

Kanin Leishmaniasis Şüphesi Olan Olguların Değerlendirilmesi: Beş Yıllık Retrospektif Çalışma (2016-2021)

Evaluation of Cases with Suspected Canine Leishmaniasis History: A Five-year Retrospective Study (2016-2021)

Metin Pekağırbaş, Serkan Bakırcı, Hüseyin Bilgin Bilgiç, Selin Hacılarhoğlu, Tülin Karagenc

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

Cite this article as: Pekağırbaş M, Bakırcı S, Bilgiç HB, Hacılarhoğlu S, Karagenc T. Kanin Leishmaniasis Şüphesi Olan Olguların Değerlendirilmesi: Beş Yıllık Retrospektif Çalışma (2016-2021). Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2022;46(1):28-33.

ÖZ

Amaç: Çalışmada, Leishmaniasis yönünden endemik sayılan Ege Bölgesi'nin farklı illerinden Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarları'na gönderilen kanin Leishmaniasis (KanL) şüpheli örnekler için polimeraz zincir reaksiyon (PZR) ve immünofloresan antikor testi (IFAT) sonuçlarının değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

Yöntemler: KanL yönünden değerlendirilmesi istenilen köpeklerin yaş, cinsiyet ve ırk bilgileri kaydedilmiş ve bunlara ait 80 kan serumu örneği kullanılarak IFA testi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca 27 adet kan örneğinden de genomik DNA izolasyonu yapılarak *Leishmania* türlerinin 145 bp'lik kDNA bölgesini çoğaltan primerler ile PZR yapılmıştır.

Bulgular: Serum örneklerinin 37'si (%46,25) IFA testine göre en az bir sulandırmada (1/64 veya 1/128) seropozitif olarak tespit edilmiştir. PZR analizi yapılan 27 örneğin ise beşi (%18,5) *Leishmania* spp. DNA'sı varlığı yönünden pozitif olarak tespit edilmiştir. IFA testine göre erkek köpeklerin %38,7'si, dişi köpeklerin ise %59'u pozitif olarak bulunmuştur. En fazla sayıda seropozitif örnek 3-5 yaş grubundaki (11/27) köpeklerde tespit edilmiştir.

Sonuç: Bölgede endemik olduğu bilinen Leishmaniasis'in zoonotik potansiyeli ve çalışmada ortaya konan IFAT/PZR sonuçlarının yüksek oranda pozitiflik göstermesi göz önüne alındığında, KanL şüpheli köpeklerde veteriner hekimlerin ileri tanı yöntemlerinden faydalanarak özellikle serolojik ve moleküler testleri birlikte kullanması endemik olmayan bölgelere hastalığın yayılmasını önlemek açısından önem taşımaktadır. Elde edilen veriler, *Leishmania* spp.'nin neden olduğu enfeksiyon riskinin bölgede yüksek olduğunu, dolayısıyla hem insan hem de hayvan sağlığının korunabilmesi için KanL kontrollerinin rutin olarak yapılmasının önemini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: IFAT, köpek, *Leishmania*, PZR, retrospektif

ABSTRACT

Objective: This study aimed to evaluate the polymerase chain reaction (PCR) and immunofluorescence antibody test (IFAT) results of suspected samples with canine leishmaniasis (CanL) that were sent to the Parasitology Department Laboratories of the Veterinary Faculty in Aydın Adnan Menderes University.

Methods: The age, gender, and breed of the dogs to be evaluated for CanL were recorded, and IFAT was performed using 80 blood serum samples collected from them. Additionally, after the isolation of genomic DNA of 27 blood samples, PCR of these samples was performed using primers that amplify the 145 bp kDNA region of *Leishmania* species.

Results: Thirty-seven (46.25%) of the serum samples were seropositive in at least one dilution (1/64 or 1/128) according to IFAT. Five (18.5%) of the twenty-seven samples were positive for *Leishmania* DNA according to PCR. According to IFAT, 38.7% of male dogs and 59% of female dogs were positive. The highest number of seropositive samples were detected in dogs aged 3-5 years (11/27).

Conclusion: Considering the zoonotic potential of leishmaniasis, which is considered endemic in the region, and the high positivity of the IFAT/PCR results, veterinarians should use advanced diagnostic methods, especially serological and molecular tests, in dogs with suspected CanL. The data obtained show that the risk of infection caused by *Leishmania* spp. is high in the region. Therefore, it is important to routinely ensure the control of CanL to protect both human and animal health.

