



T.C.
NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

ORDU'NUN MESUDİYE İLÇESİ KEÇİLERİNDE ANTİ-*NEOSPORA CANINUM*
ANTİKORLARININ ELISA TESTİ İLE ARAŞTIRILMASI

DENİZ ÖZDAMAR

Haziran 2015

T.C.
NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

ORDU’NUN MESUDİYE İLÇESİ KEÇİLERİNDE ANTİ-*NEOSPORA CANINUM*
ANTİKORLARININ ELISA TESTİ İLE ARAŞTIRILMASI

DENİZ ÖZDAMAR

Yüksek Lisans Tezi

Danışmanlar

Prof. Dr. BİLGE KARATEPE

Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM

Haziran 2015

Deniz ÖZDAMAR tarafından **Prof. Dr. Bilge KARATEPE** ve **Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM** danışmanlığında hazırlanan “**Ordu’nun Mesudiye İlçesi Keçilerinde Anti- *Neospora caninum* Antikorlarının ELISA Testi İle Araştırılması**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji** Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Ayten ÖZTÜRK (Niğde Üniversitesi)

Üye : Prof. Dr. Bilge KARATEPE (Danışman, Niğde Üniversitesi)

Üye : Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM (İkinci Danışman, Erciyes Üniversitesi)

Üye : Prof. Dr. Gazi GÖRÜR (Niğde Üniversitesi)

Üye : Yrd. Doç. Dr. Önder DÜZLÜ (Erciyes Üniversitesi)

ONAY:

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından/...../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu’nun/...../20.... tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...

Doç. Dr. Murat BARUT
MÜDÜR

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Deniz ÖZDAMAR

ÖZET

ORDU'NUN MESUDIYE İLÇESİ KEÇİLERİNDE ANTİ- *NEOSPORA CANINUM* ANTİKORLARININ ELISA TESTİ İLE ARAŞTIRILMASI

ÖZDAMAR, Deniz

Niğde Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Bilge KARATEPE

İkinci Danışman : Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM

Haziran 2015, 47 sayfa

Bu araştırma, Şubat - Temmuz 2014 tarihleri arasında Ordu'nun Mesudiye ilçesi keçilerinde *Neospora caninum* seroprevalansının saptanması amacı ile yapılmıştır. Çalışmada, Mesudiye ilçesindeki 5 farklı çalışma merkezine ait (Arpaalan, Birebir, Çiftliksarıca, Yeşilçit ve Musalı) 1 yaş ve üzerinde rastgele seçilen toplam 184 dişi keçinin kan serumlarında *N. caninum* antikorları ELISA testi ile araştırılmıştır. İncelenen 184 dişi keçinin 16'sı (%8.69) anti-*N. caninum* antikorları yönünden seropozitif olarak saptanmıştır. Yaş grupları açısından, en fazla seropozitiflik oranı %13.04 ile 2 yaşındaki keçilerde belirlenmiş, 1 yaşındaki keçilerde ise seropozitiflik saptanamamıştır. Çalışma merkezleri arasında en yüksek seroprevalans %36.6 ile Birebir'de belirlenmiş, Çiftliksarıca (Nisan ayı) ve Yeşilçit'de ise incelenen keçilerde seropozitiflik saptanamamıştır. Ayrıca abort görülmeyen 178 keçinin 16'sı (%8.98), seropozitif bulunurken, abort geçmişi olan 6 keçinin hiçbirinde seropozitiflik tespit edilememiştir. *N. caninum* seroprevalans oranları, keçilerin yaş grupları ile abort görülen ve görülmeyen keçiler arasında istatistiksel olarak önemsiz bulunmuş ($P>0.05$), çalışma merkezleri açısından ise seropozitifliğin önemli olduğu saptanmıştır ($P<0.001$). Ordu'nun Mesudiye ilçesi keçilerinde *N. caninum* varlığı ve yaygınlığı ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Anahtar Sözcükler: *Neospora caninum*, neosporosis, keçi, Ordu-Mesudiye, seroprevalans, ELISA

SUMMARY

INVESTIGATION OF ANTI-NEOSPORA CANINUM ANTIBODIES IN GOATS IN MESUDIYE DISTRICT OF ORDU USING ELISA

ÖZDAMAR, Deniz

Nigde University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor : Prof. Dr. Bilge KARATEPE

Co-Advisor : Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM

June 2015, 47 pages

This research was carried out to investigate the seroprevalence of *Neospora caninum* in goats of Mesudiye district in Ordu province. The research took place between February to July 2014. A total of 184 female goats, which were a year old or more, were randomly selected from five different study sites (Arpaalan, Birebir, Çiftlikarica, Yeşilçit and Musalı) and the serum samples of the goats were analyzed for anti-*N.caninum* antibodies by applying ELISA. 16 out of 184 sera (8.69%) were determined as seropositive for anti-*N.caninum* antibodies. In terms of age groups, the seropositivity rate was highest in the 2 years old goats (13.04%), while no seropositivity was detected in any of the 1 year old goats examined. The highest seropositivity rate amongst the study sites was found in Birebir with 36.6%, whereas none of the goats examined in Çiftlikarica (in April) and Yeşilçit were determined as seropositive. 16 (8.98%) out of 178 non-aborted goats were detected as seropositive, while there was no seropositivity in the 6 goats with abortion history. *Neospora caninum* seroprevalence was not found to be statistically significant with regards to the age groups of the goats and aborting or non-aborting status ($P>0.05$), on the other hand, the results showed statistically significant ($P<0.001$) with regards to the research sites. This is the first serological report on *N.caninum* in goats of Mesudiye district in Ordu province.

Keywords: *Neospora caninum*, neosporosis, goat, Ordu–Mesudiye, seroprevalence, ELISA

ÖN SÖZ

Kıymetli danışmanım Prof. Dr. Bilge KARATEPE'nin sağladığı teknik ve doküman yardımları ile “Ordu’nun Mesudiye İlçesi Keçilerinde Anti-*Neospora caninum* Antikorlarının ELISA Testi ile Araştırılması” adlı tez çalışması yürütülmüştür. Çalışma merkezleri olarak Arpaalan, Birebir, Çiftliksarıca, Yeşilçit, Musalı köyleri seçilmiş ve 184 dişi keçiden kan serum örnekleri alınmıştır. Serolojik inceleme için Niğde Üniversitesi Bor Meslek Yüksekokulunun laboratuvar olanaklarından yararlanılmıştır. Çalışmada, 184 dişi keçinin kan serumları ELISA testi ile serolojik olarak incelenmiş ve keçilerde *Neospora caninum* antikorlarının varlığı araştırılmıştır. Bu araştırmanın amacı, Mesudiye yöresindeki keçilerde *Neospora caninum* antikorlarının belirlenmesi ve keçilerin neosporosisden korunmasının sağlanmasıdır.

