

***Dirofilaria immitis* ile enfekte köpeklerde mikrofiler periodisitesinin kantitatif analizi**

Ayşe BURGU¹ Mehmet ŞAHAL² Alparslan YILDIRIM³ Serkal GAZYAĞCI⁴
Ramazan ADANIR⁵ Safa GÜRÇAN⁶

¹Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Helmintoloji Bilim Dalı, Ankara; ²Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara; ³Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri; ⁴Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kırıkkale; ⁵Akdeniz Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Burdur; ⁶Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyometri Anabilim Dalı, Ankara

Özet: *Dirofilaria immitis* ile enfekte köpeklerde, perifer kandaki mikrofiler periodisitesi, trigonometrik metot kullanılarak 4 sayım yöntemine göre analiz edilmiş ve yöntemler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak araştırılmıştır. Enfekte iki köpektten, yirmi dört saat süresince 2 saat aralıklarla kan alınmış, aynı zamanda köpeklerin vücut ısısı ile kalp frekansı ve solunum sayıları kaydedilmiştir. Bu işlemler 2 gün arayla tekrarlanmıştır. İstatistiksel olarak, gözlenen ve teorik olarak beklenen mikrofiler yoğunlukları arasındaki en iyi uyum membran filtrasyon testi ile yapılan sayım sonucu elde edilmiştir. Bu yöntemle her iki köpek için saptanan periodisite indeksi 42.9=45.3, maksimum mikrofiler yoğunluğunun beklenen saati (K) 20.6-21.2 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlarla *D. immitis* enfeksiyonunda mikrofiler periodisitesi geceye yönelik (nokturnal) subperiodik form olarak belirlenmiştir. Aynı zaman dilimlerinde kanda gözlenen mikrofiler yoğunluğu ile kalp frekansı arasında köpek no 1'de $r=0.17$ ($p>0.05$) pozitif yönlü ancak zayıf bir ilişki, köpek no 2'de $r= -0.62$ ($p<0.05$) negatif yönlü kuvvetli sayılabilecek bir ilişki saptanmıştır. Her iki köpekte mikrofiler yoğunluğu ile vücut ısısı, solunum sayıları arasında istatistiksel anlamda önemli bir ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$).

Anahtar kelimeler: *Dirofilaria immitis*, köpek, mikrofiler, periodisite

Quantitative analysis of microfilarial periodicity of *Dirofilaria immitis* in dogs

Summary: Microfilarial periodicity of *Dirofilaria immitis* in the venous blood of infected dogs was analyzed according to four counting methods by using trigonometric model and, the differences among the counting techniques were examined statistically. The blood was collected from infected dogs every 2h during 24h period beginning at 6.00h, at the same time body temperature, pulsation and breathing frequency of dogs were recorded. Procedures explained above were repeated two times. Statistically, the highest correlation between the observed and expected microfilarial densities was determined by the membrane filtration technique. According to this technique, calculated periodicity index was 42.9-45.3 and the estimated hour of peak (K) microfilarial density was ranged from 20.6-21.2h in these two dogs. Thus the periodicity of microfilaria of *D. immitis* was characterized as nocturnally sub-periodic. In the dog no 1, the correlation between the observed microfilarial densities and pulsation at the same time periods was $r=0.17$ ($p>0.05$) and in the dog no 2 was $r= -0.62$ ($p<0.05$). No statistically differences were found ($p>0.05$) among microfilarial densities, body temperature and breathing frequency in both dogs

Key words: *Dirofilaria immitis*, dog, microfilaria, periodicity

Giriş

Dirofilaria immitis, köpeklerde başlıca kalbin sağ ventrikulusu ve pulmoner arterlere yerleşen, önemli sistemik bozukluklara neden olan filarya tipi bir nematodur. Kalpte bulunan olgun dişi parazitler, mikrofilere kan dolaşımına bırakmakta ve mikrofilere yoğunluğu günün farklı zamanlarına göre değişiklik gösterebilmektedir (2, 8). Perifer kandaki mikrofilere yoğunluğunun zaman içindeki basit harmonik bir dalga yapısını takip eden yükseliş ve düşüşler periodisite olarak ifade edilmekte ve mikrofilere yoğunluğunun seyrine göre sub-periodik (Kan dolaşımındaki mikrofilere yoğunluğunun belirli bir düzeyde seyrederken belli zaman dilimlerinde minimum ve maksimum değerlerin gözlemlendiği form), periodik (Perifer kandaki mikrofilere yoğunluğunun çok az veya 0 iken belli zaman diliminde maksimum değere ulaştığı form) ve nonperiodik form (Gün boyunca

mikrofilere yoğunluğunda minimal değişikliğin görüldüğü form); maksimum mikrofilere yoğunluğunun tespit edildiği zaman dilimine (K) göre ise nokturnal (gece saatleri) ve diurnal (gündüz saatleri) form şeklinde sınıflandırılmıştır (1,5,12). Mikrofilere periodisitesinin formunu belirlemek amacıyla, periodisite indeksi (D) ve mikrofilere yoğunluğunun pik saatini (K) ortaya çıkaran matematiksel (12) ve trigonometrik metotlar (1) geliştirilmiştir.