Keywords: IFAT, dog, *Leishmania*, PCR, retrospective



Geliş Tarihi/Received: 07.10.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 17.12.2021

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Metin Pekağırbaş, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

Tel/Phone: +90 532 730 49 60 **E-Posta/E-mail:** metinpekagirbas@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0003-3170-410X

GİRİŞ

Leishmania cinsine ait hücre içi protozoonların neden olduğu leishmaniasis, Dünya Sağlık Örgütü raporlarına (1) göre; 102 ülkede her yıl 1,5 milyon yeni olgunun bildirildiği “ihmal edilen tropikal hastalık” olarak sınıflandırılmaktadır. Hastalık; insanlar dahil olmak üzere diğer memelilere *Phlebotomus* soyuna bağlı vektör türler ile nakledilmektedir (2). Yapılan çalışmalar ile dünyanın farklı bölgelerinde vahşi, evcil ve sinantropik memelilerin çeşitli türleri *Leishmania* spp.’nin konakları veya rezervuar konakları sayılmaktadır. *Leishmania* türlerinin neden olduğu ve köpeklerde görülen kanin leishmaniasis (KanL) dünya çapında yaygın olarak bulunan zoonotik bir enfeksiyon olup, etken köpeklerde genellikle visseral ve kutanöz yerleşim göstermektedir. Ayrıca köpek popülasyonlarının çoğu herhangi bir klinik belirti göstermeksizin etkene maruz kalıp enfekte olabilmektedirler (3). Klinik belirti gösteren enfekte köpeklerde ise; deri lezyonları, lenfadenopati, anemi, oküler lezyonlar, tırnak uzaması, burun kanaması, topallık, iştahsızlık, kilo kaybı gibi bulgular görülmektedir (4,5). Köpekler ile insanların yakın ilişkileri sebebiyle, KanL’nin prevalansının belirlenmesi, özellikle endemik bölgelerde hastalığın epidemiyolojisinin anlaşılması açısından önem taşımaktadır (6).

Ülkemizde hastalığın yaygınlığı üzerine yapılan çalışmalarda; KanL prevalansı Akdeniz’de %12,96, Ege’de %9,08, İç Anadolu’da %5,82, Karadeniz’de %5,38, Doğu Anadolu’da %4,38, Marmara’da %2,40 olarak bildirilmiştir (7). Ozbel ve ark (8) ise hastalığın ülkemizdeki seroprevalansının %2,5 ile %46 arasında değiştiğini ve Türkiye’de KanL ortalama prevalansının %15,8 olduğunu raporlamıştır.

Köpeklerin bağışıklık durumu, klinik bulguların çeşitliliği gibi nedenlerden dolayı hastalığın klinik tanısının zor olduğu bildirilmektedir (9). Vektör kaynaklı ve deri lezyonlarına neden olan diğer hastalıklardan KanL’yi ayırt edebilmek için, hastalığın yönetiminde ayırıcı tanı yapılması gerekmektedir (10). Enfeksiyonun klinik bulguları teşhis amaçlı olarak tek başına çoğu zaman yetersiz kalmakta ve doğru tanı için ileri tanı metotlarına ihtiyaç duyulmaktadır (11). Parazitin amastigot formlarının lenf yumruları, dalak, kemik iliği biyopsilerinde direkt mikroskopik yöntemi ile belirlenmesi güvenli tanı yöntemi olarak görülse de biyopsi uygulamalarının invaziv karakteri ve kullanıcı becerisine bağlı olması (12,13) gibi nedenlerden dolayı hasta sahipleri tarafından pek fazla tercih edilmemektedir. Klinik teşhiste yapılan diğer metotlara göre daha az zaman alan ve daha hızlı terapötik önlemlerin uygulanmasına katkıda bulunan fakat teşhiste tek başına yetersiz kalan ELISA tabanlı hızlı tanı kitleri; özellikle klinik ve klinikopatolojik bulgular, kan biyokimyası gibi diğer sonuçlarla birlikte KanL tanısında ön tanı metodu olarak sıklıkla kullanılmaktadır (14). Fakat hızlı tanı kitlerinin düşük antikor seviyelerine sahip ve asemptomatik köpekleri teşhis etmede yetersiz olması kantitatif teşhis yöntemlerinin kullanılmasını zorunlu kılmaktadır (15-17).

Günümüze kadar, KanL’nin tanısında birçok serolojik ve moleküler tanı metodu tanımlanmış olup, hastalıkta klinik bulguların değişken olması ve parazitin doğrudan belirlenmesindeki zorluklar nedeniyle kesin tanı, duyarlılık ve özgüllüğü yüksek serolojik testler (IFAT, ELISA) ve moleküler tabanlı bir test olan polimeraz zincir reaksiyon (PZR) ile konulabilmektedir (5). Serolojik ve moleküler metotların kombine kullanılması, bireysel teşhis ve epidemiyolojik

çalışmalar için daha güvenilir veriler sağlayabilmektedir (18,19). Tüm bunlar göz önüne alındığında bu çalışmada da leishmaniasis yönünden endemik sayılan Ege Bölgesi’nin farklı illerinden Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarları’na gönderilen KanL şüpheli örneklerle uygulanan PZR ve immünofloresan antikor (IFA) sonuçlarının değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

