



RESEARCH ARTICLE

Trakya bölgesindeki köpeklerde *Leishmania infantum*'un seropozitifliğinin ELISA yöntemiyle araştırılması

Sezai Arslan1*,a, Taraneh Öncel2,b, Kudret Yenilmez3,c, Nesrin Turan4,d

¹Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tekirdağ, Türkiye ²Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü, Paraziter Teşhis Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye

³Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ, Türkiye ⁴Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü, Serolojik Teşhis Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye

Geliş:11.02.2019, Kabul: 15.05.2019
*sezaiwetgov@yahoo.com

^aORCID: 0000-0001-9537-6024, ^bORCID: 0000-0003-1039-5256, ^cORCID: 0000-0002-5532-0525, ^dORCID: 0000-0001-9452-1429

Detection of *Leishmania infantum* seropositivity in dogs by ELISA technique in Thrace region of Turkey

Eurasian J Vet Sci, 2019, 35, 3, 165-169
DOI: 10.15312/EurasianJVetSci.2019.235

Öz

Amaç: Trakya bölgesindeki bazı geçici hayvan barınaklarında bulunan sahihsiz sokak köpeklerinde anti-*Leishmania infantum* (*L. infantum*) antikorlarının ELISA yöntemi ile araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma materyalini Trakya bölgesinde bulunan Çanakkale/Gelibolu, Edirne/Uzunköprü, Kırklareli/Merkez, İstanbul/Silivri ve Tekirdağ/Süleymanpaşa'dan olmak üzere toplam 184 köpek oluşturmuştur. Köpeklerden alınan kan örneklerinden elde edilen serumlarda anti- *L. infantum* antikorlarının tespiti Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA) yöntemi ile yapılmıştır.

Bulgular: Anti- *L. infantum* antikorları yönünden incelenen 184 köpek serum örneğinin 16'sı seropozitif, (%8,7), 168 tanesi ise seronegatif (%91,3) olarak tespit edilmiştir. Çanakkale/Gelibolu ve Kırklareli merkezde pozitiflik saptanmazken, İstanbul/Silivri'de %13,9, Edirne/Uzunköprü'de %12,1 ve Tekirdağ/Süleymanpaşa'da %4 oranında pozitiflik saptanmıştır. Çalışmada seropozitiflik oranının cinsiyetle ilişkisinin olmadığı, 4 yaş ve üstü köpeklerde seropozitiflik oranının arttığı tespit edilmiştir.

Öneri: Trakya bölgesinde Leishmaniasis'in insan ve köpek sağlığı için önemli bir zoonoz hastalık olduğu ve vektör *Phebotomus* türlerinin araştırılmasının uygun olacağı görüşüne varılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Leishmania infantum*, Köpek, ELISA, Trakya Bölgesi, Türkiye

Abstract

Aim: The aim of this study was to investigate the presence of anti-*Leishmania infantum* (*L. infantum*) antibodies in stray dogs in some temporary animal shelters in Thrace region of Turkey.

Materials and Methods: Material of study included a total of 184 dogs in the Thrace region. (Çanakkale/Gelibolu, Edirne/Uzunköprü, Kırklareli/Center, İstanbul/Silivri and Tekirdağ/Süleymanpaşa. Detection of antibodies to *L. infantum* was performed by Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA) technique.

Results: Of the 184 dog serum samples examined for anti-*L. infantum* antibodies, 16 were seropositive (8,7%) and 168 (91,3%) were seronegative. While there was no positivity in Çanakkale/Gelibolu and Kırklareli/Center, 13,9%, 12,1% and 4% of the examined dogs were found seropositive in İstanbul/Silivri, Edirne/Uzunköprü and Tekirdağ/Süleymanpaşa, respectively. It was found that seropositivity rate was not related to sex and the rate of seropositivity was increased in dogs older than 4 years in this study.

Conclusion: It was concluded that Leishmaniasis is an important zoonotic disease for human and dog health and it would be appropriate to investigate vector *Phebotomus* species in the Thrace region.