Periodisiteye bağlı olarak hem mikrofilere saptama olasılığı hem de gözlenen mikrofilere yoğunlukları kan örnekleme zamanına göre değişmektedir. Optimal teşhis doğruluğu için örneklemin periyodik pik saatte (K) yapılması gerekmektedir (12).

Bu çalışmada, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Kliniği'nde hospitalize edilen *D. immitis* ile enfekte iki köpekte venöz kandaki mikro-

filer periodisitesinin 4 farklı sayım yöntemi ile saptanması ve yöntemler arasındaki istatistiksel farklılıkların araştırılması, klinik bulgular ile mikrofiler periodisitesi arasındaki ilişkinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Çalışma Ankara'nın Akyurt İlçesi'nden Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'na muayene amacıyla getirilen ve teşhis sonrası burada bırakılan Kangal ırkı 6 yaşında erkek (No 1) ve 6 yaşında dişi (No 2) iki köpekte yürütülmüştür.

Tanı

Her iki köpekten alınan kan örneklerine modifiye Knott ve membran filtrasyon testleri uygulanarak mikrofilerler saptanmış, bunların morfolojik özelliklerine ve asit fosfataz testi ile gösterdikleri reaksiyona göre (7) *D.immitis* mikrofilerleri oldukları belirlenmiştir.

Mikrofiler periodisitesinin saptanması amacı ile kan örneklerinin alınması ve örneklerin kontrolünde kullanılan muayene yöntemleri

Her iki köpekten saat 06.00 dan başlamak üzere 2 saat aralıklarla, yirmi dört saat boyunca v.cephalica antebraçhii'den 2 cc kan heparinli kan tüplerine alınmış, kan alma işlemleri 2 gün arayla tekrarlanmıştır. Alınan kanların 1 ml'sindeki mikrofiler yoğunluğu natif (15), sürme preparat (11), membran filtrasyon (8) ve sayım kamarası (3,10) yöntemleri ile saptanmış, her yöntem

için sayım 3 kez tekrarlanarak ortalaması alınmıştır.

Sayım sonuçlarının analizi

Mikrofiler periodisitesini saptamak amacıyla, aşağıdaki formüllerden yararlanılarak mikrofiler yoğunluklarının analizi yapılmıştır (1,4,12).

$$y^1 = M + a \cos 15^\circ (H - K)$$

$$M = \sum y/n; c = 2 \sum y \sin 15^\circ h/n; K = 1/15 \tan^{-1} c/b; b = 2 \sum y \cos 15^\circ h/n; a = (b^2 + c^2)^{1/2}; D = a/m \times 100$$

Klinik muayene

Venöz kan alma işlemlerinden önce köpeklerin rektal beden ısıları (°C), kalp frekansları (dk.) ve solunum sayıları (dk.) ölçülüp kaydedilmiştir.

İstatistiksel analiz

Çalışmada, uygulanan yöntemlere göre mikrofilerlerin gözlenen ve beklenen yoğunlukları arasındaki farklılık Ki-Kare (χ^2) analizi, mikrofiler yoğunlukları ile beden ısı, solunum sayısı ve kalp frekansı arasındaki ilişki, her iki gözlem günü verilerinin aritmetik ortalaması alınarak Pearson's product-moment korelasyon katsayısı (r) testi ile araştırılmıştır (6).

Bulgular

Her iki köpek için, yöntemlere göre gözlenen ve beklenen mikrofiler yoğunlukları, toplam mikrofiler sayısının ortalama değeri (M), amplitüt (a), ortalama mikrofiler yoğunluğunun pik yaptığı zaman (K) ve periodisite indeksi (D) Tablo 1-8 de sergilenmektedir.