YÖNTEMLER

KanL’den şüphe edilen farklı ırk, yaş ve cinsiyetteki köpeklerden alınan kan ve/veya serum örnekleri çalışmanın materyalini oluşturmaktadır. Beş yıllık süreç içinde, örnekleri gönderen hekimlerin istemlerine bağlı olarak toplam 80 serum örneğine IFA testi yapılmıştır. Bununla birlikte, etilendiamin-tetraasetik asit tüplerine alınmış 27 kan örneği de PZR testi için özel veteriner klinikleri tarafından Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarları’na getirilmiştir. Hastaların bir bölümünün yaş, ırk ve cinsiyet bilgileri kayıt altına alınabilmiştir. Kan ve/veya serum örnekleri kullanılabildiği kadar eppendorflar içinde -20 °C’de dondurucularda muhafaza edilmiştir. 2016-2021 yılları arasında düzensiz aralıklarla laboratuvara gelen örneklerde en geç yedi gün içinde, veteriner hekimin istediği seroloji ve/veya moleküler testin tamamlanması ve sonuçların bildirilmesi işlemleri gerçekleştirilmiştir. PZR ile teşhis istenen hastaların kan örneklerinde “PureLink® Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen®)” kit protokolüne uygun olarak DNA ekstraksiyonları gerçekleştirilmiş ve DNA örneklerinde *Leishmania* spp. varlığını tespit etmek amacıyla, RV1 (5’-CTT TTC TGG TCC CGC GGG TAG G-3’)-RV2 (5’-CCA CCT GGC CTA TTT TAC AC-3’) primer setleri kullanılarak 145 baz çiftlik kDNA minicircle bölgesini çoğaltan PZR protokolü (5, 20) uygulanmıştır. Veteriner hekimler tarafından istemi yapılan IFA testi ise -20 °C’de bekletilen *L. infantum* promastigotları [lokal *L. infantum* (MON-1) stok promastigotları, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı] ile hazırlanmış lamalar kullanılarak yapılmıştır. Her bir antijen kaplı lam pozitif, negatif kontroller ile dilüsyonları 1:16, 1:64 ve 1:128 (isteğe bağlı) olacak şekilde hazırlanan köpek serum örnekleri içermektedir. Serum örneklerinin pozitifliği için 1:64 değeri cut-off olarak kabul edilmiştir. Retrospektif değerlendirme olarak yapılan bu çalışma için etik kurul onayına ve hasta onamına gerek duyulmamıştır.

İstatistiksel Analiz

Çalışmada ırk, yaş ve cinsiyet verilerinin her köpek için tam olmaması nedeniyle istatistiksel analiz gerçekleştirilememiş, ancak elde edilen veriler karşılaştırılmalı olarak tablolarda özetlenmeye çalışılmıştır.

BULGULAR

KanL’den şüphe edilerek veteriner hekimler tarafından gönderilen toplam 80 serum örneğine IFA testi uygulanmıştır. Buna göre serum örneklerinin 37’si (%46,25) IFA testine göre en az bir sulandırmada (1/64 veya 1/128) seropozitif olarak tespit edilmiştir. PZR analizi sadece 27 örnek için talep edilmiş ve bunların da beşi (%18,5) *Leishmania* spp. DNA’sı varlığı yönünden pozitif olarak tespit edilmiştir. PZR’da pozitif olduğu saptanan beş örneğin tamamının aynı zamanda seropozitif oldukları da IFA testi ile gösterilmiştir. Ayrıca IFA testine göre pozitif olmasına rağmen

PZR'de negatif olduğu belirlenen beş örnek tespit edilmiştir. Bu örneklerin dışında kalan 17 örneğin hem PZR hem de IFA testine göre KanL yönünden negatif olduğu belirlenmiştir (Tablo 1). Bilgi kayıt formunda ırk bilgisi doldurulan 47 örnek incelendiğinde IFA ile en fazla pozitiflik melez köpekler (9/16) ve Golden Retriever ırkı köpeklerde (5/7) tespit edilirken, bunun dışında French Bulldog (1/2), Boxer (1/1), Husky (1/1), Doberman (1/1), Kangal (1/2), Labrador (1/2) ve Jack Russell (1/1) ırkı köpeklerde de birer adet seropozitif örneğe rastlanılmıştır. Cinsiyet bilgisi verilen 53 köpeğin 25'inin IFA testi pozitif olarak tespit edilmiştir buna göre; 31 erkek köpeğin 12'sinin (%38,7) ve 22 dişi köpeğin 13'ü (%59) seropozitif olarak belirlenmiştir. Dişi köpeklerden ikisinin PZR testinde de *Leishmania* spp. DNA'sı varlığı yönünden pozitif oldukları görülmektedir. Ayrıca kayıt formunda belirtilen yaş grupları incelendiğinde 53 köpeğin yaş bilgisine ulaşılmaktadır; en fazla sayıda seropozitifliğin 3-5 yaş grubundaki köpeklerde (11/27) bunu sırasıyla; 6-8 yaş grubu (8/14), 0-2 yaş grubu (4/8) ve 9 yaş üstü (2/4) grubundaki köpekler olduğu tespit edilmiştir. Çalışmaların yapıldığı yıllar incelendiğinde en fazla sayıda IFA ve/veya PZR analizinin 2019 yılında yapıldığı (n=34) ve bunu sırasıyla 2016 (n=13), 2017 (n=2), 2018 (n=8), 2020 (n=16) ve 2021 (Temmuz'a kadar/n=7) yıllarının takip ettiği görülmektedir (Tablo 2).

