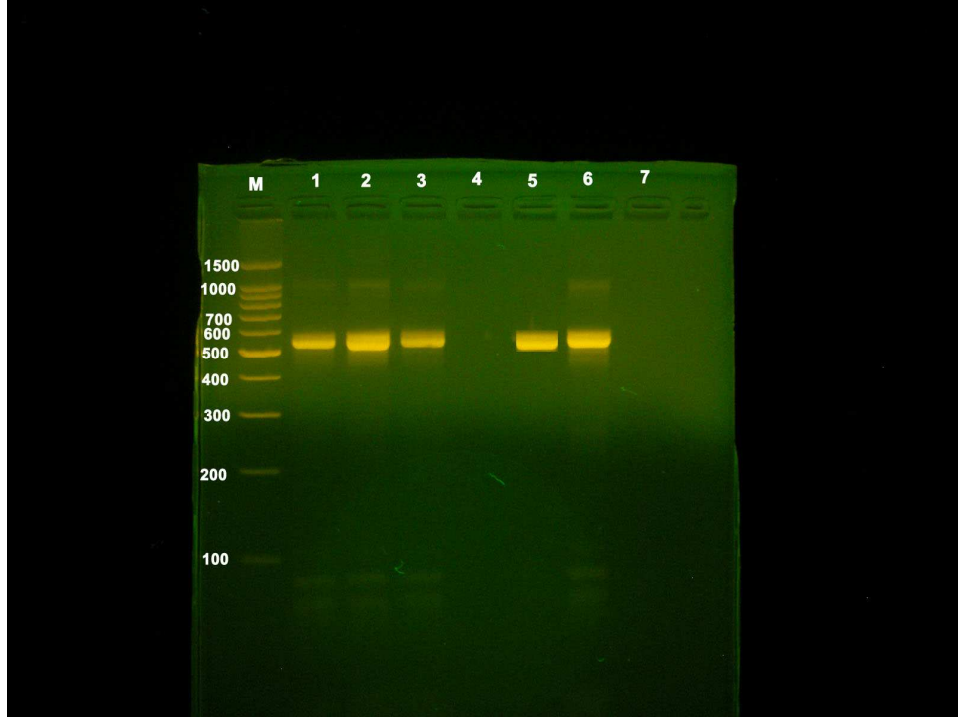
Dirofilariosis yönünden MF-Asit Fosfataz ve ELISA yöntemleri karşılaştırıldığında ise, her iki yöntemle 240 örneğin 43 ünde pozitiflik, 159 unda da negatiflik saptanmıştır. İncelenen 29 örnekte yalnızca ELISA ile, 9 örnekte de yalnızca MF-Asit Fosfataz ile pozitif sonuç alınmış, yöntemler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,05$).



Şekil 3.1. MF-Asit Fosfataz yöntemi ile tespit edilen *D. immitis* mikrofilari. EP: Boşaltım Deliği, AP: Anal Delik. (Bar: 100 μ m).

MF-Asit Fosfataz yöntemi ile yapılan incelemede 240 kan örneğinin 52 sinde % 21.7 oranında *Dirofilaria immitis* mikrofilari görüldü (Şekil 3.1). Kars iline bağlı Kümbetli, Tomarlı, Çamçavuş köylerinde ve Sarıkamış ilçesinde parazitle enfekte köpeğe rastlanmadı. Enfeksiyonun tespit edildiği odaklar arasında ise en yüksek prevalansa (9/15) % 60 oranında Iğdır iline bağlı Akyumak Köyü'nde rastlandı.

Ayrıca mikrometrik oküler yardımıyla yapılan ölçümlerde, mikrofilarielerin boylarının 272 ile 294 μ m arasında, genişliklerinin ise 5-7 μ m arasında değiştiği görüldü.



Şekil 3.2. PZR yöntemi ile tespit edilen 542 bp'lik bölgedeki 5.8S-ITS2-28S genine ait bant sırası. M:Moleküler Ağırlık Markırı 1: Pozitif Kontrol, 2: Pozitif Örnek, 3: Pozitif Örnek, 4: Negatif Örnek, 5: Pozitif Örnek, 6: Pozitif Örnek, 7: Negatif Kontrol.

PZR yöntemi ile yapılan incelemede 60 örnekte *Dirofilaria immitis* için spesifik olan 542 bp'lik bölgede bantlar oluştuğu gözlemlendi (Şekil 3.2). Kars iline bağlı Kümbetli ve Çamçavuş köyleri ile Sarıkamış ilçe merkezinde enfekte köpek tespit edilmezken, incelenen köpek sayısına göre en düşük prevalans Kars iline bağlı Tomarlı Köyü'nde belirlendi.



Şekil 3.3. ELISA yöntemi ile antijen tespit edilen serum örneklerinden bazıları. İlk sütun pozitif kontrolü, mavi renkli kuyular pozitif örnekleri göstermektedir.

ELISA yöntemi ile yapılan incelemede 72 köpek kan serumunda *Dirofilaria immitis* antijeni tespit edildi (Şekil 3.3). Kars iline bağlı Tomarlı ve Çamçavuş köyleri ile Sarıkamış ilçe merkezindeki köpeklerden elde edilen serumlarda parazit antijeni saptanmadı. Bu yöntemle incelenen köpek sayısına göre en düşük prevalans Kars merkeze bağlı Kümbetli ve Akyaka ilçesinden Şahnalar köylerinde tespit edildi.

Dirofilaria immitis'in teşhisinde kullanılan yöntemlerde farklı sonuçlar alındığı görüldü. Her üç yöntemle de pozitif sonuç alınan örnek sayısı 43 olarak belirlendi. Hem MF-Asit Fosfataz hem de PZR yöntemleri ile pozitif, ELISA ile negatif sonuç alınan örnek sayısı ise 9 olarak tespit edildi.

ELISA yöntemi ile *Dirofilaria immitis* antijeni tespit edilen köpeklerdeki gizli enfeksiyon durumu Tablo 3.7’de gösterilmiştir.

Tablo 3.7. Kars ve Iğdır yöresinde *Dirofilaria immitis* ile enfekte köpeklerde gizli (okult) enfeksiyon

Yerleşim yeri	İncelenen Köpek Sayısı	ELISA ile Antijen (+)	*MF-Asit Fosfataz ile Mikrofiler (-) *ELISA ile Antijen (+)	*PZR ile Mikrofiler (-) *ELISA ile Antijen (+)	*MF-Asit Fosfataz ile Mikrofiler (-) *PZR ile Mikrofiler (-) *ELISA ile Antijen (+) (GİZLİ ENFEKSİYON)
Iğdır/ Karakoyunlu/ Zülfiyar	15	8	5	5	5
Iğdır/ Merkez/ Akyumak	15	9	1	1	1
Iğdır/ Karakoyunlu/ Mürşitali	18	11	3	3	3
Iğdır/ Aralık/ Gödekli	22	7	4	4	4
Iğdır/ Aralık/ Hacıağa	24	13	3	2	2
Iğdır/ Aralık/ Merkez	26	13	8	7	7
Kars/ Merkez/ Kümbetli	26	1	1	1	1
Kars/ Akyaka/ Şahnalar	20	4	1	1	1
Kars/ Arpaçay/ Tomarlı	20	-	-	-	-
Kars/ Susuz/ Çamçavuş	12	-	-	-	-
Kars/ Selim/ Benliahmet	25	6	3	2	2
Kars/ Sarıkamış/ Merkez	17	-	-	-	-
TOPLAM / Enfeksiyon % si	240	72 %30	29 %40.2	26 %36.1	26 %36.1

ELISA yöntemi ile yapılan incelemede 72 köpek kan serumunda *Dirofilaria immitis* antijeni tespit edildi. Antijen tespit edilen 72 köpeğin 29 unda (% 40.2) MF-Asit Fosfataz yöntemiyle mikrofiler görülemedi. Aynı şekilde 26 köpekte de (% 36.1) PZR yöntemiyle mikrofiler tespit edilemedi. ELISA ile antijen pozitif tespit edilen 72 köpektan 26 sında (%36.1) ise hem MF-Asit Fosfataz hem de PZR yöntemleri ile *Dirofilaria immitis* mikrofilere tespit edilemedi, yani bu köpeklerde enfeksiyonun gizli (okult) seyrettiği anlaşıldı.

MF-Asit Fosfataz, PZR ve ELISA yöntemlerinden herhangi birisi ile *Dirofilaria immitis* tespit edilen köpeklerde enfeksiyonun yaşa göre dağılımı Tablo 3.8'de gösterilmiştir.

Tablo 3.8. Yaşa göre enfekte köpek sayısı ve enfeksiyon oranları

Yerleşim Yeri	Yaş		
	0,5-3 x/n	4-6 x/n	≥7 x/n
Iğdır/ Karakoyunlu/ Zülfikar	6	3	-
Iğdır/ Merkez/ Akyumak	6	2	2
Iğdır/ Karakoyunlu/ Mürşitali	5	4	3
Iğdır/ Aralık/ Gödekli	4	3	2
Iğdır/ Aralık/ Hacıağa	11	5	-
Iğdır/ Aralık/ Merkez	9	3	1
Kars/ Merkez/Kümbetli	-	-	1
Kars/ Akyaka/ Şahnalar	1	5	2
Kars/ Arpaçay/ Tomarlı	1	-	-
Kars/ Susuz/ Çamçavuş	-	-	-
Kars/ Selim/ Benliahmet	1	2	4
Kars/ Sarıkamış/ Merkez	-	-	-
TOPLAM / Enfeksiyon %	44/142 % 30.98	27/66 % 40.90	15/32 % 46.87

x: Enfekte köpek sayısı n: İncelenen köpek sayısı
 $X^2 = 3.887$ $p = 0.143$

Yapılan incelemeler neticesinde, 0.5-3 yaş grubundaki 142 köpekten 44 ünde (% 30.98), 4-6 yaş grubundaki 66 köpekten 27 sinde (% 40.90), 7 yaş ve üzeri gruptaki 32 köpekten ise 15 inde (% 46.87) *Dirofilaria immitis* görüldü.

Yapılan istatistiksel analiz neticesinde, yaş grupları arasındaki farklılık önemsiz ($p > 0,05$) bulundu.

MF- Asit Fosfataz, PZR ve ELISA yöntemlerinden herhangi birisi ile *Dirofilaria immitis* tespit edilen köpeklerde enfeksiyonun cinsiyete göre dağılımı Tablo 3.9’da gösterilmiştir.

Tablo 3.9. Cinsiyete göre enfekte köpek sayısı ve enfeksiyon oranları

Yerleşim Yeri	Cinsiyet	
	Dişi (x/n)	Erkek (x/n)
Iğdır/ Karakoyunlu/ Zülfiyar	2	7
Iğdır/ Merkez/ Akyumak	-	10
Iğdır/ Karakoyunlu/ Mürşitali	1	11
Iğdır/ Aralık/ Gödekli	3	6
Iğdır/ Aralık/ Hacıağa	-	16
Iğdır/ Aralık/ Merkez	6	7
Kars/ Merkez/Kümbetli	-	1
Kars/ Akyaka/ Şahnalar	-	8
Kars/ Arpaçay/ Tomarlı	1	-
Kars/ Susuz/ Çamçavuş	-	-
Kars/ Selim/ Benliahmet	-	7
Kars/ Sarıkamış/ Merkez	-	-
TOPLAM / Enfeksiyon % si	13/48 % 27.08	73/192 % 38.02

x: Enfekte köpek sayısı n:İncelenen köpek sayısı
 $X^2= 1.998$ p=0.158

Dirofilariosis yönünden incelenen 192 erkek köpeğin 73 ünde (% 38.02) ve 48 dişi köpeğin 13 ünde (% 27.08) *Dirofilaria immitis* tespit edildi.

Cinsiyetler arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemsiz olduğu görüldü (P>0.05).

MF-Asit Fosfataz, PZR ve ELISA yöntemleri ile *Dirofilaria immitis* tespit edilen köpeklerde enfeksiyonun köpek rengine göre dağılımı Tablo 3.10'da gösterilmiştir.

Tablo 3.10. Köpek rengine göre enfekte köpek sayısı ve enfeksiyon oranları

Yerleşim Yeri	Ağırlıklı Renk			
	Beyaz (x/n)	Siyah (x/n)	Gri (x/n)	Kahverengi (x/n)
Iğdır/ Karakoyunlu/ Zülfikar	6	1	-	2
Iğdır/ Merkez/ Akyumak	5	3		2
Iğdır/ Karakoyunlu/ Mürşitali	6	4	1	1
Iğdır/ Aralık/ Gödekli	6	2	-	1
Iğdır/ Aralık/ Hacıağa	8	3	-	5
Iğdır/ Aralık/ Merkez	8	3	-	2
Kars/ Merkez/Kümbetli	-	-	-	1
Kars/ Akyaka/ Şahnalar	3	-	1	4
Kars/ Arpaçay/ Tomarlı	1	-	-	-
Kars/ Susuz/ Çamçavuş	-	-	-	-
Kars/ Selim/ Benliahmet	4	2	1	-
Kars/ Sarıkamış/ Merkez	-	-	-	-
TOPLAM / Enfeksiyon % si	47/122 % 38.52	18/45 % 40	3/21 % 14.28	18/52 % 34.61

x: Enfekte köpek sayısı n: İncelenen köpek sayısı
 $X^2 = 4.998$ $p = 0.172$

Yapılan incelemeler neticesinde beyaz renkli 122 köpekten 47 sinin (% 38.52), siyah renkli 45 köpekten 18 inin (% 40), gri renkli 21 köpekten 3 ünün (% 14.28) ve kahve renkli 52 köpekten 18 inin (% 34.61) *Dirofilaria immitis* ile enfekte olduğu görüldü.

Vücut renkleri arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0,05$) olduğu görüldü.

MF-Asit Fosfataz, PZR ve ELISA yöntemlerinden herhangi birisi ile *Dirofilaria immitis* tespit edilen köpeklerde enfeksiyonun köpek ırkına göre dağılımı Tablo 3.11’de gösterilmiştir.