Tablo 1: Zaman dilimlerine göre köpek no 1'de natif yöntem ile saptanan mikrofiler yoğunlukları

Table 1: According to periods, the microfilarial densities detected by direct wet smear technique in dog no 1

Saatler	Gözlem günleri		Toplam	Yüzde(%)	
	I	II		Gözlenen (y)	Beklenen (y ¹)
06.00	16.6	33.3	49.9	46.7	95.1
08.00	50	50	100	93.6	69.1
10.00	66.6	16.6	83.2	77.9	51.4
12.00	16.6	16.6	33.2	31	46.6
14.00	50	33.3	83.3	78	56.3
16.00	33.3	16.6	49.9	46.7	77.6
18.00	50	83.3	133.3	124.7	104.9
20.00	33.3	66.6	99.9	93.5	130.9
22.00	33.3	116.6	149.9	140.2	148.6
24.00	116.6	116.6	233.2	218.2	153.4
02.00	116.6	50	166.6	155.9	143.7
04.00	50	50	100	93.6	122.4
Toplam	632.9	649.5	1282.4	1200	1200

$$M = 100 \quad a = 53.57 \quad K = -0.35 (=23.65h)$$

$$n = 12$$

$$D = 53.57$$

Tablo 2: Zaman dilimlerine göre köpek no 1'de sürme preparat yöntemi ile saptanan mikro-filer yoğunlukları

Table 2: According to periods, the microfilarial densities detected by thin blood smear technique in dog no 1

Saatler	Gözlem günleri		Toplam	Yüzde(%)	
	I	II		Gözlenen (y)	Beklenen (y ¹)
06.00	16.6	16.6	33.2	30.3	79.8
08.00	50	50	100	91.2	56.3
10.00	33.3	33.3	66.6	60.7	44.4
12.00	3.33	16.6	49.9	45.5	47.4
14.00	33.3	50	83.3	76	64.6
16.00	33.3	33.3	66.6	60.7	91.2
18.00	50	83.3	133.3	121.5	120.2
20.00	50	83.3	133.3	121.5	143.7
22.00	50	150	200	182.3	155.6
24.00	100	100	200	182.3	152.6
02.00	66.6	66.6	133.2	121.5	135.4
04.00	66.6	50	116.6	106.3	108.8
Toplam	583	733	1316	1200	1200

M= 100 a = 56.29 K = -1.4 (=22.6h) n = 12 D= 56.29

Tablo 3: Zaman dilimlerine göre köpek no 1'de filtre yöntemi ile saptanan mikro-filer yoğunlukları

Table 3: According to periods, the microfilarial densities detected by membrane filtration technique in dog no 1

Saatler	Gözlem günleri		Toplam	Yüzde(%)	
	I	II		Gözlenen (y)	Beklenen (y ¹)
06.00	33.3	26.6	59.9	51	64.8
08.00	50	50	100	85.1	55.3
10.00	46.6	26.6	73.2	62.3	57.7
12.00	40	26.6	66.6	56.7	71.5
14.00	43.3	56.6	99.9	85.1	92.9
16.00	63.3	96.6	159.9	136.2	116.2
18.00	50	93.3	143.3	122	135.2
20.00	63.3	110	173.3	147.6	144.7
22.00	43.3	130	173.3	147.6	142.3
24.00	60	90	150	127.7	128.5
02.00	63.3	63.3	126.6	107.8	107.1
04.00	43.3	40	83.3	70.9	83.8
Toplam	599.7	809.6	1409.3	1200	1200

M = 100 a = 45.28 K = -3.4 (20.6h) n = 12 D= 45.28

Tablo 4: Zaman dilimlerine göre köpek no 1'de sayım kamarası ile saptanan mikrofiler yoğunlukları

Table 4: According to periods, the microfilarial densities detected by counting chamber technique in dog no 1

Saatler	Gözlem günleri		Toplam	Yüzde(%)	
	I	II		Gözlenen (y)	Beklenen (y ¹)
06.00	0	0	0	0	28.6
08.00	104.2	0	104.2	60	4.2
10.00	0	0	0	0	5.6
12.00	0	0	0	0	32.2
14.00	104.2	104.2	208.4	120	77
16.00	104.2	104.2	208.4	120	128
18.00	104.2	208.3	312.5	180	171.4
20.00	104.2	104.2	208.4	120	195.8
22.00	208.3	208.3	416.6	240	194.4
24.00	208.3	104.2	312.5	180	167.8
02.00	208.3	104.2	312.5	180	123
04.00	0	0	0	0	72
Toplam	1145.9	937.6	2083.5	1200	1200

M = 100 a = 98.5 K = -3.1 (=20.9h) n = 12 D = 98.5

Tablo 5: Zaman dilimlerine göre köpek no 2'de natif yöntem ile saptanan mikrofiler yoğunlukları

Table 5: According to periods, the microfilarial densities detected by direct wet smear technique in dog no 2