TARTIŞMA

İnsan ve köpek sağlığını tehdit eden ve Türkiye'de özellikle Ege, Akdeniz, Marmara Bölgeleri'nde (21) endemik olarak görülen KanL'de, asemptomatik köpeklerin rezervuar olarak görev yapmaları nedeniyle köpekler ve *Phlebotomus* soyuna bağlı vektör sinekler hastalığın yayılmasından sorumlu tutulmaktadırlar. Enfekte köpeklerde görülen klinik belirtilerin teşhiste tek başına yetersiz olması KanL'nin tanısında spesifik testlerin kullanılması ihtiyacını doğurmaktadır (5). Enfeksiyonun tanısında kullanılan epidemiyolojik ve klinik stratejiler, serolojik ve moleküler yöntemler üzerine inşa edilmiştir (15). IFAT, ELISA, c-ELISA, dot-ELISA gibi yöntemler genellikle KanL'nin serolojik teşhisi için tercih edilmektedir (4). Farklı *Leishmania* türleri arasında çapraz reaksiyon verme riskine rağmen anti-*Leishmania* antikor tespiti için en çok IFA testi kullanılmaktadır (4,22). Hastalığın belirli bir endemik bölgedeki yaygınlığı, hastalığın epidemiyolojisini anlamak ve kontrol önlemlerine karar vermek için her zaman önem taşımaktadır (23).

Türkiye'nin farklı bölgelerinde yapılan KanL çalışmalarına göre; Kars ilinde %7,27 (IFAT), Kırıkkale ve Sivas'ta %2 (IFAT), Adana'da %27,18 (IFAT) ve %41,74 (PZR), İstanbul %1,96 (IFAT), Samsun'da %0,41 (ELISA, PZR, direkt mikroskopi), Antalya'da %7,95 (IFAT) oranında pozitiflik tespit edilmiştir

(24-29). Ayrıca, Kayseri (nested-PZR), Şanlıurfa (IFAT), Burdur (IFAT), Diyarbakır (IFAT), Erzurum (IFAT), Amasya, Ordu, Tokat ve Sinop (ELISA, PZR, direkt mikroskopi) illerinde yapılan çalışmalarda ise KanL yönünden pozitif köpek tespit edilemediği bildirilmiştir (4,28,30-33). Türkiye'de enfeksiyonun endemik olarak görüldüğü Ege Bölgesi'nde KanL seroprevalansı ile ilgili daha önce yapılan çalışmalarda bu oranın %2,5-46 arasında değiştiği farklı çalışmalarda belirtilmiştir (34,35). Çalışma bölgesi olan Aydın'da Toz ve ark.'nın (36) daha önce yaptıkları çalışmada %4,7-9,1 arasında (IFAT, rK39) seropozitiflik bildirilmiştir. Ege Bölgesi'nde bulunan köpeklerde *L. infantum*'un varlığı moleküler olarak daha önce Toz ve ark. (21) tarafından bildirilmiştir. Bakırcı ve ark.'nın (5) Aydın, Manisa ve İzmir ilini kapsayan; köpeklerde *Leishmania* spp. DNA tespiti üzerine yaptıkları çalışmada %5,23 (PZR) pozitiflik tespit edilmiştir. Muğla'da köpeklerde yapılan başka bir çalışmada IFA %37,4, PZR testi %6,87 aynı bölgede hastalığın vektörü olan *Phlebotomus* soyuna bağlı sineklerde yapılan çalışmada ise gerçek zamanlı (real-time) PZR ile %33,8 oranında *Leishmania* spp. pozitif olarak belirlenmiştir (5,34,37). Yapılan bu retrospektif çalışmada sadece 27 örneğe PZR testi istenmiş ve bu örneklerin beş tanesi (%18,5) PZR pozitif olarak bulunmuştur. Bu çalışmada, PZR sonuçlarının IFA testine göre daha düşük prevalansa sahip olması az sayıda örneğe PZR testi yapılmasıyla, dolayısıyla örneklem sayısı ile açıklanabilir. KanL yönünden endemik bölgelerde hastalığın prevalansını belirlemeye yönelik çalışmalarda örneklem büyüklüğünün önemi daha önceki yapılan çalışmalarda da belirtilmektedir (5).

Retrospektif analize dayanan bu çalışmada, daha önce bildirilen seroprevalans oranlarından yüksek (%46,25) seropozitivite tespit edilmiştir. Bu oranın Türkiye'de köpeklerde KanL seroprevalans ortalaması olarak bildirilen (8) %15,8'den çok daha yüksek olduğu kaydedilmiştir. Bölgede *Phlebotomus* soyuna bağlı sineklerin yaşaması için uygun ekolojik ortamın varlığı, KanL varlığı yönünden tespiti daha önce yapılamamış köpekler ve çalışmada teste tabi tutulan örneklerin KanL yönünden hasta veya hastalık şüphesi olan köpekler olması bu duruma neden olan faktörler olarak düşünülmektedir. Bununla birlikte, Özensoy (38) ve Voyvoda ve ark.'nın (39) bildirdikleri üzere bölgede enfeksiyonun uzun yıllardır endemik olduğu ve yıllar içinde teşhis için yapılan test sayılarının artması ile birlikte seropozitif köpek sayısının da artabileceği öngörülmektedir. Çalışmada IFA testi pozitif olarak tespit edilen beş örneğin aynı zamanda PZR testinin de pozitif olduğu, bununla birlikte diğer bir beş örneğin ise IFA testi pozitif iken PZR testinin negatif olduğu belirlenmiştir. Bu durum; PZR ile tespit edilebilir *Leishmania* DNA'sının elimine edilmesinden sonra bile uzun süre devam eden anti-leishmania antikorlar varlığı (40) veya enfeksiyonun PZR ile tespitinde diğer biyolojik materyallere göre sensitivitesi nispeten düşük olan