Tablo 3.11. Köpek ırkına göre enfekte köpek sayısı ve enfeksiyon oranları

Yerleşim Yeri		İrk			
		Kangal (x/n)	Kangal Melezi (x/n)	Yerli (x/n)	Karma (x/n)
İĞDIR	Zülfikar	-	7	-	2
	Akyumak	-	3	2	5
	Mürşitali	2	1	8	1
	Göekli	1	1	4	3
	Hacıağa	2	3	10	1
	Aralık	-	1	9	3
KARS	Kümbetli	-	-	1	-
	Şahnalar		2	5	1
	Tomarlı	-	1	-	-
	Çamçavuş	-	-	-	-
	Benliahmet	-	1	6	-
	Sarıkamış	-	-	-	-
TOPLAM		5/24 % 20.83	20/53 % 37.73	45/115 % 39.13	16/48 % 33.33

x: Enfekte köpek sayısı n:İncelenen köpek sayısı
 $X^2= 3.106$ $p=0.376$

Dirofilariosisin köpek ırklarına göre dağılımı incelendiğinde, 115 Yerli ırk köpekten 45 inin (% 39.13), 53 Kangal Melezi köpekten 20 sinin (% 37.73), Karma gruptaki 48 köpekten 16 sının (% 33.33) ve 24 Kangal ırkı köpekten 5 inin (% 20.83) *Dirofilaria immitis* ile enfekte olduğu görüldü.

Yapılan istatistiksel analiz neticesinde köpek ırkları arasında enfeksiyon oranlarındaki farklılık önemsiz ($p>0,05$) bulundu.

Dirofilaria immitis'in teşhisinde kullanılan yöntemler karşılaştırıldığında, ELISA yönteminin PZR yönteminden, bu yöntemin de MF-Asit Fosfataz yönteminden daha yüksek oranda pozitiflik saptayabildiği görüldü.

4. TARTIŞMA

Doğu Anadolu Bölgesi'nin de doğusunda bulunan Kars ve Iğdır illeri, coğrafi yapıları itibariyle sahip oldukları geniş mera ve yaylalar sayesinde Türkiye'deki büyükbaş ve küçükbaş çiftlik hayvan popülasyonunun büyük bir kısmını bünyesinde barındırmaktadır. Kars ve Iğdır illerinin ekonomisi, Doğu Anadolu Bölgesi'nin ekonomik yapısını yansıtacak şekilde, tarıma ve geleneksel mera hayvancılığına dayalıdır (187). Büyükbaş ve küçükbaş hayvanların yanı sıra Kars ve Iğdır illerinde yetiştirilen köpek sayısı da azımsanmayacak ölçüdedir. Zira yörenin geçim kaynağı tarım ve büyük ölçüde hayvancılığa dayanmakta ve hayvancılığın bu denli önemli olduğu yörede sığır, koyun gibi hayvan sürülerini vahşi hayvan saldırılarından korumak amacıyla da hemen hemen her evde en az bir köpek barındırılmaktadır. Hayvan sürülerine bekçiliğin yanı sıra Kars ve Iğdır'da çeşitli resmi kurum ve kuruluşlarda güvenlik, avcılık, kurtarma gibi amaçlarla da köpek yetiştirilmektedir. Ancak köpeklerin tüm dünyada olduğu gibi Kars ve Iğdır'da da *Dirofilaria immitis*'in de içinde bulunduğu birçok paraziter, bakteriyel veya viral hastalık etkeninin taşınmasında ve çevreye bulaştırılmasında önemli bir role sahip oldukları bilinmektedir.

Çalışmanın yapıldığı illerden biri olan Kars'ta kış mevsimi uzun, soğuk ve sert, yaz ayları ise serin ve bazen yağışlı geçmektedir. Kars'ta kış mevsiminin uzun ve sert geçmesinin nedeni; yüksek dağ sıralarının denizlerin ılımanlaştırıcı etkisinin buralara ulaşmasını engellemesi, yüksekliğin fazla olması, kış mevsiminde Büyük Asya kara kütlesi üzerinde yerleşen soğuk ve ağır hava kütesinin (Sibiryaya yüksek basınç merkezi) buraya kadar sokulmasıdır. Kars'ta yağışlar her mevsim görülebilmekte, dolayısıyla kurak mevsim hemen hemen hiç olmamaktadır (127). Çalışmanın yapıldığı diğer bir il olan Iğdır'da ise, yeryüzü oluşumlarının meydana getirdiği mikroklimalar nedeniyle Doğu Anadolu Bölgesi'nden farklı olarak ılıman bir iklim hüküm sürmektedir. Dolayısıyla yıllık sıcaklık ortalaması Kars ilinde 4.1 °C iken Iğdır ilinde 11.6 °C civarındadır (58,126). Yıllık ortalama sıcaklık değerlerinin

yüksek olması, daha çok Iğdır ili olmak üzere, sivrisineklerin hem Kars hem de Iğdır illerinde, özellikle de yaz aylarında yoğun olarak görülmesine imkân sağlamaktadır.

Dirofilaria immitis'in vektörü olan sivrisineklerin doğadaki yayılışını sıcaklık, nem, su kaynakları, bitki örtüsü, iklim, yağış, rüzgâr gibi çevresel faktörler etkilemektedir (126). İklim koşullarının uygun olması, drenaj sistemlerinin bozukluğu, özellikle Devlet Su İşleri tarafından yapılan çok sayıdaki sulama kanalı, yeryüzü su seviyesinin yüksek olması ve yüksek tuzluluk oranı gibi nedenlerden dolayı Iğdır yöresindeki sivrisinek popülasyonunun Kars yöresine oranla oldukça yüksek düzeyde olduğu görülmektedir (6,83).

Iğdır yöresinde sivrisineklerin tür kompozisyonu, nokturnal aktiviteleri ve popülasyon dinamikleri ile ilgili olarak, bu canlıların uygun üreme alanları olan meyve bahçesi, yol kenarı, su kanalları, hayvan barınakları, ağaçlık alan, tarım alanı mera ve ev gibi değişik habitatlarda ışık tuzakları kurulmuş ve daha çok insanlardan kan emdiği (antropofilik) bildirilen (126) sivrisinek türleri toplanmıştır. Bu çalışmalarda erişkin olarak doğada *Ochlerotatus dorsalis*, *Culex pipiens* ve *Cx. theileri* (83), kapalı alanlarda ise *Aedes dorsalis*, *Culex theileri*, *Aedes vexans* ve *Anopheles maculipennis* s.l. (9) türü sivrisinekler toplanırken, 14 sivrisinek türüne ait 24.752 adet larva toplanmıştır (6). Yine Iğdır yöresinde yapılan bir çalışmada 15 sivrisinek türü, diğer bir çalışmada ise 17 sivrisinek türü belirlenmiştir (58,82). Sivrisinek türlerinin ısırma aktivitelerine yönelik olarak yapılan bir çalışmada ise, *Aedes dorsalis*, *Anopheles hyrcanus*, *Culex theileri*, *Ae. vexans* ve *Ae. caspius*, *An. maculipennis* s.l. gibi sivrisinek türlerinin insanlardan kan emdiği ve yaz aylarında kan emmek için -türle göre değişmekle birlikte- genellikle akşam 19.00-20.45 ve sabah 04.15-04.45 saatleri arasında tercih ettiklerine dair bulgular elde edilmiştir (7).

Kars yöresinde ise sivrisineklerin tür kompozisyonu, nokturnal aktiviteleri ve popülasyon dinamikleri gibi konularla ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Sineklerin vektör veya arakonak olarak görev aldığı parazit enfeksiyonların prevalansını vektör sivrisinek popülasyonunun da etkilediği ve bazı türlerin bazı enfeksiyonların yayılışında daha önemli olduğu bildirilmektedir. İspanya'da *Dirofilaria immitis*'in enfektif dönemi olan L3'ün varlığının araştırıldığı bir çalışmada, sivrisineklerin hiçbirinde enfektif larvaya rastlanmamasına rağmen, *Dirofilaria immitis* için *Culex pipiens*'in daha iyi bir vektör olduğu ancak *Aedes*

caspius, *Aedes vexans*, *Culiseta longiareolata* ve *Culiseta subochrea* türü sivrisineklerin de parazite vektörlük yapabileceği kaydedilmiştir (19). Brezilya'da yapılan çalışmalarda sivrisineklerde *D. immitis* larvası aranmış ve *Ae. scapularis*, *Ae. taeniorhynchus* ve *Cx. quinquefasciatus* türlerinde enfektif L3 bulunmuştur (31,114). ABD'de 16 sivrisinek türünün (*Aedes albopictus*, *Ae. canadensis*, *Ae. cantator*, *Ae. excrucians*, *Ae. sollicitans*, *Ae. sticticus*, *Ae. stimulans*, *Ae. taeniorhynchus*, *Ae. vexans*, *Anopheles bradleyi*, *An. punctipennis*, *An. quadrimaculatus*, *Culex nigripalpus*, *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. salinarius* ve *Psorophora ferox*) *D. immitis*'e vektörlük yapabileceği kaydedilmiştir (132). Kore'de yapılan bir çalışmada *Dirofilaria immitis*'in potansiyel vektörleri olarak *Anopheles sinensis* grubu, *Ae. vexans nipponii* ve *Cx. pipiens* türü sivrisinekler belirlenmiştir (117). Meksika'da yapılan bir çalışma sonucunda *Ae. taeniorhynchus*'un *D. immitis* için ideal bir vektör olduğu ifade edilmiştir (120). Kayseri'de yürütülen çalışmalarda ise *Aedes vexans* ve *Culex pipiens* türü sivrisineklerin çalışma bölgesinde *D. immitis*'e aktif olarak vektörlük yaptığı tespit edilmiştir (27,204).

Kars ve Iğdır yöresinde yaptığımız bu çalışmada sivrisineklerin ısırma aktivitelerinin en yüksek olduğu saatler ve üreme alanları (7,58,83) dikkate alınarak evlerin önünde bekçilik yapmak üzere bağlı olan iki köpek cibinlikler içerisine alınmış ve sivrisinek örnekleri toplanmıştır. Cibinlikler içerisinden, Iğdır iline bağlı Zülfikar Köyü'nden toplam 126 adet *Aedes dorsalis*, 34 adet *Culex theileri*, 12 adet *Aedes vexans*, 4 adet *Anopheles maculipennis* ve 1 adet *Culex pipiens* türü sivrisinek toplanırken, Kars iline bağlı Kümbetli Köyü'nden toplam 49 adet *Culex theileri*, 1 adet *Aedes dorsalis*, 1 adet *Culex sp.*, 1 adet *Anopheles maculipennis* türü sivrisinek toplanmıştır.

Bazı sivrisinek türlerinin kan emmek için konak tercih ettiği bilgisi doğrultusunda (126), insan ve diğer hayvanların da var olduğu bir ortamda köpeklerden kan emmek için cibinliklerin içerisine giren bu sivrisinek türlerinin *Dirofilaria immitis*'in potansiyel vektörleri olabileceği düşünülmüştür.

Cibinlikler içerisinden toplanan sivrisinek sayılarına bakıldığında, Zülfikar Köyü'nden toplananların Kümbetli Köyü'nden toplananlardan fazla olduğu görülmektedir. Ancak bu sonuç, Iğdır ilinin iklim özelliklerinin Kars iline göre sineklerin üremesi açısından daha elverişli olması sebebiyle normal bir durum olarak

değerlendirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada ışık tuzakları yerine cibinlik kullanılmış olup, sivrisineklere dışarıdan hiçbir cezbedici müdahalede bulunulmadan (ışık, sivrisinekleri tuzaklara doğru çekmektedir) cibinlikler içerisine girmeleri beklenmiştir. Bu nedenle toplanan sivrisinek sayısı diğer çalışmalardan (9,19,31,83,114,132) daha az olmuştur.

Dirofilaria immitis'in mikrofilenlerinin kanda günün her saatinde görülebildiği, ancak mikrofilenlerinin akşam saatlerinde arttığı bilinmektedir. Çünkü pulmoner arterler ile venalar arasındaki oksijen basıncı akşam saatlerinde düşmekte ve larvalar perifer kana karışmaktadır (65,76,84,118,143,185,190).

Dirofilaria immitis'in mikrofilenlerinin kanda görülme saatleri ülkelere göre farklılık göstermektedir. Örneğin, Amerika Birleşik Devletleri'nde minimum mikrofilenleri saat 11.00'da, maksimum mikrofilenleri ise 16.30'da görülmektedir. Fransa'da en az mikrofilenler saat 8.00'da, en fazla ise saat 20.00'da, Çin Halk Cumhuriyeti'nde en az mikrofilenler saat 06.00'da, en çok mikrofilenler ise saat 18.00'da (172), Tanzania'da ise en fazla mikrofilenler saat 22.00'de tespit edilmiştir (123). Kore'de yapılan bir çalışmada mikrofilenlerinin minimum olduğu saat 11.00, maksimum olduğu saat ise 21.00 olarak belirlenmiştir (154). Türkiye'de yapılan çalışmalarda da en az mikrofilenler saat 12.00'da (173), en fazla mikrofilenler ise 16.00, 24.00 ve sabah 06.00 saatlerinde görülmüştür (177,185). Türkiye'de yapılan bir başka çalışmada ise en az mikrofilenler saat 06.00'da, en fazla mikrofilenler ise 20.00, 22.00 ve 24.00 saatlerinde görülmüştür (33). Ayrıca mikrofilenlerin % 5-20 sinin perifer dolaşımında, geri kalanının ise iç organlarda özellikle de akciğerin küçük solunum kanallarının kan damarlarında yerleştiği (189) ve mikrofilen varlığının patent enfeksiyonun kanıtı olmadığı (153) ifade edilmektedir.

Kars'ta ve Iğdır'da yapılan bu çalışmada da literatür bilgileri (123,154,172,177,185) dikkate alınarak saat 16.00'dan sonra köpeklerden kan alınmaya başlanmıştır.