Saatler	Gözlem günleri		Toplam	Yüzde(%)	
	I	II		Gözlenen (y)	Beklenen (y ¹)
06.00	33.3	33.3	66.6	20.1	86.7
08.00	200	83.3	283.3	85.4	82.5
10.00	283.3	216.6	499.9	150.6	83
12.00	83.3	133.3	216.6	65.3	88.1
14.00	183.3	150	333.3	100.4	96.3
16.00	150	200	350	105.5	105.5
18.00	100	216.6	316.6	95.4	113.3
20.00	150	133.3	283.3	85.4	117.5
22.00	316.6	133.3	449.9	135.5	117
24.00	300	133.3	433.3	130.5	111.9
02.00	283.3	133.3	416.6	125.5	103.7
04.00	216.6	116.6	333.2	100.4	94.5
Toplam	2299.7	1682.9	3982.6	1200	1200

M = 100 a = 17.84 K = -3.2 (=20.8h) n = 12 D = 17.84

Tablo 6: Zaman dilimlerine göre köpek no 2'de sürme preparat yöntemi ile saptanan mikrofiler yoğunlukları

Table 6: According to periods, the microfilarial densities detected by thin blood smear technique in dog no 2

Saatler	Gözlem günleri		Toplam	Yüzde(%)	
	I	II		Gözlenen (y)	Beklenen (y ¹)
06.00	33.3	33.3	66.6	25.2	95.8
08.00	166.6	133.3	299.9	113.7	85
10.00	150	150	300	113.7	78.3
12.00	66.6	116.6	183.2	69.4	77.3
14.00	83.3	133.3	216.6	82.1	82.5
16.00	50	150	200	75.8	92.3
18.00	116.6	216.6	333.2	126.3	104.2
20.00	83.3	116.6	199.9	75.8	115
22.00	216.6	116.6	333.2	126.3	121.7
24.00	250	150	400	151.6	122.7
02.00	233.3	133.3	366.6	139	117.5
04.00	133.3	133.3	266.6	101.1	107.7
Toplam	1582.9	1582.9	3165.8	1200	1200

M= 100 a = 23.04 K = -0.7 (=23.3h) n = 12 D= 23.04

Tablo 7: Zaman dilimlerine göre köpek no 2'de filtre yöntemi ile saptanan mikrofiler yoğunlukları

Table 7: According to periods, the microfilarial densities detected by membrane filtration technique in dog no 2

Saatler	Gözlem günleri		Toplam	Yüzde(%)	
	I	II		Gözlenen (y)	Beklenen (y ¹)
06.00	56.6	113.2	169.8	49.2	71.3
08.00	150	120	270	78.2	59.2
10.00	106.6	103.3	209.9	60.8	58
12.00	116.6	73.3	189.9	54.9	68.1
14.00	136.6	156.6	293.2	84.9	86.8
16.00	206.6	200	406.6	117.7	108.9
18.00	250	206.6	456.6	132.1	128.7
20.00	230	260	490	141.8	140.8
22.00	226.6	196.6	423.2	122.5	142
24.00	260	236.6	496.6	143.7	131.9
02.00	170	190	410	118.7	113.2
04.00	116.6	213.3	329.9	95.5	91.1
Toplam	2441.4	2186.3	4145.7	1200	1200

M= 100 a = 42.9 K = -2.8 (21.2 h) n=12 D= 42.9

Tablo 8: Zaman dilimlerine göre köpek no 2'de sayım kamarası ile saptanan mikrofilifer yoğunlukları
 Table 8: According to periods, the microfilarial densities detected by counting chamber technique in dog no 2

Saatler	Gözlem günleri		Toplam	Yüzde(%)	
	I	II		Gözlenen (y)	Beklenen (y')
06.00	104.2	0	104.2	17.7	74.3
08.00	416.6	104.2	520.8	88.2	62.8
10.00	312.5	208.3	520.8	88.2	61.2
12.00	208.3	312.5	520.8	88.2	70
14.00	208.3	208.3	416.6	70.6	86.8
16.00	104.2	312.5	416.7	70.6	107.2
18.00	312.5	520.8	833.3	141.2	125.7
20.00	520.8	312.5	833.3	141.2	137.2
22.00	520.8	312.5	833.3	141.2	138.8
24.00	625	208.3	833.3	141.2	130
02.00	625	104.2	729.2	123.5	113.2
04.00	208.3	312.5	520.8	88.2	92.8
Toplam	4166.5	2916.6	7083.1	1200	1200

$$M = 100 \quad a = 39.5 \quad K = -2.7 (=21.3h) \quad n=12 \quad D= 39.5$$

Yöntemlere göre *D.immitis* mikrofiliferlerinin gözlenen ve teorik olarak beklenen yoğunlukları arasındaki istatistiksel farklılıklar Tablo 9 da görülmektedir.