Keywords: *Leishmania infantum*, Dog, ELISA, Thrace Region, Turkey



Giriş

L. infantum, dişi phlebotomine kum sinekleri tarafından bulaştırılan vektör kaynaklı zoonoz bir hastalık olup, köpekler parazitin ana rezervuar kaynağı olarak kabul edilir (Solano-Gallego ve ark 2009). Dünya Sağlık Örgütü tarafından 2013 yılında 98 ülkede en yaygın görülen dokuz parazitik enfeksiyondan biri olarak rapor edilmiştir (Bakırcı ve ark 2016). *L. infantum* Güney Avrupa, Kuzey ve Orta Afrika, Orta Doğu, Çin, Güney ve Orta Amerika dahil olmak üzere dünyanın tropikal, subtropikal ve ılıman bölgelerinde görülür (Solano-Gallego ve ark 2016). 1993 sonrası Türkiye'de 22 farklı ilde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda prevalans oranları % 1,45 ila %27,5 arasında bulunmuştur (Özbel 2013). Köpek leishmaniasis'i 5 aylık-13 yaş aralığındaki çeşitli köpek ırklarında görülmektedir (İça 2004). En yaygın klinik bulgular çiğneme kaslarının atrofik miyozitisi, kutanöz değişiklikler, lenfoadenomegali, onikogrifozis, glomerulonefritis, poliartiritis ve üveitis olmasına rağmen, asemptomatik hayvanların görülme sıklığı daha fazladır (Maia ve Campino 2018). Enfekte olmuş asemptomatik köpeklerin phlebotomine vektör kum sinekleri için parazit kaynağı olduğu ve *Leishmania*'nın bulaşmasında aktif rol oynadığı ifade edilmiştir (Solano-Gallego ve ark 2001). Hastalığın tanısında direkt (Giemsa boyama ile etkenin görülmesi), indirekt (immunohistokimyasal teknikler) ve immunodiagnostik testler (ELISA, Western blot, immunokromatografik testler, aglütinasyon teknikleri, IFAT) uygulanmaktadır, fakat hiçbir test %100 sensitivite ve spesifiteye sahip değildir (Alvar ve ark 2004). Son yıllarda moleküler biyolojideki gelişmelere paralel olarak kullanıma giren parazit DNA'sının tespiti esasına dayanan metotlar, daha duyarlı ve hızlı bir biçimde hastalığın teşhis edilmesine olanak sağlamıştır. Bu yöntemlerin başında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) gelmektedir (İça 2004).

Leishmaniasis saptanan bölgelerde hastalığa yönelik kontrol mekanizmalarının devreye sokulabilmesi köpeklerdeki enfeksiyon oranının ortaya konulmasıyla mümkündür (Balcıoğlu ve ark 2009). Ülkemizde çeşitli bölgelerde köpeklerde *L. infantum*'un seroprevalansı konusunda farklı çalışmalar yapılmasına rağmen Trakya bölgesinde bulunan illerin tümünü kapsayacak bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada Trakya bölgesinde bazı geçici hayvan barınaklarında bulunan sahihsiz sokak köpeklerinde *L. infantum*'un seropozitifliğinin saptanması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışma materyalini, Trakya bölgesinde bulunan İstanbul/Silivri'den 79, Edirne/Uzunköprü'den 33, Çanakkale/Gelibolu'dan 28, Tekirdağ/Süleymanpaşa'dan 25 ve Kırıkclareli/Merkez'den 19 adet olmak üzere farklı ırk ve cinsiyette yaşları 6 ay ile 9 yıl arasında değişen toplam 184 köpek oluşturmuştur. *Leishmaniasis* ile uyumlu semptomların ortaya konulabilmesi için tüm hayvanlar klinik muayeneden geçiril-

miştir. Örneklerin toplanması Nisan-Haziran 2018 tarihleri arasında yapılmıştır. *L. infantum* enfeksiyonunun tanısı için köpeklerin vena cephalica antebraçhi'sinden EDTA'lı ve antikoagülsüz kan örnekleri alınmıştır. Kan frotileri giemsa ile boyanarak kan parazitleri (*Ehrlichia spp.*, *Anaplasma spp.* ve *Babesia spp.*) yönünden incelenmiştir. Kan örnekleri 3000 rpm de 15 dakika santrifüj edilerek serumları ayrılmış, elde edilen serum örnekleri test yapılncaya kadar -80 °C de saklanmıştır.

