

РОЛЯТА НА КУЧЕТО В ЕПИДЕМИОЛОГИЯТА НА ВИСЦЕРАЛНАТА ЛАЙШМАНИОЗА В ЕНДЕМИЧНИ РАЙОНИ НА БЪЛГАРИЯ

ТАНЯ КОСТОВА, ИВЕЛИНА КАТЕРИНОВА, ПЕТЪР СЪБЕВ,
НИКОЛАЙ ЛАЛКОВСКИ, РУМЕН ХАРИЗАНОВ*, НЕДЕЛЧО К. НЕДЕЛЧЕВ

Национален диагностичен научноизследователски
ветеринарномедицински институт – София

*Национален център по заразни и паразитни болести - София

Лайшманиозите са трансмисивни протозойни заболявания, причинявани от векторно-преносими паразити от род *Leishmania*. Това са група заболявания с различна епидемиология и клинични признаци - от леки самоизлекуващи се кожни поражения, до тежки смъртоносни висцерали увреждания.

Описани са три клинични проявления на лайшманиоза: висцерална (*visceral leishmaniasis, kala azar*), кожна (*cutaneous leishmaniasis*) и кожно-лигавична (*mucocutaneous leishmaniasis*).

Висцералната лайшманиоза е разпространена в тропичните и субтропичните райони и частично в умерения пояс на всички континенти с изключение на Австралия.

Смята се, че резервоар на инвазията могат да бъдат голям брой бозайници (клас *Mammalia*) - домашните и дивите представители на родовете *Carnivora* – кучета и котки (**Alvar et al., 2004; Dantas-Torres and Brandaño-Filho, 2006, Edentata** (броненосец и ленивец), *Rodentia, Primates, Marsupialia* (опосуми), *Perissodactyla* (коне) и други (**Ashford, 1996; Saliba and Oumeish, 1999; Gramiccia and Gradoni, 2005**).

Възможността за участие на други резервоарни гостоприемници, вкл. асимптоматично инфектирани хора (**Costa et al., 2002**) и котки (**Maroli et al., 2007**) в цикъла на *Leishmania (L.) infantum* не трябва да бъде изключена.

Доказано е, че в синантропните и полусинантропните огнища (селски и градски тип) основен резервоар на лайшманиоза са кучетата, въпреки че ролята им е дискуссионна.

Според някои автори (**Ashford, 1996; Alvar et al., 2004; Desjeux, 2004; Gramiccia and**

Gradoni, 2005) кучето е основен резервоар на *Leishmania (Viannia) peruviana*, предизвикваща улцеративна кожна лайшманиоза, срещана в Перуанските Анди (**Llanos-Cuentas et al., 1999**), а според други (**Elbihari et al., 1987**) те по-често са засегнати от заболяването, отколкото играят ролята на резервоар. Преобладава обаче мнението, че в синантропните огнища основен резервоар на лайшманиозата е кучето (**Bettini, Gradoni, 1986; Ashford, 1996; Moreno and Alvar, 2002; Desjeux, 2004; Gramiccia and Gradoni, 2005; Lainson and Rangel, 2005; Filipe Dantas-Torres, 2006; Dantas-Torres and Brandaño-Filho, 2006; Gomes et al., 2007**).

За случаи на кучешка лайшманиоза има съобщения в почти всички страни в Средиземноморската област. Съществуват данни, че 42% от кучетата в този район са серопозитивни (**Asford and Bettini, 1987**). В страните от Южна Европа процентът на инвазираните кучета варира от 7.01 до 40.68 (**Martinez-Moreno et al., 1990**). В Испания по данни на **Amela et al. (1995)** и **Reyes et al. (1995)** при серологичното изследване на домашни кучета от градски и селски райони положителна реакция е установена съответно при 5.5% и 11.5%, а по данни на **Alvar Ezquerra (1997)** делът на серопозитивни кучета е от 1.6% до 18%. На остров Майорка **Matas Mir and Rovira de Alos, (1989)** са установили серопреваленция от 24%, а за района на Каталония тя е била от 10.2%, при годишна честота на заболяването 5.7%. Само 1/3 от серопозитивните кучета обаче са имали явни симптоми на болестта. Освен кучета и лисици, друг резервоар на *L. infantum* в реги-