Yüksek Lisans tez çalışmamın yürütülmesi esnasında, çalışmalarına yön veren, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen ve bana her türlü desteği sağlayan kıymetli danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Bilge KARATEPE’ye ve ikinci danışman hocam Sayın Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca serolojik inceleme sırasında laboratuvar çalışmamızda ve literatür taramasında desteğini gördüğüm Sayın Prof. Dr. Mustafa KARATEPE’ye ve çalışmamın istatistiksel analizlerinin yapılmasında yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Gazi GÖRÜR’e en içten teşekkürlerimi sunarım. Çalışmam esnasında bana yardımcı olan, manevi desteğini her zaman gördüğüm Yüksek Lisans öğrencisi arkadaşım Mübeccel OKUR’a çok teşekkür eder ve akademik hayatında bol şans dilerim.

Tüm öğrenim hayatım boyunca her türlü imkâna ulaşmam için maddi ve manevi tüm desteğini üzerimden esirgemeyen, her sıkıntıma ortak olan, bizler için yaşam savaşı veren aile reisimiz biricik babam Orhan ÖZDAMAR’a, psikolojik danışman rolünü üstlenen biricik annem Zelvi ÖZDAMAR’a, manevi desteğini üzerimden esirgemeyen ve tezim konusunda bana yardımcı olan biricik yengem Zeynep TÜFEKÇİ AYDIN’a çok teşekkür ederim.

Bu çalışmaya FEB 2013/32-YÜLTEP numaralı proje ile finansal destek sağlayan Niğde Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine ve çalışanlarına katkılarından dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
SUMMARY	v
ÖN SÖZ	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
FOTOĞRAF VB. MALZEMELER DİZİNİ	xi
SİMGE VE KISALTMALAR	xii
BÖLÜM I GİRİŞ	1
BÖLÜM II GENEL BİLGİLER	2
2.1 <i>Neospora caninum</i> 'un Tarihçesi	2
2.2 <i>Neospora caninum</i> 'un Sınıflandırılması	3
2.3 <i>Neospora caninum</i> 'un Morfolojisi	3
2.4 <i>Neospora caninum</i> 'un Biyolojisi	5
2.5 <i>Neospora caninum</i> 'un Epidemiyolojisi	7
2.6 Türkiye'de Keçilerde <i>Neospora caninum</i> ile İlgili Yapılmış Çalışmalar	8
2.7 Türkiye'de Diğer Hayvanlarda Yapılan <i>Neospora caninum</i> Çalışmaları	9
2.8 Dünya'da Keçilerde <i>Neospora caninum</i> ile İlgili Yapılmış Çalışmalar	12
2.9 <i>Neospora caninum</i> 'un Klinik Belirtileri ve Patogenez	15
2.10 <i>Neospora caninum</i> 'un Teşhisi	17
2.11 Neosporosis'de İmmünite	18
2.12 <i>Neospora caninum</i> 'da Tedavi ve Aşı Çalışmaları	18
2.13 Neosporosis'de Korunma ve Kontrol	19
2.14 Neosporosis'in Ekonomik Önemi	20
BÖLÜM III MATERYAL VE METOT	21
3.1 Çalışma Merkezlerinin Seçimi	21
3.2 Saha Çalışmaları	22
3.3 Laboratuvar Çalışmaları	22
3.3.1 Enzyme Linked Immunosorbent Assay Testi (ELISA)	23
3.3.1.1 Reaktiflerin Hazırlanması	23

3.3.1.2 Mikropleytenin Hazırlanması	24
3.3.1.3 Yıkama	24
3.3.1.4 Konjugatın Eklenmesi ve İnkübasyonu	25
3.3.1.5 Yıkama	25
3.3.1.6 Substratın Eklenmesi ve İnkübasyonu	25
3.3.1.7 Reaksiyonun Durdurulması	25
3.3.1.8 Okuma ve Sonuçların Hesaplanması	27
3.4 İstatistiksel Değerlendirmeler	27
BÖLÜM IV BULGULAR	28
BÖLÜM V TARTIŞMA VE SONUÇ	32
KAYNAKLAR	36
ÖZ GEÇMİŞ	47

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Yaş gruplarına göre keçilerde ELISA ile <i>N. caninum</i> seropozitifliği	28
Çizelge 4.2. Çalışma merkezlerine göre <i>Neospora caninum</i> 'un seropozitifliği	29
Çizelge 4.3. Abort yapan ve yapmayan keçilerdeki seropozitiflik durumu	31

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Neospora caninum</i> 'un yaşam siklusu dönemleri	4
Şekil 2.2. <i>Neospora caninum</i> 'un yaşam döngüsü	6
Şekil 3.1. Keçilerden kan alınan çalışma merkezleri	21
Şekil 4.1. Yaş gruplarına göre <i>N. caninum</i> antikorlarının seropozitiflik oranı	29
Şekil 4.2. Çalışma merkezlerine göre <i>N. caninum</i> antikorlarının seropozitiflik oranları	30

FOTOĞRAF VB. MALZEMELER DİZİNİ

Fotoğraf 3.1. Keçi serumlarının eppendorf tüplerde saklanması	22
Fotoğraf 3.2. Serolojik analizde kullanılan ticari kompetatif ELISA kiti	23
Fotoğraf 3.3. <i>Neospora caninum</i> 'un serolojik analizinde kullanılan materyaller	24
Fotoğraf 3.4. Mikropleytlere stop solüsyonu eklenerek reaksiyonun durdurulması	26
Fotoğraf 3.5. ELISA Mikropleyt Okuyucusu	26

SİMGE VE KISALTMALAR

Simgeler

Simgeler	Açıklama
µm	Mikrometre
nm	Nanometre
ml	Mililitre
°C	Derece Celsius
%	Yüzde
rpm	Dakikada Devir Sayısı

Kısaltmalar

Kısaltmalar	Açıklama
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
IFAT	İndirekt Fluoresan Antikor Testi
NAT	<i>Neospora caninum</i> -Aglunitasyon Testi
LAT	Latex Agglutination Test
DAT	Direkt Aglunitasyon Testi
PCR	Polymerase Chain Reaction
HE	Hematoksilen Eozin
PAS	Periodic Acid Schiff
DNA	Deoksiribonükleik Asit
OD	Optikal Yoğunluk

BÖLÜM I

GİRİŞ

Keçiler tropik ve subtropik bölgelerde, zengin hayvansal protein üretimi için yetiştirilen hayvanlardır. Keçi yetiştiriciliği, doğa ve yaşam koşullarının güçlüklerle yerine getirildiği ve tarım olanaklarının sınırlı olduğu yerlerde yaygın olarak yapılmakta olup, keçiler yem kaynaklarının ve sulama imkânlarının kısıtlı bulunduğu yörelerde, var olan yem kaynaklarını en iyi biçimde kullanarak, yetiştiricilerin ihtiyacı olan et, süt, deri, kıl, yapağı ve gübresinden yararlanılan küçükbaş hayvanlardır (Erişir ve Gürdoğan, 2004).

