**T.C**

**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İÇ HASTALIKLARI (VETERİNER)**

**YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**VİH-2020-0003**

**CANİNE VİSCERAL LEİSHMANİASİS’İN FARKLI EVRELERİNDE D-DİMER/FİBRİNOJEN ORANININ ARAŞTIRILMASI**

**Burak ANTAKYALIOĞLU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Kerem URAL**

**AYDIN-2020**

# **KABUL VE ONAY SAYFASI**

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Yüksek Lisana Programı çerçevesindeBurak ANTAKYALIOĞLUtarafından hazırlanan “**Canine Visceral Leishmaniasis’in farklı evrelerinde D-dimer/fibrinojen oranının araştırılması**” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 16.07.2020

Üye (T.D.): Prof.Dr. Kerem URAL, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye : Prof.Dr. Serdar PAŞA. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye : Doç.Dr. Hasan ERDOĞAN Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Adnan AYAN Van Yüzüncüyıl Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Canberk BALIKÇI Urfa Harran Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünü ………… tarih ve ………………………………sayılı oturumunda alınan ……………………………….nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

 Enstitü Müdürü

**TEŞEKKÜR**

Tez çalışmamda; ilgi, bilgi ve yardımını her daim yoğun şekilde gösteren danışmanım Prof. Dr. Kerem URAL’ a

Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda yardım ve desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Serdar PAŞA, Doç. Dr. Hasan ERDOĞAN ile Doç. Dr. Mehmet GÜLTEKİN’e

Çalışmada elde edilen verilerin istatistik analizlerinin yapılmasında yardımlarından dolayı Doç.Dr. Deniz ALIÇ URAL’a

 Bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan aileme, eşime ve dostlarıma,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**İÇİNDEKİLER**

# Y

[KABUL VE ONAY SAYFASI…………………………………………….…………………..i](#_Toc39451700)

[TEŞEKKÜR………………………………………………………………..……………….....ii](#_Toc39451701)

[SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ………………………………………...………...v](#_Toc39451705)i

[ŞEKİLLER DİZİNİ…………..…………………………………………………………..….viii](#_Toc39451702)

[TABLOLAR DİZİNİ…………..………………………………………………………….…..ix](#_Toc39451704)

[ÖZET………………………….…………………………………………………………..…...x](#_Toc39451706)

[ABSTRACT……………………………………………………………………….……….…xi](#_Toc39451707) 1. [GİRİŞ………………………………………………………………………………………..1](#_Toc39451708)

[2. GENEL BİLGİLER……..…………………...……………………………………………...3](#_Toc39451709)

2.1. Etiyoloji…...…………………………………………………………………………...….6

[3. GEREÇ VE YÖNTEM………..………………………………………………………..…...7](#_Toc39451752)

[3.1. Hayvan Materyali..………………………………………………………………………..7](#_Toc39451753)

[3.2. Hayvan Muayene ve Gruplandırma Protokolü………………………………….………...7](#_Toc39451754)

[3.3. Değerlendirme Protokolleri.................................................................................................8](#_Toc39451755)

[3.3.1. İndirekt Florasan Antikor Testi (IFAT)...………...…...…………………………..…….8](#_Toc39451756)

[3.3.1.1. Leishmania IgG IFAT için gerekli malzeme ve solüsyonların hazırlanması 8](#_Toc39451757)

[3.3.1.2. Testin yapılışı 8](#_Toc39451758)

[3.3.1.3. Sonuçların yorumlanması…………………....………………………………………..9](#_Toc39451759)

3.3.2. D-Dimer (Finecare FIA Meter)…………….….....….…...……………………………..9

3.3.2.1. Kullanım amacı……...…………………………....…………………………………..9

3.3.2.2. Prensipler…………………………………………...……….…………….………....10

3.3.2.3. Önlemler………………………..…...………………………………………………..10

3.3.2.4. Malzeme……………………………………….………………………………..……11

3.3.2.4.1. Sağlanan malzeme……………………….…………..…….……………………….11

3.3.2.4.2. Gerekli fakat sağlanamamış malzeme…...…………………….………………...…11

3.3.2.5. Örnek toplama ve hazırlama…….………………...……………...………………….12

3.3.2.5.1. Damardan toplanan kan için………………………………………...……………..12

3.3.2.5.2. Plazma için…………………...……………………………………….……………12

3.3.2.6. Test prosedürü…………..…………………….……………..……………………….13

3.3.2.7. Kalite kontrol…………………….….……………………………………...………..13

3.3.2.8. Prosedür sınırlamaları………………………………………………..……………....14

3.3.2.9. Performans özellikleri………...…………………………………..……………….....15

3.3.2.9.1. Doğruluk……….……………………...………...…………………………………15

3.3.2.9.2. Doğrusallık………………………..………………………………………………..15

3.3.2.9.3. Hassasiyet……………………………………………………………….………….15

[3.3.3. Evrelemeye Yönelik Laboratuvar Muayeneler………………………………..……….15](#_Toc39451760)

[3.3.3.1. Hematolojik muayeneler ile IFAT analizleri](#_Toc39451761) 16

[3.3.3.1.1. Flöresan Immunoassay (FIA) analiz prensibi 17](#_Toc39451762)

[3.3.3.1.2. Test prosedürü 17](#_Toc39451763)

[3.3.3.2. Serum biyokimyasal analizler 17](#_Toc39451764)

[3.3.3.3. İdrar analizleri 17](#_Toc39451765)

3.4. İstatiksel Değerlendirme….………….…………………………………………….…….18

[4. BULGULAR……….………………………………………………………………………19](#_Toc39451800)

4.1. Olgulara Ait Demografik Bulgular….………...…………………………………………19

4.2. Klinik Bulgular……………………….………………………………………………….20

4.3. Laboratuvar Bulguları…………...…….…………………………………………………29

4.3.1. Hematolojik Analizler………………..…………..…………………………………….21

4.3.1.1. İFAT analizleri………………….……......…………………………………………..21

4.3.1.2. Hematolojik (tam kan sayımı) verileri...…...….……………………………………..21

4.3.1.3. Serum biyokimyasal bulgular………………...…...…………………………………22

4.3.2. İdrar Analizleri…………………………………..……………………………………..23

4.3.3. D-dimer/Fibrinojen Oranları…………………………………………………………...24

5. TARTIŞMA……….………………………..……………...………………………………25

6. SONUÇ VE ÖNERİLER………………………………….……………………….……...30

[KAYNAKLAR…….…………………………………………………………………………3](#_Toc39451802)1

[EK……………………………………………………………………………………...……..](#_Toc39451803)47

[ÖZGEÇMİŞ………….……………………………………………………………………….](#_Toc39451804)48

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

**CanL** : Köpek leishmaniasis

**CVL** : Canine viseral leishmaniasis

**DPP** : Çift yol platformu

**DIC** : Dissemine intra vasküler koagülopati

**EDTA** : Etilendiamin tetra asetik asit

**ELISA** : Enzime bağlı immünosorbent test

**FeLV** : Feline lösemi virüsü

**FIV** : Feline immunodefciency virus

**HCT** : Hematokrit

**HGB**  : Hemoglobin

**IFAT** : İmmünofloresan antikor testi

**IgG** : İmmunoglobulin G

**IRIS** : Uluslararası Nefroloji Derneği

**İPK** : İdrarda protein/kreatinin oranı

**MPS** : Mononükleer fagosit sistemi

**NO** : Nitrik oksit

**PBS** : Fosfat tamponlu salin

**PCR**  : Polimeraz zincir reaksiyon

**PLT**  : Trombosit

**PT** : Protrombin zamanı

**Qpcr** : Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu

**RBC** : Eritrosit

**VL** : Viseral leishmaniasis

**WBC**  : Lökosit

**YDPB** : Yaygın damariçi pıhtılaşma bozukluğu

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

**Şekil 1.**

# **TABLOLAR DİZİNİ**

**Tablo 1.** Çalışmadaki köpeklerin gruplandırılması……………………………………..……13

**Tablo 2.** Projede izlenilen laboratuvar yöntemleri………………………………………..…23

**Tablo 3.** Tez kapsamındaki olguların demografik bilgileri…………………………….…….26

**Tablo 4.** Hasta gruplardaki belirtilen klinik bulguları gösteren olgu sayısı..……..……….28

**Tablo 5.** Çalışma gruplarının hematolojik verilerinin istatistiksel verileri…………………..29

**Tablo 6.** Proje kapsamındaki CVL ile enfekte köpeklerin belirlenen biyokimya değerleri…30

**Tablo 7.** D-dimer/Fibrinojen oranları…….…………………………………………………..51

**özet**

**CANİNE VİSCERAL LEİSHMANİASİS’İN FARKLI EVRELERİNDE**

**D-DİMER/FİBRİNOJEN ORANININ ARAŞTIRILMASI**

**ANTAKYALIOĞLU B. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları (Veteriner) Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2020.**

Araştırmanın hayvan materyalini 40’sı *L. infantum* ile doğal enfekte (önceden herhangi bir sağaltım uygulaması yapılmamış), 10’u da sağlıklı olmak üzere toplam 50 köpek oluşturdu. Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Küçük Hayvan Kliniği’ne CVL ile uyumlu klinik bulgulardan bir ya da birkaçını gösteren olgulardan arasından seçilenler çalışmaya dahil edildi. Klinik bulgular temelinde VL şüpheli tanısı konulan köpeklerde kan örneğinde hızlı ELISA prensibiyle çalışan test kiti pozitifliği ile CVL tanısı kesinleştirilerek sadece *L. infantum* ile mono-enfekte köpekler çalışmaya dahil edildi. VL’li köpekler, “LeishVet Çalışma Grubu”nun serolojik, klinik ve laboratuvar bulgular temelinde önerdiği evreleme dikkate alınarak 4 farklı gruptan (her grupta n=10) birinde değerlendirildi. Sağlıklı kontrol grubu (V. grup), kliniğe aşı veya genel rutin kontrol amacıyla getirilen, klinik ve laboratuvar değerlendirilmelerinde herhangi bir anormallik saptanmayan her iki cinsiyetten ve VL’li gruplarına benzer yaş aralığındaki köpeklerden (n=10) oluşturuldu. Hastalığın evrelendirilmesine yönelik laboratuvar muayeneler; anti-Leishmania antikor titresi, serum biyokimyasal analizleri (serum total protein, albumin ve kreatinin konsantrasyonu), idrarda protein/kreatinin konsantrasyonları (oranı) hesaplanarak belirlendi. Diğer yandan çalışmanın ana amacı olarak sitratlı kan örneklerinde fibrinojen ve D-dimer konsantrasyonları bekletilmeksizin ölçüldü. D-dimer (ng/ml)/ Fibrinojen (mg/dl) oranları açısından sağlıklı kontrol gurubu ile (0,6  0,1) ile sırası ile evre I-IV grupları arasında (3.4  1.4, 5.9  2.9, 14.4  4.9,23.6  4.9) evre arttıkça oranların farklılaştığı ve arttığı dikkat çekti. Özellike evre III ve IV CVL’le enfekte köpeklerde diğer gruplara oranla belirgin farklılık mevcuttu (p= 0.000)

**Anahtar sözcükler :** D-dimer/Fibrinojen oranı, Kanin Visceral Leishmania, köpek

**ABSTRACT**

**Interpretation of D-Dimer/Fibrinogen ratio in Different Stages of Canine Visceral Leishmaniasis**

**Antakyalıoğlu B. Aydın Adnan Menderes University Institute of Health Sciences Internal Diseases Program, Master Thesis, Aydin, 2020.**

The animal material of the study consisted of a total of 50 dogs, 40 of which were naturally infected with *L. infantum* (without any previous treatment) and 10 were healthy. To those of selected among the cases which presented one or more of the clinical findings compatible with CVL to Adnan Menderes University Veterinary Faculty Internal Diseases Small Animal Clinic were included in the study. In dogs diagnosed with VL suspects on the basis of clinical findings, CVL diagnosis was confirmed by the test kit positivity, which works with the fast ELISA principle in the blood sample, and only monoinfected dogs with L. infantum were included in the study. Dogs with VL were evaluated in one of 4 different groups (n = 10 in each group) considering the staging proposed by the LeishVet Study Group based on serological, clinical and laboratory findings. The healthy control group (group V) was made up of both sexes and dogs in the age range (n = 10) that were brought to the clinic for vaccination or general routine control, without any abnormalities in clinical and laboratory evaluations. Laboratory examinations for staging the disease; anti-Leishmania antibody titer was determined by calculating serum biochemical analyzes (serum total protein, albumin and creatinine concentration), protein / creatinine concentrations (ratio) in urine. On the other hand, as the main purpose of the study, fibrinogen and D-dimer concentrations were measured in citrated blood samples without waiting. D-dimer (ng / ml) / Fibrinogen (mg / dl) ratios between healthy control group (0.6  0.1) and stage I\_IV groups respectively (3.4 arasında 1.4, 5.9  2.9, 14.4  4.9, 23.6  4.9), as the stage increased, the rates differed and increased. There was a significant difference compared to other groups in dogs infected with especially stage III and IV CVL (p = 0.000).