Dirofilaria immitis'in Türkiye'de ve Dünya'da köpeklerde yaygınlığının artmasının nedenlerinin başında; askeri birliklerde yurt dışından getirilen köpeklerin kullanılması, turistlerin seyahatlerini pet hayvanlarıyla birlikte yapması, bir bölgeye dışarıdan hayvan getirilmesi, evlerde yetiştirmek için kökeni daha çok dış ülkeler olan köpeklere ilgi duyuluyor olmasının geldiği bildirilmektedir. Aynı zamanda

parazitin vektörü olan *Culex*, *Anopheles*, *Aedes* cinsi sivrisinekler Türkiye’de ve Dünya’nın birçok ülkesinde oldukça yaygındır (20,65,87,99,128,174,181).

Dünya’nın çeşitli ülkelerinde yapılan çalışmalarda (19,24,40,69,74,87,146) *Dirofilaria immitis*’in prevalansının % 0.0- 73.5 arasında değiştiği görülmektedir. Türkiye’de yapılan çalışmalarda (2,53,158,175,193,199,204) ise bu oran % 0.0-65.4 arasında değişim göstermiştir. Bu çalışma yapıncaya kadar dirofilariosisin prevalansı Kars yöresinde köpeklerde otopsi sonrasında % 14.3 (188), Saponin Test ile % 14.83 (179) ve Iğdır yöresinde Snap 3Dx test kiti ile % 40 (159) oranında tespit edilmiştir.

Kars ve Iğdır civarında yapılan bu çalışmada ise mikrofiler tespiti amacıyla MF-Asit Fosfataz ve PZR yöntemleri ile erişkin dişi parazit antijeni tespiti amacıyla ticari bir ELISA testi kullanılmış ve yapılan incelemeler neticesinde MF-Asit Fosfataz yöntemi ile % 21.7, PZR ile % 25 ve ELISA ile % 30 oranında prevalans tespit edilmiştir. Bu çalışmada tespit edilen enfeksiyon oranları, Türkiye ve Dünya’da yapılan bazı çalışmalarda belirlenen enfeksiyon oranlarından yüksek, (20,71,104,146,179,188) bazılarında ise düşük (2,74,159) olarak kaydedilmiştir.

Dirofilaria immitis’in yaygınlığını bölgesel farklılıklar da etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda *D. immitis*’in prevalansının deniz kenarında, dağlık alanlardan, köylerde de şehirlerden daha yüksek olduğu görülmüştür (152,171). Prevalansın şehir merkezlerine göre köylerde daha yüksek olmasının, köpeklerin sivrisinek saldırılarına karşı korunmasız olması, uygun çevresel faktörler, düzenli ilaçlamaların köylerde daha az yapılıyor olması ve sivrisinek popülasyonunun köylerde daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (21,65,152,157,174,175,177).

Kars ilinde dirofilariosisin prevalansı 1998 yılında yapılan bir çalışmada (188) % 14.3, 2005 yılında yapılan bir çalışmada (179) ise % 14.83 olarak belirlenmiş ve yıllar ilerledikçe enfeksiyon oranının az da olsa arttığı görülmüştür. Ancak Iğdır ilinde yapılan bir çalışmada (159) prevalans oranının (% 40), yaptığımız çalışmadan daha yüksek çıktığı görülmüştür. O çalışma incelendiğinde, kan alınan odakların çoğunun şehir merkezine uzak olduğu anlaşılmaktadır. Yapılan bu çalışmada ise kan alınan odakların çoğunluğunu Kars ve Iğdır il merkezlerine yakın köyler oluşturmuştur. Elde edilen prevalans değerinin (% 30) Türkiye’de (% 65.4) ve Dünya’da (% 73.5) yapılan bazı çalışmaların yanı sıra Iğdır ilinde yapılan

çalışmadan (% 40) daha düşük çıkmasının kan alınan odakların şehir merkezlerine yakın olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Köpeklerin içeride veya dışarıda barındırılmasının *Dirofilaria immitis*'in prevalansını değiştirip değiştirmediğinin araştırıldığı çalışmalarda (129,138,181,182), dışarıda barındırılan köpeklerde, sivrisinek saldırılarına daha fazla maruz kalma ihtimalinden dolayı, dirofilariosisin daha yüksek oranda görüldüğü kaydedilmiştir. Bu çalışmada kan örneği alınan köpeklerin hepsinin hayvan sürülerine ya da evlere bekçilik etmesi amacıyla dışarıda barındırıldıkları, dolayısıyla sivrisinek saldırılarına daha çok maruz kaldıkları görülmüştür.

Vektör sivrisinek popülasyonu ve vektörün yaşam süresi *Dirofilaria immitis*'in son konakta yoğun olarak görülmesini etkileyen faktörler arasındadır. Vektör sivrisinek bölgede ne kadar yoğun olursa ve ne kadar uzun süre yaşarsa enfeksiyon oranı da o derece yüksek olur. Sivrisinekler sıcak bölgelerde ortalama 6 ay, Türkiye'de ise 1-2 ay yaşarlar (126).

Bu çalışmada, Iğdır yöresindeki enfeksiyon oranı MF-Asit Fosfataz yöntemi ile % 34.17 (41/120), PZR yöntemi ile % 39.17 (47/120) ve ELISA yöntemi ile % 50,83 (61/120) oranında bulunurken, Kars yöresinde MF-Asit Fosfataz yöntemi ile % 9.17 (11/120), PZR yöntemi ile % 10.83 (13/120) ve ELISA yöntemi ile % 9.17 (11/120) oranında tespit edilmiştir. Iğdır yöresindeki enfeksiyon oranının Kars yöresinden yüksek çıkması, Iğdır yöresinde sivrisinek yoğunluğunun daha fazla olmasına bağlanabilmektedir. Ayrıca çalışmada kullanılan teşhis yöntemlerinden herhangi birisi ile alınan pozitif sonuçlar değerlendirildiğinde, *Dirofilaria immitis*'in Kars ve Iğdır yörelerindeki prevalansının % 35.8 (86/240) olduğu görülmektedir. *Dirofilaria immitis*'in Kars yöresindeki prevalansı % 14.17 (17/120), Iğdır yöresindeki prevalansı ise % 57.5 (69/120) olarak belirlenmiştir.

Dirofilariosis köpeklerde genellikle asemptomatik bir seyir izlemektedir (84,151,172,185). Kars ve Iğdır civarında yapılan bu çalışmada hayvan sahiplerine, köpeklerde kısa süreli koşular sonrasında bile yorulma, solunum güçlüğü, kuru ve kısık öksürük, ses kısıklığı, değişik tipte deri harabiyeti (dermatitis), iştahsızlık, aşırı zayıflama, sarılık, idrarda kan görülüp görülmediğine dair sorular sorulmuş, ancak hayvan sahiplerinden alınan cevaplarda hiçbir belirtiye rastlanmadığı anlaşılmıştır.

Dirofilaria immitis'in profilaksi uygulanmamış köpeklerde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (104). Kars ve Iğdır civarında yapılan bu çalışmada ise, hayvan sahiplerinin ne dirofilariosis ne de başka parazit enfeksiyonlara karşı herhangi bir ilaç uygulamadıkları anlaşılmıştır.

Dirofilaria immitis'in erişkin dişileri 20-31 cm uzunluğunda, 1-1,3 mm genişlikte; erişkin erkekleri ise 12-18 cm uzunlukta, 0.7-0.9 mm genişliktedir (84,160,162,172,185,190). Kars'ta ve Iğdır'da yürüttüğümüz bu çalışmada otopsi yapılmadığı için erişkin parazit görülemediği görülmüştür.

Dirofilaria immitis'in mikrofilerlerinin uzunluğunun 218-329 µm, genişliğinin ise 5-7 µm arasında değiştiği belirtilmektedir. Bizim yaptığımız bu çalışmada da MF-Asit Fosfataz testi ile tespit edilen mikrofilerlerin uzunluklarının 272 ile 294 µm arasında, genişliklerinin ise 6-7 µm arasında olduğu ve literatürler ile (11,84,118,172,185) uyum gösterdiği görülmüştür.

Membran Filtrasyon Asit Fosfataz Histokimyasal Boyama yöntemi ile yapılan incelemelerde, asit fosfataz aktivitesi *D. immitis* mikrofilerlerinde boşaltım deliği (EP) ve anal delikte (AP) kırmızı-kahverenginde ve nokta tarzında, *D. (Nochtiella) repens* mikrofilerlerinde ise sadece anal delikte (AP) ve yüzük (halka) şeklinde görülmektedir. Ayrıca asit fosfataz aktivitesi *Dip. (Acanthocheilonema) reconditum* mikrofilerlerinde tüm vücut boyunca kırmızı-kahverenginde şekillenmektedir (1,150,195,196).

Kars ve Iğdır civarındaki köylerde yaptığımız bu çalışmada, 240 köpek kan örneği MF-Asit Fosfataz yöntemi ile incelenmiş ve 52 köpekte *D. immitis*'e yönelik asit fosfataz reaksiyonunun gerçekleştiği görülmüştür.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu yöntemi her ne kadar hassas bir yöntem ise de bazen teşhiste, özellikle de *D. immitis*'in teşhisinde yanlış sonuçlar verebilmektedir. Şöyleki; bazen köpeğin kalbinde erişkin parazit var olup kanda mikrofilerin olmadığı durumlarda PZR ile *D. immitis*'in teşhisi yapılamamaktadır (75,158).

Yapılan bazı çalışmalarda da (42,70,121,155), *D. immitis* ve diğer filarial nematodların teşhisi amacıyla tür spesifik PZR modifikasyonları geliştirilmiştir. Yapılan bu çalışmalar göz önünde bulundurularak, Kars ve Iğdır civarından toplanan 240 köpek kan örneği *D. immitis* için spesifik primerler kullanılarak PZR yöntemi ile incelenmiş ve % 25 oranında prevalans tespit edilmiştir.

Dirofilaria immitis'in erişkin parazit antijeni enfeksiyondan 5 ay, mikrofilerler ise 6.5 ay sonra belirlenebilmektedir. Antijen testinin sensitivitesine bağlı olarak, antijenemi önce fark edilebilir ancak bazen mikrofilerler birkaç hafta sonra görülebilir. Parazit yükünün az olduğu durumlarda veya makrosiklik laktonlarla tedavi uygulandığında antijenemi 9 ay sonra da fark edilebilir. Antijen testlerinin spesifite ve sensitiviteyi oldukça yüksektir ve bu değerler testlere göre değişebilir ancak testler arasında bu değerler açısından belirgin bir fark bulunmamaktadır. Ayrıca dişi parazitlerin immatür olduğu veya az olduğu, sadece erkek parazitlerin var olduğu, ticari kitlerin veya serum örneklerinin oda ısısında bekletildiği durumlarda yanlış negatif sonuçlar alınabilmektedir (134).

Dirofilaria immitis'in teşhisinde kullanılan Antijen ELISA testlerinin sensitivitesinin erişkin parazit sayısına ve parazitin cinsiyetine bağlı olarak değiştii belirtilmektedir. Yapılan bir çalışmada erişkin parazit sayısının 5 ten az olduğu durumlarda antijen testlerinin sensitivitesinin düştüğü görülmüştür. Örneğin DiroChek antijen testi ile 10 dan fazla erişkin parazit varlığında sensitivitenin % 100 olduğu, 5 ten az olduğunda ise sensitivitenin % 70-80 lere düştüğü görülmüştür. Aynı şekilde PetChek antijen testi ile 10 dan fazla erişkin parazit varlığında sensitivitenin % 100 olduğu, 5 ten az erişkin parazit varlığında ise sensitivitenin % 40-50 lere düştüğü görülmüştür (50). Aynı araştırmacılar bir başka çalışmada 2'den fazla erişkin dişi parazit varlığında DiroCHEK® (Synbiotics, Inc., san Diego, CA) testinin sensitivitesini % 94, spesifitesini % 94 olarak; PetChek® (IDEXX Laboratories, Inc. Westbrook, ME) testinin sensitivitesini % 94, spesifitesini % 97 olarak; Snap™ (IDEXX Laboratories, Inc.) testinin sensitivitesini % 94, spesifitesini % 98 olarak; SoloStep (Heska Comparison, Ft.Collins, CO) testinin sensitivitesini % 90, spesifitesini % 98 olarak ve AbboScreen (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL) testinin sensitivitesini % 84, spesifitesini % 96 olarak tespit etmişlerdir (52).

Dirofilaria immitis'in teşhisinde kullanılan Antijen ELISA testlerinin sensitivite ve spesifite düzeyleri göz önünde bulundurularak Kars ve Iğdır civarındaki köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in seroprevalansını belirlemek amacıyla DiroCHEK® (Synbiotics, Inc., san Diego, CA) testi kullanılmış ve % 30 oranında prevalans tespit edilmiştir.

Dirofilaria immitis'in teşhisinde kanda mikrofiler görmek her zaman mümkün olmamaktadır. Bazen köpekte erişkin parazit olduğu halde mikrofilere rastlanmamaktadır. MF-Asit Fosfataz ve PZR yöntemleri ile mikrofiler görülmeyen, ancak ELISA ile antijen tespit edilen köpeklerde dirofilariosis gizli (okult) seyretmektedir (185,189,195,200,201).

Kanada'da okult enfeksiyon oranının % 25-30 arasında değiştiği belirtilmektedir (104). Kuzey Kore'de DiroCHEK antijen testi ile 36 köpekte (% 28,3) *Dirofilaria immitis* belirlenmiş, enfekte köpeklerin 24 ünde ise okult enfeksiyon tespit edilmiştir (116).

Sakarya, Kocaeli, Ankara, Elazığ ve Mersin'den toplanan kan örnekleri kullanılarak yapılan bir çalışmada, PZR yöntemi ile negatif sonuç alınmış ancak serum örneklerinde yapılan incelemede 27 köpekte *D. immitis* antijeni tespit edilmiştir. Dirofilariosisin bu köpeklerde okult seyrettiği kanısına varılmıştır (166). Türkiye'de yapılan diğer çalışmalarda okult enfeksiyon oranının Hatay'da % 61.4 (200), Kırıkkale'de ise % 27.46 (203) olduğu kaydedilmiştir.