Keçi yetiştiriciliğinde bölgenin coğrafi yapısı, iklim ve bitki örtüsü ile beslenme arasında yakın ilişki bulunmaktadır. Dünyada keçiler Akdeniz ülkeleri ile Hindistan'a kadar uzanan Orta Doğu ülkelerinde yoğun olarak yetiştirilmektedir. Türkiye'de de keçi yetiştiriciliği yaygın olarak yapılmakta ve hayvan varlığı açısından keçi önemli bir yerde bulunmaktadır. Ülkemizde sayıca en fazla bulunan kıl keçisi, Anadolu'nun iklimine ve yetiştirilme koşullarına en dayanıklı keçi olup, dağ köylerinde ve zayıf meralarda yetiştirilebilen verimli bir ırktır. Güneydoğu Anadolu bölgesinde yetiştirilen kilis keçisi; Şam keçisi ile Kıl keçisinin melezi olup keçi varlığı açısından ülkemizde ikinci sırada bulunan süt verimi en yüksek olan ırktır. Ankara (Tiftik) keçisi ise keçi varlığı açısından üçüncü sırada yer almaktadır. İklim ve çevre koşullarına çok iyi uyum sağlamış olan bu ırkın en önemli verimini tiftik oluşturmaktadır. Yoğun olarak Orta ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde yetiştirilmektedir. Bunun yanı sıra Türkiye'de son yıllarda süt ve döl verimi yüksek bir ırk olan Saanen keçi yetiştiriciliği de yapılmaktadır (Günlü ve Alaşahan, 2010).

Keçilerde neosporosisi de içine alan çeşitli protozoon hastalıklar yaygın olarak görülmekte olup keçi yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyerek et ve süt verimini düşürmekte ve yol açtığı abortlarla da ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Karaer ve Nalbantoğlu, 2005).

Bu çalışmanın amacı, Ordu'nun Mesudiye ilçesi keçilerinde anti-*Neospora caninum* antikorlarının ELISA testi ile saptanmasıdır.

BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

2.1 *Neospora caninum*'un Tarihçesi

Neospora caninum'a 1984 yılında ilk defa Norveç'te yeni doğan bir köpekte sinirsel bozukluk ve felç bulgularıyla rastlanmış ve morfolojik olarak *Toxoplasma gondii*'ye benzerlik gösterdiği bildirilmiştir (Dubey vd., 1988). *Neospora caninum* ve *T. gondii* arasındaki yapısal ve biyolojik benzerlikler nedeniyle neosporosis hastalığına 1988'e kadar yanlışlıkla toxoplasmosis tanısı konulmuştur (Anderson vd., 2000; Reichel, 2000).

Neosporosis sığırlarda ilk olarak 1987'de görülmüş ve *Neospora* sp. olarak adlandırılmış (Thilsted ve Dubey, 1989), bunu takiben 1988 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde neosporosis etkeni izole edilerek *N. caninum* ismini almıştır (Dubey vd., 1988). Yapılan araştırmalar sonucunda parazitin son konağının köpek olduğu, ruminantlar, at ve kemirici hayvanların ara konak görevi gördüğü bildirilmiştir (McAllister vd., 1998).

Yapılan araştırmalar sonucu 1957 yılından itibaren muhafaza edilen köpek doku örneklerinde *N. caninum* bulunmuş ve önceki yıllarda tanısı konulan bu örneklerin *T. gondii*'ye olan benzerliğinden dolayı yanlış teşhis edildiği bildirilmiştir (Dubey ve Lindsay, 1996).

Sığırlarda vertikal bulaşmanın varlığı 1997 yılında belirlenmiş (Pare vd., 1997) ve parazitin son konağının köpek olduğu ise 1998 yılında tespit edilmiştir (McAllister vd., 1998). Enfekte ara konakların dokularını yiyen koyotaların (*Canis latrans*) da ookist dışarı attıkları ve bu ookistlerle parazitin biyolojisinde son konak olarak rol oynadığı belirlenmiştir (Gondim vd., 2004a).

2.2 *Neospora caninum*'un Sınıflandırılması

Neospora caninum aşağıdaki şekilde sınıflandırılmıştır (Systema Natura, 2010).

Üst Alem	: Eukaryota
Alem	: Chromalveolata
Kök	: Myzozoa
Kök Altı	: Apicomplexa
Sınıf	: Conoidasida
Sınıf Altı	: Coccidiasina
Dizi	: Eucoccidiorida
Dizi Altı	: Eimeriorina
Aile	: Sarcocystidae
Aile Altı	: Toxoplasmatinae
Soy	: Neospora
Tür	: <i>Neospora caninum</i>