она не е открит (**Fisa et al.** 1999). В Югоизточна Испания **Alonso et al.** (2009) установяват, че 95% от изследваните безсимптомни кучета са били серопозитивни, като 12% от тях са били от градската част. В Гърция **Sideris et al.** (1999) установяват, че в района на град Солун 10.8% от изследваните домашни кучета са положителни за *L. infantum*.

В Кипър при кучетата е установена до 10% серопревалентия на този паразит (**Deplazes et al.**, 1998), като по данни на **Apostolos et al.** (2010) процентът на серопозитивните кучета в Гърция за последните десет години е нарастнал девет пъти (14.9%).

В Турция по данни на **Ozensoy et al.** (2009) кучешка лайшманиоза е установена повече по брега на Черно и Егейско море, отколкото във вътрешността на страната (между 3.6% и 19% са серопозитивните кучета).

В някои ендемични райони в Северна Италия разпространението на инфекцията достига до 40% от кучешката популация (**Mansueto et al.** 1982, **Mancianti et al.** 1986).

У нас проучвания върху разпространението на висцералната лайшманиоза при домашните кучета са правени от Цачев и кол. При сероепидемиологичния скрининг на кучета за лайшманиоза в 11 района от цялата страна серопозитивност не е доказана. По-късно същият колектив продължава своите проучвания и констатира за първи път у нас в град Петрич клинична форма на лайшманиоза при две кучета. Диагнозата е потвърдена чрез индиректна имунофлуоресценция, имунохроматография, цитология на лимфен аспират, PCR. Чрез qPCR е определена видовата принадлежност на причинителя като *L. infantum* (**Tsachev et al.**, 2007, 2010).

При изследването на 321 домашни и служебни кучета в граничните райони на България (Свиленград и Петрич), Гърция (Орестияда, Димотика, Суфли, Тихеро, Ферес, Александропулис) и Турция (Одрин, Сюлеоглу, Лалапаша) най-висока серопревалентност е установена при кучетата в Турция – 21.95%, следвана от тази при кучетата в Гърция (21.05%) и в България 11.32%. През 90-те години при серологично проучване на 172 кучета – домашни,

служебни и скитащи, към 10% от тях са се оказали серопозитивни за ВЛ, предимно безстопанствени (**Цачев**, 2009).

Вектори на лайшманиозите са кръвосмучещи мухи от род *Phlebotomus* (за Европа, Азия и Африка) и род *Lutzomyia* (за Америка). От установените в света над 700 вида пясъчни мухи, около 30-40 са участници в трансмисията на различните видове лайшманиоза (**Ashford**, 2000; **Desjeux**, 2004).

Флебостоми от видовете *Lu. longipalpis* (**Deane and Deane**, 1955) и *P. perniciosus* (**Molina et al.**, 1994) се смятат за основен вектор на зоонозната висцерална лайшманиоза в Новия и Стария свят, като е установено, че тези видове могат лесно да се адаптират в домашната среда на човека и проявяват тропизъм към кучетата (**Colmenares et al.**, 1995; **Killick-Kendrick**, 1999; **Feliciangeli**, 2004; **Lainson and Rangel**, 2005).

У нас данните за разпространението и видовия състав на флебостомите са доста оскъдни. До настоящия момент в България са установени 6 вида флебостоми, чиито биотопи са на територията на 16 области на страната: *Phlebotomus (Phlebotomus) papatasi*, *Phlebotomus (Paraphlebotomus) sergenti*, *Phlebotomus (Larrousius) perniciosus*, *Phlebotomus (Adlerius) balcanicus*, *Phlebotomus (Larrousius) tobbi*, *Sergentomyia (Sergentomyia) minuta* (**Недялков Н.**, 1909, 1912; **Шишков, Г., С. Консулов**, 1914; **Дренски К.**, 1926; **Дренски П.**, 1942, 1955; **Бойчев Д.**, 1950; **Радев В. и съавт.**, 2011).