Kars ve Iğdır yöresinde yapılan bu çalışmada MF-Asit Fosfataz ve PZR yöntemleri ile mikrofiler tespit edilemeyen ancak ELISA yöntemi ile antijen tespit edilen yani enfeksiyonun gizli (okult) seyrettiği 26 (% 36.1) köpeğin olduğu görülmüştür. Gizli (okult) enfeksiyon oranının *Dirofilaria immitis* ile enfekte köpeklerde % 10-67 arasında değiştiği göz önünde bulundurulduğunda bizim bulduğumuz sonucun literatürlerle (185,189,195,200,201) uyumlu olduğu görülmektedir.

Kars ve Iğdır yöresinde köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in prevalansının belirlenmesinde mikrofiler tespitine yönelik olarak kullanılan MF-Asit Fosfataz ve PZR yöntemlerinin duyarlılıkları karşılaştırıldığında yöntemler arasında çok iyi düzeyde bir uyumluluk olduğu belirlenmiştir. Ayrıca elde edilen prevalans değerleri doğrultusunda yapılan analizler neticesinde de *Dirofilaria immitis*'in tanısında ELISA yönteminin (% 30) PZR yönteminden (% 25), bu yöntemin de MF-Asit Fosfataz yönteminden (% 21.7) daha yüksek oranda pozitiflik saptayabildiği görülmüştür.

Yapılan bazı çalışmalarda *Dirofilaria immitis*'in prevalansının yaşın ilerlemesiyle birlikte arttığı bildirilmektedir (23,99,116,129,138,175). Kars ve Iğdır

civarında yürütülen bu çalışmada da 0.5-3 yaşlı köpeklerde % 30.98, 4-6 yaşlılarda % 40.90, 7 yaş ve üstündekilerde % 46.87 oranlarında belirlenen pozitiflik oranları, yaşın ilerlemesiyle birlikte *Dirofilaria immitis*'in prevalansının arttığını göstermiş, ancak bu durumun istatistiki olarak bir anlam ifade etmediği görülmüştür. Buna rağmen erişkin parazitlerin 2-7 yıl boyunca mikrofilere çıkarabildiği ve mikrofilere 2-7 yıl boyunca canlı kalabildiği göz önünde bulundurulduğunda, bazı araştırmacılara (69,140,177,185) ve bize göre enfeksiyonun prevalansının yaşla birlikte arttığının kesin kanıtı olabilecek bir yargıya varılamamaktadır.

Dirofilariosisin intrauterin yolla bulaşabildiği bildirilmektedir (65,185,190). Ancak Ankara'da yapılan bir çalışmada, gebe bir köpekten ve doğum sonrası 5 yavrusundan alınan kan örneklerinde sadece gebe köpekte mikrofilere tespit edilmiş, yavruların hiçbirinde mikrofilere görülememiştir. Çalışma neticesinde, köpeklerin plasentasının, endothelio-chorial yapıda olması nedeniyle, mikrofilere (ortalama 300 µm) büyüklüğündeki yapıların anneden yavruya geçmesine izin vermeyeceği ve dolayısıyla da yavru köpeklerde *D. immitis* mikrofilerelerinin görülemeyeceği ifade edilmiştir (207).

Kars ve Iğdır yöresinde yapılan bu çalışmada da 1 yaşın altındaki köpeklerde *Dirofilaria immitis*'e rastlanmamış olması bu görüşün doğru olabileceği kanısı uyandırmıştır.

Dirofilaria immitis'in dağılımına cinsiyet yönünden bakıldığında dişi ve erkek köpekler arasında prevalans yönünden belirgin bir fark bulunmadığı görülmüş, ancak parazitin erkek köpeklerde daha yaygın olduğu tespit edilmiştir (87,133,135,140,157,166,171). Ayrıca bazı yazarlara (129,205) göre güvenlik ve sahiplik amacıyla dişilerden ziyade erkek köpekler tercih edilmektedir.

Kars ve Iğdır yöresinde yapılan bu çalışmada incelenen 240 köpeğin 192 sinin erkek, 48 inin dişi olduğu görülmüştür. Yapılan incelemelerde erkek köpeklerdeki enfeksiyon oranının dişilerden yüksek çıktığı tespit edilmiştir. Enfeksiyon oranının erkeklerde daha yüksek çıkmasının, muayene edilen dişi köpek sayısının azlığı ile bu yörelerde genellikle erkek köpeklerin sürülerde ve evlerde bekçilik amacıyla daha uzun yıllar tutulmasından ve dolayısıyla sivrisinek saldırılarına daha uzun süre maruz kalmalarından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Dirofilaria immitis'in prevalansını köpek ırklarının etkileyip etkilemediğinin araştırıldığı bir çalışmada safkan ve melez köpekler arasında enfeksiyon oranları açısından önemli istatistiksel farklılıklar olmadığı görülmüştür (157). Ancak *Dirofilaria immitis*'in daha çok Kangal, Alman Kurdu, Boxer gibi iri cüsseli köpeklerde görüldüğü belirtilmektedir. Bu cins köpeklerin genellikle dışarıda barındırılmakta olduğu, bunların vücut yüzeylelerinin diğer ırk köpeklere oranla daha büyük ve sivrisinek saldırılarına karşı tepkilerinin daha az olduğu kaydedilmiştir (29).

Bu çalışmada, Kars ve Iğdır yöresinde değişik sayılarda Fino, Labrador, Alman Çoban Köpeği Melezleri, Golden, Haski, Dalmaçyalı, Belçika Kurdu, Kangal, Kangal Melezi, ve Yerli ırk köpeklerden kan alınarak *Dirofilaria immitis* varlığı yönünden incelenmiştir. Çalışmanın yapıldığı yörelerde yetiştirilen köpeklerin çoğunlukla Kangal, Yerli ırk ve Kangal melezi gibi iri cüsseli ve kuvvetli köpekler oldukları ve bu köpeklerin genellikle hayvan sürülerini vahşi hayvan saldırılarından korumak amacıyla barındırıldığı gözlenmiştir. Yapılan incelemeler neticesinde *Dirofilaria immitis*'e en yüksek oranda Yerli ırk köpeklerde rastlandığı, bunu Kangal Melezi, Karma grup ve Kangal ırkı köpekleri izlediği tespit edilmesine rağmen incelenen köpek ırkları arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür.

Dirofilaria immitis'in prevalansını köpek renginin etkileyip etkilemediğinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, *D. immitis*'in yaygınlığı siyah ağırlıklı olanlarda % 40, beyaz ağırlıklılarda % 38.52, kahverengi ağırlıklılarda % 34.61 ve gri ağırlıklı renkteki köpeklerde % 14.28 oranında tespit edilmiştir. Renklere göre enfeksiyon oranları arasındaki farkın istatistiki açıdan önemi olmasa da *D. immitis* en çok siyah renkli köpeklerde görülmüş, bunu sırasıyla beyaz renkli, kahve renkli ve gri renkli köpekler izlemiştir.

5. SONUÇ

Sokak köpekleri Türkiye’de halk sağlığını önemli ölçüde ilgilendiren bir sorun haline gelmiştir. Bu sorun, son yıllarda hayvan sever vatandaşların katkılarıyla ve büyük çoğunluğu belediyelere ait olan hayvan barınaklarıyla çözümlenmeye çalışılmış, ancak bu çaba yeterince etkili olmamıştır. Kars ve Iğdır yöresinde de, özellikle hayvan sürülerine bekçilik yapması amacıyla yetiştirilen köpeklerin sağlığı ile yeterince ilgilenilmediği görülmektedir. Ayrıca bu yörelerde alt yapı eksikliği, eğitimsizlik, bilinçsizlik, belediye hizmetlerinin yetersizliği gibi nedenlerden dolayı başıboş köpek sayısı oldukça fazladır. Sahipli köpeklerin büyük bir kısmının da sahipsizmiş gibi ilgisiz ve bilinçsiz bir şekilde yetiştirildiği görülmektedir. Dolayısı ile bu köpeklerin, pek çok paraziter etken gibi *Dirofilaria immitis*’i de taşıdığı düşüncesiyle bu çalışma projelendirilmiş ve sonuçlandırılmıştır.

Kars ve Iğdır yöresinde yapılan bu çalışma ile ELISA yönteminde % 30, PZR yönteminde % 25 ve MF- Asit Fosfataz yönteminde % 21.7 oranında pozitiflik tespit edilmişken, Iğdır yöresinde yapılan bir başka çalışmada (159) % 40 oranında pozitiflik bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar, Kars ve Iğdır yöresinde köpeklerde *Dirofilaria immitis*’in prevalansının 1998 ve 2005 yıllarında yapılan çalışmalardan (179,188) daha yüksek oranda olduğunu, dolayısıyla prevalansın her geçen gün arttığını göstermektedir. Ayrıca son yıllarda bütün dünyayı etkisi altına alan küresel ısınma, iklim değişiklikleri ve Türkiye’de yürütülen Güneydoğu Anadolu Projesi (GAP), Doğu Anadolu Projesi (DAP) gibi çalışmalar neticesinde sivrisineklerin yaşam alanlarının genişleyeceği, bunun da dirofilariosis enfeksiyonlarını tetikleyeceği endişesini ortaya çıkarmaktadır (85).

Bu araştırmada, uygulanan üç yöntemin en az birisiyle pozitiflik saptanan olgular değerlendirildiğinde, *Dirofilaria immitis*’in prevalansı köpeklerde % 35.8 (86/240) olarak belirlenmiş, bu oran Kars yöresinde % 14.17 (17/120) iken Iğdır yöresinde % 57.5 (69/120) olarak kaydedilmiştir. Elde edilen sonuçlar,

dirofilariosisin Kars yöresine kıyasla Iğdır yöresinde daha tehlikeli boyutlarda olduğunu göstermektedir.

Sokak köpeklerinin, aralarında *Dirofilaria immitis*'in de bulunduğu pek çok paraziter, bakteriyel ve viral hastalık etkenlerini taşıdığı yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Bu durumun diğer hayvanlar açısından olduğu kadar insanlar açısından da ciddi tehlike yarattığı aşikârdır. Dolayısıyla başta Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı olmak üzere ilgili kurum ve kuruluşların birbirleriyle işbirliği içerisinde üzerine düşen görevi yerine getirmesi ve gerekli korunma ve kontrol tedbirlerini alması gerekmektedir. Ayrıca yetiştiricilerin ve hayvan severlerin paraziter, bakteriyel ve viral hastalıklar konusunda bilinçlendirilmesi elzemdir.

Cibinlikler içerisinde toplanan sivrisinekler incelendiğinde, Iğdır-Zülfikar Köyü'nden toplam 126 adet *Aedes dorsalis*, 34 adet *Culex theileri*, 12 adet *Aedes vexans*, 4 adet *Anopheles maculipennis* ve 1 adet *Culex pipiens* türü sivrisinek toplanırken, Kars-Kümbetli Köyü'nden toplam 49 adet *Culex theileri*, 1 adet *Aedes dorsalis*, 1 adet *Culex sp.*, 1 adet *Anopheles maculipennis* türü sivrisinek toplanmıştır. Her iki köyden toplanan sivrisinek sayıları göz önünde bulundurulduğunda ortaya çıkan bu fark, iklim ve diğer ekolojik özelliklerin Kars iline oranla Iğdır ilinde sivrisinekler açısından daha elverişli olduğunu göstermiştir. Bu durum sivrisineklerin arakonak/vektör olduğu başta dirofilariosis olmak üzere birçok hastalığın, Iğdır yöresinde Kars yöresine göre daha yüksek oranda görülmesine imkân sağlamaktadır.

Bu çalışma ile Kars ve Iğdır yöresinde sahipli köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in prevalansı ilk kez üç yöntem ile ayrı ayrı belirlenmiş, aynı zamanda *D. immitis*'in potansiyel vektörleri olan sivrisinek türleri hakkında bilgi edinilerek bilimsel literatüre katkı sağlanmaya çalışılmıştır.

Çalışmanın sonuçları; *Dirofilaria immitis*'e karşı Kars ve Iğdır yöresinde insan ve köpek sağlığının korunabilmesi amacıyla köpeklerdeki parazitlere karşı etkili bir korunma ve kontrol programının bir an önce devreye sokulmasının gerekliliğini ortaya koymuştur.

Ayrıca hem Kars hem de Iğdır'da *Dirofilaria immitis*'in hangi tür sivrisinekler tarafından köpeklere bulaştırıldığı konusunda veri bulunmamaktadır. Bu konu üzerinde detaylı bir çalışma yapılması gerektiği düşünülmektedir.

6. ÖZET

Kars ve Iğdır Civarındaki Köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in Prevalansı ve Potansiyel Vektör Sivrisinek Türleri Üzerine Araştırmalar

Bu çalışma, Türkiye'nin Doğu'sunda bulunan Kars ve Iğdır illerinde yetiştirilen köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in prevalansının belirlenmesi ve bu illerdeki potansiyel vektör sivrisinek türleri hakkında bilgi edinilmesi amacıyla yapılmıştır.

Bu amaçla 1 Eylül-31 Ekim 2009 tarihleri arasında (Kars yöresinden 120 ve Iğdır yöresinden 120) 240 adet köpekten kan alınmıştır. Kan alınan köpeklerin yaşı, cinsiyeti ve ırkı, solunum veya dolaşım sistemine ait klinik belirti olup olmadığı kaydedilmiştir. Kan örnekleri Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı laboratuvarı'na getirilerek incelenmiştir.

Membran Filtrasyon-Asit Fosfataz Histokimyasal Boyama (MF-Asit Fosfataz) yöntemi ile 52 (% 21.7), Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) yöntemi ile 72 (% 30) ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemi ile de 60 köpeğin (% 25) *Dirofilaria immitis* ile enfekte olduğu tespit edilmiştir. *Dirofilaria immitis*'in teşhisinde kullanılan yöntemlerden herhangi birisi ile alınan pozitif sonuçlar değerlendirildiğinde bu parazitin Kars ve Iğdır yöresindeki prevalansının % 35.8 (86/240) olduğu görülmüştür. Ayrıca ELISA ile 26 köpekte (% 36.1) gizli (okult) enfeksiyon belirlenmiştir.