Tablo 1. PZR ve IFAT karşılaştırmalı test sonuçları

		IFAT		
		Pozitif (+)	Negatif (-)	Toplam
PZR	Pozitif (+)	5	-	5
	Negatif (-)	5	17	22
	Test istenmeyen	27	26	53
	Toplam	37	43	80

PZR: Polimeraz zincir reaksiyon

Tablo 2. Yıllara göre yapılan test ve pozitif örnek sayıları

	Yapılan toplam test sayısı	PZR (+)	IFAT (+)
2016	13	1	3
2017	2	-	2
2018	8	1	4
2019	34	3	18
2020	16	-	6
2021	7	-	4

PZR: Polimeraz zincir reaksiyon

kan materyalinin (21) kullanılmasından kaynaklanmış ya da düşük düzeydeki parazitemi tespit etmede yetersiz kalan PZR duyarlılığı ile açıklanabilir.

Yapılan bu çalışmada dişi köpeklerin %59'unun, erkek köpeklerin ise %38,7'sinin seropozitif olduğu tespit edilmiştir. KanL'nin cinsiyet ile ilişkisi ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda; erkek köpeklerin daha çok etkilendiğini (41,42) rapor eden araştırmaların yanı sıra, cinsiyet farkı gözetmeksizin enfeksiyonun görülebildiğini aktaran (43) araştırmacılar bulunmaktadır. KanL'den en çok etkilenen ırklar konusunda daha önce yapılan çalışmalarda bazı araştırmacılar belli ırkların enfeksiyondan diğerlerinden daha fazla etkilendiği hipotezini reddetmektedir (44). Hem sadece seropozitif köpekleri değerlendiren hem de hastalıklı diğer köpekleri ölçen çalışmalarda Boxer, German Shepherd, Doberman, Rottweiler (45,46) gibi ırklar ön plana çıksa da yapılan bu çalışmada, bütün hayvanların ırk bilgileri bulunmamakla birlikte, en fazla seropozitiflik Melez köpekler ve Golden retriever ırkı köpeklerde görülmüştür. Alvar ve ark. (47) KanL'den etkilenen hayvanlarının yaş dağılımının bi-modal olduğunu; 3 yaş civarında birinci, 8 yaş civarında ise daha az belirgin olan ikinci tepe noktasının görüldüğünü varsaymıştır. Yapılan bu retrospektif çalışmada da Alvar ve ark. (47) gözlemlerine benzer şekilde, seropozitif köpeklerin %44'ünü 3-5 yaş ve %32'sini de 6-8 yaş grupları oluşturmaktadır. Cinsiyet, ırk ve yaş gibi faktörlerin farklı çalışmalarda çelişkili sonuçlar vermesi; çoğu çalışmanın hastalığa yakalanmaya yatkın popülasyonlar yerine genel değerlendirmeye tabi tutulan hayvanlar açısından incelenmesi ile açıklanmaktadır (43).

Yapılan bu retrospektif çalışmada, KanL teşhisi için laboratuvara getirilen örneklerde çoğunlukla sadece IFA test isteminin tercih edilmesi nedeniyle, Leishvet Guidelines (48) ve ESSCAP (49) gibi bilgilendirici uluslararası broşürler ile gerek veteriner hekimlerin gerekse de hasta sahiplerinin konuya dikkati çekilerek; KanL enfeksiyonunda gereken tüm tanı ve tedavi prosedürlerinin eksiksiz yapılması sağlanmalıdır. Bu durum, KanL tanısında sadece ELISA tabanlı hızlı tanı kitlerini kullanan ve daha ileri tanı yöntemlerini birlikte kullanmayı (IFAT ve PZR gibi) tercih etmeyen diğer veteriner hekimlere ya da hasta sahiplerine de doğru şekilde aktarılmalıdır. KanL için; teşhiste tek başına yetersiz kalan klinik belirtiler, duyarlılığı az olan direkt mikroskopi, yanlış pozitiflik/negatiflik ya da çapraz reaksiyon verebilen ELISA tabanlı hızlı kitler ve serolojik testler, kan biyokimyası, uzun zaman alan ve görece pahalı olan moleküler testler dahil olmak üzere; hastalığın teşhisinde bahsedilen tüm yöntemlerin mümkün oldukça birlikte kullanılmasının daha doğru sonuçlar vereceği görülmektedir. Moleküler ve serolojik yöntemlerin bir arada kullanılması subklinik enfeksiyonların tespitinin yanında endemik alanlarda kontrol önlemleri için hedeflenecek köpek sayısının tahmin edilmesine de katkı sağlamaktadır (35,50).