Диагнозата на кучешката лайшманиоза се базира главно на клиничните признаци, потвърдени със серологични или паразитологични изследвания. Паразитологичните тестове са обикновено инвазивни, изискващи по-дълго време, поради което серологичните изследвания са по-лесно изпълними и по-евтини (**Ferrer et al.**, 1995). Най-често използваните методи са имунофлуоресцентният (IFA) (**Gradoni**, 1999, 2002; **OIE**, 2000), ензимсвързаният имуносорбентен тест (ELISA) и директния аглутинационен тест (**Scalone et al.**, 2002; **Boarino et al.**, 2005). IFA обаче може да се приеме недвусмислено само при негативни (титър < 1:40) и поло-

жителни (титър $\geq 1:160$) случаи, но трудно може да се даде преценка при съмнителни случаи – титър от 1:40 до 1:80 (Ferroglio et al., 2002). Поради тези причини напоследък Уестерн блотът (WB) се приема като по-чувствителен от IFA и много автори го препоръчват за диагностика на кучешката лайшманиоза (Aisa et al., 1998; Fernandez-Perez et al., 1999), въпреки че изисква лабораторна практика и умения. През последните години в медицинската и ветеринарномедицинската практика навлязоха много комерсиални китове за бърза диагностика, но трябва да се знае, че тяхната чувствителност и специфичност е доста по-ниска в сравнение с лабораторните тестове (Reithinger et al., 2002; Mohebal et al., 2004). Ferroglio et al. (2006) например сравняват търговски кит ELIZA бърз тест Snap CLATIK *Canine Leishmania* antibody kit, (IDEXX-Snap) с индиректен имуофлуоресцентен тест (IFA) и Уестерн блот (WB) за установяване на антитела срещу *L. infantum* при кучета и получават много добри резултати в полза на последните два теста.

Целта на настоящата разработка бе да проучим резервоарните гостоприемници, наличието и видовия състав на векторите на причинителите на лайшманиозата по животните в ендемичен за страната ни регион и направим оценка на риска от поддържане и разпространение на инвазията.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследвани бяха 92 кръвни проби от кучета, собственост на частни стопани от община Петрич. Серологичното изследване беше извършено чрез имуоензимен тест – *Indirect ELISA kit for the detection of anti-Leishmania infantum antibodies in canine serum and plasma* (NOACK). Отчитането на OD на изследваните проби, разположени в 96 ямкова плака извършихме на ELISA ридер *Zenith* при дължина на вълната 450 nm.

В района на община Петрич, област Благоевград, където бяха установени серореагенти по отношение на лайшманиозата през месеците юли и август на 2013 г. заложихме

различни модели ловилки (CDC Light Trap, BG-Sentinel Midge Trap (UV), BG-Sentinel CO₂ Version Trap с/без BG Sweetscent Atractant, Onderstepoort Light-suction Trap). Извършени бяха общо 9 улова на насекоми, които консервирахме в 70% спирт. Флеботомите определяхме до род по морфологични характеристики (Артемьев и Неронов, 1984; Перфильев, 1966; Lewis, 1982) и изчислихме техния процент спрямо общия брой инсекти в улова.

От 12-те положително реагирани на ELISA теста кучета бе взета кръв (с ЕДТА и кръвен серум). Едно куче, показало висок титър чрез ELISA, беше евтаназирано и аутопсирано. Извършен беше патологоанатомичен оглед и взет биологичен материал – кръв, пунктат от далак, лимфен възел и костен мозък в спирт и с ЕДТА. От костен мозък, далак и кръв с конвенционален PCR беше изолирана ДНК. От същите три органа бяха направени и намазки, които оцветихме по Романовски – Гимза и микроскопирахме при увеличение 1000x.