Anti *L. infantum* antikorlarının tespiti için ticari ELISA testi (ID Screen® *Leishmaniasis* Indirect, France) kullanılmıştır. ELISA testi firmanın kullanma talimatına göre yapılmış ve spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okunarak sonuçlar kaydedilmiştir. Testin geçerliliği pozitif kontrolün ortalama optik dansitesi (ODPC) 0,350 den büyük (ODPC>0,350) ve ODPC'nin negatif kontrolün ortalama optik densitesine (ODNC) oranı 3 den büyükse (ODPC/ODNC>3) test geçerli olarak kabul edilmiştir. Serum örneklerinin S/P oranları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\%S/P = \frac{OD \text{ Örnek} - OD \text{ Negatif kontrol}}{OD \text{ Pozitif kontrol} - OD \text{ Negatif kontrol}} \times 100$$

Ticari test kiti talimatına göre %S/P≤%40 olanlar negatif, %40<%S/P<%50 olanlar şüpheli, %S/P≥%50 olanlar ise pozitif olarak değerlendirilmesi gerektiği ifade edilmiştir.

İstatistiksel analiz SPSS® Version 24.0'da yapılmıştır. ELISA sonuçlarının cinsiyet, yaş ve illere göre istatistiksel farklılıkları Ki-kare testi ile hesaplanmıştır. 0,05'den küçük P değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Çalışma, Namık Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınan 12.04.2018 tarih ve T2018-5 no'lu izinle yapılmıştır.

Bulgular

Anti-*L. infantum* antikorları yönünden incelenen 184 köpek serum örneğinin 16'sı seropozitif (%8,7), 168'i seronegatif (% 91,3) olarak saptanmıştır. Şüpheli serum örneğine rastlanmamıştır. 11 dişi ve 5 erkek hayvanda seropozitiflik tespit edilmesine rağmen cinsiyete göre istatistiksel önem tespit edilmemiştir (Tablo 1).

4 yaş ve üstü köpeklerde seropozitiflik oranı daha yüksek bulunmuş olup, 4-6 yaş gurubundaki köpeklerin diğer yaş gruplarına göre istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir (Tablo 2).

Çanakkale/Gelibolu ve Kırıkclareli/Merkez'de seropozitiflik saptanmazken, İstanbul/Silivri'de %13,9, Edirne/Uzunköprü'de %12,1 ve Tekirdağ/Süleymanpaşa'da %4 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir (Tablo 3).



Table 1. Cinsiyete göre seropozitiflik oranı

Cinsiyet	Test edilen köpek sayısı	Pozitif sayısı	Pozitif oranı (%) (P=0.558)
Erkek	70 (%38)	5	%7,1
Dişi	114 (%62)	11	%9,6
Toplam	184 (%100)	16	%8,7

Tablo 2. Yaş gruplarına göre seropozitiflik oranı

Yaş grupları	Test edilen köpek sayısı	Pozitif sayısı	Pozitif oranı (%)
0-3	113(%61,4)	4	%3,5 a
4-6	65(%35,3)	11	%16,9 b
≥7	6(%3,3)	1	%16,7 ab
Toplam	184(%100)	16	%8,7

Aynı sütundaki farklı harf taşıyan gruplar arasında istatistiki açıdan fark vardır (P<0,05).