SONUÇ

Zoonotik potansiyeli de göz önüne alındığında oldukça önemli problemlere yol açabilen KanL hem serolojik (IFAT-%46,25) hem de moleküler (PZR-%18,5) olarak bölgede yüksek oranlarda tespit edilmiştir. Hastalığın semptom göstermeden de köpeklerde görülebilmesi nedeniyle bölgede bulunan veteriner hekimlerin hastalık ile ilgili kontrolleri rutin olarak yaparak hastalığın hem tedavisi hem de kontrol programları yönünden halk sağlığına katkıda bulunmasının zarureti görülmektedir. Ek olarak

köpeklerdeki enfeksiyon varlığının tespiti için klinik bulgular, direkt mikroskopi, serolojik ve moleküler yöntemlerin birlikte kullanılması bireysel teşhis, epidemiyolojik çalışmalar ve doğru tedavi prosedürlerinin uygulanabilmesi için bir gereklilik halini almıştır. KanL şüphesi olan köpeklerde veteriner hekimlerin ileri tanı yöntemlerinden faydalanarak özellikle serolojik ve moleküler testleri birlikte kullanması, endemik olmayan bölgelere hastalığın yayılmasını önlemek açısından da önem taşımaktadır. Elde edilen veriler, *Leishmania* spp.'nin neden olduğu enfeksiyon riskinin bölgede yüksek seviyede olduğunu dolayısıyla hem insan hem hayvan sağlığının korunabilmesi için KanL kontrollerinin rutin olarak yapılmasının önemini göstermektedir.

*Teşekkür

Yazarlar, bazı serolojik analizlerin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Veteriner hekim Heycan Berk Aydın'a teşekkürlerini sunar.

*Etik

Etik Kurul Onayı: Retrospektif değerlendirme olarak yapılan bu çalışma için etik kurul onayına ve hasta onamına gerek duyulmamıştır.

Hasta Onayı: Retrospektif değerlendirme olarak yapılan bu çalışma için etik kurul onayına ve hasta onamına gerek duyulmamıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu ve editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

*Yazarlık Katkıları

Konsept: M.P., S.B., H.B.B., S.H., T.K., Dizayn: M.P., S.B., H.B.B., S.H., T.K., Veri Toplama veya İşleme: M.P., S.B., Analiz veya Yorumlama: M.P., S.B., H.B.B., S.H., T.K., Literatür Arama: M.P., S.B., Yazan: M.P., S.B., H.B.B., S.H., T.K.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. WHO. Control of the leishmaniasis. Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of *Leishmaniasis*, Geneva, 2010; 22-26; 5-88.
2. Lemma W, Bizuneh A, Tekie H, Belay H, Wondimu H, Kassahun A, et al. Preliminary study on investigation of zoonotic visceral *leishmaniasis* in endemic foci of Ethiopia by detecting *Leishmania* infections in rodents. *Asian Pac J Trop Med* 2017; 10: 418-22.
3. Karakuş M, Arserim SK, Erişöz Kasap Ö, Pekağırbaş M, Aküzüm D, Alten B, et al. Vector and reservoir surveillance study in a canine and human *leishmaniasis* endemic area in most western part of Turkey, Karaburun. *Acta Trop* 2019; 190: 177-82.
4. Iça A, İnci A, Yıldırım A, Atalay O, Düzlü O. Kayseri ve Civarında Köpeklerde *Leishmaniosisin* Nested-PCR ile Araştırılması [Investigation of canine *leishmaniasis* by nested-PCR in Kayseri and vicinity]. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2008; 32: 187-91.
5. Bakırcı S, Bilgiç HB, Köse O, Hacılarhoğlu S, Erdoğan H, Karageç T. Molecular and seroprevalence of canine visceral *leishmaniasis* in West Anatolia. Turkey. *Turkish J Vet Anim Sci* 2016; 40: 637-44.
6. Morales-Yuste M, Morillas-Márquez F, Díaz-Sáez V, Barón-López S, Acedo-Sánchez C, Martín-Sánchez J. Epidemiological implications of the use of various methods for the diagnosis of canine *leishmaniasis* in dogs with different characteristics and in differing prevalence scenarios. *Parasitol Res* 2012; 111: 155-64.
7. Çelik BA, Çelik ÖY, Şahin T. Retrospective Evaluation of canine *Leishmaniasis* in Turkey. *FU Vet J Health Sci* 2019; 33: 123-30.