Tablo 9 : *D.immitis* mikrofiliferlerinin gözlenen ve beklenen yoğunlukları için Ki-kare değerleri
 Table 9: Chi-square analyses of observed and expected microfilarial densities of *D.immitis*

Yöntem	Ki-kare (χ^2)	
	Köpek no 1	Köpek no 2
Natif yöntem	122.96	134.59
Sürme preparat yöntemi	85.90	110.45
Filtre yöntemi	30.07	20.70
Sayım kamarası	972.03	89.52

Köpek no 1 ve köpek no 2 için membran filtrasyon testi ile elde edilen sayım neticesinde ortaya çıkan gözlenen ve beklenen mikrofilifer periodisitesi eğrileri Şekil 1-2 de görülmektedir.

Aynı zaman dilimlerinde kanda gözlenen mikrofilifer yoğunluğu ile belirlenen kalp frekansları arasında köpek no 1'de $r = 0.17$ ($p>0.05$) pozitif yönlü ancak zayıf bir ilişki, köpek no 2'de $r = -0.62$ ($p<0.05$) negatif yönlü kuvvetli sayılabilecek bir ilişki saptanmıştır. Her iki köpekte mikrofilifer yoğunluğu ile vücut ısısı (köpek no 1, $r=0.07$; köpek no 2, $r=-0.28$), solunum sayıları (köpek no 1, $r=0.21$; köpek no 2, $r=-0.15$) arasında istatistiksel anlamda önemli bir ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 10,11).

Tartışma ve Sonuç

Filarya tipi nematodlarda, mikrofilifer periodisitesi, enfeksiyonun tanısında, kantitatif epidemiyolojik veya

ilaç etkinliği ile ilgili çalışmalarda kan örnekleme zamanının belirlenmesi açısından oldukça önem arz etmektedir (12). Nitekim mikrofilifer yoğunluğunun minimuma düştüğü zaman dilimlerinde yapılan örnekleme, sözü edilen çalışmalarda yanlış sonuçların alınmasına sebep olabilmektedir. Bu yüzden, filarya tipi nematodlarda bu tip çalışmalara başlanmadan önce, mikrofilifer periodisitesinin ve periyodik pik saatin ortaya çıkarılması daha doğru sonuçlara ulaşılmasına imkan sağlayacaktır.

Sasa ve Tanaka (12), gözlemleri sırasında geliştirdikleri matematiksel metotta, periodisitenin beklenen mikrofilifer yoğunlukları ile ifade edildiğini, doğal olarak şekillenen dalgalar tarzında harmonik bir seyir gösterdiğini ve bu şekilde ifade edilmesi ile daha doğru ve bilimsel sonuçlara ulaşılacağını belirtmişlerdir. Daha sonra Aikat ve Das (1), bu yöntemi modifiye ederek, uygulaması daha basit olan ve mikrofilifer yoğunluğunun pik yaptığı zaman dilimi (K) ile periodisite indeksini (D) ortaya çıkaran, trigonometrik bir metot geliştirmişlerdir. Nitekim, direkt gözlem verilerine göre yapılan periodisite tayininde, düzgün bir eğri ortaya çıkmamakta bu da periodisite formunun ve pik saatin hesaplanmasında yanlış değerlendirmelere yol açabilmektedir. Bu nedenle mikrofilifer periodisitesinin daha doğru değerlendirilmesi açısından çalışmamızda trigonometrik metot tercih edilmiştir.

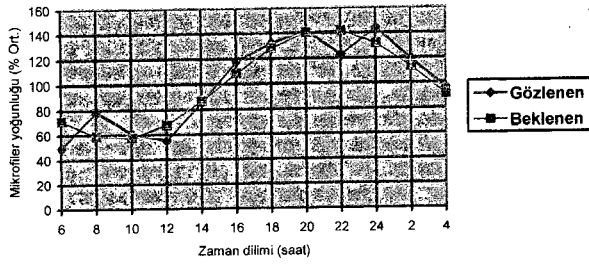
Periodisitenin doğru bir şekilde ifade edilebilmesi, gözlenen ve teorik olarak beklenen mikrofilifer yoğunlukları arasındaki ilişkinin yüksek olmasına bağlıdır. İki veri arasındaki uyumun derecesi çeşitli istatistiksel metotlarla belirlenmektedir (1,4,12). İki değer arasındaki uyumsuzluğun mikrofilifer yoğunluğunun çok düşük olmasından, sayım tekniklerinden veya hesaplama hatalarından ileri gelebileceği kaydedilmektedir (4).