Tablo 3. Trakya bölgesindeki illere göre seropozitiflik oranı

Numunelerin alındığı barınak yerleri	Test edilen köpek sayısı	Pozitif sayısı	Pozitif oranı (%)
Tekirdağ/Süleymanpaşa	25	1	%4 ab
Kırklareli/Merkez	19	0	%0 ab
İstanbul/Silivri	79	11	%13,9 a
Edirne/Uzunköprü	33	4	%12,1 ab
Çanakkale/Gelibolu	28	0	%0 b
Toplam	184	16	%8,7

Aynı sütundaki farklı harf taşıyan gruplar arasında istatistiki açıdan fark vardır (P<0,05).

İncelenen tüm örneklerin kan frotilisinde *Ehrlichia spp.*, *Anaplasma spp.* ve *Babesia spp.* etkenleri saptanmamıştır.

Tartışma

Köpekler *Leishmania infantum*'un hem konağı hem de rezervuarı olmasından dolayı enfeksiyonların yayılmasına ve devamlılığına neden olur (İça ve ark 2008). İnsan ve hayvanlarda zoonotik visseral leishmaniasis için kontrol stratejilerinin planlanması, aktif odakların dağılımı ve oranlarının ortaya konulması oldukça önemlidir. Ege ve Akdeniz bölgeleri başta olmak üzere tüm bölgelerimizde endemik veya sporadik olarak köpek leishmaniasis'i görülmektedir (Sönmez ve ark 2008). Bu çalışmada elde ettiğimiz veriler Trakya bölgesindeki köpeklerde *L. infantum*'un seropozitifliğinin ortaya konulmasını sağlamıştır.

Köpek leishmaniasis'in teşhisinde %100 sensivite ve spesifiteye sahip bir test tekniği bulunmamaktadır (Alvar ve ark

2004). Çoğu enfekte köpeğin enfeksiyonu latent olarak taşıması ve visseral leishmaniasis'in tanısında doku frotilerinin alınmasındaki zorluklar nedeniyle hastalığın prevalansının ortaya konulmasında serodiagnostik testlerin kullanımı giderek artmaktadır (Doğan ve ark 2006). Ticari ELISA kitleri, indirekt fluoresan antikor testi (IFAT)'ne göre daha yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olduğundan IFAT'ın yerini almıştır (Gharbi ve ark 2015). Reithinger ve ark. (2002) yaptıkları bir çalışmada ELISA testinin %71 ila %88 arasında bir sensitivite ve %100 spesifiteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda sensitivitesi ve spesifitesi oldukça yüksek olan ELISA testi kullanılmıştır.

Köpek leishmaniasis'i için seroloji duyarlı ve kullanışlı bir teknik olarak kabul edilmesine rağmen asemptomatik seropozitif köpekleri değerlendirme, hayvan takibi olmadan açıklamanın zor olduğu ifade edilmiştir (Solano-Gallego ve ark 2001). Numune aldığımız yerlerdeki köpekler kısırlaştırıldıktan sonra serbest bırakıldığından seropozitif olan kö-



peklerin takipleri yapılamamıştır. Seropozitif köpeklerin bu parazitte daha önceden temasının olduğu düşünülmektedir. Çalışmada tüm kan frotileri mikroskopik olarak *Ehrlichia spp.*, *Anaplasma spp.* ve *Babesia spp.* etkenleri yönünden incelenmiş ve bu etkenler yönünden negatif tespit edilmiştir.