Извършени бяха също анамнестични проучвания и клинични прегледи на болни и съмнителни за заболяване кучета с отчитане на показателите общо състояние температура и кожни изменения.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от серологичното изследване на кръвните серуми чрез ELISA са отразени в табл. 1.

Данните показват, че 13.04 % от изследваните кучета са серопозитивни по отношение на лайшманиоза, докато Цачев и кол. (2009) не доказват серопозитивност при домашните кучета. Наблюдаваните положителни резултати за антитела в някои от серумите от кучета са показателни, че инфекцията съществува в синантропните огнища. При настоящото проучване трябва да отбележим, че по-голяма част от изследваните кучета са ловни, които според нас са доста по-често изложени и по-лесно достъпни за вектора, респективно на инвазиране с паразита. Това ни дава основание да смятаме, че ролята на тази категория кучета като резер-

Таблица 1. Изследване на кучега за доказване на антитела срещу *Leishmania infantum* чрез индиректна ELISA
 Table 1. Study for detection of dogs antibodies against *Leishmania infantum* by indirect ELISA

Населено място	Брой изследвани животни	Брой положителни	%
ВУ Петрич	20	3	15
ВУ Първомай	10	1	10
ВУ Марикоство	20	3	15
ВУ Коларово	42	5	11.9
Общо	92	12	13.04

Таблица 2. Резултати от проучване на векторите
 Table 2. Results from vectors survey

Населено място	Общ брой инсекти в улова	Брой флехотоми в улова	%	Вид ловилка
с. Генерал Годоров	1130	84	7.4	Onderstepoort Light-suction Trap
с. Първомай	727	1	0.1	BG-Sentinel Midge Trap (UV)
с. Самуилово	64	12	18.8	BG-Sentinel CO ₂ Version Trap
с. Кърналово	539	12	2.2	Onderstepoort Light-suction Trap
гр. Петрич	73	1	1.4	CDC Light Trap
с. Марикостиново	509	114	22.4	Onderstepoort Light-suction Trap
с. Беласица	113	4	3.5	BG-Sentinel Midge Trap (UV)
Петрич	51	28	54.9	BG-Sentinel CO ₂ Version Trap + BG Sweetscent Attractant
Петрич	151	24	15.9	CDC Light Trap

воари на инфекция в ендемичните райони не трябва да се пренебрегва.

При извършения клиничен преглед на кучетата, серопозитивни по отношение на лайшманиозата, при четири от тях наблюдавахме клиника на кожна лайшманиоза. Общото състояние не беше променено, телесната температура беше нормална. При огледа обаче наблюдавахме кожни изменения – алопеция и екسفолитивен дерматит около очите, гърба и хълбоците, конюнктивит и бледи лигавици. При палпация се установиха увеличени подчелюстни и ингвинални лимфни възли (фиг.1)



Фиг. 1. Кожни изменения при болно от лайшманиоза ловно куче

Fig. 1 Skin changes in hunting dog with leishmaniosis

При евтаназираното куче не беше наблюдавана клиника на заболяване и патологоанатомични изменения във вътрешните органи. В намазките от далак, черен дроб и пунктат от костен мозък също не бяха наблюдавани амастиготни форми на паразита. Изследването на пунктат от далак, далак в спирт, костен мозък в спирт, лимфен възел в спирт чрез Real Time PCR също даде отрицателен резултат.

При кръвните проби от 12-те кучета, показали титри за лайшманиоза чрез ELISA, положителен резултат при Real Time PCR установихме само при една от пробите от ловно куче

от Петрич. Кучето беше с кожни изменения и беше показало положителен резултат с бърз тест за лайшманиоза.

Cabral et al. (1998) и **Papadoginnakis**, (2003) смятат, че niskият процент на серореагенти при кучетата вероятно се дължи на факта, че не всички инфектирани кучета показват високи титри, като някои проявяват латентна инфекция с развитие на клетъчен имунитет. Независимо от малкия брой на изследвани кучета, констатираната от нас серопозитивност при някои от тях, ни дава основание да смятаме, че у нас съществуват латентни природни огнища на лайшманиоза. В тази връзка според нас при скрининговите проучвания особено внимание трябва да се обръща на скитащите кучета и дивите животни, виждане което е в съответствие със становището на **Reyes et al.**, (1989), че тези животни играят най-голяма роля в епизоотологията и епидемиологията на лайшманиозите по хората и животните.