**Key words :**D-dimer/Fibrinogen ratio, Canine Visceral Leishmaniasis, dog

**1.GİRİŞ**

 Deneysel olarak *Leishmania infantum* ile enfekte olmuş köpeklerde hemostatik değişiklikler meglumin antimonat ile tedavi öncesi ve sonrası incelenmiştir. Trombosit sayısı, kollajen ile indüklenen trombosit agregasyonu, protrombin zamanı, aktive parsiyel tromboplastin zamanı, trombin zamanı, plazma fibrinojen tayini ve serum fibrinojen / fibrin yıkım ürünlerinin konsantrasyonunu içeren hemostatik fonksiyon testleri yapıldı. Enfeksiyon sırasında ve tedavi öncesi orta derecede trombositopeni (P<0 · 00001) kollajen kaynaklı trombosit agregasyonunda azalma (P=0 · 0003), uzun süreli trombin süresi (P=0 · 0117) ve artmış fibrinojen/fibrin yıkım ürünleri gözlenmiştir. Plazma fibrinojen konsantrasyonu, protrombin zamanı ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklara rastlanmamıştır. Hemostatik parametreler tedaviden sonra normal değerlerine döndü. Sonuçlar, Leishmania enfeksiyonunun, yayılan intravasküler pıhtılaşmanın indüksiyonunu düşündüren hemostazı bozabileceğini ve köpeklerin enfeksiyonun erken bir aşamasında tedavi edilmesinin, telafi edilmemiş bir intravasküler pıhtılaşma geliştirme olasılığını önleyebileceğini göstermektedir.

 Kronikleştiğinde, mortaliyeti yükseltebilen bir hastalık olan leishmaniasis, gerek insan, gerekse köpeğide içine alacal şekildefarklı birçok memelinin protozoal bir hastalığıdır (Gönül ve ark, 2002; Ashutosh ve ark, 2007). Son sözü edilen protozoon memeli konakçısında hücre içi zorunlu bir etmen olarak iç organlarda veya deride tutulum yapabilen özelliktedir. (Turgay ve ark, 2006; Ashutosh ve ark, 2007).

 Canine Viseral Leishmaniasis’li (CVL) köpeklerde hemostatik anormalliklerin değerlendirildiği bazı deneysel ve klinik çalışmalar (Moreno ve ark, 1998; Valladares ve ark, 1998; Moreno, 1999; Juttner ve ark, 2001; Corona ve ark, 2004; Pelagalli ve ark, 2004; Ciaramella ve ark, 2005; Petanides ve ark, 2008) literatürde yerini almıştır. Anılan çalışmalarda epistaksis ve benzeri klinik bulgulardan yola çıkılarak koagülasyon profili değerlendirilmiş ve anlamlı değişiklikler saptanmasına karşın, hiçbirisinde CVL’de klinik evrelendirme yapılmamış, D-dimer konsantrasyonları değerlendirilmemiştir. Geçtiğimiz sene literatürde yerini alan yalnızca Leishmaniasis’li bir olguda evrelendirme yapılmaksızın hızlı kalitatif Latex testi ile D-dimer analizi yapılmış ve pozitif sonuç belirlenmiştir. Ancak anılan olguda kalitatif tayin nedeniyle titrasyon ya da kantitatif bir değer verilememiştir (Honse ve ark, 2013). Söz konusu çalışmalarda spontan kanama ya da kanama temayülünde artışa neden olarak trombositopeni, trombositopati ya da uzamış bukkal mukoza kanama zamanı gösterilmiştir (Moreno ve ark, 1998; Valladares ve ark, 1998; Juttner ve ark, 2001; Corona ve ark, 2004). CVL’in oluşturduğu koagülasyon bozuklukları çok önemli olmakla birlikte, hastalığın gidişatı, klinik bulguların varlığı yada yokluğu ve dönemiyle ilişkili olarak oluşan yaygın damar içi pıhtılaşma bozukluğu (YDPB) her zaman belirlenemeyebilmekte, dolayısıyla gözden kaçmaktadır. Bu bağlamda YDPB’na ilişkin lezyonların ya da laboratuvar bulgularının her her daim belirlenememesi nedeniyle enfekte hayvanlarda kanama temayülünün ortaya konulabilmesi ile trombozise zemin hazırlayan koagülasyon artışını saptamak amacıyla aktive edilmiş parsiyel tromboplastin süresi, protrombin süresi ya da fibrinojen tayininin yanı sıra ilave, daha da güvenilir analizlere ihtiyaç duyulmaktadır (Zabala ve ark, 2005). *L. infantum* ile enfekte köpeklerde trombozis ya da tromboemboli geliştiğine dair çalışmalar liteartürde (Font ve ark, 1993; Ciaramella ve ark, 1997; 2004; Garcia-Sancho ve ark, 2010; Koutinas AF ve Kountinas CK, 2014) yer alsa da, anılan çalışmalarda CVL’de evrelendirme söz konusu olmaksızın ve D-dimer analizleri gerçekleştirilmeksizin tanı konulmuştur.

 Yukarıda da sözü edildiği üzere daha önce CVL’nin farklı evrelerindeki köpeklerde D-dimer düzeyinin değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanılmamış olması konunun orjinalliğini ve önemini göstermektedir. Amacımız ile uyumlu olarak olgularda konvensiyonel koagülasyon parametrelerinin yanı sıra D-dimer seviyelerinin belirlenecek olması, konuya ilişkin önceden yapılan sınırlı çalışmaların ötesinde YDPB’nun potansiyel bir belirteci olarak da tanının desteklenmesini, belki de ileride oluşturulacak sağaltım protokollerinin değişimini sağlayacaktır. Bu kapsamda güncel bir parametre olarak D-dimer/fibrinojen oranındaki değişikliklerin belirlenmesi ile gerek ulusal gerekse uluslararası bilimsel kaynak niteliği taşıyacak bir esere dönüşebilecektir.

**2. GENEL Bilgiler**

 Köpek leishmaniasis (CanL), *Leishmania infantum*'un neden olduğu vektörel kaynaklı bir hastalıktır ve esas olarak hayvanlar arasında ve ikincil olarak insanlara dişi flebotom kum sinekleri yoluyla bulaşır. Enfeksiyonun seyri, uygun tedavi ve tedavi kabul edilmezse, spontan tedaviden ölüme yol açan akut evrilmeye kadar bireysel bir köpekten diğerine farklılık gösterebilir. Parazitolojik bir tedavi nadiren elde edilir ve CanL'de klinik nüksler sık görülür. Topikal insektisitlerin kullanımı ile ilişkili aşılama şüphesiz hastalığın önlenmesi ve kontrolünün en etkili şeklidir. Literatürün en önemli bilimsel bilgisini tek bir objektif yayına entegre etmek için CanL'ın ana noktalarına kısa bir bakış sunulmaktadır.

 Leishmaniasis, Leishmania cinsi protozoon parazitlerinin memeli konakçılarının mononükleer fagosit sistemini işgaliyle üretilen bir grup hastalıktır. Öncelikli olarak Lutzomyia (NewWorld) ve Phlebotomus (OldWorld) cinsine ait dişi flebotomin kum sineklerinin hematopago aktiviteleri ile bulaşır (World Health Organization, 2010; Alvar ve ark, 2012). Herhangi bir zamanda yaklaşık 12 milyon insana Leishmania bulaşmıştır (Alvar ve ark, 2012). İnsanlar dahil yaklaşık 70 memeli türü, dünyadaki farklı Leishmania türlerinin omurgalı konakçıları olarak kabul edilir ve bazıları doğadaki parazit rezervuarlarıdır (World Health Organization, 2010). Kemirgenlerde (Caldart ve ark, 2017; Tsakmakidis ve Doas, 2017) ve kanidelerde (Salib ve Oumeish, 1999; De Almeida Curi ve ark, 2006; Dantas-Torres, 2007; Figueiredo ve ark, 2008; Souza ve ark, 2010; Roque ve Jansen, 2014) doğal enfeksiyon daha yaygın olmakla birlikte, parazit xenarthra (Lainson ve ark, 1989; De Araújo ve ark, 2013), hyrax (Talmi-Frank, 2010), marsupial (Montoya ve ark, 2016), yarasa (De Lima ve ark, 2008; De Castro Ferreira ve ark, 2017; Rezende ve ark, 2017), lagomorf (Molina ve ark, 2012; García ve ark, 2014; Jiménez ve ark, 2014; Tsokana, 2016), rakunlar (Lainson ve ark, 1989; Lainson, 2010), felideler (Maroli ve ark, 2007; da Silva ve ark, 2010; Dahroug, 2010; Dahroug ve ark, 2011), tek toynaklılar (Aguilar ve ark, 1989; Soares ve ark, 2013) ve primatlar (Lainson ve ark, 1989; Malta ve ark, 2010) enfekte olabilir. Her birey tarafından oynanan rolün kesin belirlenememesi iletim döngüsünde hala bir zorluktur. Bu protozoanlar, kendi kendini iyileştiren CL’den, şiddetli yaygın viseral leishmaniasise (VL) kadar çok çeşitli klinik formlara neden olmaktadır (Dumonteil ve ark, 2003). Hastalığın tanınmış klinik formları arasında, kala-azar veya VL, tedavi edilmezse neredeyse her zaman ölümcül olduğu için en şiddetli ve ilerleyici formdur. Hindistan yarımadasında ve Doğu Afrika'da VL insanlar arasında (yani antroponotik) bulaşır. Dünyanın geri kalanında, özellikle Çin, Orta Asya, Orta Doğu, Transkafkasya, Akdeniz ve Orta ve Güney Amerika'nın dağlık bölgelerinde VL bir zoonozdur; yani hayvanlar arasında bulaşır ve ikincil olarak insanlara bulaşır (Costa, 2011). *Leishmania infantum*, insanlar ve köpekler için potansiyel olarak ölümcül büyük bir küresel zoonoz olan CanL’in ana etiyolojik ajanı olarak tanımlanmıştır (Gramiccia ve Gradoni, 2005) ve dünyanın en önemli ortaya çıkan hastalıklarından biridir (World Health Organization, 2010).