Yapılan incelemelerde, 0.5-3 yaş grubundaki 142 köpekten 44 ünde (% 30.98), 4-6 yaş grubundaki 66 köpekten 27 sinde (% 40.90), 7 yaş ve üzeri gruptaki 32 köpekten ise 15 inde (% 46.87) *Dirofilaria immitis* belirlenmiştir.

Çalışmada incelenen 192 erkek köpeğin 73 ünde (% 38.02) ve 48 dişi köpeğin 13 ünde (% 27.08) *Dirofilaria immitis* tespit edilmiştir.

Yapılan incelemelerde, 115 Yerli ırk köpekten 45 inin (% 39.13), 53 Kangal Melezi köpekten 20 sinin (% 37.73), Karma gruptaki 48 köpekten 16 sının (% 33.33)

ve 24 Kangal ırkı köpekten 5 inin (% 20.83) *Dirofilaria immitis* ile enfekte olduğu görülmüştür.

Çalışmada incelenen beyaz renkli 122 köpekten 47 sinin (% 38.52), siyah renkli 45 köpekten 18 inin (% 40), gri renkli 21 köpekten 3 ünün (% 14.28) ve kahve renkli 52 köpekten 18 inin (% 34.61) *Dirofilaria immitis* ile enfekte olduğu tespit edilmiştir.

Dirofilaria immitis'in teşhisinde kullanılan yöntemler karşılaştırıldığında, ELISA yönteminin PZR yönteminden, bu yöntemin de MF-Asit Fosfataz yönteminden daha yüksek oranda pozitiflik saptayabildiği görüldü.

Ayrıca Temmuz, Ağustos ve Eylül 2009 tarihlerinde ayda bir kez, kan örneklerinin toplanacağı Kars ve Iğdır yöresindeki iki odaktan ikişer köpek, farklı cibinlikler içerisinde bir gece boyunca bekletilmiş ve ertesi gün erişkin sivrisinekler toplanmıştır. Kars yöresinde 49 adet *Culex theileri*, 1 adet *Aedes dorsalis*, 1 adet *Culex sp.*, 1 adet *Anopheles maculipennis* toplanmış iken, Iğdır yöresinde 126 adet *Aedes dorsalis*, 34 adet *Culex theileri*, 12 adet *Aedes vexans*, 4 adet *Anopheles maculipennis* ve 1 adet *Culex pipiens* türü sivrisinek toplanmıştır.

Sonuç olarak bu çalışma ile, Kars ve Iğdır yörelerindeki köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in yaygınlığı belirlenmiş ve potansiyel vektör sivrisinek türleri hakkında bilgi edinilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Dirofilaria immitis*, Sivrisinek, Köpek, PZR, ELISA, Membran Filtrasyon-Asit Fosfataz Histokimyasal Boyama Yöntemi, Kars, Iğdır, Yaygınlık.

7. SUMMARY

The Prevalance of *Dirofilaria immitis* in Dogs and Investigations on Potential Vector Mosquito Species in Kars and Iğdır Provinces.

This study was carried out to determine the prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs and to inquire about potential vector mosquito species in the provinces of Kars and Iğdır in eastern Turkey.

With this aim, blood samples were collected from 240 dogs (120 from Kars, 120 from Iğdır provinces) between 1 September and 31 November 2009. The information about age, sex, race and the presence of any clinical signs in the respiration and the circulation system of the dogs were recorded. The blood samples were brought to Department of Parasitology Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, University of Kafkas, and examined.

Fifty two of 240 dogs (21.7%) were found to be infected with *Dirofilaria immitis* by Membrane Filtration-Acide Phosphates Histochemical Staining (MF-Acide Phosphates), and 72 dogs (30 %) were found to be infected with *D. immitis* by Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA), and also 60 (25 %) dogs were found to be infected with *D. immitis* by using Polimerase Chain Reaction (PCR) methods. It has been determined that the prevalence of *Dirofilaria immitis* in Kars and Iğdır provinces was 35.8 % (86/240) when the positive results which were evaluated by one of methods used in the diagnosis of this parasite. In addition, occult infection was determined in 26 dogs (36.1 %) by ELISA.

During the experiments, 44 out of 142 dogs (30.98 %) which are the group of 5 month old-3 years old, 27 out of 66 dogs (40.90 %) which are the group of 4-6 years old dogs, and 15 out of 32 dogs (% 46.87) which are the group of 7 years old and older dogs were determined to be infected with *Dirofilaria immitis*.

Regarding sexes, 73 (38.02 %) of 192 male dogs and 13 (27.08 %) of 48 female dogs were found to be infected with *D. immitis*.

Regarding races, 45 of 115 (39.13 %) dogs of local race, 20 of 53 (37.73 %) dogs of Kangal crossbred, 16 of 48 (33.33 %) dogs of mixed races, and 5 of 24 (20.83 %) Kangal dogs were found to be infected with *D. immitis*.

Regarding fur color, 47 of 122 (38.52 %) white dogs, 18 of 45 black dogs (40 %), 3 of 21 (14.28 %) gray dogs, and 18 of 52 brown dogs (34.61 %) were found to be infected with *D. immitis*.

Comparing the methods used in the diagnosis of *D. immitis*, ELISA was found more sensitive than PCR, and also the latter is more sensitive than MF-Acid Phosphatase.

In addition to that, two dogs from two localities were placed in different mosquito nets for one night in Kars and Iğdır provinces where blood samples would be collected, and adult mosquito species were collected at following day, once a month in July, August and September, 2009. While 49 *Culex theileri*, 1 *Aedes dorsalis*, 1 *Culex sp.*, and 1 *Anopheles maculipennis* mosquito species were collected in Kars province, 126 *Aedes dorsalis*, 34 *Culex theileri*, 12 *Aedes vexans*, 4 *Anopheles maculipennis*, and also 1 *Culex pipiens* mosquito species were collected from the nets in Iğdır province.

In conclusion, with this study, the prevalence of *D. immitis* in dogs in the provinces of Kars and Iğdır were determined and the information about the potential species of mosquito vector was obtained.

Keywords: *Dirofilaria immitis*, Mosquito, Dog, PCR, ELISA, Membrane Filtration-Acide Phosphates Histochemical Staining Method, Kars, Iğdır, Prevalance.

8. KAYNAKLAR

1. **Acevedo, R.A., Theis, J.H., Kraus, J.F., Longhurst, W.M.:** Combination of filtration and histochemical stain for detection and differentiation of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum* in the dog. J. Vet. Res. 42 (3): 537-540, 1981.
2. **Ağaoğlu, Z., Akgül, Y., Ceylan, E., Akkan, H.:** Van yöresi köpeklerinde *Dirofilaria immitis*'in yaygınlığı. YYÜ. Vet. Fak. Derg. 11 (2): 41-43, 2000.
3. **Ak, M., Dağcı, H., Türk, M., Aksoy, Ü., Akısü, Ç.:** Protozoon ve helmintlere karşı üretilen mono veya poliklonal antikorlarla yapılan bazı araştırmalar. Türkiye Parazitol. Derg. 26 (1): 99-107, 2002.
4. **Akar, N.:** Klinik Moleküler Patolojiye Giriş. 2. Baskı. Ankara Üniversitesi Basımevi. Ankara. 1999.
5. **Aldemir, A., Bosgelmez, A.:** Population dynamics of adults and immature stages of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Gölbaşı District, Ankara. Turk. Zool. Derg. 30: 9-17, 2006.
6. **Aldemir, A., Demirci, B., Kırpık, M.A., Alten, B., Baysal, A.:** Species composition and seasonal dynamics of mosquito larvae (Diptera: Culicidae) in Iğdır plain, Turkey. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg. 15 (1): 103-110, 2009.
7. **Aldemir, A., Bedir, H., Demirci, B., Alten, B.:** Biting activity of mosquito species (Diptera: Culicidae) in the Turkey-Armenia border area, Ararat Valley, Turkey. J. Med. Entomol. 47 (1): 22-27, 2010.
8. **Aldemir, O. S.:** Simulidae (Kara sinek). Türkiye Parazitol. Derg. 24 (1): 94-98, 2000.
9. **Alkan, S.S., Aldemir, A.:** Seasonal dynamics of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in animal barns and houses in Aras Valley, Turkey. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg. 16 (1): 43-48, 2010.

10. **Alves, L.C., Almeida Silva, L.V., Gloria-Faustino, M.A., McCall, J.W., Supakonderj, P., Labarthe, N.W., Sanchez, M., Caires, O.:** Survey of canine heartworm in the city of Recife, Pernambuco, Brasil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 94 (5): 587-590, 1999.
11. **Anderson, R.C.:** Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission. 2nd Ed. New York: CABI Publishing. p.: 467-509, 2000.
12. **Anon:** *Dirofilaria immitis*. Erişim Tarihi: 31.05.2004
http://cal.vet.upenn.edu/dxendopar/parasitepages/filariidsandspirurids/d_immitis.html.
13. **Anon:** *Dirofilaria immitis*. Erişim Tarihi: 31.05.2004
http://ucdnema.ucdavis.edu/imagemap/nemmap/ent156html/nemas/Dirofilaria_immitis.
14. **Anon:** Dog Heartworm. Erişim Tarihi: 22.10.2004
http://www.plymouthmosquito.com/dog_heartworm.htm...
15. **Anon:** Heartworm, Erişim Tarihi: 12.01.2010
[<http://www.marvistavet.net/html/heartworm.html>]
16. **Anon:** Heartworm. Erişim Tarihi: 31.05.2004
http://www.michigan.gov/dnr/0,1607,7-153-10370_12150_12220-26653,00.html.
17. **Anon:** Life cycle of *Dirofilaria immitis* in canidae. Erişim Tarihi: 28.06.2004
<http://student.vwc.edu/~sldodgers/dogworm.htm>.
18. **Anon:** PCR (Polimerase Chain Reaction). Erişim: 16.02.2010
<http://yunus.hacettepe.edu.tr/~coner/GEN/04/PCR.htm>.
19. **Aranda, C., Panyella, O., Eritja, R., Castellá, J.:** Canine filariasis importance and transmission in the Baix Llobregat Area, Barcelona (Spain). Vet. Parasitol. 77 (4): 267-275, 1998.
20. **Araujo, R.T., Marcondes, C.B., Bastos, L.C., Sartor, D.C.:** Canine dirofilariasis in the region of Conceição Lagoon, Florianópolis, in the Military Police Kennel, São José, State of Santa Catarina, Brazil. Vet. Parasitol. 113: 239-242, 2003.
21. **Ataş, A.D., Özçelik, S., Saygı, G.:** Sivas sokak köpeklerinde görülen helmint türleri, bunların yayılışı ve halk sağlığı yönünden önemi. Türkiye Parazitol. Derg. 21 (3): 305-309, 1997.

22. **Aydenizöz, M.:** Konya yöresi köpeklerinde helmintolojik araştırmalar. Türkiye Parazitol. Derg. 21 (4): 429-434, 1997.
23. **Balıkçı, E., Sevgili, M.:** Elazığ ve çevresindeki köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in seroprevalansı. Fırat Üniv. Sağ. Bil. Vet. Derg. 19 (2): 103-106, 2005.
24. **Bidgood, A., Collins, G.H.:** The prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs in Sydney. Aust. Vet. J. 73 (3): 103-104, 1996.
25. **Birben, E.:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction (PCR). Astım Allerji İmmünoloji. 4 (2): 92-94, 2006.
26. **Bishop, B.F., Bruce, C.I., Evans, N.A., Goudie, A.C., Gration, K.A.F., Gibson, S.P., Pacey, M.S., Perry, D.A., Walshe, N.D.A., Witty, M.J.:** Selamectin: A novel broad-spectrum endectocide for dogs and cats. Vet. Parasitol. 91: 163-176, 2000.
27. **Bişkin, Z.:** Kayseri'nin Felahiye yöresinde *Dirofilaria immitis*'in vektör sivrisineklerde moleküler biyolojik tanısı. Türkiye Parazitol. Derg., 34 (3): 200-205, 2010.
28. **Bolio-Gonzalez, M.E., Rodriguez-Vivas, R.I., Sauri-Arceo, C.H., Gutierrez Blanco, E., Ortega-Pacheco, A., Colin-Flores, R.F.:** Prevalence of the *Dirofilaria immitis* infection in dogs from Merida, Yucatan, Mexico. Vet. Parasitol. 148: 166-169, 2007.
29. **Börkü, M.K., Kurtdede, A., Azizoğlu, D., Kilit, M.:** *Dirofilaria immitis* ile doğal enfekte köpeklerde thiacetarsamide sodium uygulamaları. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 43 (2): 247-256, 1996.
30. **Brito, A.C., Fontes, G., da Rocha, E.M., Martins Rocha, D.A., Regis, L.:** Development of *Dirofilaria immitis* (Leidy) in *Aedes aegypti* (L.) and *Culex quinquefasciatus* (Say) from Maceio, Alagoas, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 94 (4): 575-576, 1999.
31. **Brito, A.C., Vila-Nova, M.C., Martins Rocha, D.A., Gomes Costa, L., Pinhe Almeida, W.A., da Silva Viana, L., Ramalho Lopes, R.Jr., Fontes, G., da Rocha, E.M., Regis, L.:** Prevalence of canine filariasis by *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum* in Maceiã, Alagoas State, Brazil. Cad. Saude Publica. 17 (6): 1497-1504, 2001.