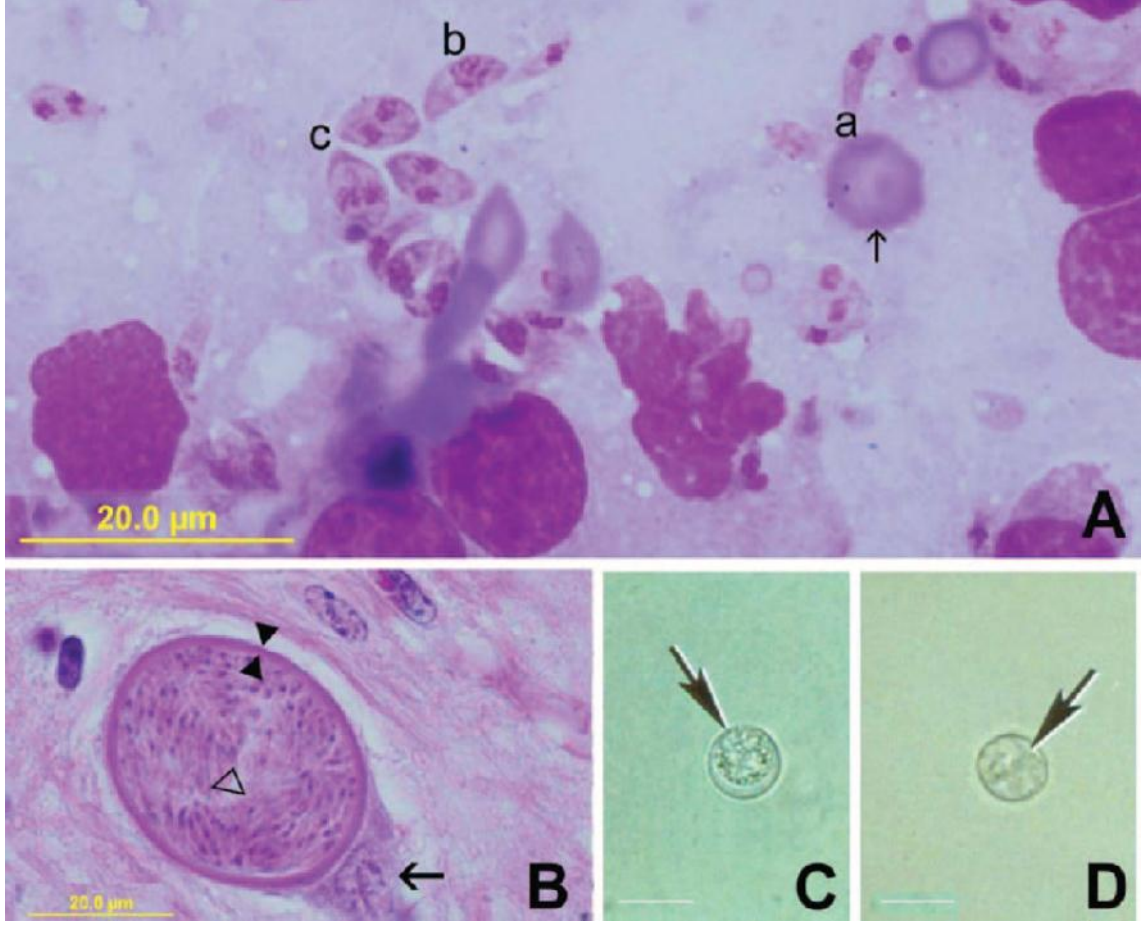
2.3 *Neospora caninum*'un Morfolojisi

Neospora caninum, *T. gondii*'ye benzerlik gösteren geniş bir konakçı aralığına sahip zorunlu hücre içi coccidial bir parazittir. Yaşam döngüsü bilinen üç enfeksiyöz basamak ile karakterizedir ve bunlar takizoitler, doku kistleri içerisindeki bradizoitler ve ookistler içerisinde bulunan sporozoitlerdir (Şekil 2.1). Takizoitler ve bradizoitler arakonakçılarda bulunur ve intraselüler olarak gelişirler (Dubey vd., 2007). *Neospora caninum* ookistleri konakçının dışında sporüle olurlar. *Neospora caninum* ookistleri kedi feçesindeki *T. gondii* ve *Hammondia hammondi* ookistleri ve köpek feçesindeki *H. heydorni* ookistleri ile morfolojik olarak benzerdir (Dubey, 2003).

Takizoitler; 3-7 x 1-5 µm arasında olup, şekil olarak oval, yarım ay ya da küreseldir (Dubey, 2003). Takizoitler parazitin hızla çoğalan formudur ve konaklarının beyin, omurilik, kalp, iskelet kası, karaciğer, akciğer, dalak ve lenf düğümlerini, makrofajlar, fibroblastlar, böbrek tubulus epitelyum hücreleri gibi çeşitli organ ve doku hücrelerini enfekte edebilir (Barr vd., 1990; Dubey vd., 2007).

Doku kistleri genellikle yuvarlak veya oval şekilde olup (Dubey vd., 2007), retina dahil olmak üzere merkezi sinir sisteminde bulunmakta ve büyüklüğü 107µm'ye kadar ulaşmaktadır (Dubey, 1999). Son yıllarda *N. caninum* ile doğal olarak enfekte sığır ve

köpeklerin kaslarında doku kisti örnekleri bildirilmiştir (Dubey, 2003). Doku kistleri ayrıca bir atın perifer sinirlerinde ve konjenital olarak enfekte bir tayın göz kaslarında bulunmuştur (Dubey, 1999).



Şekil 2.1 *Neospora caninum*'un yaşam siklusu dönemleri (Dubey vd., 2007)

(A) Deneysel olarak enfekte bir farenin karaciğerinin yayma preparatında çok sayıda görülen takizoitler (Giemsa boyama). (a) ince bir takizoit, (b) bölünmeden önce bir takizoit (c) boyutu bir eritrosit ile karşılaştırılan bölünen üç takizoit (B) Konjenital olarak enfekte bir buzağının omuriliğinde bir nöronun içerisindeki doku kistinin histolojik kesiti (Hematoksilen ve eozin boyama). Kalın kist duvarı (karşılıklı ok uçları) ince bradizoitleri (içi boş üçgen) çevrelemektedir. (C) Köpek feçesinde sporlanmamış ookist (Boyanmamış). Bar, 10 µm. (D) İki sporokist içeren sporlanmış ookist (Boyanmamış). Bar, 10 µm (Dubey vd., 2007).

Neospora caninum'un doku kistlerinin duvar yapısı, *T. gondii* doku kistinden farklılık gösterir. Doku kistlerinin duvarı 4 µm kalınlığında olup iki tabakadan oluşmaktadır (Dubey vd., 2002). Kist içinde hilal görünümünde dizilmiş bradizoitler, 7-8x2 µm büyüklüğünde olup parazitin yavaş çoğalan formudur (Dubey, 2003). *Neospora*

caninum bradizoitleri, Apicomplexa kökünde bulunan protozoonların bradizoitlerinden, mikropor içermemesiyle ayrılır (Jardine, 1996).

Neospora caninum ookistleri, son konak olan köpekler (*Canis familiaris*), çakallar (*Canis latrans*) ve gri kurtlar (*Canis lupus*) tarafından dışkı ile atılır ve 24 saat içinde konak dışında sporüle olurlar. Ookistler oval bir şekle sahip olup her biri dört sporozoite (6.5x2µm) sahip iki sporokist içermektedir. *Neospora caninum*'un ookistleri 11.7x11.3 (10.6-12.4x10.6-12.0) µm büyüklüğündedir (McAllister vd., 1998; Dubey, 1999, Dubey, 2003; Dubey ve Schares, 2011).