 Tunus'ta CanL'nin keşfinden bu yana (Nicolle ve Comte, 1908), köpek VL'nin etiyolojik ajanının büyük bir rezervuarı olarak görülmekte ve iletiminde önemli bir rol oynamaktadır (Ribeiro ve ark, 2013). Yengeç yiyen tilki *Cerdocyon thous* ve opossum *Didelphis spp.* ile diğer enfekte olmuş memelilerin, iletimde epidemiyolojik bir rol oynadığından şüphelenilmektedir, ancak bu konakların rezervuar olarak itirafı ve iletim döngüsü üzerindeki etkileri bilinmemektedir (Lainson ve ark, 1987; Courtenay ve ark, 2002; Dantas-Torres, 2007). Yeleli kurtlar (*Chrysocyon brachyurus*) ve çalı köpekleri (*Speothos venaticus*) klinik işaretlerin yokluğunda bile kum sinekleri vektörlerine bulaşıcı olabilir, ancak bu bulguların epidemiyolojik önemi henüz belirlenmemiştir (Luppi ve ark, 2008; Malta ve ark, 2010; Mol ve ark, 2015). Evcil kedilerin (*Felis catus*) *L. infantum* enfeksiyonuna yatkınlığı, klinik sonuçları ve parazitin yaşam döngüsünün sürdürülmesindeki önemi tam olarak anlaşılamamıştır (Maia ve Campino, 2011). Retrovirüsler [Feline Immunodefciency Virus (FIV) ve Feline Lösemi Virüsü (FeLV)] gibi immünosüpresif olaylar yoksa, kedilerdeki bağışıklık tepkisinin enfeksiyonu kontrol etmek ve belirli bir direnç derecesi vermek için yeterince etkili olduğu görülmektedir (Solano-Gallego ve ark, 2007) kanser, otoimmün hastalık ve diğerleri gibi. Enfekte olmuş vahşi evcil kediler *L. infantum*'un yetkin vektörlerine bulaşıcı olabilir, bu konakçıların tesadüfi konakçılar olarak ve ikincil veya alternatif rezervuarlar olarak konfirme edilmesi daha fazla çalışma gerektirir (Maia ve Campino, 2011). Var olduğu tahmin edilen 800'den fazla flebotom kum sineği türü içinde yaklaşık 98 tür şu anda kanıtlanmış veya şüpheli leishmaniasis vektörleridir (Maroli ve ark, 2013). Diğer vektör kaynaklı hastalıklarda olduğu gibi, bulaşma dişilerin bir grup yumurta geliştirmek için ihtiyaç duyduğu kan yemeklerinde ortaya çıkar. Parazit, bir memeli konakçı ve böcek vektörleri arasında değişen bir digenetik yaşam döngüsüne sahiptir. Kısacası ve literatüre göre, bir kum sineği ile enfekte olmuş bir konağı ısırdığında, aynı zamanda yuvarlak ve hareketsiz amastigot formları ile enfekte olmuş makrofajları da yutar. Onda, parazitler amastigottan promastigot aşamasına, sonrada flagellalı promastigota dönüşür ve enfekte olmuş kum sineği vektörünün ön bağırsak ve ağız kısımlarına (farinks, cibarium ve hortum) göç eder. Daha sonra, bu yumurtaların kan yemekleriyle beslendiği ve omurgasız döngüsünün sonuçlandığı diğer yeni konakçılara bulaşabilir. Enfeksiyöz promastigot formları vektörün hortumu ile konağın derisine aşılandığında, makrofajlar tarafından fagositize edilir. Daha sonra, ruptur oluşana kadar makrofajlarda eşeysiz ve sürekli üreme yapan amastigot formuna dönüşür. Çoğunlukla mononükleer fagositleri istila ederek yayılan parazitler (Bates, 2007; Dantas-Torres, 2007; Dostálová ve Volf, 2012; Gharbi ve ark, 2015; Kaszak ve ark, 2015; Ayele ve Seyoum, 2016; Reguera, 2016) dalak, karaciğer, kemik iliği, lenf nodu ve diğer dokularda yayılır.İlginç bir şekilde, flebotom varlığının kanıtlanmadığı yerlerde otokton VL vakalarının olduğu söylense de, birkaç çalışma, hastalığın yayılması ve sürdürülmesinde epidemiyolojik anlamlılığa sahip olabilen özellikle cinsel (zührevi) ve transplasental (dikey) iletimde CanL'deki geleneksel olmayan iletim yollarının potansiyel etkisini açıkça göstermiştir özellikle biyolojik böcek vektörünün yokluğunda (Svobodova ve ark, 2017). Leishmania'nın cinsel ve transplasental bulaşımı farelerde (Rosypal ve Lindsay, 2005), insanlarda (Symmers, 1960; Meinecke, 1999; Pagliano, 2005; Boemhe ve ark, 2006; Zinchuk ve Nadraga, 2010) ve köpeklerde (Riera ve Valladers, 1996; Rosypal ve ark, 2005; Silva ve ark, 2009; Naucke ve Lorenz, 2012; Ben Silimane ve ark, 2014) bildirilmiştir. VL ile ilişkili genital lezyonlar köpeklerde iyi belgelenmiştir (Diniz ve ark, 2005; Silva ve ark, 2008; Carvalho ve ark, 2017) ve köpeklerde cinsel bulaşmanın enfekte olmuş erkekten duyarlı bir dişiye daha etkili olma eğiliminde olduğu görülmektedir (Turchetti ve ark, 2014). *Leishmania sp.* ölü doğmuş veya yeni doğmuş yavrulardan (Gibson-Corley ve ark, 2008; Freeman ve ark, 2010; Boggiatto, 2011), semptomatik veya asemptomatik doğal olarak enfekte olmuş dişilerden (Masucci ve ark, 2003), nekrotizan plasentit ve kürtaj (Dubey ve ark, 2005) veya plasentadaki herhangi bir brüt veya mikroskobik değişiklikler (Pangrazio, 2009) saptanmıştır. Bu çalışmalarla birlikte CanL'nin dikey olarak iletildiği fikrini güçlü bir şekilde desteklemektedir. Kan nakli sırasında enfeksiyon (Owens ve ark, 2001) veya enfekte olmuş donörlerden (De Freitas ve ark, 2006; Tabar ve ark, 2008) türevler, organ nakli (Ma ve ark, 1979; Antinori, 2008) ve kontamine iğnelerin (Morillas-Marquez ve ark, 2002) paylaşılması gibi diğer bulaşma biçimleri çoğunlukla köpeklerde ve insan konaklarındadır. Ayrıca, şüpheli bir bulaşma şekli, parazitin yaralar veya köpek ısırıkları ile doğrudan köpek-köpek yoluyla bulaşmasıdır (Karkamo ve ark, 2014; Naucke ve ark, 2016). Keneler veya pire gibi diğer kanla beslenen eklembacaklıların bazen CanL'ın bu alternatif vektörlerin varlığıyla ilişkisine dayanan leishmania'yı ilettiğinden şüphelenilmektedir (Paz ve ark, 2010; de Oliveira, 2015). Hastalığın bulaşma döngüsünde bu ektoparazitlerin rolü hakkında definitif bir sonuç olmamasına rağmen (Baneth, 2014; de Oliveira, 2015), köpeklerin pire, keneler ve sivrisineklere karşı önlenmesi ve tedavisi önerilmektedir (Franc ve ark, 2012).

 Canine Visceral Leishmaniasis'te hematüri, epistaksis ve/veya hemorajik bozukluklara ilave hemostatik durum değişiklikleri bildirilmiştir (Ciaramella ve Corona, 2003). CVL trombositopati, koagülasyon profilinde değişiklikler, trombositopeni ve artmış fibrinojen/ fibrin yıkım ürünleri gibi bulgularla seyredebilmektedir. Elde edilen önceki bulgular anılan hastalığın etmeninin primer hemostatik değişikliklerle, koagülasyon ve fibrinolizi değiştirebildiğini isopatlamıştır (Font ve ark, 1993; 1994; Moreno, 1999). CVL’li ondört köpekte gerçekleştirilen araştırmada klinik tablo ile ilişkide olmadan trombosit agregasyonunda değişiklikler belirlenmiştir (Ciaramella ve ark., 2002). İlgili çalışmanın amacı *Leishmania infantum* ile doğal enfekte köpeklerde platelet fonksiyonu ve sekonder hemostazın klinik tabloya eş zamanlı değişken klinik tutulumu incelyerek bu protozoer sendromun hemostatik bozukluklarla ilişkisini araştırmaktır.

**2.1. Etiyoloji**

 Leishmania bifazik parazitler etmenler olarak, yaşam siklusunu iki değişik konakçıda tamamlamaktadır. Omurgalıda hücre içi amastigot formu olarak bulunurken, kum sineklerinde ekstraselüler flagellası bulunan promastigot formu bulunur. Eski Dünya vektörleri olarak Phlebotomus genusuna ait kum sinekleri, yeni Dünya vektörleri Lutzomyia genusuna ait kum sinekleridir (Solano–Gallego ve ark, 2016). Kum sineklerinin ısırmaları ile doğal olarak *L. İnfantum*’ un bulaşması görülürken vertikal bulaşmada uterustan yavruya etkenlerin geçişi söz konusudur ayrıca cinsel temas yolu ile (veneral bulaşma) bulaşmada bildirilmiştir. Hastalığın vektörlerinin bulunmadığı alanlardaki bazı enfeksiyonlarda hematofagöz vektör katılımı olmadan direkt bulaşma olabileceği yönünde şüpheli durumlar vardır. Kuzey Amerika' daki köpeklerde enfekte kan transfüzyonu sonucu *L. İnfantum*’ un bulaştığı ve İspanya' da kullanılmış enjektör paylaşımı sonucu insanlarda (Resim 1) bulaşma olduğu bildirilmiştir (Solano–Gallego ve ark, 2016).

**3. GEREÇ VE YÖNTEM**

**3.1. Hayvan Materyali**

Araştırmanın hayvan materyalini kırk tanesi doğal yolla oluşan *L. infantum* etmeni ile enfekte (evveliyatında herhangi bir medikal girişimde bulunulmamış), 10’u ise fiziksel muayane altında hastalık belirlenmediğinden sağlıklı olarak değerlendirilen toplam 50 köpek oluşturdu. Enfekte köpekler, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Küçük Hayvan Kliniği’ne CVL ile uyumlu klinik bulgulardan bir ya da birkaçını gösteren olgulardan seçildi.

**3.2. Hayvan Muayene ve Gruplandırma Protokolü**

Teşhise yönelik olarak a) klinik bulgular, b) lenf yumrusu aspiratında amastigot görülmesi ve/veya kan örneğinde hızlı ELISA prensibiyle çalışan test kiti (Snap Leishmania, Idexx, USA) pozitifliği (Feroglio ve ark, 2007; Athanasiou ve ark, 2014), c) triyaj [diğer vektörlerle nakledilen *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrellia burgdorferri, Ehrlichia canis* ve *Dirofilaria immitis gibi* ko-morbidite nedenlerinin hızlı testler ile ekarte edilmesi gibi tüm unsurları içerdi. Yalnızca CVL’li olgular, LeishVet Çalışma Grubu’nun serolojik, klinik ve laboratuvar bulgular temelinde önerdiği evreleme (Tablo 1; Solano-Gallego ve ark, 2011) dikkate alınarak 4 farklı grupta (her grupta n=7) yer aldı. Bu bağlamda;

**Tablo 1.** Çalışmadaki köpeklerin gruplandırılması

|  |  |
| --- | --- |
| I. grup | CVL’in I. evresindeki olgular (hafif) |
| II. grup | CVL’in II. evresindeki olgular (orta şiddetli) |
| III. grup | CVL’nin III. evresindeki olgular (şiddetli) |
| IV. grup | CVL’nin IV. evresindeki olgular (çok şiddetli)  |
| V. grup | Sağlıklı kontrol |

 Sağlıklı kontrol grubu (V. grup), kliniğe aşı veya sağlık kontrolu amacıyla getirilen, klinik ve laboratuvar değerlendirilmelerinde herhangi bir anormallik saptanmayan her iki cinsiyetten ve viseral leishmaniasisli (VL) gruplarına benzer yaş aralığındaki köpeklerden (n=7) oluşturulacaktır. VL tanısı konulan köpeklerde hastalığın evresinin belirlenmesi amacıyla klinik ve laboratuvar muayeneler gerçekleştirilecektir. Klinik muayenede; hastalığın evrelemesinde dikkate alınan klinik bulgular (Tablo 2) kaydedilecektir.

**3.3. Değerlendirme Protokolleri**

**3.3.1. Indirekt Floresan Antikor Testi (IFAT)**

**3.3.1.1. Leishmania IgG IFAT için gerekli malzeme ve solüsyonların hazırlanması:**

Tüm aşamalar Prof. Dr. Kerem Ural yöneticiliğinde tamamlanan doktora (Canberk Balıkçı) ve yüksek lisans (Serkan Özkan) tezlerine benzer şekilde metodoloji ile gerçekleştirildi. İlgili tezlere ve metodolijye ulusal tez merkezinden ulaşılabilmektedir.

**3.3.1.2 Testin yapılışı:**

Tüm aşamalar Prof. Dr. Kerem Ural yöneticiliğinde tamamlanan doktora (Canberk Balıkçı) ve yüksek lisans (Serkan Özkan) tezlerine benzer şekilde metodoloji ile gerçekleştirildi. İlgili tezlere ve metodolijye ulusal tez merkezinden ulaşılabilmektedir.

**3.3.1.3. Sonuçların yorumlanması**

 Parlak sarı yeşil floresans [pozitif], soluk/hiç sarı yeşil floresans görülmemesi [negatif] değerlendirildi. Fluoresans veren en yüksek serum dilüsyonu, ilgili numuneye ait antikor titresi olarak yorumlandı. Immuno floresan antikor titresi 1/64 ve üzeri olan serum örnekleri CVL açısından pozitif olarak kabul edildi (Abranches ve ark, 1991; Özensöy Töz ve ark, 2005).

**3.3.2. D-Dimer (Finecare FIA Meter)**

**3.3.2.1. Kullanım amacı**

İnsan tam kanında veya plazmasında D-dimer'in kantitatif ölçümü için bir floresans immünoassaydir. Finecare ™ FIA Metre ile birlikte Finecare ™ D-dimer Hızlı Kantitatif Testi,

-Flüoresans immünoassay

-Tromboz ve trombotik hastalıklar.

[in vitro diagnostik kullanım/sadece profesyonel kullanım içindir.]















**3.3.3.** **Evrelemeye yönelik laboratuvar muayeneler**

 Evrelemeye yönelik laboratuvar muayeneler; serolojik, hematolojik ve biyokimyasal değerlendirmeleri kapsamaktaydı. Bu amaçla tüm olgulardan kan ve idrar örnekleri alındı. Projede izlenilen laboratuvar yöntemlerine ait yöntem/cihaz bilgileri tablo 2’de gösterildi.