- 32. Budak, S.:** Parazit ve vektör ilişkileri. Türkiye Parazitol. Derg. 18 (3): 362-370, 1994.
- 33. Burgu, A., Şahal, M., Yıldırım, A., Gazyağcı, S., Adamır, R., Gürcan, S.:** *Dirofilaria immitis* ile enfekte köpeklerde mikrofiler periodisitesinin kantitatif analizi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 51: 117-125, 2004.
- 34. Burgu, A., Sarımeahmetoğlu, O.:** Köpek ve Kedilerin Parazit Hastalıklarında Tedavi, Helmint Hastalıklarında Tedavi. S: 133-156. Burgu, A., Karaer, Z (Ed). Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıklarında Tedavi. Türkiye Parazitol. Dern. Yayın No: 19. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri. İzmir. 2005.
- 35. Cancrini, G., Allende, E., Favia, G., Bornay, F., Antón, F., Simón, F.:** Canine dirofilariosis in two cities of southeastern Spain. Vet. Parasitol. 92: 81-86, 2000.
- 36. Cancrini, G., Frangipane di Regalbono, A., Ricci, I., Tessarin, C., Gabrielli, S., Pietrobelli, M.:** *Aedes albopictus* is a natural vector of *Dirofilaria immitis* in Italy. Vet. Parasitol. 118: 195-202, 2003.
- 37. Cannon, R.M., Roe R.T.:** Livestock Disease Surveys: A Field Manual For Veterinarians. Canberra, Australian Bureau of Animal Health. Pp:21. 1982.
- 38. Cantó, G.J., García, M.P., García, A., Guerrero, M.J., Mosqueda, J.:** The prevalence and abundance of helminth parasites in stray dogs from the city of Queretaro in central Mexico. J. Helminthol. 20: 1-7, 2010.
- 39. Cantoray, R., Dik, B., Gülbahçe, S.:** Konya'da dört köpekte saptanan *Dirofilaria immitis* (Leidy,1856) olgusu. Veterinarium. 1: 32-34, 1990.
- 40. Carlos, R.S., Muniz Neta, E.S., Spagnol, F.H., Oliveira, L.L., de Brito, R.L., Albuquergue, G.R., Almosny, N.R.:** Frequency of antibodies anti-*Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* and *Dirofilaria immitis* antigens in dogs from microrregion Ilhéus-Itabuna, State of Bahia, Brazil. Rev. Bras. Parasitol. Vet.16 (3): 117-20, 2007.
- 41. Caro-Gonzalez, J.A., Bolio-Gonzalez, M.E., Escobedo-Ortegón, F.J., Manrique-Saide, P., Rodriguez-Vivas, R.I., Rodriguez-Buenfil, J.C., Sauri-Arceo, C.H.:** Prevalence of *Dirofilaria immitis* infection in dogs from Celestun, Mexico, using polymerase chain reaction test. Vector Borne Zoonotic Dis. 11 (2): 193-196, 2011.

- 42. Casiraghi, M., Bazzocchi, C., Mortarino, M., Ottina, E., Genchi, C.:** A simple molecular method for discriminating common filarial nematodes of dogs (*Canis familiaris*). *Vet. Parasitol.* 141: 368-372, 2006.
- 43. Caswell-Chen, E.P., Westerdahl, B.B.:** *Dirofilaria immitis*. Erişim Tarihi: 16.12.2010.
[<http://ucdnema.ucdavis.edu/imagemap/nemmap/ent156html/nemas/dirofilariaimmitis>].
- 44. Copland, M.D., O'Callaghan, M.G., Hajduk, P., O'Donoghue, P.J.:** The occurrence of *Dirofilaria immitis* in dogs in South Australia. *Aust. Vet. J.* 69 (2): 31-32, 1992.
- 45. Corwin, R.M., Nahm, J.:** Heartworm. Erişim Tarihi: 22.01.2010
[www.missouri.edu/~vmicrorc/Nematoda/Spirurids/Dimmitis.htm].
- 46. Coşkun, ř.Z., Tınar, R., Akyol, ř.V., Aydın, L., Demir, C.:** Doğal enfekte köpeklerde *Dirofilaria immitis* mikrofilerlerine ivermektinin etkisi. *Uludağ niv. Vet. Fak. Derg.* 11 (2): 121-128, 1992.
- 47. Courtney, C.H.:** Transmission and lifecycle of heartworm. *Calif. Vet. Special Edition.* p.: 8, 1989.
- 48. Courtney, C.H.:** Detection and differentiation of microfilariae. *Calif. Vet. Special Edition.* p.: 9-11, 1989.
- 49. Courtney, C.H., Zeng, Q-Y.:** Immunodiagnosis of occult heartworm infection. *Calif. Vet. Special Edition.* p.: 12-15, 1989.
- 50. Courtney, C.H., Zeng, Q-Y.:** Sensitivity and specificity of two heartworm antigen tests. *Canine Pract.* 20: 15-17, 1995.
- 51. Courtney, C.H., Zeng, Q-Y.:** Relationship between microfilaria count and sensitivity of the direct smear for diagnosis of canine dirofilariosis. *Vet. Parasitol.* 94: 199-204, 2001.
- 52. Courtney, C.H., Zeng, Q-Y.:** Comparison of heartworm antigen test kit performance in dogs having low heartworm burdens. *Vet. Parasitol.* 96: 317-322, 2001.
- 53. akıroğlu, D., Meral, Y.:** Samsun bölgesinde köpeklerde *Dirofilaria immitis* enfestasyonu insidansı incelenmesi. *JIVS.* 2: 1-12, 2007.

- 54. Çetinkaya, B.:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) temel prensipler. Fırat Üniv. Sağ. Bil. Derg. 12 (2): 149-156, 1998.
- 55. Davoust, B., Normand, T., Bourry, O., Dang, H., Leroy, E., Bourdoiseau, G.:** Epidemiological survey on gastro-intestinal and blood-borne helminths of dogs in north-east Gabon. Onderstepoort J. Vet. Res. 75 (4): 359-64, 2008.
- 56. Dean, A.G., Dean, J.A., Coulombier, D., Brendel, K.A., Smith, D.C., Burton, A.H., Dicker, R.C., Sullivan, K.M., Fagan, R.F., Arner, T.G.:** Epi-Info, Version6: A word processing, database, and statistics program for epidemiology on microcomputers. Atlanta, Center for Disease Control and Prevention. 1994.
- 57. De Francesco, T.C., Atkins, C.E., Miller, M.W., Meurs, K.M., Keene, B.W.:** Use of echocardiography for the diagnosis of heartworm disease in cats: 43 cases (1985-1997). JAVMA. 218 (1): 66-69, 2001.
- 58. Demirci, B.:** Iğdır ve Civarındaki Sivrisinek (Diptera: Culicidae) Türlerinin Biyo-Ekolojileri Üzerine Araştırmalar. Kafkas Üniv. Fen Bil. Enstit. Yüksek Lisans Tezi. Kars. 2006.
- 59. Demirsoy, A.:** Yaşamın Temel Kuralları Omurgasızlar/ Böcekler Entomoloji Cilt II/ Kısım II. 3. Baskı. Meteksan A.Ş. Ankara. 1992.
- 60. Devrim, A.K., Kaya, N.:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg. 10 (2): 209-214, 2004.
- 61. Dik, B., Başoğlu, A., Kaya, M.:** Köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in sağıtımında levamizol ve ivermectin'in etkileri. Selçuk Üniv. Vet. Fak. Derg. 8 (2): 48-50, 1992.
- 62. Dillon, R.:** Pharmacology of heartworm therapeutics. Calif. Vet. Special Edition. p.: 23-25, 1989.
- 63. Doğanay, A.:** Ankara köpeklerinde görülen helmint türleri, bunların yayılışı ve halk sağlığı yönünden önemi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 30 (4): 550-561, 1983.
- 64. Doğanay, A.:** Türkiye'de kedi ve köpeklerde görülen parazitler. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 39 (1-2): 336-348, 1992.
- 65. Doğanay, A., Şahal, M.:** Türkiye'de köpeklerdeki dirofilariasis sorunu ve insan sağlığı açısından önemi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 34 (2): 277-287, 1987.

- 66. Duran-Struuck, R., Jost, C., Hernandez, A.H.:** *Dirofilaria immitis* prevalence in a canine population in the Samana Peninsula (Dominican Republic) - June 2001. *Vet. Parasitol.* 133: 323-327, 2005.
- 67. Ensari, N.Y.:** Moleküler Biyoloji. 1. Baskı. D.Ü. Basımevi Müdürlüğü Diyarbakır. 2002.
- 68. Euclid, J.M., Copeman, D.B.:** A comparison of two antigen-detection ELISA for detecting infection of *Dirofilaria immitis* in dogs. *Parasite.* 4 (3): 287-289, 1997.
- 69. Fan, C.K., Su, K.E., Lin, Y.H., Liao, C.W., Du, W.Y., Chiou, H.Y.:** Seroepidemiologic survey of *Dirofilaria immitis* infection among domestic dogs in Taipei City and Mountain Aboriginal districts in Taiwan (1998-1999). *Vet. Parasitol.* 102: 113-120, 2001.
- 70. Favia, G., Lanfrancotti, A., Della Torre, A., Cancrini, G., Coluzzi, M.:** Polymerase chain reaction-identification of *Dirofilaria repens* and *Dirofilaria immitis*. *Parasitology.* 113: 567-571, 1996.
- 71. Fioretti, D.P., Diaferia, M., Grelloni, V., Maresca, C.:** Canine filariasis in Umbria: an update of the occurrence one year after the first observation of autochthonous foci. *Parassitologia.* 45 (2): 79-83, 2003.
- 72. Foreyt, W.J.:** *Veterinary Parasitology Reference Manual.* Second Edition. Pullman- Washington. 1990.
- 73. Furtado, A.P., Do Carmo, E.S., Giese E.G., Vallinoto, A.C.R., Lanfredi, R.M., Santos, J.N.:** Detection of dog filariasis in Marajo Island, Brazil by classical and molecular methods. *Parasitol. Res.* 105: 1509-1515, 2009.
- 74. Garcez, L.M., de Souza, N.F., Mota, E.F., Dickson, L.A.J., Abreu, W.U., Cavalcanti, V.F.N., Gomes, P.A.F.:** Focus of canine heartworm disease in Marajo Island, North of Brazil: A risk factor for human health. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 39 (4): 333-336, 2006.
- 75. Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G.:** *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections, *Mappe Parassitologiche* 8. First edition. Litografia Vigilante srl, Rolando Editore Via Nuova Poggioreale, Naples, Italy. Pp: 39-209, 2007.

- 76. Georgi, J.R., Georgi, M.E.:** Parasitology for Veterinarians. Fifth Edition: W.B. Saunders Company. Philadelphia. 1990.
- 77. Göz, Y., Kotlaş, İ.S., Altuğ, N., Demirkazık, M., Yüksek, N., Ağaoglu, Z.:** Van yöresi köpeklerinde *Dirofilaria immitis*'in seroprevalansı. YYÜ. Vet. Fak. Derg. 18 (2): 5-8, 2008.
- 78. Grauer, G.F., Culham, C.A., Dubieizic, R.R., Longhofer, S.L., Grieve, R.B.:** Experimental *Dirofilaria immitis*-associated glomerulonephritis induced in part by in situ formation of immune complexes in the glomerular capillary wall. J. Parasitol. 75: 585-593, 1989.
- 79. Grieve, R.B., Mika-Johnson, M., Jacobson, R.H., Cypess, R.H.:** Enzyme-linked immunosorbent assay for measurement of antibody responses to *Dirofilaria immitis* in experimentally infected dogs. Am. J. Vet. Res. 42 (1): 66-69, 1981.
- 80. Grieve, R.B., Lauria, S.:** Periodicity of *Dirofilaria immitis* microfilariae in canine and murine hosts. Acta. Trop. 40: 121-127, 1983.
- 81. Grieve, R.B., Lok, J.B., Glickman, L.T.:** Epidemiology of canine heartworm infection. Epidemiol. Rev. 5: 220-246, 1983.
- 82. Gündüz, Y.K.:** Iğdır Ovası'ndaki Ekzofilik Sivrisinek (Diptera: Culicidae) Türlerinin Örneklenmesi. Kafkas Üniv. Fen Bil. Enstit. Yüksek Lisans Tezi. Kars. 2007.
- 83. Gündüz, Y.K., Aldemir, A., Alten, B.:** Seasonal dynamics and nocturnal activities of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Aras Valley, Turkey. Turk. Zool. Derg. 33: 269-276, 2009.
- 84. Güralp, N.:** Helmintoloji. 2. Baskı, Ankara Üniv. Vet. Fak. Yayınları. Ankara Üniv. Basımevi. Ankara. 1981.
- 85. Güralp, N.:** GAP yöresinde hayvan parazitlerinin yayılışında barajların önemi. Türkiye Parazitol. Derg. 18 (2): 240-246, 1994.
- 86. Haddock, K.C.:** Canine heartworm disease: A review and pilot study. Soc. Sci. Med. 24: 225-246, 1987.
- 87. Hesselink, J.W.:** The prevalence of heartworm (*Dirofilaria immitis*) in dogs of Curacao, Netherlands. Tijdschr. Diergeneeskd. 113 (15-16): 853-859, 1998.