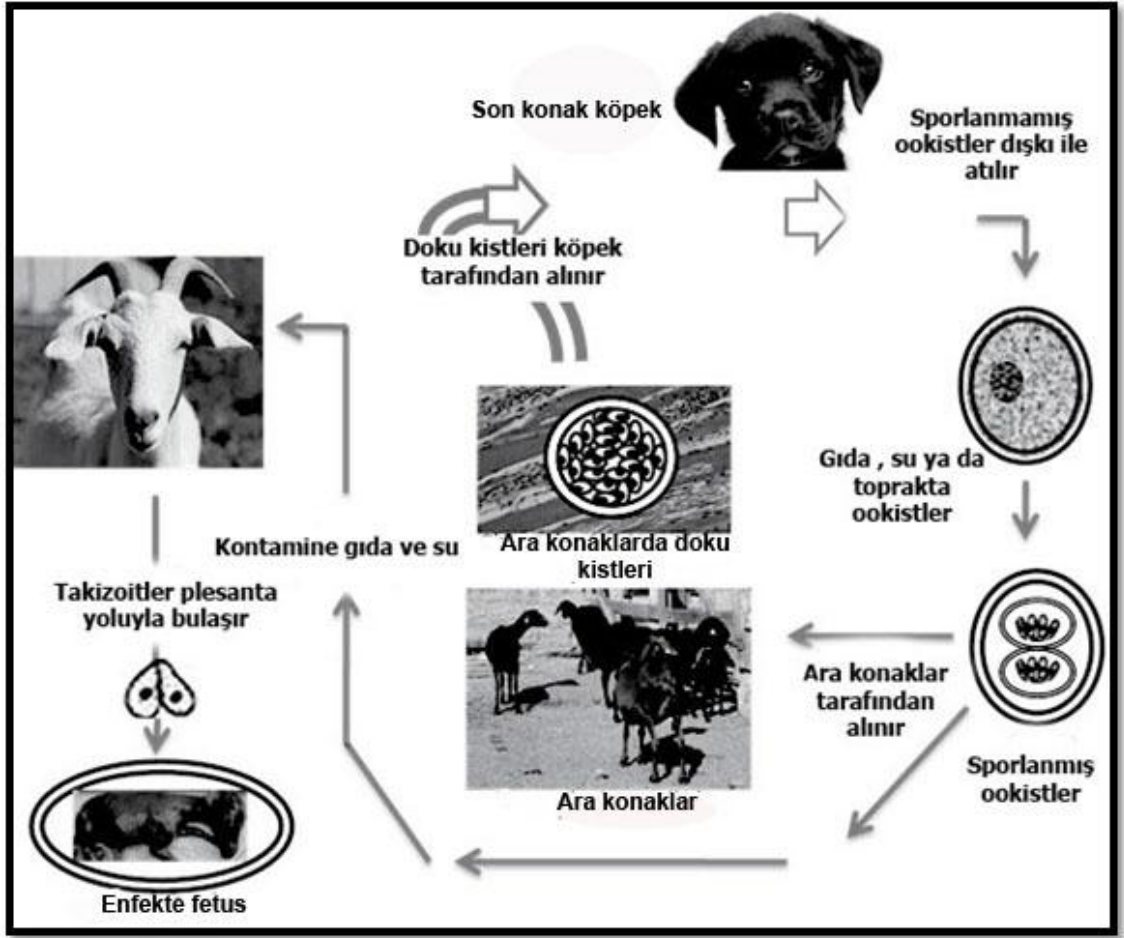
2.4 *Neospora caninum*'un Biyolojisi

Neospora caninum, *Neospora* genusunun tipik türüdür ve Apicomplexa kökünde bulunan diğer protozoonlara benzerlik gösteren bir biyolojik gelişmeye sahiptir (Şekil 2.2) (Dubey, 1999).

Evcil köpekler *N. caninum* için bilinen son konaktır (Dubey, 2003). Ayrıca çakalların da (*Canis latrans*) ookist çıkaran son konak olduğu yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (Gondim vd., 2004a). *Neospora caninum*'un biyolojisinde geniş bir konak çeşitliliği bulunmaktadır (Dubey vd., 2007). Ara konakların köpekler dahil başta sığır, koyun, keçi, geyik, at olmak üzere manda, deve, çakal, tilki, kedi, fare, domuz, sıçan, gerbil ve maymunlar olduğu yapılan araştırmalarla anlaşılmıştır (Dubey, 1999).

Neospora caninum'un üç enfeksiyöz dönemi takizoit, bradizoit ve ookistler parazitin naklinde rol oynar. Neosporosiste bulaşma, *N. caninum*'un takizoitlerini veya bradizoitlerini içeren enfekte dokuların yenilmesi ya da sporüle olmuş ookistlerin yiyecek ve içme suyuna kontaminasyonu sonucu post-natal (horizontal) veya gebelik sırasında enfekte anneden fetüse transplasental olarak (vertikal) gerçekleşmektedir. Son zamanlarda, fetüsün transplasental enfeksiyonunun kaynağını daha net olarak tanımlamak için “ekzojen transplasental nakil” ve “endojen transplasental nakil” terimleri önerilmiştir. Ekzojen transplasental nakil, gebelik esnasında annenin enfeksiyona yakalanmasının sonucu olarak ortaya çıkan fetal enfeksiyonu belirtmektedir. Endojen transplasental nakil ise gebelikten önce kazanılmış tekrarlayan maternal enfeksiyonun sonucu olarak ortaya çıkan fetal enfeksiyonu tanımlamaktadır (Trees ve Williams, 2005).

Transplasental nakil *N. caninum*'un temel bulaşma yolu olarak kabul edilir (Dubey, 2003). Birçok konakçıda doğal olarak gerçekleşir ve transplasental bulaşma takizoitler anneden fetüse geçtiğinde meydana gelir. Ookistlerin alınması otçullarda post-natal aktarım için tek yoldur (Dubey vd., 2007).



Şekil 2.2 *Neospora caninum*'un yaşam döngüsü (Silva, 2013)

Bradizoit içeren doku kistlerinin ağız yoluyla alımından itibaren 5 gün veya daha uzun bir süre sonra sporüle olmamış ookistler köpeklerin dışkısı ile dışkı ile atılır. Ookistler dışarı atıldıktan sonra 24 saat içinde sporozoitler gelişir ve köpekler ya da diğer ara konaklar tarafından ookist içerisindeki sporozoitlerin yeniden alınmasıyla enfeksiyon başlar (Dubey vd., 2002, 2006, 2007; Cedillo vd., 2008).

Ara konaklar tarafından ağız yoluyla alınan ve bağırsakta serbest kalan sporozoitler, bağırsak mukozasından geçerek önce mezenterial lenf yumrularına oradanda kan ve lenf

yoluyla diğer organlara yayılırlar (Georgieva vd., 2006). Organların değişik hücrelerinin içinde endodiyogeni yoluyla hızlıca ikiye bölünerek çoğalır ve çok sayıda takizoit form meydana gelir. Enfekte hücrelerin parçalanması ile yeni hücrelere giren takizoitler bradizoit formuna dönüşürler. Bradizoitler endodiyogeni yoluyla yavaş çoğalarak doku kistlerini oluşturur. Doku kistleri genelde ara konağın sinir dokularında (beyin, spinal cord ve retina) bulunurken kalp, iskelet kasları, karaciğer, plasenta ve böbreklerde ise daha az görülmektedir (Barr vd., 1990; McAllister vd., 1998; Wouda, 2000).

2.5 *Neospora caninum*'un Epidemiyolojisi

Neosporosis'in bulaşmasında köpekler en önemli rolü oynamaktadır. Köpeklerde enfeksiyonun abort olmuş hayvanları, enfekte plasental doku artıklarını ya da diğer enfekte ara konakları yedikten sonra meydana geldiği bildirilmiştir (Gondim vd., 2004b; Dubey vd., 2007). Dışkıyla atılan ookistler ara konakların besin ve sularına bulaşarak ara konakları enfekte eder (Dubey, 1999). Bu yüzden köpek dışkısında *N. caninum* ookistlerinin tanımlanabilmesi epidemiyolojik olarak önem taşımaktadır. Köpek dışkılarının mikroskopik olarak incelenmesi tek başına yeterli olmadığından *N. caninum* ookistleri *H. heydorni* ookistlerinden PCR gibi çeşitli moleküler yöntemlerle ayırt edilmelidir (Dubey vd., 2002; Slapeta vd., 2002; Gondim vd., 2004b).

Neospora caninum ookistlerinin tabiatda hayatta kalması ile ilgili yeterli çalışma yapılmadığından ve *T. gondii* ile yakın ilişkisi sebebiyle *N. caninum* ookistlerinin çevresel direncinin *T. gondii* ookistlerine benzer olduğu varsayılmaktadır (Dubey, 2004).

Neosporosis'li bir ineğin enfekte plasental doku artıklarıyla kontamine olmuş besinlerle, köpeklerin beslenmesinin ardından alınan 5 günlük dışkı örneklerinde *N. caninum* ookistleri izole edilebilmiştir (Schaes vd., 2001a,b; Dubey vd., 2007). *Neospora caninum* ile enfekte köpeklerin bulunduğu süt sığırı çiftliklerinde daha yüksek neosporosis prevalansı bildirilmiştir (Dubey, 1999; Aguiar vd., 2006). Neosporosisde vertikal taşınma ilk kez köpeklerde tanımlanmış ve Norveç'te damızlık bir köpeğin üç ardışık yavrulamasında neosporosis bulunmuştur (Dubey vd., 2007).