**Tablo 2.** Projede izlenilen laboratuvar yöntemleri.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Örnek**  | **Parametre/Ölçüm** | **Yöntem/Cihaz**  |
| **EDTA’lı tam kan** | Tam kan sayımı  | Coulter-Abacus Junior Vet  |
| **Serum** | Anti-*Leishmania* antikor titresi  | IFAT/ticari test kiti |
| Total Protein  | Samsung Lab Geo PT10 |
| Albumin | Samsung Lab Geo PT10 |
| Kreatinin  | Samsung Lab Geo PT10 |
| **İdrar** | Protein | Kolorimetrik |
| Kreatinin | Kolorimetrik |
| **Kan**  | D-dimer | Wondfo Finecare Flörasan İmmunoassay |
|  | Fibrinojen | Healvet Koagülometre |

**3.3.3.1.** **Hematolojik muayeneler ile IFAT analizleri**

Her olguda *Vena cephalica antebrachii’den* alınan örneklerde serum çıkartılarak IFAT analizi (Paltrinieri ve ark, 2010; Solano–Gallego ve ark, 2011) sayesinde anti-Leishmania antikor titresi belirlendi. İki buçuk mL Etilendiamin tetra asetik asitli (EDTA) numunelerde tam kan sayımı, otomatik kan sayım cihazı (Abacus Junior) yardımı ile belirlendi. Lökosit (WBC), eritrosit (RBC) sayıları ile hematokrit (HCT), hemoglobin (HGB) değerler ile trombosit (PLT) sayısı saptandı.

**3.3.3.1.1** **Flöresan Immunoassay (FIA) Analiz Prensibi**

**3.3.3.1.2** **Test Prosedürü**

FinecareTM FIA Meter oda sıcaklığında önceki tez içeriklerine benzer metodoloji ile

D-dimer analizlerinin gerçekleştirilmesine olanak sağladı.

**3.3.3.2. Serum biyokimyasal analizler**

Beş ml antikoagulantsız tüplere alınan kan örnekleri santrifuje edilerek serumları çıkartıldı ve viseral leishmaniasisin evrelemesine ilişkin biyokimyasal analizlerin (serum total protein, albumin ve kreatinin konsantrasyonu) ölçümü otomatik immunoassay analizatör (Samsung Lab Geo PT10) yardımıyla gerçekleştirildi.

**3.3.3.3. İdrar analizleri**

Beş ml civarında spontan (gönüllü) idrar numunelerinde total protein ve kreatinin konsantrasyonları ölçülerek, idrar protein/kreatinin oranı hesaplandı. İdrar örnekleri bekletilmeksizin soğuk zincirde günlük olarak ilgili laboratuvara nakledildi.

**3.4. İstatistiksel Değerlendirme**

Gruplarda örneklemle ilişkili olarak hematolojik ve serum biyokimyasal parametrelerinin aritmetik ortalaması (α), standart sapması (s) ve minimal-maksimal değerleri (Xmin-Xmax) hesaplandı. Sayısal verilerin dağılımı Kolmogorov–Smirnov veya Shapiro-Wilk testi kullanılarak analiz edildi. Normal dağılım şekillenmeyen parametreler nonparametrik metotlarla irdelendi. İkiden fazla grupta parametrelerin karşılaştırılmasında Kruskall-Wallis testi, post-hoc karşılaştırmalar eşleştirilmiş metot kullanılarak gerçekleştirildi.

**4. BULGULAR**

**4.1 Olgulara Ait Demografik Bulgular**

CVL tanısı konulan köpeklere ait hematoloji ile biyokimyasal bazlı demografik bilgiler Tablo 3’te gösterildi.

**Tablo 3.** Tez kapsamındaki olguların demografik bilgileri

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Evre** | **Olgu** | **Cinsiyet** | **Irk** | **Yaş (Yıl)** |
| **I** | 1 | D | Alman Çoban | 3 |
| 2 | D | Melez | 2 |
| 3 | D | S. Huskey | 4 |
| 4 | E | Doberman | 4 |
| 5 | E | Melez | 1 |
| 6 | D | Labrador Retriever | 5 |
| 7 | D | Melez | 6 |
|  |  |  |  |  |
| **II** | 1 | D | Golden retriever | 4 |
| 2 | E | English mastiff | 3 |
| 3 | E | Kangal | 1 |
| 4 | E | Buldog | 3 |
| 5 | D | Doberman | 3 |
| 6 | D | Melez | 5 |
| 7 | E | Pug | 7 |
| **III** | 1 | D | Dogo Argentino | 4 |
| 2 | E | Kangal | 2 |
| 3 | E | Pomeranian | 2 |
| 4 | E | Airdale terrier | 8 |
| 5 | D | Boxer | 6 |
| 6 | E | Melez | 9 |
| 7 | D | İngiliz cocker | 2/+ |
| **IV (sağlıklı, CVL negatif)** | 1 | D | Melez | 2 |
| 2 | E | Cocker spaniel | 5 |
| 3 | D | Melez | 5 |
| 4 | E | Melez | 6 |
| 5 | D | Pekinez | 9 |
| 6 | E | Boston terrier | 3 |
| 7 | E | Kangal | 3 |

E= Erkek, D= Dişi

**4.2 Klinik Bulgular**

 CVL ile enfekte hasta olguların grupları (I., II., III., ve IV. grup) ise yine aynı parametrelere göre evrelendirilerek klinik ve laboratuvar bulguları değerlendirilmiştir. Tez çalışmasında kontrol grubu (V.) (n=7) klinik ve laboratuvar analizler baz alınarak ilgili biyobelirteçleri ve klinik muayenesinde sorun belirlenemeyen tamamen sağlıklı görünümde olgulardan oluşturuldu. Sağlıklı kontrol grubunda (V. grup) herhangi bir klinik bulguya rastlanılmazken hasta gruplarda ise rastlanılan klinik bulgular Tablo 4’te özetlenmiştir.

**Tablo 4.** Hasta gruplardaki belirtilen klinik bulguları gösteren olgu sayısı

|  |  |
| --- | --- |
| **Klinik bulgular** | **Gruplar** |
| **I. grup** | **II.grup** | **III. grup** | **IV. grup** | **V. grup** |
|  |  |  |  |  |  |
| **Deri lezyonları** | 5 | 5 | 7 | 7 | 0 |
| **Lenfodenopati** | 7 | 7 | 7 | 7 | 0 |
| **Kilo kaybı** | 3 | 5 | 7 | 7 | 0 |
| **Onikogripozis** | 2 | 3 | 3 | 4 | 0 |
| **Hipotrikozis**  | 7 | 7 | 7 | 7 | 0 |
| **Perioküler Alopesi** | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| **Epistaksis** | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| **Yüksek vücut sıcaklığı** | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 |

İlgili klinik bulgular yukarıda tablo 4’de belirtildi.

**4.3 Laboratuvar Bulguları**

**4.3.1. Hematolojik analizler**

**4.3.1.1 İFAT bulguları**

 Çalışmadaki gruplar oluşturulurken klinik bulgular eşliğinde olgularda Leishmaniasis’e karşı üretilen antikor titresi dikkate alındı. Söz konusu bu laboratuvar verileri Tablo 4.3’de, IFAT analiz Çalışmanın V. grubundaki olgularda Leishmaniasise karşı ait üretilen herhangi bir Ig G antikor titresine rastlanılmamıştır. Çalışmanın I. grubundaki olguların IFAT değerleri 1/64 iken, II. ve III. gruptaki olguların IFAT değerleri 1/128-1/512 arasında değişim göstermekteydi. IV. gruptaki olguların IFAT değerleri 1/1204 ile 1/16000 arasında titrasyon basamaklarına sahipti.

**4.3.1.2. Hematolojik (Tam kan sayımı) Veriler**

 Çalışma bünyesindeki gruplara ait olguların hematolojik verileri ile tanımlayıcı istatistikleri tablo 5’te özetlenmiştir.

**Tablo 5.** Çalışma gruplarının hematolojik verilerinin istatistiksel verileri

|  |  |
| --- | --- |
|  | **Gruplar** |
| **Veri** | **I** | **II** | **III** | **IV** | **V** |
| **WBC** | 9.7-16.1 | 10.6-27.2 | 6.2-45 |  6.3-20.7 |  5.2-9.3 |
| **RBC** | 5.1-6.9 | 4.1-9.2 | 3.7-5.2 | 3.95-6.1 | 6.2-7.9 |
| **HGB** | .3-15.1 | 7.2-16.6 | 7.1-13.3 |  8.2-12.6 | 2.0-17.1 |
| **HCT** | 29.4-40.2 | 26.4-50.2 | 22.4-38.0 | 20.1-30.2 | 39.9-42.2 |

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **PLT** |  **200-578** |  **66-517** | **105-309** | **-417** | **44-506** |

WBC: Lökosit, RBC: Eritrosit, HGB: Hemoglobin, HCT: Hematokrit, MCV: Eritrosit ortalama hacmi, MCHC: Eritrositdeki ortalama hemoglobin hacmi, PLT: Trombosit

Elde edilen hematolojik bulguların çalışma kapsamında yalnızca tanısal anlamda değeri bulunduğundan, tezin ana hedefine yönelik veri kapsamadığından yalnızca analizler yapılıp, istatistiksel analize tabi tutulmamıştır.

**4.2.1.3 Serum biyokimyasal bulgular**

CVL ile infekte köpeklerde evrelendirmeye yönelik olarak gerçekleştirilen serum biyokimyasal analizlerden albümin, total protein ve kreatinin analizlerine ait bulgular tablo 6’ da gösterildi. Elde edilen biyokimyasal bulguların çalışma kapsamında yalnızca tanısal anlamda değeri bulunduğundan, tezin ana hedefine yönelik veri kapsamadığından yalnızca analizler yapılıp, istatistiksel analize tabi tutulmamıştır.

**Tablo 6.** Proje kapsamındaki CVL ile enfekte köpeklerin belirlenen biyokimya değerleri

|  |  |
| --- | --- |
|  | **Gruplar** |
| **Veri** | **I** | **II** | **III** | **IV** | **V** |
| **ALB** | 2-2.54 | 1.66-2.84 | 1.6-2.51 | 1.1-2.0 | 2.4-3.0 |
| **CREA** | 0.6-1.2 | 0.44-1.3 | 0.76-2.8 | 0.9-4.1 | 0.3-1.4 |
| **TP** | 3.29-6.1 | 5.1-5.8 | 2.3-7.6 | 5.8-9.0 | 3.6-5.8 |

ALB: Albumin, CREA: Kreatinin, TP: Total protein

**4.3.2. İdrar analizleri**

 Kontrol grubu sağlıklı olgularda idrarda protein/kreatinin oranı (İPK) değerlerinin tüm olgularda üst referans aralık olan 0,1’in altında olduğu saptanmıştır. İPK değerlerinin çalışmanın I. grubundaki olgularda <0,1-0,3, II. grubunda 0,5-1, III. grupta 2-3, IV. grubunda 5-10 arasında değişim göstermekte olduğu saptanmıştır.

**4.3.3. D-dimer/Fibrinojen oranları**

Çalışmamızın ana hedefi doğrultusunda ilgili ananlizler tablo 7’de gösterildi.

**Tablo 7.** D-dimer/Fibrinojen oranları

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grup | D-dimer (ng/ml)($´$  SE) | Fibrinojen (mg/dl)($´$  SE) | D-dimer/Fibrinojen oranı($´$  SE) |
| Sağlıklı (n=10) | 100 .0a(100) | 224,2  43,3(119 – 502,1) | 0,6  0,1a(0,2 – 0,8) |
| LeishmaniasisEvre I (n=10) | 833,3  285,9a(100 – 2700) | 261,5  37,9(115,9 – 454, 6) | 3,4  1,4(0,3 – 14,3) |
| LeishmaniasisEvre II (n=10) | 1144,4  292,6(100 – 2600) | 427,2  80,9(96,5 – 762,9) | 5,9  2,9(0,2 – 26,9) |
| LeishmaniasisEvre III (n=10) | 3688,9  1060,3b(200 – 10000) | 368,4  67,9(129,2 – 720,3) | 14,4  4,9b(0,4 – 47,7) |
| LeishmaniasisEvre IV (n=10) | 5500  997,2b(700 – 10000) | 260,5  36,6(162,2 – 530) | 23,6  4,9b(2,9 – 46,3) |
| *P* değeri | **0.000** | **0.138** | **0.000** |

$´$ : ortalama, SE: standart hata

a,b:Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen değerler istatistiksel anlamlı farklıdır (p<0,01)

**5.Tartışma**

 Güncel literatür varlığında farklı atıf dizinleri irdelendiğinde, Leishvet grup raporları da dahil, CVL’de koagülasyon bozukluklarından dem vuran, D-dimer/fibrinojen oranlarını değerlendiren herhangi bir çalışma saptanmaması, gerçekleştirmeyi düşündüğümüz bu tez projesini başlangıçta daha da önemli kılmıştır.