- 88. Hirano, H., Kizaki, T., Sashikata, T., Matsumura, T.:** Pulmonary dirofilariosis -Clinicopathological study-. Kobe J. Med. Sci. 48 (3): 79-86, 2002.
- 89. Hoover, J.P., Campbell, G.A., Fox, J.C., Claypool, P.L., Mullins, S.B.:** Comparison of eight diagnostic blood tests for heartworm infection in dogs. Canine Pract. 21 (1): 11-19, 1996.
- 90. Jackson, R.F.:** History of heartworm disease. Calif. Vet. Special Edition. p:6-7, 1989.
- 91. Jackson, R.F.:** Treatment of heartworm disease. Calif. Vet. Special Edition. p:26-30, 1989.
- 92. Johnstone, C.:** Parasites and parasitic diseases of domestic animals: Heartworm. Erişim Tarihi: 22.01.2010[http://cal.nbc.upenn.edu/merial/hrtworm/hw_top.htm].
- 93. Kabukçuoğlu, S., Arslantaş, A., Durmaz, R., Ak, İ., Atasoy, M., Tel, E.:** A case of *Dirofilaria repens*. Turk. J. Dermatopathol. 8 (1-2): 1-3, 1998.
- 94. Kasap, H., Alptekin, D.:** Sivrisinekler, Vektörlükleri, ve Kontrolü. S: 1-46. Özcel, M. A., Daldal, N (Ed). Parazitoloji'de Artropod Hastalıkları, Vektörler. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 13. Ege Üniversitesi Basımevi. İzmir. 1997.
- 95. Katoch, V.C., Jithendran, K.P.:** A short note on the *Dirofilaria immitis* infection in a dog. Indian Vet. J. 76: 459-460, 1999.
- 96. Kaufmann, J.:** Molecular biological techniques. 16-22. In: Parasitic Infections of Domestic Animals: A diagnostic Manual. 1. Edition. Deutsche Bibliothek Cataloging –in- Publication Data. Berlin. 1996.
- 97. Kaya, G.:** Parazitoloji, Temel İlkeler ve Laboratuvar Teknikleri. Mustafa Kemal Üniversitesi Yayınları No: 16. Veteriner Fakültesi Yayınları No: 1. MKÜ Basımevi. Antakya. 2003.
- 98. Kaya, G.:** Antiparaziter İlaçlar ve Kullanım Stratejileri. Mustafa Kemal Üniv. Yayınları No: 17. Vet. Fak Yayınları No: 2. 1. Baskı. Doğuş Ofset Basımevi. Antakya. 2005.
- 99. Kazacos, K.R.:** The prevalence of heartworms (*Dirofilaria immitis*) in dogs from Indiana. J. Parasitol. 64 (5): 959-960, 1978.
- 100. Kelly, J.D.:** Detection and differentiation of microfilariae in canine blood. Aust. Vet. J. 49: 23-27, 1973.

- 101.Kına, O.:** *Dirofilaria immitis*'li Köpeklerde Paraoksonaz Aktivitesi ve Lipid Profilinin Belirlenmesi. Mustafa Kemal Üniv. Sağlık Bil. Enstit. Yüksek Lisans Tezi. Hatay. 2009.
- 102.Kim, M.K., Kim, C.H., Yeom, B.W., Park, S.H., Choi, S.Y., Choi, J.S.:** The first human case of hepatic dirofilariosis. J. Korean Med. Sci. 17: 686-690, 2002.
- 103.Klei, T.R., Malone, J.B.:** Veterinary Parasitology Diagnostic Laboratory Manual. Louisiana State Univ. Press. USA. 1996.
- 104.Klotins, K.C., Martin, S.W., Bonnett, B.N., Peregrine, A.S.:** Canine heartworm testing in Canada: Are we being effective? Can. Vet. J. 41 (12): 929-937, 2000.
- 105.Knapp, S.E., Rognlie, M.C., Stackhouse, L.:** Range of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in Montana dogs. J. Parasitol. 79 (4): 618-620, 1993.
- 106.Knight, D.H.:** Guidelines for the diagnosis, prevention and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs. Erişim Tarihi: 16.01.2011 [<http://heartwormsociety.org/>].
- 107.Knight, D.H.:** Pathophysiology of heartworm disease. Calif. Vet. Special Edition. p.: 16-17, 1989.
- 108.Knight, D.H.:** Clinical diagnosis of heartworm disease. Calif. Vet. Special Edition. p.: 18-19, 1989.
- 109.Koltaş, İ.S., Özcan, K., Duran, N.:** Subconjunctival infection with *Dirofilaria repens*. Ann. Saudi Med. 22 (1-2): 75-76, 2002.
- 110.Kozan, E., Kırçalı Sevimli, F., Birdane, F.M.:** Afyonkarahisar ve Eskişehir İl'lerindeki sokak köpeklerinde *Dirofilaria sp.*'nin yayılışı. Ankara. Üniv. Vet. Fak. Derg. 54: 117-119, 2007.
- 111.Köksal, F.:** Parazitolojik tanıda ileri teknolojinin kullanılması. Türkiye Parazitol. Derg. 18 (2): 151-163, 1994.
- 112.Köse, K.:** Erzincan Yöresindeki Köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in Prevalansı Üzerine Araştırmalar. Yüzüncü Yıl Üniv. Sağlık Bil. Enstit. Yüksek Lisans Tezi. Van. 2005.
- 113.Kramer, L., Genchi, C.:** Feline heartworm infection: Serological survey of asymptomatic cats living in northern Italy. Vet. Parasitol. 104: 43-50, 2003.

- 114.Labarthé, N., Serrão, M.L., Melo, Y.F., de Oliveira, S.J., de Oliveira, R.L.:** Potential vectors of *Dirofilaria immitis* (Leidy,1856) in Iacoatiara, Oceanic Region of Niterói Municipality, State of Rio de Janeiro, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 93 (4): 425-432, 1998.
- 115.Labarthé, N., de Campos Pereira, M., Barbarini, O., McKee, W., Coimbra, C.A., Hoskins, J.:** Serologic prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis* and *Borrelia burgdorferi* infections in Brazil. Vet. Ther. 4 (1): 67-75, 2003.
- 116.Lee, J.C., Lee, C.Y., Shin, S.S., Lee, C.G.:** A survey of canine heartworm infections among German Shepherds in South Korea. The Korean J. Parasitol. 34 (4): 225-231, 1996.
- 117.Lee, S.E., Kim, H.C., Chong, S.T., Klein, T.A., Lee, W.J.:** Molecular survey of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* by direct PCR for wild caught mosquitoes in the Republic of Korea. Vet. Parasitol. 148 (2): 149-55, 2007.
- 118.Levine, N. D.:** Nematode Parasites of Domestic Animals and of Man. P: 452–454. Burgess Publishing Company. Urbana Illinois. 1968.
- 119.Licitra, B., Chambers, E.W., Kelly, R., Burkot, T.R.:** Detection of *Dirofilaria immitis* (Nematoda: Filarioidea) by polymerase chain reaction in *Aedes albopictus*, *Anopheles punctipennis*, and *Anopheles crucians* (Diptera: Culicidae) from Georgia, USA. J. Med. Entomol. 47 (4): 634-8, 2010.
- 120.Manrique-Saide, P., Escobedo-Ortegón, J., Bolio-González, M., Sauri-Arceo, C., Dzib-Florez, S., Guillermo-May, G., Ceh-Pavía, E., Lenhart, A.:** Incrimination of the mosquito, *Aedes taeniorhynchus*, as the primary vector of heartworm, *Dirofilaria immitis*, in coastal Yucatan, Mexico. Med. Vet. Entomol. 24 (4): 456-460, 2010.
- 121.Mar, P.H., Yang, I.C., Chang, G.N., Fei, A.C.:** Specific polymerase chain reaction for differential diagnosis of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum* using primers derived from internal transcribed spacer region 2 (ITS2). Vet. Parasitol. 106: 243-252, 2002.
- 122.Marks, C.A., Bloomfield, T.E.:** Canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) detected in Red Foxes (*Vulpes vulpes*) in urban Melbourne. Vet. Parasitol. 78: 147-154, 1998.

- 123. Matola, Y.G.:** Periodicity of *Dirofilaria immitis* microfilariae in a dog from Muheza district, Tanzania. J. Helminthol. 65: 76-78, 1991.
- 124. Matsuda, K., Baek, B.K., Lim, C.W.:** Eurasian otter (*Lutra lutra*), a definitive host for *Dirofilaria immitis*. J. Zoo Wildl. Med. 34 (2): 200-201, 2003.
- 125. McGuire, A., McGuire, D.:** Heartworm test and heartworm treatment. Erişim Tarihi: 15.04.2010 [http://www.goldstockfund.org/edu/health_heartworm.html].
- 126. Merdivenci, A.:** Türkiye Sivrisinekleri (Yurdumuzda Varlığı Bilinen Sivrisineklerin Biyo-Morfolojisi, Biyo-Ekolojisi, Yayılışı ve Sağlık Önemleri). İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Tıp Fak. Yay. Yayın No: 3215. 1984.
- 127. Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü.** Erişim Tarihi: 10.09.2010
<http://www.meteor.gov.tr/veridegerlendirme/il-ve-ilceler-istatistik>.
- 128. Meyer, H.P., Wolvekamp, P., Van Maanen, C., Stokhof, A.A.:** Seven cases of heartworm disease (dirofilariosis) in dogs in the Netherlands. Vet Q. 16 (3):169-174, 1994.
- 129. Montoya, J.A., Morales, M., Ferrer, O., Molina, J.M., Corbera, J.A.:** The prevalence of *Dirofilaria immitis* in Gran Canaria, Canary Islands, Spain (1994-1996). Vet. Parasitol. 75 (2-3): 221-226, 1998.
- 130. Murata, K., Yanai, T., Agatsuma, T., Uni, S.:** *Dirofilaria immitis* infection of a snow leopard (*Uncia uncia*) in a japanese zoo with mitochondrial DNA analysis. J. Vet. Med. Sci. 65 (8): 945-947, 2003.
- 131. Nakagaki, K., Suzuki, T., Hayama, S.I., Kanda, E.:** Prevalence of *Dirofilaria immitis* infection in Raccoon dogs in Japan. Parasitol. Int. 49 (3): 253-256, 2000.
- 132. Nayar J.K.,** Mosquito-borne dog heartworm disease. University of Florida. Cooperative Extension Service. Institute of Food and Agricultural Sciences. Erişim Tarihi: 11.11.2010. http://dixie.fl.gov/pdf_public_works/heartworm.
- 133. Nelson, T.A., Gregory, D.G., Laursen, J.R.:** Canine heartworms in coyotes in Illinois. J. Wildl. Dis. 39 (3): 593-599, 2003.
- 134. Nelson, C.T., McCall, J.W., Rubin, S.B., Buzhardt, L.F., Dorion, D.W., Graham, W., Longhofer, S.L., Guerrero, J., Robertson-Plouch, C., Paul, A.:** 2005 Guidelines for the diagnosis, prevention and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs. Vet Parasitol. 133 (2-3): 255-66, 2005.

- 135.Nogami, S., Sato, T.:** Prevalence of *Dirofilaria immitis* infection in cats in Saitama, Japan. J. Vet. Med. Sci. 59 (10): 869-871, 1997.
- 136.Nolan, T.:** Appendix lab 5, Laboratory methods for parasitological diagnosis of canine heartworm infection. Erişim Tarihi: 01.05.2010
[<http://cal.vet.upenn.edu/paraav/labs/append5.htm>].
- 137.Nolan, T., Mah, K.:** Canine Heartworm. Erişim Tarihi 01.05.2010:
[<http://cal.vet.upenn.edu/>].
- 138.Owen, J., Slocombe, D., Villeneuve, A.:** Heartworm in dogs in Canada in 1991. Can. Vet. J. 34: 630-633, 1993.
- 139.Öge, H., Doğanay, A., Öge, S., Yıldırım, A.:** Prevalence and distribution of *Dirofilaria immitis* in domestic dogs from Ankara and vicinity in Turkey. Dtsch. Tierarztl. Wochenschr. 110 (2): 69-72, 2003.
- 140.Öge, H., Öge, S., Yıldırım, A., Kırçalı, F., Kara, M.:** Immunoblotting analysis of somatic components of *Dirofilaria immitis*. Parasite. 12: 179-182, 2005.
- 141.Öncel, T., Vural, G.:** Seroprevalence of *Dirofilaria immitis* in stray dogs in İstanbul and İzmir. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 29: 785-789, 2005.
- 142.Özcan, K.:** Parazit hastalıklarında tanı yöntemlerine bakış. Türkiye Parazitol. Derg. 18(2): 136-144, 1994.
- 143.Özcel, M.A., Altıntaş, N.:** Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitol. Derneği Yayın No: 15. Ege Üniversitesi Basımevi. İzmir. 1997.
- 144.Özdamar, K.:** SPSS İle Biyoistatistik. 4. Baskı. Kaan Kitabevi. Eskişehir. S:340-347, 2001.
- 145.Pamukçu, A.M., Ertürk, E.,** 1933-1960 yılları arasında Ankara ve yöresinde köpeklerde görülen hastalıklara toplu bir bakış. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 8: 323-346, 1961.
- 146.Pantchev, N., Norden, N., Lorentzen, L., Rossi, M., Rossi, U., Brand, B., Dyachenko, V.:** Current surveys on the prevalence and distribution of *Dirofilaria spp.* in dogs in Germany. Parasitol. Res. 105 (1): 63-74, 2009.
- 147.Pappas, L.G., Lunzman, A.T.:** Canine heartworm in the domestic and wild canids of Southeastern Nebraska. J. Parasit. 71 (6): 828-830, 1985.

- 148. Patton, S., Faulkner, C.T.:** Prevalence of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum* infection in dogs: 805 cases (1980-1989). J. Am. Vet. Med. Assoc. 200 (10): 1533-1534, 1992.
- 149. Paul, A.J., Todd, K.S., Acre, K.E., Plue, R.E., Wallace, D.H., French, R.A., Walling, M.A.:** Efficacy of ivermectin chewable tablets and two new ivermectin tablet formulations against *Dirofilaria immitis* larvae in dogs. Am. J. Vet. Res. 52: 1922-1923, 1991.
- 150. Peribanez, M.A., Lucientes, J., Arce, S., Morales, M., Castillo, J.A., Garcí, M.J.:** Histochemical differentiation of *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens* and *Acanthocheilonema dracunculoides* microfilariae by staining with a commercial kit, Leucognost-SP®. Vet. Parasitol. 102: 173-175, 2001.
- 151. Polizopoulou, Z.S., Koutinas, A.F., Saridomichelakis, M.N., Patsikas, M.N., Leontidis, L.S., Roubies, N.A., Desiris, A.K.:** Clinical and laboratory observations in 91 dogs infected with *Dirofilaria immitis* in Northern Greece. Vet. Rec. 146 (16): 466-469, 2000.
- 152. Pratt, S.E., Corwin, R.M., Selby, L.A., Rhoades, J.D.:** Prevalance of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum* infections in Missouri dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 179 (6): 592-593, 1981.
- 153. Retnasabapathy, A., San, K.T.:** Incidence of canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) in Malaysia. Vet. Rec. 98 (4): 68-69, 1976.
- 154. Rhee, J.K., Yang, S.S., Kim, H.C.:** Periodicity exhibited by *Dirofilaria immitis* microfilariae identified in dogs of Korea. Korean J. Parasitol. 36 (4): 235-239, 1998.
- 155. Rishniw, M., Barr, S.C., Simpson, K.W., Frongillo, M.F., Franz, M., Alpizar, J.L.D.:** Discrimination between six species of canine microfilariae by a single polimerase chain reaction. Vet. Parasitol. 135: 303-314, 2006.
- 156. Rodriguez, B., Marengo, S., Orihel, T.C.:** Human pulmonary dirofilariosis in El Salvador. Parasite. 9: 192-196, 2002.
- 157. Rosa, A., Ribicich, M., Betti, A., Kistermann, J.C., Cardillo, N., Basso, N., Hallu, R.:** Prevalence of canine dirofilariosis in the city of Buenos Aires and its outskirts (Argentina). Vet. Parasitol. 109: 261-264, 2002.