Neosporosis temel olarak üreme organlarını etkileyen bir hastalıktır, dolayısıyla endojen transplasental taşınma enfeksiyonun temel yoludur. *Neospora caninum* çoğunlukla gebeliğin 5. ve 6. aylarında reaktif olur ve abort veya konjenital olarak enfekte

doğuma sebebiyet verir (Dubey, 1999; Dubey vd., 2006; Reitt vd., 2007; Kul, 2012). Ergenlik çağına ulaşmış konjenital olarak enfekte düveler de düşük yapabilir veya subklinik olarak hasta buzağı doğurabilir (Dubey, 1999; Dubey, 2003; Kul vd., 2009; Kul, 2012).

Konjenital enfeksiyonlarda abort, ölü doğum, klinik-subklinik doğumların görülmesi gebeliğin aşamasına bağlı olarak gelişir (Innes vd., 2007). Fetusun erken embriyonik ölümü gebeliğin ilk üç aylık döneminde, abort ve ölü doğumlar ise sıklıkla ikinci üç aylık dönemde gözlenmiştir. Bu dönemlerde fetusun immün sistemi ya gelişmemiştir ya da yetersiz gelişmiştir (Dubey vd., 2006). Üçüncü üç aylık dönemde ise fetusun gelişmiş immün sistemi bu enfeksiyöz ajanlar ile baş edebilir ve subklinik olarak enfekte canlı doğumların meydana gelmesi mümkün olabilir (Barr vd., 1990; Atkinson vd., 2000; Dubey vd., 2006; Dubey vd., 2007; Innes vd., 2007; Kul, 2012).

2.6 Türkiye’de Keçilerde *Neospora caninum* ile İlgili Yapılmış Çalışmalar

Sevgili vd. (2003a) Şanlıurfa yöresinde 1-6 yaş arasındaki toplam 180 dişi keçiden kan toplamış ve ticari kompetatif inhibisyon ELISA testi ile *N. caninum* enfeksiyonunu araştırmışlardır. Araştırmacılar (Sevgili vd., 2003a) Şanlıurfa yöresinde 85 kıl keçisinin 4’ünde, 95 halep keçisinin 5’inde seropozitiflik bulmuşlar ve keçilerde ırk ve yaş grupları arasında seropozitiflik yönünden önemli bir fark olmadığını açıklamışlardır.

Cayvaz ve Karatepe (2011) Niğde ilinde bulunan keçilerde *N. caninum*’un seroprevalansının araştırılması amacı ile yaptıkları çalışmalarında Niğde ilinde 8 farklı çalışma merkezine ait 1 yaş ve üzeri toplam 181 dişi keçi belirlemiş ve bu keçilerin serumlarında *N. caninum* antikorlarını ELISA testi ile araştırmışlardır. İncelenen toplam 181 dişi keçinin 47 (%25.9)’sinde *N. caninum* antikorlarının seropozitif olduğunu en fazla seropozitiflik oranının %42.3 ile 5 yaşındaki keçilerde, en az seropozitiflik oranının ise %13.8 ile 3 yaşındaki keçilerde olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar (Cayvaz ve Karatepe, 2011) aynı zamanda abort yapan 16 keçinin 6 (%37.5)’sında, abort yapmayan 165 keçinin 41 (%24.8)’inde seropozitiflik tespit etmiş ve Niğde yöresinde keçilerde *N. caninum*’un varlığını ilk kez bu çalışma ile ortaya koyduklarını belirterek abort olaylarında neosporosisin de dikkate alınması gerektiğini vurgulamışlardır.

Utuk vd. (2011) Elazığ, Erzurum, Kırşehir illerinde Saanen ve kıl keçilerinde *N. caninum* antikorlarını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında 128 adet keçiden toplamış oldukları kan örneğini ticari kompetatif ELISA (c-ELISA) kiti kullanarak test etmişler ve anti- *N. caninum* antikorlarının toplam prevalansını %10.2 (13/128) olarak saptamışlar, Saanen keçilerinde %13.8 (12/87) ve kıl keçilerinde ise %2.4 (1/41) oranında prevalans bulmuşlardır. Araştırmacıların bu bölgedeki keçi ırklarında neosporosis üzerine yapmış oldukları ilk çalışmadır.

2.7 Türkiye’de Diğer Hayvanlarda Yapılan *Neospora caninum* Çalışmaları

Türkiye’de neosporosis’le ilgili yapılan ilk çalışmada Coşkun vd. (2000), Adana ve Bursa illerinde topladıkları 150 köpeğin kan serumunu kullanmışlardır. Araştırmacılar (Coşkun vd., 2000) Adana ilinde 2-6 yaş arasında 10 erkek, 34 dişi olmak üzere toplam 44 köpek ile Bursa yöresinde 6 ay-8 yaş arasında 21 erkek, 85 dişi olmak üzere dokuz ayrı cins evcil köpekten toplam 106 kan örneği toplamışlar ve serum örneklerini IFAT ile incelemişlerdir. *Neospora caninum*’a karşı 150 köpek serumunun 15’inde (%10) seropozitiflik saptamışlardır.

Bıyıkoglu vd. (2001) İç Anadolu bölgesinde topladıkları 3290 sığır serumunda *N. caninum*’un varlığını ELISA testi ile araştırmışlar ve Ankara’da %10.8, Çankırı’da %6.93, Eskişehir’de %5.46, Kırşehir’de %19.55, Kırıkkale’de %32.72, Kayseri’de %10.82, Yozgat’ta %20.32 ve Nevşehir’de %5.10 oranında seropozitiflik belirlemişlerdir.

Öncel ve Bıyıklıoğlu (2003) Sakarya süt sığırlarından topladıkları serumları *N. caninum* antikorları yönünden c-ELISA kiti ile test etmişler ve analiz sonucunda inceledikleri 92 sığırın 10’unda (%9.2) *N. caninum* antikorlu saptamışlardır. Yaşa göre seropozitifliğin 2 yaş grubuna ait 30 sığırın 2’sinde (%6.6), 3 yaş grubuna ait 30 sığırın 3’ünde (%10) ve 4 yaş ve üstü grubuna ait 32 sığırın 5’inde (%16.6) olduğunu belirlemişlerdir.

Sevgili vd. (2003b) Şanlıurfa’da kısıraklarda *N. caninum* antikorlarını c-ELISA testi ile incelemişler ve 90 kısırağın 8’inde (%8.8) seropozitiflik saptamışlardır. Kısırakların 15 yaşından büyük olanlarının 10 yaşından küçük olanlardan daha yüksek bir seropozitiflik oranına sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Akça vd. (2005) Kars yöresinde 228'i yerli ve 73'ü simental olmak üzere toplam 301 sığır serumunda ELISA testi kullanarak *N. caninum*'un seropozitifliğini %2 oranında saptamışlardır. Simental sığırlarda %8.2 oranında seropozitiflik belirlemişler ve yerli ırk sığırlarda ise sadece bir tane şüpheli sığır olduğunu belirterek seropozitiflik tespit edememişlerdir. Araştırmacılar (Akça vd., 2005) bu çalışma ile, *N. caninum*'un ithal edilmiş hayvanlarla yöreye sokulmuş olabileceğini bildirmişlerdir.