 CVL etmeni olan protozoon makrofajların içerisinde çoğalarak kronik inflamasyonla seyretmektedir (Blavier ve ark, 2001). CVL’ li köpeklerde bu kronisite kalp damar dolaşım sistemi, pıhtılaşma bozuklukları da dahil vital birçok organ/sistemi etkilemektedir (Torrent ve ark, 2005). Kronik makrofaj uyarımı, hiperfibrinojemiye yol açabilmektedir. CVL ve benzeri bazı enfeksiyöz durumlarda, önceki bildirimler dikkate alındığında a) aktive makrofajların salgıladığı IL-6, karaciğer bağlantılı olarak b) fibrinojen sentezini yükseltmektedir (Di Minno ve Mancini, 1992). Güncel olarak tıp alanında yapılan çalışmalarda leishmaniasisin pıhtılaşma mekanizmalarına değin oluşagelen değişimlerin noninvaziv metodoloji ile açıklığa kavuşturulmasına ihtiyaç duyulmakta, lakin etik kaygılarla oldukça kısıtlı çalışma ortaya çıkmaktadır. VL gerek insan gerekse köpeklerde aynı etmence açığa çıkan benzer hastalık ile klinik semptomlara neden olduğundan, bu yönü ile VL’li bireylerde gereçekleştirilecek araştırmalara rol model olarak köpekler yarar sağlayabilir (Hommel ve ark, 1995). Başlangıç temelli hedeflerden birisi yine öncelikli olarak bu tez çalışmasında çıkarımların gerek veteriner hekimlik alanında gerekse tıp hekimliği alanında arkadan gereçekleştirilecek araştırmalara ışık tutacağı ve yol göstereceği kanaatidir.

 Epistaksis, hematüri ve hemorajik enterit gibi hemostatik bozukluklar leishmaniasiste rapor edilmiştir (Ciaramealla ve ark, 2003). Bu çalışmada epistaksis ise sadece IV. gruptaki 2 olguda mevcuttu. Trombositopati/trombositopeni, yükselmiş fibrinojen/fibrin yıkımlanma ürünleri leishmania enfeksiyonunda saptanmıştır. Son sözü edilen bulgular literatür dahilinde VL etmeninin primer hemostaz, koagülasyon ve fibrinolizisi değiştirdiğini göstermektedir. (Font ve ark, 1994; Moreno, 1999). Ondört adet CVL’li köpekte klinik tablodan bağımsız olarak trombosit agregasyonunun bozulduğu saptanmıştır (Ciaramella ve ark, 2002). Hemostasisteki etki karışıktır. Hemostazdaki farklılaşma CVL’li köpeklerde hastalığın iyi bilinen klinik polimorfizmin nedeniyle hemen saptanmayabilir. Anılan değişikliklerin kliniko-patolojisi konusunda az veri mevcuttur. İnsanlarda VL’de nekrotizan vaskulitis, renal/ hepatik hasar ve immun kaynaklı bozukluklarla ilişkilendirilmiştir (Corona ve ark, 2004). Bu tez çalışmasında özellikle evre III ve IV CVL ile infekte köpeklerde D-dimer ve Fibrinojen seviyelerindeki değişim, hastalığın evresi arttıkça pıhtılaşma mekanizmalarının daha da etkilendiğinin göstermektedir.

 Çapraz bağlı fibrin; plazmin ile yıkımlandığında oluşan eşsiz fibrin yıkım ürünlerinden birisi D-dimer’dır. Anılan biyobelirteç; trombin ve plazminin aktifleştiğini göstermektedir. D-dimer analizi güncel olarak yaygın damar içi pıhtılaşma bozuklukları (DIC), tromboemboli gibi durumlarda duyarlı bir testtir. Artmış D-dimer seviyeleri; DIC için özgün olmamakla birlikte tromboemboli, neoplazi, renal/hepatik hasar, kalp yetmezliği, iç kanama belirlenen köpeklerde saptanabilir (Anonim 1).

 Plazmada oluşagelen fibrinolitik aktivitenin önemli bir biyobelirteci olan D-dimer seviyesi farklı klinik tablolarla ilişkide yükselir. D-dimer çapraz bağlı fibrinin, plazmin vasıtası ile enzimatik yıkımına ilişkin yan ürünüdür (Sadosty ve ark, 2001; Wakai ve ark, 2003). Trombüsün ana bileşen unsuru fibrin, pıhtılaşmanın aktivasyonu ile meydana gelir (Wakai ve ark, 2003). Hastalık durumları dışında fibrin oluşumu ve fibrinin plazmin vasıtasıyla yıkımlanması dengededir ki, bu sayede hemostazda ana aktör roldedir (Kroneman ve ark, 1990; Rao ve ark, 1994; Lugovskoy ve ark, 2002). Fibrinin plazminojen tarafından etkileşime alınması, D-dimer'i de içerecek şekilde özgün yıkımlanma belirteçlerinin oluşumuyla sonuçlanır (Marder ve Francis, 1983).

 Çapraz bağlı bazı parçalar içermekte olan D-dimer, a) plazmin aktivasyonu sonrası pıhtıdan salınarak, sirkülasyona katılır, b) fizyolojik yara iyileşme süreci ve kanın pıhtı oluşumunun bir parçası olarak üretilir, c) pıhtılaşma bozulduğunda istem dışı trombozisi göstererek değerli belirteç halini alır (Lee ve Gingsberg, 2001). Tüm bu nedenlerden, derin ven trombozu ya da DİC gelişen durumlarda teşhiste gittikçe önem kazanan biyobelirteçlerdendir (Caldin ve ark, 1998; Monreal, 2003; Nelson ve Andreasen, 2003). Yüksek seviyede duyarlılığa sahip olduğundan, normal D-dimer düzeyi damar içi fibrin oluşumu ve yıkımının varlığı için yüksek negatif prediktiftir (Angstwurm ve ark, 2004). İddialı bir doğruluk seviyesinde tromboembolik hastalığın ekarte edilebilmesine olanak sağlar (Angstwurm ve ark, 2004). Köpeklerde de CVL dışındaki hastalıklarda da D-dimer tespitine dair analizler mevcuttur (Caldin ve ark, 1997; Stokol ve ark, 2000; Griffin ve ark, 2003; Nelson ve Andreasen, 2003).

 D-dimer konsantrasyonu ve plazma seviyesindeki değişimleri, köpeklerde tromboembolik bozukluklar ile DİC’de tanısal manada fark yaratmaktadır (Caldin ve ark, 1997; Stokol ve ark; 2000; Griffin ve ark, 2003; Nelson ve Andersen, 2003). Şiddetli organ ya da sistem bozuklukları olarak köpeklerde, trombeoembolik bozukluklara yönelik erken teşhis antitrombotik medikal uygulamalara olanak sağlayarak mortaliteyi aşağı çekebilir (Monreal, 2003). Köpeklerde tromboembolik değişimlerde ya da DİC’de; D-dimer konsantrasyonlarının analize edildiği beş çalışma görülmüştür (Caldin ve ark, 1998; Lanevschi-Pietersma ve ark, 2003; Nelson ve Andersen, 2003; Hirschberger ve ark, 2004; Dewhusrt ve ark, 2008). Mamafih ilgili araştırmalarda CVL değerlendirme dışında kalmış veyahutta anılan hastalığın varlığı yada yokluğu değerlendirilmemiştir. D-dimer tayininde kullanılan insan monoklonal antikor testlerinin, köpeklerde de D-dimer seviyelerini rahatlıkla belirleyebileceği bildirilmiştir (Caldin ve ark, 1998; Stokol ve ark, 2000; Nelson ve ark, 2003; Grifin, 2004; Hohenhaus, 2005).

 Önceki bir çalışmada, üç köpek grubunda [(i) histopatolojik tromboz kanıtı olmayan kutanöz vasküliti olan köpekler, (ii) histopatolojik tromboz kanıtı olan kutanöz vasküliti olan köpekler ve (iii) eritematöz ciltli ve altta yatan alerjik cilt hastalığı olan kaşıntılı köpekler] D-dimer konsantrasyonları ölçülmüş, tromboz tanısında D-dimer’ın değeri araştırılmıştır; D-dimer test sonuçları <250 ng ⁄ mL'de negatif ve ≥250 ng ⁄ mL'de pozitif olarak rapor edilmiştir. Çalışmaya atopik dermatit ve ⁄ veya kutanöz advers gıda reaksiyonu tanısı almış 10 köpek dahil edilmiş ve D-dimer sonuçları <250 ng ⁄ mL (sekiz köpek) ve 250–500 ng ⁄mL (iki köpek) olarak belirlenmiştir. Kutanöz vaskülit tanılı yirmi altı köpekten, cilt biyopsilerinin ilk sunumu sırasında D-dimer analizi için kan örnekleri toplanmış ve sonuçlar şu şekilde saptanmıştır: geçmişinde kutanöz damar trombüsü bulunan 15 köpeğin D-dimer sonucu >500-1000 ng ⁄ mL (14 köpek) ve >1000 ng / mL (bir köpek), geçmişinde hiçbir bulgu olmayan 11 köpeğin D-dimer değeri <250 ⁄ mL (dört köpek), 250–500 ng ⁄mL (üç köpek) ve >500-1000 ng ⁄ mL (dört köpek) şeklindeydi. Bununla birlikte, geçmişinde trombüs olmayan >500-1000 ng ⁄ mL D-dimerli dört köpekten ikisinde, sonraki 24-48 saat içerisinde nekrotik cilt lezyonları gelişti. Sonuç olarak, D-dimer >500 ng ⁄ mL, kutanöz damar trombozunun mevcut varlığını veya müteakip gelişimini destekleyen güçlü bir kanıttır ve <500 ng ⁄ mL'lik D-dimer, kutanöz damar trombüsü ve nekrotik cilt lezyonlarının yokluğu ile iyi ilişkilidir. Histopatolojik trombüs kanıtı olan hiçbir köpekte yanlış negatif D-dimer yoktu. Bizim çalışmamızda D-dimer (ng / ml)($´$  SE) seviyeleri sırası ile sağlıklı ve enfekte (evre I-IV, yine sırası ile) 100.0,833.3  285.9,1144.4  292.6, 3688.9  1060.3 ve 5500  997.2seviyelerinde tespit edildi. Verev arttıkça D-dimer seviyelerinde artış görülmesi tesadüfi değil, yukarıda açıklanan literatür bilgileri doğrultusunda beklenilen ya da ön görülen bir durumdu. Nitekim evre III ve IV enfekte köpeklerin istatistiksel olarak belirgin şekilde diğer gruplardan daha yüksek D-dimer seviyelerinde olması bunu destekler mahiyette idi.

 Önceden 1 köpekte belirlenen fibrin yıkımlanma ürünlerindeki artış, antithrombin III'ün renal kaybı, hiperkoagülasyon ile fibrinolizisin artışına ilişkilendirilmiştir (Font ve ark, 1993). Yine diğer bir olguda fibrin yıkımlanma ürünlerindeki artış bilinmeyen mekanizmalara bağlı DİC’e yorumlanmıştır (Font ve ark, 1994). Karaciğer hasarı sonrası fibrin yıkımlanma ürünlerinin uzaklaştırılması oranı azalabilir ki , bu durum fibrinojen ve D-dimer seviyelerini etkileyebilir (Center, 1997). Hepatik hasarın, fibrinojen seviyesine etkisinin yetersiz kalması karaciğerin fibrinojeni sentezlemek için sahip olduğu yüksek kapasiteyle ilişkidedir (Center, 1997).

 Pıhtılaşma ve fibrin yıkımının aktivasyonu sırasın ve takiben tüketim koagülopatisine yol açan DIC; tümör, sepsis, travma, enfeksiyon, gibi nedenlerle ilişkide olabilmektedir (Levi, 2005). DIC teşhisinde D-dimer seviyesindeki artma mühim yere sahiptir. D-dimer seviyelerinin tespiti ile PT’de yükselme, trombosit sayısı ve fibrinojen konsantrasyonunun azalması tanıda diğer önemli belirteçlerdir (Taylor ve ark, 2001; Noyan 2012).