Tablo 10: Zaman dilimlerine göre köpek no 1'de filtre yöntemi ile saptanan mikrofilier yoğunlukları ve klinik muayene bulguları
 Table 10: According to periods, the microfilarial densities detected by membrane filtration technique and clinical examination results in dog no 1

Saatler	Mikrofilier yoğunluğu			Vücut ısısı (C°)			Solunum sayısı (dk)			Kalp frekansı (dk)		
	I	II	Ort	I	II	Ort	I	II	Ort	I	II	Ort
06.00	33.3	26.6	29.9	37.9	38.1	38	20	20	20	80	88	84
08.00	50	50	50	38.3	38.2	38.2	26	24	25	84	88	86
10.00	46.6	26.6	36.6	38.4	38.8	38.6	44	28	36	80	92	86
12.00	40	26.6	33.3	38.3	39.1	38.7	28	24	26	88	96	92
14.00	43.3	56.6	49.9	39.4	38.8	39.1	99	24	61.5	100	84	92
16.00	63.3	96.6	79.9	38.5	39	38.7	112	24	68	92	104	98
18.00	50	93.3	71.6	38.9	38	38.4	44	20	32	100	80	90
20.00	63.3	110	86.6	38.4	38.4	38.4	28	22	25	100	74	87
22.00	43.3	130	86.6	38.6	38.2	38.4	24	28	26	96	72	84
24.00	60	90	75	38.2	38	38.1	26	28	27	100	84	92
02.00	63.3	63.3	63.3	38.6	38.3	38.4	60	20	40	84	80	82
04.00	43.3	40	41.6	38	38	38	24	20	22	88	88	88

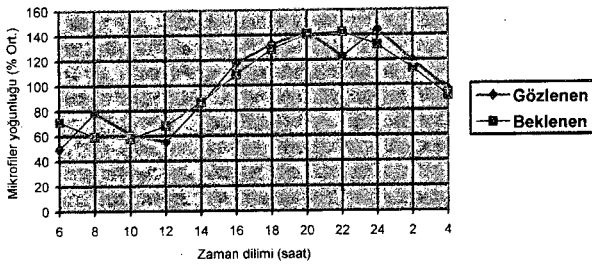
Tablo 11: Zaman dilimlerine göre köpek no 2'de filtre yöntemi ile saptanan mikrofilier yoğunlukları ve klinik muayene bulguları
 Table 11: According to periods, the microfilarial densities detected by membrane filtration technique and clinical examination results in dog no 2

Saatler	Mikrofilier yoğunluğu			Vücut ısısı (C°)			Solunum sayısı (dk)			Kalp frekansı (dk)		
	I	II	Ort	I	II	Ort	I	II	Ort	I	II	Ort
06.00	56.6	113.2	84.9	37.9	38.2	38.1	24	24	24	92	108	100
08.00	150	120	135	38.2	38.3	38.2	28	24	26	88	92	90
10.00	106.6	103.3	104.9	38.7	38.5	38.6	44	32	38	93	84	88.5
12.00	116.6	73.3	94.9	38.4	39	38.7	24	28	26	92	112	102
14.00	136.6	156.6	146.6	38.5	38.8	38.6	40	28	34	112	80	96
16.00	206.6	200	203.3	38.2	38.7	38.4	96	28	62	96	92	94
18.00	250	206.6	228.3	38.7	38	38.3	48	24	36	98	84	91
20.00	230	260	245	38.3	38.4	38.3	34	23	28.5	92	78	85
22.00	226.6	196.6	211.6	38.4	38.1	38.2	24	24	24	100	84	92
24.00	260	236.6	248.3	38.3	38	38.1	28	24	26	92	88	90
02.00	170	190	180	38.2	38.2	38.2	32	20	26	100	90	95
04.00	116.6	213.3	164.9	38.3	38.1	38.2	22	20	21	104	84	94



Şekil 1. Köpek no 1'de gözlenen ve beklenen mikrofilari periodisitesi eğrileri

Figure 1. Observed and expected microfilarial periodicity curves in dog no 1



Şekil 2. Köpek no 2'de gözlenen ve beklenen mikrofilari periodisitesi eğrileri

Figure 2. Observed and expected microfilarial periodicity curves in dog no 2

Moullia-Pelat ve ark. (11), *Wuchereria bancrofti*'nin mikrofilari periodisitesi üzerine yaptıkları çalışmada, membran filtrasyon tekniğinde gözlem saatlerine göre mikrofilari yoğunluklarında istatistiksel olarak bir fark bulamadıklarını ve non-periodik form görüldüğünü, sürme preparat yönteminde ise gözlem saatlerine göre mikrofilari yoğunluklarındaki farkın önemli olduğunu ve subperiodik form görüldüğünü kaydetmişler, periodisitenin ortaya konmasında, kullanılan mikrofilari saptama yöntemlerine göre farklılıklar olabileceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada *D.immitis*'in mikrofilari periodisitesini saptamak amacıyla kullanılan trigonometrik metotta, beklenen ve gözlenen mikrofilari yoğunlukları arasındaki en iyi uyum membran filtrasyon testinde (χ^2 ; köpek no 1 =30.07, köpek no 2= 20.70) gözlenmiştir. Beklenen ve gözlenen mikrofilari yoğunlukları arasındaki uyumun natif yöntemle (χ^2 ; köpek no 1 =122.96, köpek no 2 =134.59) oranla sürme preparat (χ^2 ; köpek no 1 =85.90, köpek no 2 =110.45) yönteminde daha yüksek olduğu görülmüştür. Sayım kamerasında ise mikrofilari sayısının düşüklüğüne bağlı olarak gözlenen ve beklenen mikrofilari yoğunlukları arasındaki uyumun önemli ölçüde azaldığı dikkati çekmiştir (χ^2 ; köpek no 1 = 972.03, köpek no 2 = 89.52). Bu yönüyle köpek no 1'de, sayım kamerası ile yapılan sayım neticesinde periodik form ($D= 98.50$) sergilenirken, diğer yöntemlerle yapılan sayım sonucunda subperiodik form ($D= 53.57, 56.29, 45.28$) gözlenmiştir. Köpek no 2'de