Sevgili vd. (2005) Şanlıurfa yöresinde sığırlarda *N. caninum*'un seroprevalansını belirlemek için toplam 305 sığırdan kan örnekleri toplamış ve serum örneklerinin analizi için ticari kompetatif inhibisyon c-ELISA testi kullanmışlardır. Araştırmacılar (Sevgili vd., 2005) test sonuçlarına göre 305 sığırın 23'ünde (%7.5) *N. caninum* antikorunu tespit etmişlerdir.

Aktaş vd. (2005) Elazığ, Malatya, Muş ve Bingöl illerinde değişik yaş ve ırkta toplam 513 sığır ile atık yaptığı belirlenen 32 inek üzerinde ELISA testi ile *N. caninum*'a karşı şekillenen antikorları araştırdıkları çalışmalarında %7.01 oranında seropozitiflik bulmuşlardır. Araştırmacılar (Aktaş vd., 2005) seropozitiflik oranının Bingöl'de %4.69, Elazığ'da %15, Malatya'da %4 ve Muş'ta %4.86 olduğunu belirtmişler ve atık yapan ineklerdeki seropozitiflik oranını ise %3.12 olarak saptamışlardır.

İça vd. (2006) Kayseri yöresinde 186 sığır üzerinde yaptıkları çalışmalarında *N. caninum*'un seroprevalansını c-ELISA testi ile %7 olarak bulmuşlar, abort yapan 9 inekten 3'ünün (%33.3) ise seropozitif olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar (İça vd., 2006) abort yapan ve abort yapmayanlarda ortaya çıkan farklılığı istatistiksel olarak önemli bulduklarını belirtmişlerdir.

Vural vd. (2006) İç Anadolu Bölgesinde sekiz ayrı ilden toplanan 3287 sığır serum örneğinde ticari c-ELISA testi ile *N. caninum*'un antikorlarını incelemişler ve araştırma sonucunda bölgede %13.96 oranında seropozitiflik belirlemişler ve abort geçmişi olan 144 inekte ise %23.61 oranında *N. caninum*'a ait antikorlar saptamışlardır. Araştırmacılar (Vural vd., 2006) bu çalışmada prevalansın abortlu ineklerde, abort yapmayanlara göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Kurtdede vd. (2006) Ankara yöresinde 12'si abort yapmış toplam 60 ineğin serumlarında *N. caninum* antikorlarını Immunocomb (IC) ile araştırmışlar ve abort yapmış 12 inekten 6'sında seropozitiflik belirlemişlerdir. Ankara yöresinde

neosporosisin sığırlarda abortun önemli bir nedeni olabileceği fikrini ortaya koymuşlardır.

Yıldız vd. (2009a) Kırıkkale şehir merkezi ve köylerinde yaşayan köpeklerde *N. caninum*'un seroprevalansını araştırdıkları çalışmalarında 121 köpeğin kan örneğinde IFAT ile %28.9 oranında *N. caninum*'a ait antikorların varlığını tespit etmişler ve seropozitiflik oranının erkek köpeklerde, dişi köpeklere göre daha yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir.

Yıldız vd. (2009b) Kırıkkale, İzmir ve Tokat'ta yapmış oldukları çalışmada, daha önceden %10 ve üzeri abort oranı görülen 40 farklı çiftlikten abort geçmişi olan 234 inek ile 323 gebe inekten aldıkları kan örneklerinde *N. caninum*, *T. gondii*, *Brucella abortus* ve *Listeria monocytogenes*'in seroprevalanslarını karşılaştırmışlardır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, *N. caninum*'un seroprevalansını %10.77 (60/557) oranında bulurken, *T. gondii*'yi %24.77 (138/557) oranında tespit etmişlerdir. Araştırmacılar (Yıldız vd., 2009) *N. caninum* ve *T. gondii* seropozitifliğinin gebe ineklerde abortlu ineklerden daha yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir.

Kul vd. (2009) ticari c-ELISA testi ile sığırlarda *N. caninum*'un seroprevalansını %46.47 (33/71) oranında saptarken, kısır veya abort yapmış ineklerde %60 (15/25), düvelerde %40 (16/40) ve buzağılarda ise %33.3 (2/6) oranında tespit etmişlerdir. Araştırmacılar (Kul vd., 2009) bu çalışmada pozitif bulunan 2 buzağının annelerini de pozitif bulduklarını belirtirken, seronegatif 4 buzağıdan 3'ünün annesini ise seropozitif olarak tespit etmişlerdir.

Karatepe ve Karatepe (2012) Niğde iline bağlı Bor, Ulukışla, Çamardı ve Altunhisar ilçelerinde atlarda *Neospora* spp.'nin araştırılması amacıyla yaptıkları çalışmalarında 1–20 yaş arasında toplam 125 attan (50 erkek, 75 dişi) c-ELISA ile *Neospora* spp. antikorlarını analiz etmişler ve inceledikleri 125 atın 30'unda (%24) *Neospora* spp. antikorlarını saptamışlardır. Araştırmacılar (Karatepe ve Karatepe, 2012) 50 erkek atın 14'ünde (%28) ve 75 dişi atın 16'sında (%21.3) *Neospora* spp. seropozitif bulmuş, 1-10 yaş arasındaki 81 atta seropozitiflik oranı %22.2 ve 11-20 yaş arasındaki 44 atta seropozitiflik oranı ise %27.2 olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışma ile Niğde yöresinde atlarda neosporosisin ilk kez araştırıldığı belirtilmiştir.

Mor ve Akça (2012) Mart - Haziran 2009 tarihleri arasında, Kars yöresinde sığır ve köpeklerde *N. caninum*'un yaygınlığının belirlenmesi ve ithal sığırların girdiği ve hiç girmedikleri köy grupları arasında karşılaştırma yaparak epidemiyolojik olarak risk faktörlerinin ortaya konması amacıyla yaptıkları çalışmalarında sığırlar için c-ELISA ve köpekler için IFAT kullandıklarını belirtmişlerdir. Her iki gruptan toplam 1100 sığırda %7.2 seropozitiflik belirlemiş; Grup 1 köylerden 500 sığırda %9.2 seropozitiflik ve Grup 2 köylerden 600 sığırda %4.8 seropozitiflik bulmuşlardır. Köpeklerde IFAT ile 210 köpekte %25.2 seropozitiflik, 101 köpekte %30.7 seropozitiflik ve 109 köpekte %20.2 seropozitiflik belirlemişlerdir. Her iki grup köyden toplam 125 köpekte dışkı muayenesi yapmışlar ve 10 (%8) hayvanda *N. caninum* benzeri ookistleri görmüşlerdir. Araştırmacılar (Mor ve Akça, 2012) Kars'ta sığırlarda ve köpeklerde post-natal enfeksiyonların geliştiğini ve sığır neosporosisi için epidemiyolojik olarak köpeklerin potansiyel bir risk faktörü olduğunu, ayrıca ithal sığırların girdiği köylerde, sığır ve köpeklerde seroprevalansın daha yüksek olduğunu belirterek riskli grup olarak görmüşlerdir.