Çalışmada *Leishmaniasis* ile cinsiyet arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır. Bu sonuç daha önce yapılan çalışmalarla uyumludur (Pozio ve ark 1981, Sideris ve ark 1996, Bokai ve ark 1998, Cardoso ve ark 2004, Mohebalı ve ark 2005). Çalışmada 4 yaş ve üstü hayvanların 0-3 yaşa göre daha yüksek oranda hastalığa yakalandıkları tespit edilmiştir. Araştırmalar arasındaki yaş farklılıkları seçilen yaş aralığı ve genişliğine göre değişiklik gösterebilir. Mohebalı ve ark (2005) 8 yaş ve üstü Cardoso ve ark (2004) 9-11 yaş arasında en yüksek oranda pozitiflik elde ettiklerini, Pozio ve ark (1981) ise 1 yaşına kadar olan köpeklerde pozitiflik elde edemediklerini, 3 yaşa doğru ilerledikçe pozitiflik oranının arttığını, özellikle yaşlı köpeklerde sabit bir oranda kaldığını ifade etmişlerdir. Türkiye'de köpek leishmaniasis'in seropozitifliği bölgeden bölgeye ve kullanılan teşhis yöntemine göre farklılık göstermektedir. Ege bölgesinde (Aydın, İzmir, Manisa, Muğla) Atasoy ve ark.(2010) IFAT 'la % 9, Orta Karadeniz bölgesinde (Samsun, Amasya, Ordu, Sinop, Tokat) Bölükbaş ve ark. (2016) mikroskopik, ELISA ve PCR'la % 0,41, Kuzeybatı Anadolu'da (Aydın, Bilecik, Eskişehir) Doğan ve ark. (2006) IFAT, ELISA, rk39 ELISA ve dip-stick testlerinden en az biriyle %13,5 oranında pozitiflik bildirmişlerdir. Bakırcı ve ark. (2016) Aydın, Manisa ve İzmir illerinde IFAT'la %10,99, PCR ile %5,23, Coşkun ve ark. (1997) ise Bursa, Muğla, Antalya ve İstanbul illerinde IFAT'la %5,5 oranında pozitiflik tespit etmişlerdir. Trakya bölgesinde yapmış olduğumuz çalışmada elde ettiğimiz % 8,7'lik seropozitiflik Ege bölgesinde (Atasoy ve ark 2010) yapılan çalışmanın sonuçlarına yakın, Kuzey Anadolu'da yapılandan (Doğan ve ark 2006) düşük, Orta Karadeniz bölgesinde yapılan (Bölükbaş ve ark 2016) çalışmadan yüksek bulunmuştur. Bölgeler arasındaki prevalans farklılıkları, bulaşma için gerekli çevresel koşullar, vektör popülasyonu ve teşhiste kullanılan metoda göre değişiklikler gösterebilir.

Marmara bölgesindeki illerde yapılan çalışmalara bakıldığında İstanbul'da negatif tespitlerin yanında (Coşkun ve ark 1997, Kamburgil ve Dik 1998, Handemir ve ark 2004), Polat ve ark. (2003) %6,36, Bilgin ve ark. (2015) %8,54, Aysul ve ark (2012) %1,96 oranında pozitiflik tespit etmişlerdir. Çanakkale/Ayvacak'da (Tok ve ark 2009) 27, Edirne/Merkez'de (Düzbeyaz ve ark 2016) 37 köpeğin hiçbirinde seropozitiflik tespit edilememiştir. Yaptığımız çalışmada Çanakkale/Gelibolu ve Kırklareli/Merkez'de pozitiflik saptanmazken, İstanbul/Silivri'de % 13,9, Edirne/Uzunköprü'de % 12,1 ve Tekirdağ/Süleymanpaşa'da % 4 oranında pozitiflik tespit edilmiştir. İstanbul'da elde ettiğimiz seropozitiflik daha önce yapılan çalışmalardan (Polat ve ark 2003, Aysul ve ark 2012, Bilgin ve ark 2015) yüksek bulunmuştur. Bunun nedeninin