 *L. infantum* ile enfekte olmuş köpekler; diğer bazı paraziter invazyona benzer şekilde farklı patogenezislerle DIC oluşumuna sebebiyet verebilmektedir (Honse ve ark, 2013). Koagülasyonun aktive olması ile ardından gelişen fibrin deposu; enfeksiyöz etmene yönelik yayılım ve inflamatuvar cevabı azaltma anlamında konakçı savunmasının bir parçasıdır (Levi ve Ten Cate, 1999). Anılan yanıt yoğun olarak oluşageldiğinde pıhtılaşma tandansı yükselmekte, kanama ile organ disfonksiyonuna ilişkin mikrovasküler trombozis belirginleşmektedir (Opal ve Esmon, 2003). CVL’de epistaksis (Binhazim ve ark, 1992; Moreno ve ark, 1998; Ciaramella ve Corona, 2003; Ciaramella ve ark, 2005), hematüri (Ciaramella ve Corona, 2003; Ciaramella ve ark, 2005), YDPB (Font ve ark, 1994; Moreno, 1999; Valladeres ve ark, 1998) oluşmaktadır. Tüm bu klinik belirtiler, sorumlu protozoer etken olan *Leishmania sp.*’ nin primer ve sekonder hemostazisin yanı sıra fibrinolizisi de etkilediğine delalettir (Honse ve ark, 2013). CVL’ye ilişkin dolaşımdaki fibrin yıkımlanma ürünleri (özellikle de D-dimer), DIC komponenti olabilir (Honse ve ark, 2013). İlaveten CVL’de seviyeleri yükselmiş olan fibrin yıkımlanma ürünleri; antitrombin III’ün renal kayıbına ilişkin şekillenen hiperkoagübilite ve artan fibrinolizis (Font ve ark, 1993) ya da YDPB (Font ve ark, 1994; Valladares ve ark, 1998) ile yakın ilişkidedir. Bu çalışmada her ne kadar DIC ya da tromboemboli gelişimine yönelik özel bir laboratuvar analişzi yapılmasa da elde ettiğimiz sonuçlar bu verilerin anılan iki sendroma yönelik değerlendirme yapılması gerekliliğini göstermektedir. Şöyle ki çalışmamamızda D-dimer/Fibrinojen oranları sağlıklı ve enfekte köpeklerde (evre I-IV arası) sırası ile ($´$  SE) 0.6  0.1,3.4  1.4, 5.9  2.9, 14.4  4.9 ve23.6  4.9 olarak belirlendi. Evre III ile IV enfekte köpeklerde, sağlıklı kontrol ve diğer iki enfekte gruba göre istatistiksel olarak belirgin faklılık görülmesi (p=0.000) hastalığın kronikleştikçe pıhtılaşma bozukluklarının artışı ile ilişkilendirilebilinir. Bu değişimler ileri evre CVL’li olgularda prognoz ve sağaltım faktörlerini etkileyebilir.

**6. Sonuç ve Öneriler**

 CVL’li köpeklerde, özellikle de ileri evrelerde olmak üzere, mümkünse tüm aşamalarda koagülasyon profilinin değerlendirilmesi, D-dimer ve fibrinojen seviyeleri ile D-dimer ve fibrinojen oranlarına bakılarak sağaltıma yön verilmesi gerekliliği söylenebilinir. Yine DİC ve tromboemboli yönünden diğer laboratuvar metodlarına ilave D-dimer analizi yapılarak hemostatik değerlendirmede bulunulması ilave prognostik güç katabilecektir.

**kaynaklar**

**Abranches P, Silva-Pereira MC, Conceicao-Silva FM, Santos-Gomes GM, Janz JG.** Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. *Journal of Parasitology* 1991, 77(4), 557-561.

**Aguilar C. M., Rangel E. F., Garcia L., et al.** Zoonotic cutaneous leishmaniasis due to Leishmania (Viannia) braziliensis associated with domestic animals in Venezuela and Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 1989, 84(1), 19–28.

**Alvar J., Cañavate C., Molina R., Moreno J., Nieto J.** Canine leishmaniasis. *Advances in Parasitology* 2004, 57, 1–88.

**Alvar J., Vélez I. D., Bern C., et al.** Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *Plos One* 2012, 7(5).

**Amusategui I., Sainz A., Rodríguez F., Tesouro M. A.** Distribution and relationships between clinical and biopathological parameters in canine leishmaniasis. *European Journal of Epidemiology* 2003, 18(2), 147–156.

**Angstwurm MW, Reininger AJ, Spannagl M**. D-dimer as marker for microcirculatory failure: correlation with LOD and APACHE II scores. *Thrombosis Research* 2004, 113(6), 9-353.

**Anonim\_1** http://www.cuvs.org/pdf/article-bleeding-disorders-diagnostic-approach.pdf (20.04.2015)

**Antinori S., Cascio A., Parravicini C., Bianchi R., Corbellino M.** Leishmaniasis among organ transplant recipients. *The Lancet Infectious Diseases* 2008, 8(3), 191–199.

**Ashutosh Sander S, Goyal N.** Molecular mechanisms of antimony resistance in Leishmania. *Journal of Medical Microbiology* 2007, 56, 143-153.

**Athanasiou LV, Petanides TA, Chatzis MK, Kasabalis D, Apostolidis KN, Saridomichelakis MN.** Comparison of two commercial rapid in-clinic serological tests for detection of antibodies against Leishmania spp. in dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2014, 26(2), 90-286.

**Ayele A., Seyoum Z.** Review on canine leishmaniasis, etiology, clinical sign, pathogenesis, treatment and control methods. *Global Veterinaria* 2016, 17(4), 343–352.

**Baneth G.** Tick-borne infections of animals and humans: A common ground. *International Journal for Parasitology* 2014, 44(9), 591–596.

**Barbiéri C. L.** Immunology of canine leishmaniasis. *Parasite Immunology* 2006, 28(7), 329–337.

**Barrouin-Melo S. M., Larangeira D. F., Trigo J., Aguiar P. H. P., Dos-Santos W. L. C., Pontes-De-Carvalho L.** Comparison between splenic and lymph node aspirations as sampling methods for the parasitological detection of Leishmania chagasi infection in dogs. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2004, 99(2), 195–197.

**Bates P. A**. Transmission of Leishmania metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. *International Journal for Parasitology* 2007, 37(10), 1097–1106.

**Belo V. S., Struchiner C. J., Werneck G. L., et al.** A systematic review and meta-analysis of the factors associated with Leishmania infantum infection in dogs in Brazil. *Veterinary Parasitology* 2013, 195(1-2), 1–13.

**Ben Slimane T., Chouihi E., Ben Hadj Ahmed S., et al.** An investigation on vertical transmission of *Leishmania infantum* in experimentally infected dogs and assessment of offspring's infectiousness potential by xenodiagnosis. *Veterinary Parasitology* 2014, 206(3-4), 282–286

**Binhazim AA, Chapman WL Jr, Latimer KS, Styles M, Comer K.** Canine leishmaniasis caused by Leishmania leishmania infantum in two Labrador retrievers. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1992, 4(3), 299-305.

**Blavier A, Keroack S, Denerolle P, Goy-Thollot I, Chabanne L, Cadoré JL, Bourdoiseau G.** Atypical forms of canine leishmaniosis. *The Veterinary Journal* 2001, 162(2), 20-108.

**Boggiatto PM, Gibson-Corley KN, Metz K, Gallup JM, Hostetter JM, Mullin K, Petersen CA.** Transplacental Transmission of Leishmania infantum as a Means for Continued Disease Incidence in North America. *PLoS Neglected Tropical Diseases Journal Impact Factor & Information* 2011, 5(4).

**Burillo F. L., Pérez F. M. G., Lieza J. P., Fabián M. C. A., Pérez F. M. G.** Iron status and anemia in canine leishmaniasis. *Revue Médecine Vétérinaire* 1994, 145(3), 171–176.

**Caldart E. T., Freire R. L., Ferreira F. P., et al.** Leishmania in synanthropic rodents (Rattus rattus): New evidence for the urbanization of Leishmania (Leishmania) amazonensis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2017, 26(1), 17–27.

**Caldin, M., Furlanello, T., Berto, D., Lubas, G.** Preliminary investigations of D-dimers concentrations in normal dogs and in dogs with disseminated intravascular coagulation. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 1997, 11, 130.

**Caldin, M., Furlanello, T., Lubas, G.** Sensitivity and specificity of citrated plasma FDPs and D-dimer in the diagnosis of disseminated intravascular coagulation (DIC) in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 1998, 12, 236.

**Carvalho Junior C. G., Teixeira Neto R. G., Lopes V. V., et al.** Parasitism and inflammation in ear skin and in genital tissues of symptomatic and asymptomatic male dogs with visceral leishmaniasis. *Parasitology Research* 2017, 116(3), 987–995.

**Center, S. A.** Fisiopatologia, diagnostico clinicopatologico de los procesos hepatobiliares. In S. J. Ettinger, E. H. Feldman (eds), Tratado de Medicina Interna Veterinaria 4th edition, Intermedica, Philadelphia, 1997, s 1525-1589.

**Ciaramella P, Corona M.** Canine leishmaniasis: clinical and diagnostic aspects. *Compendium on Continuing Education* 2003, 25, 358–369.

**Ciaramella P, Oliva G, Luna RD, Gradoni L, Ambrosio R, Cortese L, Scalone A, Persechino A.** A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by Leishmania infantum. *Veterinary Record* 1997, 141(21), 543-539.

**Ciaramella P, Pelagalli A, Cortese L, Pero ME, Corona M, Lombardi P, Avallone L.** Platelet aggregation response in canine leishmaniasis. *Platelets* 2002, 13, 331.

**Ciaramella P, Pelagalli A, Cortese L, Pero ME, Corona M, Lombardi P, et al.** Altered platelet aggregation and coagulation disorders related to clinical findings in 30 dogs naturally infected by Leishmania infantum. *Veterinary Journal* 2005, 169(3), 465-467.

**Corona M, Ciaramella P, Pelagalli A, et al.** Haemostatic disorders in dogs naturally infected by Leishmania infantum. *Veterinary Research Communications* 2004, 28, 331–334.

**Costa C. H. N.** How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis? A critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. *Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine* 2011, 44(2), 232–242.

**Courtenay O., Carson C., Calvo-Bado L., Garcez L. M., Quinnell R. J.** Heterogeneities in Leishmania infantum infection: using skin parasite burdens to identify highly infectious dogs. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 2014, 8(1).

**Courtenay O., Quinnell R. J., Garcez L. M., Dye C.** Low infectiousness of a wildlife host of Leishmania infantum: The crab-eating fox is not important for transmission. *Parasitology* 2002, 125(5), 407–414.

**Courtenay O., Quinnell R. J., Garcez L. M., Shaw J. J., Dye C.** Infectiousness in a cohort of Brazilian dogs: why culling fails to control visceral leishmaniasis in areas of high transmission. *The Journal of Infectious Diseases* 2002, 186(9), 1314–1320.

**da Silva S. M., Rabelo P. F. B., Gontijo N. D. F., et al.** First report of infection of Lutzomyia longipalpis by Leishmania (Leishmania) infantum from a naturally infected cat of Brazil. *Veterinary Parasitology* 2010, 174(1-2), 150–154.

**Dahroug M. A. A., Almeida A. B. P. F., Sousa V. R. F., et al.**Leishmania (Leishmania) chagasi in captive wild felids in Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2010, 104(1), 73–74.

**Dahroug M. A., Almeida A. B., Sousa V. R., et al.** The first case report of Leishmania (leishmania) chagasi in Panthera leo in Brazil. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2011, 1(3), 249–250.

**Dantas-Torres F.** The role of dogs as reservoirs of Leishmania parasites, with emphasis on Leishmania (Leishmania) infantum and Leishmania (Viannia) braziliensis. *Veterinary Parasitology* 2007, 149(3-4), 139–146.

**De Almeida Curi N. H., Miranda I., Talamoni S. A.** Serologic evidence of Leishmania infection in free-ranging wild and domestic canids around a Brazilian National Park. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2006, 101(1), 99–101.

**De Araújo V. A. L., Boité M. C., Cupolillo E., Jansen A. M., Roque A. L. R.** Mixed infection in the anteater Tamandua tetradactyla (Mammalia: Pilosa) from Pará State, Brazil: Trypanosoma cruzi, T. rangeli and Leishmania infantum. *Parasitology* 2013, 140(4), 455–460.

**De Castro Ferreira E., Pereira A. A. S., Silveira M., et al.** Leishmania (V.) braziliensis infecting bats from Pantanal wetland, Brazil: First records for Platyrrhinus lineatus and Artibeus planirostris. *Acta Tropica* 2017, 172, 217–222.

**De Freitas E, Melo MN, da Costa-Val AP, Michalick MS.** Transmission of Leishmania infantum via blood transfusion in dogs: potential for infection and importance of clinical factors. *Veterinary Parasitology* 2006, 137(1-2), 159-167.

**De Lima H., Rodríguez N., Barrios M. A., Ávila Á., Cañizales I., Gutiérrez S.** Isolation and molecular identification of Leishmania chagasi from a bat (Carollia perspicillata) in northeastern Venezuela. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2008, 103(4), 412–414.