8. Ozbel Y, Balcioglu IC, Olgen MK, Simsek FM, Töz SÖ, Ertabaklar H, et al. Spatial distribution of phlebotomine sand flies in the Aydın Mountains and surroundings: the main focus of cutaneous *leishmaniasis* in western Turkey. *J Vector Ecol* 2011; 36 Suppl 1: S99-S105.
9. Atasoy A, Pasa S, Toz SO, Ertabaklar H. Seroprevalence of Canine Visceral Leishmaniasis Around the Aegean Coast of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2010; 16: 1-6.
10. Solano-Gallego L, Miró G, Koutinas A, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, et al. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasit Vectors* 2011; 4: 86.
11. Sundar S, Rai M. Laboratory diagnosis of visceral *leishmaniasis*. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 951-8.
12. Saridomichelakis MN, Mylonakis ME, Leontides LS, Koutinas AF, Billinis C, Kontos VI. Evaluation of lymph node and bone marrow cytology in the diagnosis of canine *leishmaniasis* (*Leishmania infantum*) in symptomatic and asymptomatic dogs. *Am J Trop Med Hyg* 2005; 73: 82-6.
13. Reis AB, Martins-Filho OA, Teixeira-Carvalho A, Carvalho MG, Mayrink W, França-Silva JC, et al. Parasite density and impaired biochemical/hematological status are associated with severe clinical aspects of canine visceral *leishmaniasis*. *Res Vet Sci* 2006; 81: 68-75.
14. Otranto D, Paradies P, Sasanelli M, Spinelli R, Brandonisio O. Rapid immunochromatographic test for serodiagnosis of canine *leishmaniasis*. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2769-70.
15. Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Oliva G, Baneth G. Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part two. *Trends Parasitol* 2008; 24: 371-7.
16. Otranto D, Paradies P, de Caprariis D, Stanneck D, Testini G, Grimm F, et al. Toward diagnosing *Leishmania infantum* infection in asymptomatic dogs in an area where leishmaniasis is endemic. *Clin Vaccine Immunol* 2009; 16: 337-43.
17. Bourdeau P, Saridomichelakis MN, Oliveira A, Oliva G, Kotnik T, Gálvez R, et al. Management of canine leishmaniosis in endemic SW European regions: a questionnaire-based multinational survey. *Parasit Vectors* 2014; 7: 110.
18. Baneth G, Aroch I. Canine leishmaniasis: a diagnostic and clinical challenge. *Vet J* 2008; 175: 14-5.
19. Ceccarelli M, Galluzzi L, Migliazzo A, Magnani M. Detection and characterization of *Leishmania* (*Leishmania*) and *Leishmania* (*Viannia*) by SYBR green-based real-time PCR and high resolution melt analysis targeting kinetoplast minicircle DNA. *PLoS One* 2014; 9: e88845.
20. le Fichoux Y, Quaranta JF, Aufeuvre JP, Lelievre A, Marty P, Suffia I, et al. Occurrence of *Leishmania infantum* parasitemia in asymptomatic blood donors living in an area of endemicity in southern France. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1953-7.
21. Toz SO, Nasereddin A, Ozbel Y, Ertabaklar H, Culha G, Sevil N, et al. *Leishmaniasis* in Turkey: molecular characterization of *Leishmania* from human and canine clinical samples. *Trop Med Int Health* 2009; 14: 1401-6.
22. Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Vet Parasitol* 2009; 165: 1-18.
23. Karakuş M, Töz S, Ertabaklar H, Paşa S, Atasoy A, Arserim SK, et al. Evaluation of conjunctival swab sampling in the diagnosis of canine leishmaniasis: A two-year follow-up study in Çukurova Plain, Turkey. *Vet Parasitol* 2015; 214: 295-302.
24. Sari B, Limoncu ME, Balcioglu IC, Aldemir A, Tasci GT, Kiliç Y, et al. Seroepidemiological and entomological survey in a new focus of zoonotic visceral leishmaniasis in Kars province, Northeastern Turkey. *Vet Parasitol* 2015; 209: 179-87.
25. Aydenizöz M, Yağcı BB, Ozkan AT, Duru SY, Gazıyağcı AN. Kirikkale'deki Köpeklerde Mikrokültür Yöntemi ve IFAT ile Visceral Leishmaniosis'in Prevalansinin Araştırılması. *Türkiye Parazit Derg* 2010; 34: 1-5.
26. Kilic S, Babür C, Özkan AT, Mamak N. Investigation of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Leishmania infantum* antibodies among Sivas Kangal dogs. *Turk J Vet Anim Sci* 2008; 32: 299-304.
27. Aysul N, Eren H, Gargılı A, Ertabaklar H, Ertuğ S, Şimşek E, et al. Survey of Zoonotic Visceral Leishmaniasis Among Dogs in Istanbul, Turkey. *Animal Health Prod and Hyg* 2012; 21-5.
28. Bolukbas CS, Pekmezci GZ, Gurler AT, Pekmezci D, Guzel M, Hokelek M, et al. Evidence of *Leishmania spp.* antibodies and DNA in dogs in the Middle Black Sea Region of Turkey. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2016; 63: 111-4.