numunelerin alındığı Silivri geçici hayvan barınağının atık toplama merkezine yakın olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Edirne/Uzunköprü'de elde ettiğimiz yüksek oran daha önce Edirne/Merkez'de yapılan çalışmadan (Düzbeyaz ve ark 2016) oldukça farklılık göstermektedir. Bu farklılığın sebebi numunelerin alındığı Uzunköprü geçici hayvan barınağının Ergene nehrine yakınlığı ve yanında mezbananın bulunmasının kum sinekleri için uygun bir ortam oluşturmaya bağlanabilir. Kum sineklerinin üremelerinde gübrelik alanların, bitki döküntülerinin, organik atıkların ve çöplüklerin önemli olduğu ifade edilmiştir (Çetin ve Özbel 2017). Çanakkale/Gelibolu'da elde ettiğimiz sonuç daha önce Çanakkale/Ayvacak'ta (Tok ve ark 2009) yapılan çalışmayla uyumludur. Tekirdağ/Süleymanpaşa'da ve Kırklareli/Merkez'de elde ettiğimiz sonuçlar daha önce bu bölgede yapılan bir çalışmaya rastlanmadığından karşılaştırılma yapılamamış ancak Tekirdağ/Süleymanpaşa'da %4 oranında görülmesi leishmaniasis'in seropozitifliğinin tespiti yönünden önemlidir.

Öneriler

Sonuç olarak Trakya bölgesinde zoonoz bir hastalık olan leishmaniasis'in insan ve köpek sağlığı yönünden detaylı bir şekilde incelenmesinin ve vektör *Phlebotomus* türlerinin araştırılmasının uygun olacağı görüşüne varılmıştır.

Teşekkür

Numunelerin alınmasında yardımcı olan geçici hayvan barınma yerlerindeki çalışanlara teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Alvar J, Cañavate C, Molina R, Moreno J, et al., 2004. Canine leishmaniasis. *Adv Parasitol*, 57, 1-88.
- Atasoy A, Paşa S, Özensoy Toz S, Ertabaklar H, 2010. Seroprevalence of canine visceral leishmaniasis around the Aegean coast of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16, 1-6.
- Aysul N, Eren H, Gargılı A, Ertabaklar H, et al., 2012. İstanbul ilinde köpeklerde zoonotik visseral leishmaniasisin araştırılması. *Animal Health, Prod and Hyg*, 1, 21-25.
- Bakırcı S, Bilgiç HB, Köse O, Aksulu A, et al., 2016. Molecular and seroprevalence of canine visceral leishmaniasis in West Anatolia, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 40, 637-644.
- Balcioğlu İC, Ertabaklar H, Paşa S, Özbel Y, et al., 2009. Antalya ili ve ilçelerindeki dört köpek barınağında leishmaniasis seroprevalansının araştırılması. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi*, 33, 4-7.
- Bilgin Z, Turan N, Yılmaz H, Ferroglio E, et al., 2015. Prevalence of leishmaniasis in dogs in Istanbul, Turkey determined by using PCR. *J Hellenic Vet Med Soc*, 66, 106-112.
- Bokai S, Mobedi I, Edrissian G, Nadim A, 1998. Seroepidemiological study of canine visceral leishmaniasis in Meshkin-Shahr, northwest of Iran. *Arch. Inst. Razi*, 48-49, 41-46.