**De Luna R., Ferrante M., Severino L., et al.** Decreased lipid fluidity of the erythrocyte membrane in dogs with leishmaniasis-associated anaemia. *Journal of Comparative Pathology* 2000, 122(2-3), 213–216.

**de Oliveira V. V. G., Alves L. C., da Silva V. A.** Transmission routes of visceral leishmaniasis in mammals. *Ciência Rural* 2015, 45(9), 1622–1628.

**de Vasconcelos T. C. B., Furtado M. C., Belo V. S., Morgado F. N., Figueiredo F. B.** Canine susceptibility to visceral leishmaniasis: A systematic review upon genetic aspects, considering breed factors and immunological concepts. *Infection, Genetics and Evolution* 2017.

**Di Minno G, Mancini M.** Drugs affecting plasma fibrinogen levels. *Cardiovascular Drugs and Therapy* 1992, 6(1), 7-25.

**Diniz S. A., Melo M. S., Borges A. M., et al.** Genital lesions associated with visceral leishmaniasis and shedding of Leishmania sp. in the semen of naturally infected dogs. *Veterinary Pathology* 2005, 42(5), 650–658.

**Dostálová A., Volf P.** Leishmania development in sand flies: Parasite-vector interactions overview. *Parasites & Vectors* 2012.

**Dubey J. P., Rosypal A. C., Pierce V., Scheinberg S. N., Lindsay D. S.** Placentitis associated with leishmaniasis in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2005, 227(8), 1250–1269.

**Dumonteil E., Jesus R.-S. M., Javier E.-O., Del Rosario G.-M. M.** DNA vaccines induce partial protection against Leishmania mexicana. *Vaccine* 2003, 21(17-18), 2170–2177.

**Ferrer L., Rabanal R., Fondevila D., Ramos J. A., Domingo M.** Skin lesions in canine leishmaniasis. *Journal of Small Animal Practice* 1988, 29(6), 381–388.

**Figueiredo F. B., Gremião I. D. F., Pereira S. A., et al.** First report of natural infection of a bush dog (*Speothos venaticus*) with *Leishmania (Leishmania) chagasi* in Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2008, 102(2), 200–201.

**Foglia Manzillo V., Di Muccio T., Cappiello S., et al.** Prospective study on the incidence and progression of clinical signs in naïve dogs naturally infected by Leishmania infantum. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 2013, 7(5).

**Font, A., Closa, J. M., Molina,A. & Mascort, J.** Thrombosis and nephrotic syndrome in a dog with visceral leishmaniasis. *Journal of Small Animal Practice* 1993, 34, 466-470.

**Font, A., Gines, C., Closa, J.M., Mascort, J. Visceral** leishmaniasis and disseminated intravascular coagulation in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1994, 204, 1043–1044.

**Fraga D. B. M., Pacheco L. V., Borja L. S., et al.** The rapid test based on *Leishmania infantum* chimeric rK28 protein improves the diagnosis of canine visceral leishmaniasis by reducing the detection of false-positive dogs. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 2016, 10(1).

**Franc M., Genchi C., Bouhsira E., et al.** Efficacy of dinotefuran, permethrin and pyriproxyfen combination spot-on against Aedes aegypti mosquitoes on dogs. *Veterinary Parasitology* 2012, 189(2-4), 333–337.

**Freeman K. S., Miller M. D., Breitschwerdt E. B., Lappin M. R.** Leishmaniasis in a dog native to Colorado. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2010, 237(11), 1288–1291.

**García N., Moreno I., Alvarez J., et al.** Evidence of Leishmania infantum infection in rabbits (Oryctolagus cuniculus) in a natural area in Madrid, Spain. *BioMed Research International* 2014.

**Gharbi M., Mhadhbi M., Rejeb A., Jaouadi K., Rouatbi M., Darghouth M. A.** Leishmaniosis (Leishmania infantum infection) in dogs. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE* 2015, 34(2), 613–626.

**Giannuzzi A. P., Ricciardi M., De Simone A., Gernone F.** Neurological manifestations in dogs naturally infected by Leishmania infantum: descriptions of 10 cases and a review of the literature. *Journal of Small Animal Practice* 2017, 58(3), 125–138.

**Gibson-Corley K. N., Hostetter J. M., Hostetter S. J., et al.** Disseminated Leishmania infantum infection in two sibling foxhounds due to possible vertical transmission. *Canadian Veterinary Journal* 2008, 49(10), 1005–1008.

**Gönül R, Arun SS, Dodurka T, Handemir E.** Bir köpekte leishmania infantum olgusu. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2002, 26, 689-694.

**Gramiccia M., Gradoni L.** The current status of zoonotic leishmaniases and approaches to disease control. *International Journal for Parasitology* 2005, 35(11-12), 1169–1180.

**Griffin, A., Callan, M. B., Shofer, F. S. & Giger, U.** Evaluation of a canine D-dimer pointof-care test kit for use in samples obtained from dogs with disseminated intravascular coagulation, thromboembolic disease, and hemorrhage. *American Journal of Veterinary Research* 2003, 64, 1562-1569.

**Hirschberger, J., Regal, A., Krieger, S. & Kuchenoff, H.** D-dimers and optimized prothrombin test for diagnosis of DIC in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2004, 18, 440.

**Hohenhaus Ann E.** How good is D-dimer? The North American Veterinary Conference – 2005 Proceedings”, http://www.ivis.org/proceedings/navc/2005/SAE/155.pdf (16.02.2015)

**Hommel M, Jaffe CL, Travi B, Milon G.** Experimental models for leishmaniasis and for testing anti-leishmanial vaccines. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 1995, 1, 55-73.

**Honse CO, Figueiredo FB, de Alencar NX, Madeira Mde F, Gremião ID, Schubach TM.** Disseminated intravascular coagulation in a dog naturally infected by Leishmania (Leishmania) chagasi from Rio de Janeiro - Brazil. *BMC Veterinary Research* 2013, 9, 43.

**Hosein S., Blake D. P., Solano-Gallego L.** Insights on adaptive and innate immunity in canine leishmaniosis. *Parasitology* 2017, 144(1), 95–115.

**Jiménez M., González E., Martín-Martín I., Hernández S., Molina R.** Could wild rabbits (Oryctolagus cuniculus) be reservoirs for Leishmania infantum in the focus of Madrid, Spain? *Veterinary Parasitology* 2014, 202(3-4), 296–300.

**Juttner C, Rodriguez SM, Rollan LE, et al.** Evaluation of the potential causes of epistaxis in dogs with natural visceral leishmaniasis. *Veterinary Record* 2001, 149, 176–179.

**Karkamo V., Kaistinen A., Näreaho A., et al.** The first report of autochthonous non-vector-borne transmission of canine leishmaniosis in the Nordic countries. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2014, 56, 84.

**Kaszak I., Planellas M., Dworecka-Kaszak B.** Canine leishmaniosis-an emerging disease. *Annals of Parasitology* 2015, 61(2), 69–76.

**Kaye P. M., Aebischer T.** Visceral leishmaniasis: Immunology and prospects for a vaccine. *Clinical Microbiology and Infection* 2011, 17(10), 1462–1470.

**Koutinas AF, Koutinas C. K.** Pathologic Mechanisms Underlying the Clinical Findings in Canine Leishmaniosis due to Leishmania infantum/chagasi. *Veterinary Pathology* 2014, 51(2), 527-538.

**Kroneman, H., Nieuwenhuizen, W., Knot E. A. R.** Monoclonal antibody-based plasma assays for fibrinogen and derivatives, and their clinical relevance. *Blood Coagulation & Fibrinolysis* 1990, 1(1), 91-112.

**Lainson R.** The Neotropical Leishmania species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy. *Revista Pan-Amazônica de Saúde* 2010, 1(2).

**Lainson R., Braga R. R., De Souza A. A., Pôvoa M. M., Ishikawa E. A., Silveira F. T.**Leishmania (Viannia) shawi sp. n., a parasite of monkeys, sloths and procyonids in Amazonian Brazil. *Annales de Parasitologie Humaine Et Comparée* 1989, 64(3), 200–207.

**Lainson R., Shaw J. J., Silveira F. T., Braga R. R.** American visceral leishmaniasis: on the origin of *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1987, 81(3), 517.

**Lanevschi-Pietersma, C., Bedard, L. & Kohlbrenner, L.** D-dimer, thrombin-antithrombin complex and fibrinogen degradation product levels measured in dogs with different systemic diseases. *Veterinary Clinical Pathology* 2003, 32, 225.

**Laurenti M. D., Rossi C. N., Matta V. L. R. D., et al.** Asymptomatic dogs are highly competent to transmit Leishmania (Leishmania) infantum chagasi to the natural vector. *Veterinary Parasitology* 2013, 196(3-4), 296–300.

**Lee AY, Ginsberg JS.** Venous Thrombosis of the Upper Extremities. *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine* 2001, 3(3), 207-214.

**Levi M, Ten Cate H.** Disseminated intravascular coagulation. *The New England Journal of Medicine* 1999, 341(8), 92-586.

**Levi M.** Disseminated intravascular coagulation: What's new? *Critical Care Clinics* 2005, 21(3), 67-449.

**Liew F. Y., O'Donnell C. A.** Immunology of leishmaniasis. *Advances in Parasitology* 1993, 32, 161–259.

**Lima W. G., Michalick M. S. M., Melo M. N. D., Tafuri W. L., Tafuri W. L.** Canine visceral leishmaniasis: A histopathological study of lymph nodes. *Acta Tropica* 2004, 92(1), 43–53.

**Lopes E. G., Sevá A. P., Ferreira F., et al.** Serological and molecular diagnostic tests for canine visceral leishmaniasis in Brazilian endemic area: one out of five seronegative dogs are infected. *Epidemiology and Infection* 2017, 1–9.

**Lugovskoy EV, Kolesnikova IN, Gritsenko PG, Zolotareva EN, Gaffney P, Nieuwenhuizen W, Komisarenko SV.** A neoantigenic determinant in the D-dimer fragment of fibrin. *Thrombosis Research* 2002, 107(3-4), 6-151.

**Luppi M. M., Malta M. C. C., Silva T. M. A., et al.** Visceral leishmaniasis in captive wild canids in Brazil. *Veterinary Parasitology* 2008, 155(1-2), 146–151.

**Ma D. D. F., Concannon A. J., Hayes J.** Fatal Leishmaniasis in renal-transplant patient. *The Lancet* 1979, 314(8137), 311–312.

**Maia C., Campino L.** Can domestic cats be considered reservoir hosts of zoonotic leishmaniasis? *Trends in Parasitology* 2011, 27(8), 341–344.

**Malta M. C. C., Tinoco H. P., Xavier M. N., Vieira A. L. S., Costa É. A., Santos R. L.** Naturally acquired visceral leishmaniasis in non-human primates in Brazil. *Veterinary Parasitology* 2010, 169(1-2), 193–197.

**Mancianti F., Gramiccia M., Gradoni L., Pieri S.** Studies on canine leishmaniasis control. Evolution of infection of different clinical forms of canine leishmaniasis following antimonial treatment. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1988, 82(4), 566–567.

**Marder VJ, Francis CW.** Plasmin degradation of cross-linked fibrin. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1983, 408, 397-406.

**Maroli M., Feliciangeli M. D., Bichaud L., Charrel R. N., Gradoni L.** Phlebotomine sand flies and the spreading of leishmaniases and other diseases of public health concern. *Medical and Veterinary Entomology* 2013, 27(2), 123–147.

**Maroli M., Pennisi M. G., Di Muccio T., Khoury C., Gradoni L., Gramiccia M.** Infection of sandflies by a cat naturally infected with Leishmania infantum. *Veterinary Parasitology* 2007, 145(3-4), 357–360.

**Masucci M., De Majo M., Contarino R. B., Borruto G., Vitale F., Pennisi M. G.** Canine leishmaniasis in the newborn puppy. *Veterinary Research Communications* 2003, 27(1), 771–774.

**Meinecke C. K., Schottelius J., Oskam L., Fleischer B.** Congenital transmission of visceral leishmaniasis (Kala Azar) from an asymptomatic mother to her child. *Pediatrics* 1999, 104(5), 65.

**Mol J. P. S., Soave S. A., Turchetti A. P., et al.** Transmissibility of Leishmania infantum from maned wolves (Chrysocyon brachyurus) and bush dogs (Speothos venaticus) to Lutzomyia longipalpis. *Veterinary Parasitology* 2015, 212(3-4), 86–91.

**Molina R., Jiménez M. I., Cruz I., et al.** The hare (Lepus granatensis) as potential sylvatic reservoir of Leishmania infantum in Spain. *Veterinary Parasitology* 2012, 190(1-2), 268–271.

**Monreal L.** Editorial: D-dimer as a new test for the diagnosis of DIC and thromboembolic disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2003, 17, 757-759.