Резултатите от проучването относно векторите са представени в табл. 2. От извършените 9 броя улови са събрани общо 3 357 броя насекоми, от които 280 (8.3%) са от род *Phlebotomus* (фиг. 2). Флеботоми бяха установени във всичките девет пункта, където са заложени ловилките.

За периода 1990-2013 г. са регистрирани 108 случая на първична атохтонна лайшманиоза



Фиг. 2. *Phlebotomus* spp.

Fig. 2. *Phlebotomus* spp.

оза при хора в страната, от които 30 (27.8%) са жители на Петрич и общината (**Харизанов и кол.**, 2014). Данните показват, че регионът предстатява активно ендемично огнище с почти ежегодно регистриране на заболяване сред населението.

ИЗВОДИ

В регион Петрич съществуват всички основни фактори за осъществяване на трансмисия на лайшманиозата по хората и животните.

Домашните и скитащите кучета са основен резервоар на лайшманиозата в ендемичните по отношение на заболяването региони.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Артемьев М. М. и Неронов В. М.**, 1984. Распространение и экология москитов Старого света (род *Phlebotomus*). Институт еволюционной морфологии и экологии животных, Москва.
- 2. Бойчев, Д.**, 1950. Принос към разпространението на рода *Phlebotomus* (Diptera) в България. – Годишник на Селскостопанската Академия “Г. Димитров”, Зоотехнически факултет, 3: 101-107.
- 3. Дренски, К.**, 1926, Санитарното значение на насекомите. – Известия на Българското ентомологическо дружество, 3: 59-70.
- 4. Дренски, П.**, 1942 „Върху насекомната фауна на крайбрежните области северно от Варна - Известия на Българското ентомологическо дружество, 12: 15-44.
- 5. Недялков, Н.**, 1909. Нашата ентомологична фауна. Архив на Министерството на народната просвета, 1, 3: 83-135.
- 6. Перфильев, П. П.**, 1966. Москиты (Семейство *Phlebotomidae*). Фауна СССР. Насекомые двукрылые, том III, вып. 2., 1-385.
- 7. Радев В., П. Събев, Т. Костова и съавт.**, 2011. Паразитозоозии свързани с кучето и котката – условия за възникване и разпространение. Сборник доклади и постери Юбилейна научна сесия “110 години НДНВМИ, 147-151.
- 8. Харизанов Р., И. Кафтанджиев, Д. Йорданова, И. Райнова, И. Маринова, Н. Цветкова, И. Биков**, 2014 г. Векторно преносими паразитози в България през 2013 г. 12 Национален Конгрес по Клинична Микробиология и Инфекции на Българската Асоциация на Микробиолозите, 24-26 април, НДК, София.
- 9. Шишков, Г., С. Консулов**, 1914. Изучавания върху комарите (*Culicidae*) в България и техните ларви. – Годишник на Софийския университет, 8/9: 1-51.
- 10. Цачев, И.**, 2009. Екзотични зоозоози по кучетата в България (моноцитна ерлихиоза, гранулоцитна анаплазмоза, висцерална лайшманиоза). Автореферат, 90.
- 11. Aisa, M. J., Castillejo, S., Gallego, M., Fisa, R., Riera, M.C., de Colmenares, M., Torras, S., Roura, X., Sentis, J., Portus, M.**, 1998. Diagnostic potential of Western blot analysis of sera from dogs with leishmaniasis in endemic areas and significance of the pattern. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 58, 154–159.
- 12. Alonso F, Giménez Font P., Manchón M., Ruiz de Ybáñez R., Segovia M.**, Berriatua, 2009. Geographical Variation and Factors Associated to Seroprevalence of Canine Leishmaniasis in an Endemic Mediterranean Area., *Zoonoses Public Health*.
- 13. Alvar, J., C. Canavate, B. Gutierrez-Solar et al.**, 1997. Leishmania and human immunodeficiency virus coinfection: the first 10 years. *Clin. Microbiol. Rev.*, 10, 298-319.
- 14. Alvar, J., Canavate, C., Molina, R., Moreno, J., Nieto, J.**, 2004. Canine leishmaniasis. *Adv. Parasitol.* 57, 1–88.
- 15. Amela, C., Lopez-Gay, D., Alberdi, J. C. & Castilla, J.**, 1996. Epidemiologia de la leishmaniases canina en Cordoba”, *Rev.Iber. Parasitol.*, 50, 1-2, 1-7 Injecting drug use as risk factor for visceral Leishmania/HIV co-infection, although it willleishmaniasis in AIDS patients. *European Journal*.
- 16. Ashford, R. W.**, 1996. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. *Clin. Dermatol.* 14, 523–532.
- 17. Ashford, R.W.**, 2000. The leishmaniases as emerging and reemerging zoonoses. *Int. J. Parasitol.* 30, 1269–1281.
- 18. Ashford, R. W., Bettini, S.**, 1987. Ecology and epidemiology: Old World. In: *The biology of*