ise natif yöntemle yapılan sayım neticesinde non-periodik form ($D=17.84$), diğer yöntemlerle yapılan sayım sonucunda ise subperiodik form ($D= 23.40, 42.90, 39.50$) sergilendiği görülmüştür. Çalışmada, periodisitenin saptanmasında membran filtrasyon testi diğer yöntemlere göre daha uygun bulunmuştur.

Church ve ark. (4), köpeklerde *D.immitis* enfeksiyonlarında periodisite indeksini 28.33-53.50 saptamış ve mikrofilari periodisitesini subperiodik olarak karakterize etmiştir. Grieve ve Lauria (5), *D.immitis* ile doğal enfekte köpeklerde diurnal subperiodik, deneysel enfekte farelerde ise nokturnal subperiodik form saptadıklarını kaydetmişlerdir. Matola (9), Tanzanya'da *D.immitis* ile enfekte köpeklerde perifer kanda maksimum mikrofilari sayısının gözlendiği zamanı saat 11.00, minimum mikrofilari sayısının gözlendiği zamanı ise saat 22.00 olarak bildirmiştir. Tongson ve Romero (15), köpeklerde, *D.immitis* enfeksiyonlarında maksimum ve minimum mikrofilari sayılarının gözlendiği zaman aralıklarını genel olarak sırasıyla saat 23.14-12.40 ve 6.50-12.00 olarak kaydetmişlerdir. Türkiye'de filarya tipi nematodlarda periodisite üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır. Taşan (14), köpeklerde *D.repens* enfeksiyonunda maksimum mikrofilari yoğunluğunun saat 16.00, 24.00 ve 6.00 da gözlendiğini belirtmiştir. Şahal ve ark. (13), köpeklerde *D.immitis* ve *D.repens* enfeksiyonlarında maksimum mikrofilari yoğunluğunun saat 18.00, minimum mikrofilari yoğunluğunun saat 12.00'de görüldüğünü kaydetmişlerdir. Bu çalışmada *D.immitis* enfeksiyonunda mikrofilari periodisitesi nokturnal subperiodik form (42.9-45.3) olarak belirlenmiş, mikrofilari sayısının maksimum gözlendiği saatler 20.00, 24.00 ve 22.00 minimum gözlendiği saat ise 6.00 olarak ortaya çıkmıştır. Ortaya çıkan bu sonucun bazı araştırmacıların bulguları ile paralellik gösterdiği (4,15), diğer bazıları (5,9) ile ise zıt olduğu belirlenmiştir. Church ve ark. (4), periodisitede ortaya çıkan bu farklılığın, bakım koşulları, iç ve dış stres faktörleri ve çevre koşullarından kaynaklanabileceğini bildirmişler, ayrıca periodisitenin nokturnal veya diurnal şekilde kesin olarak nitelenemeyeceğini kaydetmişlerdir.

Moullia-Pelat ve ark (11), *Wuchereria bancrofti*'nin periodisitesi üzerine yaptıkları çalışmada, mikrofilarielerin termotaksis özelliklerinden dolayı, gece boyunca periferik sıcaklığın düşük olmasına bağlı olarak dolaşım sisteminin merkezi alanlarına doğru göç ettiklerini ve neticede perifer dolaşımında yoğunluğun azaldığını belirtmişlerdir. Tongson ve Romero (15), *D.immitis* enfeksiyonunda perifer dolaşımdaki mikrofilari yoğunluğu ile vücut sıcaklığı arasında bir ilişki bulunmadığını bildirmişlerdir. Bu doğrultuda çalışmada mikrofilari yoğunluğu ile vücut ısısı, kalp frekansı ve solunum sayısı arasındaki ilişki araştırılmıştır. Aynı zaman dilimlerinde kanda gözlenen mikrofilari yoğunluğu ile kalp frekansı arasında köpek no 1'de pozitif yönlü ancak zayıf ($p>0.05$), köpek no 2'de ise negatif yönlü ($p<0.05$) bir ilişki saptanmıştır. Her iki köpekte mikrofilari yoğunluğu ile vücut ısısı, solunum sayıları arasında Tongson ve Romero (15)'nin bildirimleriyle uyumlu

olarak istatistiksel anlamda önemli bir ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$).