- 158.Sarali, H.:** Köpeklerdeki *Dirofilaria* Türlerinde Wolbachia'nın Belirlenmesi. Adnan Menderes Üniv. Sağlık Bil. Enstit. Yüksek Lisans Tezi. Aydın. 2009.
- 159.Sarı, B., Gıcık, Y., Taşçı, G.T.:** Iğdır yöresinde köpeklerde *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis* ve *Borrelia burgdorferi*'nin seroprevalansının araştırılması. 16. Ulusal Parazitoloj. Kong. Adana. S: 247, 2009.
- 160.Sarimehmetoğlu, H.O., Doğanay, A.:** Zoonoz özelliği gösteren nematodlar. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg. 5 (2): 233-241, 1999.
- 161.Saritaş, Z.K., Akın, F., Şahal, M., Öcal, N.:** Open heart surgery applications in dogs suffering from natural infection of *Dirofilaria immitis*. Turk J. Vet. Anim. Sci. 29: 713-721, 2005.
- 162.Sarıncı, H., Alkan, M.:** Köpeklerde Dirofilariasis olguları ve insan sağlığı yönünden önemi. Türkiye Parazitoloj. Derg. 9 (1-2): 169-174, 1986.
- 163.Schaffner, E., Angel, G., Geoffroy, B., Hervy, J.P., Rhaiem, A., Brunhes, J.:** The mosquitoes of Europe (CD-Rom). Entente interdépartementale pour la démoustication du littoral méditerranéen & Institut de Recherche Pour le Développement. Montpellier, France. 2001.
- 164.Schwan, E.V., Durand, D.T.:** Canine filariasis caused by *Dirofilaria immitis* in Mozambique: a small survey based on the identification of microfilariae. J. S. Afr. Vet. Assoc. 73 (3): 124-126, 2002.
- 165.Seward, R.L.:** Canine heartworm disease. Erişim Tarihi: 08.01.2010 [http://heartwormsociety.org/].
- 166.Simsek, S., Utuk, A.E., Koroglu, E., Rishniw, M.:** Serological and molecular studies on *Dirofilaria immitis* in dogs from Turkey. J. Helminthol. 82 (2):181-6, 2008.
- 167.Sloss, M.W., Kemp, R.L., Zajac, A.M.:** Veterinary Clinical Parasitology, 6th Edition. Iowa State University Press. p: 101-120, 1994.
- 168.Snow, K.R.:** Mosquitoes, Naturalist' Handbook 14. Richmond Publ.Co.Ltd. England. p:63, 1990.
- 169.Solano-Gallego, L., Llull, J., Osso, M., Hegarty, B., Breitschwerdt, E.:** A serological study of exposure to arthropod-borne pathogens in dogs from northeastern Spain. Vet. Res. 37 (2): 231-44, 2006.

- 170.Song, K.H., Hayasaki, M., Cho, K.W., Lee, S.E., Kim, D.H.:** Cross-reactivity between sera from dogs experimentally infected with *Dirofilaria immitis* and crude extract of *Toxocara canis*. Korean J. Parasitol. 40 (4): 195-198, 2002.
- 171.Song, K.H., Lee, S.E., Hayasaki, M., Shiramizu, K., Kim, D.H., Cho, K.W.:** Seroprevalence of canine dirofilariosis in South Korea. Vet. Parasitol. 114: 231-236, 2003.
- 172.Soulsby E.J.L.** Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. 7th Edition. The English Language Book Society and Bailliere, Tindall-London. P: 307-312, 1982.
- 173.Şahal, M., Doğanay, A., İmren, H.:** Doğal olarak *Dirofilaria immitis* ve *Dirofilaria repens* ile enfekte olmuş köpeklerde parazitin mikrofiler ve olgunlarına karşı Citarin-L^R ve Aricyl^R etkinliği üzerine araştırmalar. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 33 (3): 297-308, 1986.
- 174.Şahin, İ., Gödekmerdan, A., Ekinci, N., Özcan, M., Şen, İ.:** Kayseri yöresi köpeklerinde *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) ve diğer parazitlerin yayılışı. *Dirofilaria* cinsi filariaların yaygınlığı ve sağlık önemi. Türkiye Parazitol. Derg. 17 (3-4): 69-82, 1993.
- 175.Şahin, T., Sevgili, M., Çamkerten, İ.:** Şanlıurfa yöresi köpeklerinde *Dirofilaria sp.*'nin yayılışı. Türkiye Parazitol. Derg. 28 (3) :140-142, 2004.
- 176.Tarish, J.H., Al-Saqur, I.M., Abbassy, S.N., Kadhim, F.S.:** The prevalence of parasitic helminths in stray dogs in the Baghdad, Iraq. Ann. Trop. Med. Parasitol. 80 (3): 329-331, 1986.
- 177.Taşan, E.:** Elazığ ve yöresindeki köpeklerde filaria'ların yayılışı. Doğa Bil. Derg: 7: 63-70, 1983.
- 178.Taşan, E.:** Elazığ kırsal yöre köpeklerinde helmintlerin yayılışı ve insan sağlığı yönünden önemi. Doğa Bil. Derg. 8 (2): 160-167, 1984.
- 179.Taşçı, G.T.:** Kars Yöresi Köpeklerinde Dirofilariosis'in Yaygınlığı. Kafkas Üniv. Sağlık Bil. Enstit. Yüksek Lisans Tezi. Kars. 2005.
- 180.Temizkan, G., Arda, N.:** Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. 2. Baskı. Nobel Matbaacılık. İstanbul. 2004.

- 181.Theis, J.H., Stevens, F., Theodoropoulos, G., Ziedins, A.C.:** Studies on the prevalence and distribution of filariosis in dogs from Los Angeles Country, California (1996-1998). *Canine Pract.* 24 (2): 8-16, 1999.
- 182.Theis, J.H., Stevens, F., Law, M.:** Distribution, prevalence, and relative risk of filariosis in dogs from the State of Washington (1997-1999). *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 37: 339-347, 2001.
- 183.Tınar, R., Coşkun, Ş.Z., Doğan, H., Demir, S., Akyol, Ç.V., Aydın, L.:** Bursa yöresi köpeklerinde görülen helmint türleri ve bunların yayılışı. *Türkiye Parazitol. Derg.* 13 (3-4): 113-120, 1989.
- 184.Tolan, R.W.:** Dirofilariasis. Erişim Tarihi: 18.12.2010
<http://www.emedicine.medscape.com/article/997417-overview>.
- 185.Toparlak, M., Tüzer, E.:** Veteriner Helminoloji. İstanbul Üniv. Vet. Fak. Yayını Ders Notu No: 102. İstanbul Üniv. Vet. Fak. Masaüstü Yayıncılık Ünitesi. İstanbul. 1999.
- 186.Toparlak, M., Gargılı, A., Ulutas Esatgil, M., Cetinkaya, H.:** Canine filariosis around İstanbul, Turkey. Employing Naphtol AS-TR Phosphatase. *Acta Vet. Brno.* 74: 233-236, 2005.
- 187.Türkiye İstatistik Kurumu:** Bölgesel Göstergeler Tra2. Ağrı, Kars, Iğdır, Ardahan. Yayın No: 3401, ISSN: 1307-0894, 2009.
- 188.Umur, Ş., Arslan, M.Ö.:** Kars yöresi sokak köpeklerinde görülen helmint türlerinin yayılışı. *Türkiye Parazitol. Derg.* 22 (2): 188-193, 1998.
- 189.Umur, Ş., Hökelek, M.:** Filariasis, Dirofilariasis, Gnathostomiasis, Gongylonemiasis, Lagochilascoriosis. S: 1025-1031. Doğanay, M., Altıntaş, N (Ed). *Zoonozlar: Hayvanlardan İnsanlara Bulaşan Enfeksiyonlar.* Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara. ISBN: 978-975-6058-53-4. Ankara. 2009.
- 190.Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M., Jennings, F.W.:** *Veterinary Parasitology.* P:86-88. Longman Scientific & Technical, England. 1986.
- 191.Vezzani, D., Eiras, D.F., Wisnivesky, C.:** Dirofilariasis in Argentina: historical review and first report of *Dirofilaria immitis* in a natural mosquito population. *Vet. Parasitol.* 136: 259-273, 2006.

- 192.Vieira, C., Velez, I.D., Montoya, M.N., Agudelo, S., Alvarez, M.I., Genchi, C., Simon, F.:** *Dirofilaria immitis* in Tikuna Indians and their dogs in the Colombian Amazon. Ann. Trop. Med. Parasitol. 92 (1): 123-125, 1998.
- 193.Voyvoda, H., Paşa, S.:** Aydın'ın bazı ilçe ve köyleri ile İzmir'in Selçuk ilçesindeki köpeklerde leishmaniosis ve dirofilariosisin prevalansı. Turk J. Vet. Anim. Sci. 28: 1105-1111, 2004.
- 194.Wang, L.C.:** Evaluation of quantitative buffy coat analysis in the detection of canine *Dirofilaria immitis* infection: a model to determine its effectiveness in the diagnosis of human filariasis. Parasitol. Res. 84: 246-248, 1998.
- 195.Whiteley, H.E.:** Your diagnostic protocol for *Dirofilaria immitis* infection in dogs. Vet. Med. 83: 328-345, 1988.
- 196.Whitlock, H.V., Porter, C.J., Kelly, J.D.:** The PKW asit fosfataz modification for the recovery and histochemical identification of microfilariae of *Dirofilaria immitis* in blood. Aust. Vet. Pract. 8: 201-207, 1978.
- 197.WHO:** Manual of practical entomology in Malaria, World Health Organization prepared by the WHO division of Malaria and other parasitic disease, Part I-II, WHO Ofset Publication, No:13. 1975.
- 198.Wu, C.C., Fan, P.C.:** Prevalence of canine dirofilariosis in Taiwan. J. Helminthol. 77: 83-88, 2003.
- 199.Yalçın, E., Şenlik, B., Yılmaz, Z., Alasonyalılar, A., Akyol, V.:** Bursa'daki köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in prevalansı. JTVS. 13 (2): 23-27, 2007.
- 200.Yaman, M., Guzel, M., Koltas, I.S., Demirkazık, M., Aktas, H.:** Prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs from Hatay province, Turkey. J. Helminthol. 83 (3): 255-60, 2009.
- 201.Yıldırım, A.:** Ankara ve Çevresindeki Köpeklerde Filarial Etkenlerin Prevalansı. Sağlık Bil. Enstit. Doktora Tezi. Ankara. 2003.
- 202.Yıldırım, A., İça, A., Atalay, Ö., Düzlü, Ö., İnci, A.:** Kayseri yöresi köpeklerinde *Dirofilaria immitis*'in Membran Filtrasyon-Asit Fosfotaz Histokimyasal Boyama, Antijen ELISA ve PCR yöntemleri ile araştırılması. 15. Ulusal Parazitoloj. Kong. Kayseri ve Ürgüp. S:140-141, 2007.

- 203.Yıldız, K., Yasa Duru, S., Yağcı, B.B., Öcal, N., Gazyağcı, A.N.:** The prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs in Kırıkkale. Türkiye Parazitol. Derg. 32 (3): 225-228, 2008.
- 204. Yildirim, A., Ica, A., Atalay, O., Duzlu, O., Inci, A.:** Prevalance and epidemiological aspects of *Dirofilaria immitis* in dogs form Kayseri province, Turkey. Res. Vet. Sci. 82: 358-363, 2007.
- 205. Yildirim, A., Inci, A., Duzlu, O., Biskin, Z., Ica, A., Sahin, I.:** *Aedes vexans* and *Culex pipiens* as the potantial vectors of *Dirofilaria immitis* in Central Turkey. Vet. Parasitol. doi:10.1016/j.vetpar.2010.12.023, Baskıda, 2010.
- 206.Zeybek, H.:** Ankara yöresi köpeklerinde *Dirofilaria immitis* olguları. Etlik Vet. Mikrobiol. Derg. 6 (5): 1-9, 1989.
- 207.Zeybek, H., Tatar, N., Tokay, A.:** Ankara yöresi kırsal alan köpeklerinde görülen parazitler ve bunların yayılışı. Etlik Vet. Mikrobiol. Derg. 7 (2): 17-26, 1992.

9. ÖZGEÇMİŞ

Kars ili Arpaçay ilçesi 10.03.1980 doğumlu olup, ilköğrenimine 1985 yılında Akyaka ilçesine bağlı İncedere köyünde başladı ve Kars Merkez İsmetpaşa İlköğretim Okulu'nda tamamladı. Orta ve Lise öğrenimini Kars Anadolu Lisesi'nde 1997 yılında yaptı. Aynı yıl yapılan ÖSYS'de Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ni kazandı ve 2002 yılında bu fakülteden mezun oldu. Aynı yıl Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisansa başladı ve 2005 yılında "*Kars Yöresi Köpeklerinde Dirofilariosis'in Yaygınlığı*" adlı Yüksek Lisans tezini hazırlayarak Yüksek Lisans mezunu oldu. Aynı yıl Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda Doktora yapmaya başladı. 2010 yılı Aralık ayından beri Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır. Evli olup yabancı dili İngilizce'dir.