Leishmaniases in Biology and Medicine. W. Peters, R. Killick-Kendrick (eds.), Vol. 1, 365-424.

19. Boarino, A., Scalone, A., Gradoni, L., Ferroglio, E., Vitale, F., Zanatta, R., Giuffrida, M.G., Rosati, S., 2005. Development of recombinant chimeric antigen expressing immunodominant B epitopes of *Leishmania infantum* for serodiagnosis of visceral leishmaniasis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 12, 647-653.

20. Bettini, S., Gramiccia, M., Gradoni, L., Atzeni, M. C., 1986. Leishmaniosis in Sardinia: II. Natural infection of *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911, by *Leishmania infantum* Nicolle, 1908, in the province of Cagliari. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 80, 458-459.

21. Cabral, M., O'Grady, J.E., Gomes, S.J., Sousa, C., Thompson, H., Alexander, J., 1998. The immunology of canine leishmaniasis: strong evidence for a developing disease spectrum from asymptomatic dogs. *Vet. Parasitol.* 76, 173-180.

22. Colmenares, M., Portu's, M., Botet, J., Doban'õ, C., Ga' llogo, M., Wolff, M., Segui', G., 1995. Identification of blood meals of *Phlebotomus perniciosus* (Diptera: Psychodidae) in Spain by a competitive enzyme-linked immunosorbent assay biotin/avidin method. *J. Med. Entomol.* 32, 229-233.

23. Costa, C. H., Stewart, J. M., Gomes, R. B., Garcez, L. M., Ramos, P. K., Bozza, M., Satoskar, A., Dissanayake, S., Santos, R. S., Silva, M. R., Shaw, J. J., David, J.R., Maguire, J. H., 2002. Asymptomatic human carriers of *Leishmania chagasi*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 66, 334-337.

24. Dantas-Torres, F., Branda'õ-Filho, S. P., 2006. Visceral leishmaniasis in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 48, 151-156.

25. Deplazes, P., Grimm, F., Papaprodromou, M., Cavaliero, T., Gramiccia, M., Christofi, G., Deane, L. M., Deane, M. P., 1955. Observac'ões preliminares da importa'ncia comparativa do homem, do ca'õ e da raposa (*Lycalopex vetulus*) comereservato'rios de *Leishmania donovani*, em a'reaende'mica do calazar, no Ceara'. *Hospital (Rio J)* 48, 79-98.