Sonuç olarak bu çalışmada *D.immitis* enfeksiyonları için mikrofiler periodisitesinin saptanmasında membran filtrasyon testinin, natif, sürme preparat ve sayım kamarası yöntemlerinden daha duyarlı olduğu belirlenmiş, periodisitenin nokturnal subperiodik olduğu, her iki köpekte mikrofiler yoğunluğu ile vücut ısısı ve solunum sayıları arasında önemli bir ilişki bulunmadığı saptanmıştır.

Kaynaklar

1. **Aikat TK, Das M** (1977): *A modified statistical method for analysis of periodicity of microfilariae*. Indian J Med Res, **65**, 58-64. "Alınmıştır" **Fontes G, Rocha EMM, Brito AC, Fireman FAT, Antunes CMF** (2000): *The microfilarial periodicity of Wuchereria bancrofti in north-eastern Brazil*. Ann Trop Med Parasitol, **94**, 373-379.
2. **Anderson RC** (2000): *Nematode Parasites of Vertebrates*. 2nd ed. CABI Publishing, Wallingford.
3. **Campbell JB, Campbell JB** (1980): *Laboratory Mathematics*. 2nd ed. The C.V. Mosby Company, St.Louis.
4. **Church EM, Georgi JR, Robson DS** (1976): *Analysis of the microfilarial periodicity of Dirofilaria immitis*. Cornell Vet, **66**, 333-346.
5. **Grieve RB, Lauria S** (1983): *Periodicity of Dirofilaria immitis microfilariae in canine and murine hosts*. Acta Trop, **40**, 121-127.
6. **Lehman EL** (1998): *Nonparametrics Statistical Methods Based on Ranks*. Prentice Hall, New Jersey.
7. **Leuterer G, Gothe R** (1993): *Die herzwurmkrankheit des hundes: erregerbilologie und -ökologie, pathogenese, klinik, diagnose, therapie und prophylaxe*. Kleintierpraxis, **38**, 633-646.
8. **Martin TE, Collins GH** (1985): *Prevalence of Dirofilaria immitis and Dipetalonema reconditum in greyhounds*. Aust Vet J, **62**, 159-163.
9. **Matola YG** (1991): *Periodicity of Dirofilaria immitis microfilariae in a dog from Muheza district, Tanzania*. J Helminthol, **65**, 76-78.
10. **Mines JJ** (1967): *A technique for counting and differentiating microfilariae in the blood of dogs in Australia*. Aust Vet J, **43**, 599.
11. **Moulija-Pelat JP, Glaziou P, Chanteau S, Nguyen-Ngoc L, Marcet Y, Gardines R, Martin PMV, Cartel JL** (1993): *Periodicity of Wuchereria bancrofti var. Pacifica filariasis in French Polynesia*. Trop Med Parasitol, **44**, 83-85.
12. **Sasa M, Tanaka H** (1972): *Studies on the methods for statistical analysis of the microfilarial periodicity survey data*. Southeast Asian J Trop Med Publ Health, **3**, 518-536. "Alınmıştır" **Simonsen PE, Niemann L, Meyrowitsch DW** (1997): *Wuchereria bancrofti in Tanzania: microfilarial periodicity and effect of blood sampling time on microfilarial intensities*. Trop Med Int Health, **2**, 153-158.
13. **Şahal M, Doğanay A, İmren H** (1986): *Untersuchungen auf die wirksamkeit der präparate Citarin-L^R und Aricyl^R gegen mikrofilarien und adulte würmer von Dirofilaria immitis und Dirofilaria repens bei natürlich infizierten hunden*. Ankara Üniv Vet Fak Derg, **33**, 297-308.
14. **Taşan E** (1977): *Elazığ ve Yöresindeki Köpeklerde Filaria'ların Yayılışı*. Doktora tezi. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ.
15. **Tongson MS, Romero FR** (1962): *Observations on the periodicity of Dirofilaria immitis in the peripheral circulation of the dog*. Brit Vet J, **116**, 299-304.

Geliş Tarihi 07.03.2003 Kabul Tarihi 14.05.2003

Yazışma adresi:

Prof. Dr. Ayşe Burgu
Ankara Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi
Parazitoloji Anabilim Dalı,
Helminoloji Bilim Dalı
06110 Dışkapı, Ankara