**Montoya A., De Quadros L. P., Mateo M., et al.** Leishmania infantum infection in Bennett's Wallabies (Macropus rufogriseus rufogriseus) in a Spanish wildlife park. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 2016, 47(2), 586–593.

**Moreno P, Lucena R, Ginel PJ.** Evaluation of primary haemostasis in canine leishmaniasis. *Veterinary Record* 1998, 142, 81–83.

**Moreno P.** Evaluation of secondary haemostasis in canine leishmaniasis. *Veterinary Record* 1999, 144, 169–171.

**Morillas-Marquez F., Martin-Sanchez J., Acedo-Sanchez C., Pineda J. A., Macias J., Sanjuan-Garcia J.** Leishmania infantum (Protozoa, Kinetoplastida): Transmission from infected patients to experimental animal under conditions that simulate needle-sharing. *Experimental Parasitology emphasizes* 2002, 100(1), 71–74.

**Naucke T. J., Amelung S., Lorentz S.** First report of transmission of canine leishmaniosis through bite wounds from a naturally infected dog in Germany. *Parasites & Vectors* 2016, 9.

**Naucke T. J., Lorentz S.** First report of venereal and vertical transmission of canine leishmaniosis from naturally infected dogs in Germany. *Parasites & Vectors* 2012, 5.

**Nelson OL, Andreasen C.** The utility of plasma D-dimer to identify thromboembolic disease in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2003, 17, 4-830.

**Nelson, O. L. & Andreasen, C.** The utility of plama D-dimer to identify thromboembolic disease in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2003,17, 830-834.

**Nicolle C., Comte C.** Origine canine du Kala-azar. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* 1908, 1, 299–301.

**Opal SM, Esmon CT.** Bench-to-bedside review: Functional relationships between coagulation and the innate immune response and their respective roles in the pathogenesis of sepsis. *Critical Care* 2003, 7, 23-38.

**Ordeix L., Dalmau A., Osso M., Llull J., Montserrat-Sangrà S., Solano-Gallego L.** Histological and parasitological distinctive findings in clinically-lesioned and normal-looking skin of dogs with different clinical stages of leishmaniosis. *Parasites & Vectors* 2017, 10.

**Owens SD, Oakley DA, Marryott K, Hatchett W, Walton R, Nolan TJ,Newton A, Steurer F, Schantz P, Giger U.** Transmission of visceral leishmaniasis through blood transfusions from infected English foxhounds to anemic dogs*. Journal of the American Veterinary Medical Association* 2001, 219(8), 1076-1083.

**Pagliano P., Carannante N., Rossi M., et al.** Visceral leishmaniasis in pregnancy: A case series and a systematic review of the literature. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2005, 55(2), 229–233.

**Paltrinieri S, Solano-Gallego L, Fondati A, Lubas G, Gradoni L, Castagnaro M, Crotti A, Maroli M, Oliva G, Roura X, Zatelli A, Zini E.** Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2010, 236(11), 91-1184.

**Paltrinieri S., Gradoni L., Roura X., Zatelli A., Zini E.** Laboratory tests for diagnosing and monitoring canine leishmaniasis. *Veterinary Clinical Pathology* 2016, 45(4), 552–578.

**Pangrazio K. K., Costa E. A., Amarilla S. P., et al.** Tissue distribution of Leishmania chagasi and lesions in transplacentally infected fetuses from symptomatic and asymptomatic naturally infected bitches. *Veterinary Parasitology* 2009, 165(3-4), 327–331.

**Paz G. F., Ribeiro M. F. B., de Magalhães D. F., et al.** Association between the prevalence of infestation by Rhipicephalus sanguineus and Ctenocephalides felis felis and the presence of anti-Leishmania antibodies: A case-control study in dogs from a Brazilian endemic area. *Preventive Veterinary Medicine* 2010, 97(2), 131–133.

**Petanides T.A., Koutinas A. F., Mylonakis M. E., Day M. J., Saridomichelakis M. N., Leontides L. S., Mischke R., Diniz P., Breitschwerdt E. P., Kritsepi M., Garipidou V. A., Koutinas C. K. and S. Lekkas.** Factors Associated with the Occurrence of Epistaxis in Natural Canine Leishmaniasis (Leishmania infantum). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2008, 22, 866–872.

**Pietro S. D., Francesca Bosco V. R., Crinò C., Francaviglia F., Giudice E.** Prevalence, type, and prognosis of ocular lesions in shelter and owned-client dogs naturally infected by Leishmania infantum. *Veterinary World* 2016, 9(6), 633–637.

**Proverbio D.** The use of two clinical staging systems of canine leishmaniasis in a clinical setting: a critical evaluation. *Journal of Veterinary Clinical Practice and Petcare* 2016, 1–3.

**Quinnell R. J., Kennedy L. J., Barnes A., et al.** Susceptibility to visceral leishmaniasis in the domestic dog is associated with MHC class II polymorphism. *Immunogenetics* 2003, 55(1), 23–28.

**Rao LV, Zivelin A, Iturbe I, Rapaport SI.** Antibody-induced acute factor X deficiency: clinical manifestations and properties of the antibody. *Thrombosis and Haemostasis* 1994, 72(3), 363-371.

**Reguera R. M., Morán M., Pérez-Pertejo Y., García-Estrada C., Balaña-Fouce R.** Current status on prevention and treatment of canine leishmaniasis. *Veterinary Parasitology* 2016, 227, 98–114.

**Reis A. B., Martins-Filho O. A., Teixeira-Carvalho A., et al.** Parasite density and impaired biochemical/hematological status are associated with severe clinical aspects of canine visceral leishmaniasis. *Research in Veterinary Science* 2006, 81(1), 68–75.

**Rezende M. B., Herrera H. M., Carvalho C. M. E.** Detection of in bats from an area of Brazil endemic for visceral leishmaniasis. *Transboundary and Emerging Diseases* 2017, 64(6).

**Ribeiro R. R., Silva S. M., Fulgêncio G. d., Michalick M. S., Frézard F. J.** Relationship between clinical and pathological signs and severity of canine leishmaniasis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 2013, 22(3), 373–378.

**Riera C., Valladares J. E.** Viable Leishmania infantum in urine and semen in experimentally infected dogs. *Parasitology Today* 1996, 12(10), 412.

**Roque A. L. R., Jansen A. M.** Wild and synanthropic reservoirs of Leishmania species in the Americas. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 2014, 3(3), 251–262.

**Rosypal AC, Troy GC, Zajac AM, Frank G, Lindsay DS.** Transplacental transmission of a North American isolate of Leishmania infantum in an experimentally infected beagle. *Journal of Parasitology* 2005, 91(4), 970-972.

**Rosypal AC., Lindsay D. S.** Non-sand fly transmission of a North American isolate of Leishmania infantum in experimentally infected BALB/c mice. *Journal of Parasitology* 2005, 91(5), 1113–1115.

**Roura X., Fondati A., Lubas G., et al.** Prognosis and monitoring of leishmaniasis in dogs: A working group report. *The Veterinary Journal* 2013, 198(1), 43–47.

**Sanchez-Robert E., Altet L., Sanchez A., Francino O.** Polymorphism of Slc11a1 (Nramp1) gene and canine leishmaniasis in a case-control study. *Journal of Heredity* 2005, 96(7), 755–758.

**Sanchez-Robert E., Altet L., Utzet-Sadurni M., Giger U., Sanchez A., Francino O.** Slc11a1 (formerly Nramp1) and susceptibility to canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Research* 2008, 39.

**Silva F. L., Oliveira RG, Silva TM, Xavier MN, Nascimento EF, Santos RL**. Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Parasitology* 2009, 160(1-2), 55-59.

**Silva F. L., Rodrigues A. A. M., Rego I. O. P., et al.** Genital lesions and distribution of amastigotes in bitches naturally infected with Leishmania chagasi. *Veterinary Parasitology* 2008, 151(1), 86–90.

**Silva R. C., Richini-Pereira V. B., Kikuti M., Marson P. M., Langoni H.** Detection of Leishmania (L.) infantum in stray dogs by molecular techniques with sensitive species-specific primers. *Veterinary Quarterly* 2017, 37(1), 23–30.

**Soares I. R., Silva S. O., Moreira F. M., et al.** First evidence of autochthonous cases of Leishmania (Leishmania) infantum in horse (Equus caballus) in the Americas and mixed infection of Leishmania infantum and Leishmania (Viannia) braziliensis. *Veterinary Parasitology* 2013, 197(3-4), 665–669.

**Solano-Gallego L, Koutinas A., Miró G., et al.** Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology* 2009, 165(1-2), 1–18.

**Solano-Gallego L, Miro G, Koutinas A. F. et al.** LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniasis. *Parasites & Vectors* 2011.

**Solano-Gallego L., Rodriguez-Cortes A., Trotta M., et al.** Detection of Leishmania infantum DNA by fret-based real-time PCR in urine from dogs with natural clinical leishmaniosis. *Veterinary Parasitology* 2007, 147(3-4), 315–319.

**Souza N. P., de Almeida A. D. B. P. F., de Freitas T. P. T., et al.** Leishmania (Leishmania) infantum chagasi in wild canids kept in captivity in the State of Mato Grosso. *Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine* 2010, 43(3), 333–335.

**Stokol T, Brooks MB, Erb HN, Mauldin GE.** D-dimer concentrations in healthy dogs and dogs with disseminated intravascular coagulation. *American Journal of Veterinary Research* 2000, 61(4), 8-393.

**Sundar S., Rai M.** Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2002, 9(5), 951–958.

**Svobodova V., Svoboda M., Friedlaenderova L., Drahotsky P., Bohacova E., Baneth G.** Canine leishmaniosis in three consecutive generations of dogs in Czech Republic. *Veterinary Parasitology* 2017, 237, 122–124.

**Symmers W. S.** Leishmaniasis acquired by contagion: a case of marital infection in Britain. *The Lancet* 1960, 1, 127–132.

**Tabar MD, Roura X, Francino O, Altet L, Ruiz de Gopegui R.** Detection of Leishmania infantum by real-time PCR in a canine blood bank. *Journal of Small Animal Practice* 2008, 49(7), 325-328.

**Tafuri WL, Oliveira MR, Melo MN.** Canine visceral leishmaniosis: a remarkable histopathological picture of one case reported from Brazil. *Veterinary Parasitology* 2001, 96(3), 203-212.

**Talmi-Frank D., Jaffe C. L., Nasereddin A., et al.** Leishmania tropica in rock hyraxes (Procavia capensis) in a focus of human cutaneous leishmaniasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2010, 82(5), 814–818.

**Taylor FB Jr, Toh CH, Hoots WK, et al.** The Scientific Subcommittee on Disseminated Intravascular Coagulation (DIC) of the International Society on Thombosis and Haemostasis (ISTH). Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2001, 86, 1327-1330.

**Torrent E, Leiva M, Segalés J, Franch J, Peña T, Cabrera B, Pastor J.** Myocarditis and generalised vasculitis associated with leishmaniosis in a dog. *Journal of Small Animal Practice* 2005, 46(11), 549-52.

**Tsakmakidis K., Dovas C. I.** Leishmania infection in rodents in Greece. *Tropical Medicine İnternational Health*, 2017, 1523–1532.

**Tsokana C. N., Sokos C., Giannakopoulos A., et al.** First evidence of Leishmania infection in European brown hare (Lepus europaeus) in Greece: GIS analysis and phylogenetic position within the Leishmania spp. *Parasitology Research* 2016, 115(1), 313–321.

**Turchetti A. P., Souza T. D., Paixão T. A., Santos R. L.** Sexual and vertical transmission of visceral leishmaniasis. *The Journal of Infection in Developing Countries* 2014, 8(4), 403–407.

**Turgay N, Bayram Delibaş S, Dirim Erdoğan D, Özbel Y.** Şanlıurfa’da antroponotik kutanöz leishmaniasis hastalarının hücresel immun cevabı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2006, 30(1), 7-10.

**Valladares JE, Ruiz De Gopegui R, Riera C, et al.** Study of haemostatic disorders in experimentally induced leishmaniasis in Beagle dogs Research in *Veterinary Science* 1998, 64, 195–198.

**Wakai A, Gleeson A, Winter D.** Role of fibrin D-dimer testing in emergency medicine. *Emergency Medicine Journal* 2003, 20, 319-325.

**World Health Organization.** Report of the meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases, Control of the leishmaniasis, 2010, Geneva, Switzerland

**Zabala EE, Ramírez OJ, Bermúdez V.** Leishmaniasis visceral em um canino. *Facultad de Ciencias Veterinarias* 2005, 46, 43-50.

**Zinchuk A., Nadraga A.** Congenital visceral leishmaniasis in Ukraine: Case report. *Annals of Tropical Paediatrics* 2010, 30(2), 161–164.

**EKLER**

**ÖZGEÇMİŞ**