26. Desjeux, P., 2004. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 27, 305-318.

27. Elbihari, S., Cheema, A. H., el-Hassan, A.M., 1987. *Leishmania* infecting man and wild animals in Saudi Arabia. 4. Canine cutaneous leishmaniasis in the Eastern Province. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 81, 925-927

28. Feliciangeli, M.D., 2004. Natural breeding places of phlebotomine sandflies. *Med. Vet. Entomol.* 18, 71-80.

29. Fernandez-Perez, F. J., Mendez, S., de la Fuente, C., Cuquerella, M., Gomez, M. T., Alunda, J. M., 1999. Value of Western blot in the clinical follow-up of canine leishmaniasis. *J. Vet. Diagn. Invest.* 11, 170-173.

30. Ferrer, L., Aisa, M. J., Roura, X., Portus, M., 1995. Serological diagnosis and treatment of canine leishmaniasis. *Vet. Rec.* 136, 514-516.

31. Ferroglio, E., Trisciuglio, A., Gastaldo, S., Mignone, W., Delle Piane, M., 2002. Comparison of ELISA IFAT and Western blot for the serological diagnosis of *Leishmania infantum* infection in dog. *Parassitologia* 44, 64.

32. Fisa R, Gállego M, Castillejo S, Aisa M.J, Serra T., Riera C, Carrió J., Gállego J., Portús M., 1999. Epidemiology of canine leishmaniosis in Catalonia (Spain) the example of the Priorat focus. *Vet Parasitol.*, Jun 15; 83 (2):87-9

33. Gomes, A. H., Ferreira, I. M., Lima, M. L., Cunha, E.A., Garcia, A. S., Arau'jo, M. F., Pereira-Chiocola, V. L., 2007. PCR identification of *Leishmania* in diagnosis and control of canine leishmaniasis. *Vet. Parasitol.* 144, 234-241.

34. Gramiccia, M., Gradoni, L., 2005. The current status of zoonotic leishmaniases and approaches to disease control. *Int. J. Parasitol.*, 35, 1169-1180.

35. Killick-Kendrick, R., 1999. The biology and control of phlebotomine sand flies. *Clin. Dermatol.* 17, 279-289.

36. Lainson, R., Rangel, E. F., 2005. *Lutzomyia longipalpis* and the ecoepidemiology of American visceral leishmaniasis, with Particular reference to Brazil: a review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 100, 811-827.

37. Lewis, D. J., 1982. A taxonomic review of the genus *Phlebotomus* (Diptera: Psychodidae) *Bull. Brit. Mus. Nat. Hist. (Ent.)*, 45: 121-209.

38. Llanos-Cuentas, E. A., Roncal, N., Villaseca, P., Paz, L., Ogusuku, E., Perez, J. E.,

Caceres, A., Davies, C. R., 1999. Natural infections of *Leishmania peruviana* in animals in the Peruvian Andes. *Trans. R.Soc. Trop. Med. Hyg.* 93, 15–20.

39. Mancianti, F., G., M., Gradoni, L., Pieri, S. & Marconcini, A., 1986. *Tropical Medicine and Parasitology* 37, 110.

40. Mansueto, S., Di Leo, R., Quartararo P., Casandra, F. & Miceli, M. D., 1982. *Acta Mediterranea di Patologia Infettiva e Tropicale* 1, 65.

41. Maroli, M., Pennisi, M. G., Di Muccio, T., Khoury, C., Gradoni, L., Gramiccia, M., 2007. Infection of sandflies by a cat naturally infected with *Leishmania infantum*. *Vet. Parasitol.* 145, 357–360.

42. Martínez Cruz M. S., Martínez Moreno A., Martínez Moreno F. J., Martínez Gómez F., Hernández Rodríguez S., 1990. *Epidemiología de la leishmaniosis canina en Córdoba. Revista Ibérica de Parasitología*, 50:1-7.

43. Matas Mir, B. & Rovira de Alos, J., 1989. In: *Estudio epidemiológico de la Leishmaniosis canina en la Isla de Mallorca. Govern Balear, Conselleria de Sanitat Seguretat social*, pp.110.