- Bölükbaş CS, Pekmezci GZ, Gürler AT, Pekmezci D, et al., 2016. Evidence of *Leishmania spp.* antibodies and DNA in dogs in the Middle Black Sea Region of Turkey. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 63, 111-114.
- Cardoso L, Rodrigues M, Santos H, Schoone GJ, et al., 2004. Seroepidemiological study of canine *Leishmania spp.* infection in the municipality of Alijo (Alto Douro Portugal). Vet. Parasitol, 121, 21-32.
- Coşkun Ş, Batmaz H, Aydın L, Yılmaz F, 1997. Seroprevalence of *Leishmania infantum* infection of dogs in the Western part of Turkey. Türkiye Parazitoloj Derg, 21(3), 287-91.
- Çetin H, Özbel Y, 2017. Kum sinekleri (Yakarca, Tatarcık) ve kontrol yöntemleri. Türkiye Parazitoloj Derg 41, 102-13.
- Doğan N, Özbel Y, Toz SÖ, Dinleyici EC, et al., 2006. Sero-epidemiological Survey on Canine visceral leishmaniasis and the distribution of sandfly vectors in northwestern Turkey: prevention strategies for childhood visceral leishmaniasis. J Trop Pediatr 52(3), 212-217.
- Düzbeyaz A, Şakru N, Töz S, 2016. Edirne merkez ilçesi kedi ve köpek evindeki köpeklerde leishmaniasis seroprevalansı. Türkiye Parazitoloj Derg, 40, 56-58.
- Gharbi M, Mhadhbi M, Rejeb A, Jaouadi K, et al., 2015. Leishmaniasis (*Leishmania infantum* infection) in dogs. Rev Sci Tech Off Int Epiz, 34 (2), 613-626.
- Handemir E, Öncel T, Kamburgil K, 2004. İstanbul sokak köpeklerinde visseral leishmaniasis seroprevalansı. Türkiye Parazitoloj Derg, 28(3), 123-125.
- İça A, 2004. Köpeklerde leishmaniasis. Erciyes Üniv Vet Fak Derg, 1(2), 119-124.
- İça A, İnci A, Yıldırım A, Atalay Ö, et al., 2008. Kayseri ve civarında köpeklerde leishmaniasisin Nested-PCR ile araştırılması. Türkiye Parazitoloj Derg, 32 (3), 187-191.
- Kamburgil K, Dik B, 1998. Köpeklerde visseral leishmaniasisin Indirect Fluoresan Antikor Test (IFAT) ile tespiti. Türkiye Parazitoloj Derg, 22(4), 348-53.
- Maia C, Campino L, 2018. Biomarkers associated with *Leishmania infantum* exposure, infection, and disease in dogs. Front. Cell. Infect. Microbiol, 8, 1-18.
- Mohebbali M, Hajjaran H, Hamzavi Y, Mobedi I, et al., 2005. Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniasis in the Islamic Republic of Iran. Vet Parasitol, 129(3-4), 243-51.
- Özbel Y, 2013. The infections transmitted by sand flies in Turkey. Ankara Üniv Vet Fak Derg 60, 225-228.
- Polat E, Bilgin Z, Yakar H, Altaş K, et al., 2003. İstanbul'da sahihsiz ve sahipli köpeklerde iç organlar leiyşmanyazının serolojik sonuçlarının değerlendirilmesi. 13.Ulusal Parazitoloji Kongresi Özet Kitabı, Konya, p.159.
- Pozio E, Gradoni L, Bettini S, Gramiccia M, 1981. Leishmaniasis in Tuscany (Italy). VI. Canine leishmaniasis in the focus of Monte Argentario (Grosseto). Acta Trop, 38, 383-393.
- Reithinger R, Quinnell RJ, Alexander B, Davies CR, 2002. Rapid detection of *Leishmania infantum* infection in dogs: comparative study using on immunochromatographic dipstick test, enzyme-linked immunosorbent assay, and PCR. J Clin Microbiol, 40, 2352-6.
- Sideris VI, Karagouni F, Papadoupoulou G, Garifallou A, et al., 1996. Canine visceral leishmaniasis in thew great Athensarea Greece. Parasite, 3, 125-130.
- Solano-Gallego L, Morell P, Arboix M, Alberola J, et al., 2001. Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. J Clin Microbiol, 39(2), 560-3.
- Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, Cardoso L, et al., 2009. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis. Vet Parasitology, 165, 1-18.
- Solano-Gallego L, Roura X, Baneth G, 2016. Leishmaniasis, In: Arthropod-borne infectious diseases of the dog and cat, Ed; Day MJ, 2nd Edit. CRC Press Taylor & Francis Group: Boca Raton, pp;125-140.
- Sönmez Tamer G, Polat E, Özensoy Töz S, Altaş K, 2008. Kocaeli sokak köpeklerinde visseral leishmaniasis seroprevalansı. Türkiye Parazitoloj Derg, 32 (3), 183-186.
- Tok H, Sev N, Töz SÖ, Ertabaklar H, et al., 2009. Çanakkale ili Ayvack bölgesinde zoonotik visseral leishmaniasisin serolojik ve entomolojik olarak araştırılması. Türkiye Parazitoloj Derg, 3, 109 - 113.