29. Balcioglu IC, Ertabaklar H, Paşa S, Ozbel Y, Toz SO. Antalya İli ve İlçelerindeki Dört Köpek Barınağında *Leishmaniasis* Seroprevalansinin Araştırılması [Investigating the seroprevalence of *leishmaniasis* in four dog shelters in Antalya and its districts]. *Türkiye Parazit Derg* 2009; 33: 4-7.
30. Babür C, Altaş MG, Çelebi B, Sevgili M, Özkan AT, Gökçen A. Seroprevalance of *toxoplasmosis*, *leishmaniosis* and *listeriosis* in stray dogs in the province of Sanliurfa, Turkey. *Turk Hij Den Biyol Derg* 2007; 64: 11-6.
31. Beyhan YE, Çelebi B, Ergene O, Mungan M. Seroprevalance of *Leishmaniasis* in Dogs from Hatay and Burdur Provinces of Turkey and Northern Cyprus. *Türkiye Parazit Derg* 2016; 40: 9-12.
32. Içen H, Babür C, Bademkiran S, Celebi B, Şimşek A, Ozyurtlu N, Diyarbakir et al. Bölgesindeki Sahipsiz Köpeklerde *Toxoplasmosis*, *Leishmaniasis* ve *Listeriosis*'in Seroprevalansı [Seroprevalance of *toxoplasmosis*, *leishmaniosis* and *listeriosis* in shelter dogs of Diyarbakir, Turkey]. *Türkiye Parazit Derg* 2010; 34: 6-10.
33. Aktaş MS, Ozkanlar YE, Ozkan AT, Babür C, Balkaya I. Erzurum İli Barınak Köpeklerinde *Listeriosis* ve *Leishmaniasis*'in Seroprevalansinin Araştırılması [Seroprevalance of *listeriosis* and *leishmaniasis* in shelter dogs of the Erzurum province]. *Türkiye Parazit Derg* 2010; 34: 76-80.
34. Bakırçı S, Topçuoğlu AD. Molecular and Serological Analysis for Prevalence of Canine Visceral *Leishmaniasis* in the Muğla Region of Turkey. *Türkiye Parazit Derg* 2021; 45: 11-6.
35. Ozbel Y, Oskam L, Ozensoy S, Turgay N, Alkan MZ, Jaffe CL, et al. A survey on canine leishmaniasis in western Turkey by parasite, DNA and antibody detection assays. *Acta Trop* 2000; 74: 1-6.
36. Toz SÖ, Ertabaklar H, Özbel Y. Seroprevalence of canine visceral *leishmaniasis* in Kuşadası, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci* 2005; 29: 23-6.
37. Pekağırbaş M, Karakuş M, Kasap OE, Demir S, Nalçacı M, Töz S, et al. Investigation of *Phlebotominae* (Diptera: Psychodidae) Fauna, Seasonal Dynamics, and Natural *Leishmania spp.* Infection in Muğla, Southwest of Turkey. *Acta Trop* 2021; 216: 105827.
38. Özensus S. *Leishmaniasis*'de rezervuar olarak köpeklerin önemi. 12. Ulusal Parazitoloji Kongresi, Elazığ: Program ve Özet Kitabı; 2001.
39. Voyvoda H, Paşa S, Töz SÖ, Özbel Y, Ertabaklar H. Aydın'ın Bazı ilçeleri ile İzmir'in Selçuk ilçesindeki Köpeklerde *Leishmaniosis* ve *Dirofilaria*'in Prevalansı. *Turk J Vet Anim Sci* 2004; 28: 1105-11.
40. Ikononopoulos J, Kokotas S, Gazouli M, Zavras A, Stoitsiou M, Gorgoulis VG. Molecular diagnosis of leishmaniosis in dogs. Comparative application of traditional diagnostic methods and the proposed assay on clinical samples. *Vet Parasitol* 2003; 113: 99-113.
41. Ciaramella P, Oliva G, Luna RD, Gradoni L, Ambrosio R, Cortese L, et al. A retrospective clinical study of canine *leishmaniasis* in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet Rec* 1997; 141: 539-43.
42. Miranda S, Roura X, Picado A, Ferrer L, Ramis A. Characterization of sex, age, and breed for a population of canine leishmaniosis diseased dogs. *Res Vet Sci* 2008; 85: 35-8.
43. Amusatogui I, Sainz A, Rodríguez F, Tesouro MA. Distribution and relationships between clinical and biopathological parameters in canine leishmaniasis. *Eur J Epidemiol* 2003; 18: 147-56.
44. Fisa R, Gállego M, Castillejo S, Aisa MJ, Serra T, Riera C, et al. Epidemiology of canine leishmaniosis in Catalonia (Spain) the example of the Priorat focus. *Vet Parasitol* 1999; 83: 87-97.
45. Abranches P, Silva-Pereira MC, Conceição-Silva FM, Santos-Gomes GM, Janz JG. Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. *J Parasitol* 1991; 77: 557-61.
46. Sideris V, Karagouni E, Papadopoulou G, Garifallou A, Dotsika E. Canine visceral leishmaniasis in the great Athens area, Greece. *Parasite* 1996; 3: 125-30.

47. Alvar J, Cañavate C, Molina R, Moreno J, Nieto J. Canine leishmaniasis. *Adv Parasitol* 2004; 57: 1-88.
48. Leishvet Guidelines, Practical Management Of Canine & Feline Leishmaniasis, <https://www.leishvet.org/wp-content/uploads/2021/10/EN-Guidelines21.pdf> (Erişim Tarihi; Aralık 2021).
49. European Scientific Council for Companion Animal Parasites (ESCCAP®) Guideline 5, 2016. Control of Vector-Borne 5 Diseases in Dogs and Cats, 3rd edition. Available online: <http://www.ESCCAP.it/uploads/documenti/7876728.pdf> (Erişim Tarihi; Eylül 2021).
50. de Andrade HM, Reis AB, dos Santos SL, Volpini AC, Marques MJ, Romanha AJ. Use of PCR-RFLP to identify *Leishmania* species in naturally-infected dogs. *Vet Parasitol* 2006; 140: 231-8.