44. Moreno J., Alvar, J., 2002. Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. *Trends Parasitol.* 18, 399–405.

45. Ozensoy Töz S, Sakru N., Ertabaklar H., Demir S., Sengul M., Ozbek Y., 2009. Serological and entomological survey of zoonotic visceral leishmaniasis in Denizli Province, Aegean Region, Turkey., *New Microbiol.* 2009 Jan;32(1):93-100

46. Papadogiannakis E., 2003. A contribution to the study of the immunopathogenesis of exfoliative dermatitis in canine leishmaniasis? *Leishmania*

infantum, PhD thesis Aristotel University, Thessaloniki, Greece.

47. Reithinger, R., Quinzel, R. J., Alexander, B., Davies, C. R., 2002. Rapid detection of *Leishmania infantum* infection in dogs: comparative study using an immunochromatographic test, enzyme immunosorbent assay, and PCR. *J.Clin. Microbiol.* 40, 2352–2356.

48. Reyes M., Morilalas Margues F., Montez-Ramirez E., Sanche M. C., Behavides Delgado, Gonsales Castro J. “La Leishmaniasis en la Provincia de la Granada-estudio de la enzootica canina”, *Ars.Rev.Fac.farm.*, 1989, 30,1-2, 35-44 mandal., 1995.

49. Saliba, E. K., Oumeish, Y. O., 1999. Reservoir hosts of cutaneous leishmaniasis. *Clin. Dermatol.* 17, 275–277.

50. Sideris V., Papadopulo G., Dotsika E., Karagouni E., 1999. Asymptomatic canine leishmaniasis In Greater Athens area, Greece, “*Eur.J.Epidemiol.*”, 15, 271-276

51. Tschev, Emmanouil I. Papadogiannakis*, Vasilis Kontos, Andrei Ivanov, Borislava Chakarova, Krasimir Stojanchev, Raiko Peshev, 2007, Seroepidemiology of *Leishmania* among Healthy Dogs in Bulgaria, *Turk. J. Vet.Anim. Sci.* 31 (1): 73-74

52. Tschev I., 2007. First Report of Canine Visceral Leishmaniasis in Bulgaria. IX Epizootiology Days, Pozarevac, Serbia, Abstracts book: 100.

53. Tsachev, I., I. Kyriazis, E. Karagouni et al., 2010. First Report of Canine Visceral Leishmaniasis in Bulgaria, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 34, 5: 465-469.

THE ROLE OF THE DOG IN THE EPIDEMIOLOGY
OF VISCERAL LEISHMANIOSIS IN ENDEMIC AREAS OF BULGARIA

T. Kostova, I. Katerinova, P. Sabev, N. Lalkovski, R. Harizanov*, N. K. Nedelchev

National Diagnostic and Research Veterinary Medical Institute – Sofia

*National Center of Infectious and Parasitic Diseases – Sofia

SUMMARY

Leishmaniosis is protozoal disease caused by vector-borne parasites from genus *Leishmania* which transmitted by phlebotomine sandflies. In Bulgaria is reported Mediterranean type of visceral leishmaniosis. Causal pathogen is *Leishmania donovani infantum*, the source reservoir of which mainly are dogs /domestic and wild/. Vectors are bloodsucking sandflies of the genus *Phlebotomus*. The purpose of the present study is to investigate reservoir hosts and sandfly vectors cause leishmaniosis into endemic to our country region and assess the risk of maintaining and spreading of the invasion.

Studies were realized in Petrich area (Southwest Bulgaria) - endemic for leishmaniosis region. We tested serologically (by ELISA) 92 blood samples from dogs and 13,04% of them were seropositive. Two of seropositive dogs were observed for clinical signs of leishmaniosis. One of them was positive by real-time PCR.

In 9 catches were collected a total of 3357 number of insects, of which 280 (8,3%) are from the genus *Phlebotomus*. Phlebotomine sandflies were established in all nine points where the traps were set. In the region of Petrich there are all important factors for realization of leishmaniosis transmission in humans and animals. Domestic and stray dogs are the main reservoir of leishmaniosis in endemic for the disease regions.

Key words: *leishmaniosis, Leishmania, Phlebotomus, seropositive dogs, vector-borne, sandflies*