Aytekin vd. (2013) Konya yöresindeki dişi sığırlarda *N. caninum*'un yaygınlığının serolojik olarak belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmalarında IFAT ile *N. caninum*'a karşı toplam 385 ineğin 34'ünde (%8.83) seropozitiflik saptamışlar, bunlardan abort yapan 76 ineğin 9'unu (%11.84) ve abort yapmamış 309 ineğin ise 25'ini (%8.09) seropozitif bulmuşlardır.

Düzlü vd. (2014) Kayseri yöresinde klinik olarak normal görünümlü köpeklerden 400 adet EDTA'lı periferik tam kan örneği toplamışlar ve *N. caninum* ile *T. gondii*'nin takizoitlerini araştırmışlardır. Elde edilmiş genomik DNA'ların spektrofotometrik ölçümlerini yapmışlar ve Real Time PCR (qPCR) için uygun konsantrasyonları hazırlamışlardır. *N. caninum* NC5 ve *T. gondii* için RE gen bölgelerini hedef alan spesifik primer ve probler kullanarak örneklerin qPCR analizlerini gerçekleştirmişlerdir. qPCR sonuçlarına göre 400 örneğin 15'inde (%3.8) *N. caninum*'un pozitifliğini tespit etmişler ve hiçbir örnekte *T. gondii*'nin pozitifliğine rastlamamışlardır. Araştırmacılar (Düzlü vd., 2014) bu çalışma ile Türkiye'de ilk kez Kayseri yöresinde köpeklerin periferik tam kan örneklerinde *N. caninum* ve *T. gondii*'nin takizoitlerini, TaqMan Prob Bazlı Real Time PCR tekniği ile araştırmışlar ve moleküler epidemiyolojik veriler elde etmişlerdir.

2.8 Dünya’da Keçilerde *Neospora caninum* ile İlgili Yapılmış Çalışmalar

Naguleswaran vd. (2004) Sri Lanka’da 486 keçinin *N. caninum* antikorlarını ELISA, Western Blot ve IFAT ile incelemişler ve sadece 3 keçinin serumunda (%0.7) anti-*Neospora caninum*’un antikorlarını saptamışlardır.

Eleni vd. (2004) İtalya’da abort yapan keçilerin beyin ve kalp doku örneklerini incelemişler ve PCR ile keçilerin beyin doku örneklerinde *N. caninum*’un bulunduğunu tespit etmişler buna karşılık kalp doku örneklerinde varlığını belirleyemediklerini bildirmişlerdir.

Figliuolo vd. (2004) Brezilya’nın Sao Paulo eyaletinde 19 çiftlikte beslenen 394 keçinin serum örneklerinde *N. caninum*’un prevalansını IFAT ile incelemişler ve *N. caninum*’un prevalansını %6.4 (25/394) olarak bulmuşlardır.

Faria vd. (2007) Brezilya’nın Kuzeydoğu Bölgesinde anti-*N. caninum* antikorlarının prevalansını araştırdıkları çalışmalarında IFAT ile 306 keçide %3.3 oranında seropozitiflik saptamışlardır.

Uzeda vd. (2007) Brezilya’nın Bahia eyaletindeki 9 süt keçisi sürüsünden 384 serum örneğini *N. caninum* yönünden IFAT ile incelemişler ve 58’inde (%15) seropozitiflik saptamışlardır. Seroprevalansları Saanen keçilerinde %14, Nubian keçilerinde %3 ve Alpine keçilerinde ise %24 olarak bulmuşlardır.

Al-Majali vd. (2008) Güney Ürdün’de *N. caninum*’un epidemiyolojisini araştırdıkları çalışmalarında ticari bir enzim immuno-deney kitini (Bommeli Diagnostic) kullanarak koyun ve keçi sürüsülerinde *N. caninum* seroprevalansını sırasıyla 320 koyunun 38’inde (%11.8) ve 300 keçinin 24’ünde (%8) saptamışlardır.

Czopowicz vd. (2011) 2007 yılında Polonya’da keçi sürülerinde *T. gondii* ve *N. caninum* enfeksiyonunun seroprevalansını ELISA ve IFAT kullanarak incelemişler ve 1060 keçiden toplamış oldukları kan serumlarının %9’unda *N. caninum* antikorlarını bulmuşlardır.

Tembue vd. (2011) Kuzeydoğu Brezilya’da keçi ve koyunlarda anti-*N. caninum* antikorlarının prevalansını belirlemek amacıyla, 23 çiftlikten 319 keçi ve 81 koyundan kan örnekleri toplamışlardır. Araştırmacılar (Tembue vd., 2011) her bir çiftlikten 1 yaşın altındaki hayvanlar da dâhil dişilerin % 10’u ile çalıştıkları araştırmalarında IFAT ile

keçilerin %26.6'sının (85/319) ve koyunlarında %64.2'sinin (52/81) seropozitif olduğunu saptamışlar ve çalışma bölgesinde küçük ruminantlarda hastalığın klinik belirtileri olmamasına rağmen *N. caninum*'un varlığını göstermişlerdir.

Iovu vd. (2012) Romanya'nın dört bölgesindeki (Crişana, Maramureş, Transylvania, Muntenia) süt keçilerinden toplamış oldukları kan örneklerini ELISA ile test ederek *N. caninum*'un seropozitifliğini araştırmışlar ve seropozitiflik oranını %2.3 (12/512) olarak tespit etmişlerdir.

Moreno vd. (2012) küçük ruminantlardaki abort vakalarında İspanya'nın farklı bölgelerinden aborte olmuş 74 koyun ve 26 keçi fetusunda *N. caninum*'un varlığını PCR ile doğruladıkları çalışmalarında inceledikleri 100 fetusun 17'sinde (%17) protozoal enfeksiyona rastlamışlar ve koyun abortlarında %10.8 (8/74), keçi abortlarında ise %15.4 (4/26) oranında pozitiflik bulduklarını belirtmişlerdir. Keçi fetuslarında *N. caninum*'un DNA'sını %11.5 (3/26) oranında tespit etmişler ve küçük ruminantların abortlarında *N. caninum*'un önemli bir rol oynadığını vurgulamışlardır.

Bartova ve Sedlak (2012) Çek Cumhuriyeti'nde keçilerde *T. gondii* ve *N. caninum* antikorlarının prevalansını belirlemek amacıyla 251 sağlıklı yetişkin keçide ELISA testi kullanarak *T. gondii* antikorlarını %66 (166/251), *N. caninum* antikorlarını ise %6 (15/251) oranında saptamışlardır. Araştırmacılar (Bartova ve Sedlak, 2012) *N. caninum* antikorları için seropozitif olan 15 keçinin aynı zamanda *T. gondii* içinde pozitif olduğunu belirterek Çek Cumhuriyeti'ndeki keçilerin çoğunlukla *T. gondii*'ye daha az sıklıkla *N. caninum*'a maruz kaldığını ayrıca Çek Cumhuriyeti'ndeki keçilerde *N. caninum* antikorlarının varlığının ilk kez belirlendiğini vurgulamışlardır.

Anastasia vd. (2013) Yunanistan'da küçük ruminant sürüleri arasında *T. gondii* ve *N. caninum* seroprevalansının araştırılması ve karışık sürüde koyun ve keçiler arasındaki prevalans farkının değerlendirilmesi amacıyla ülkenin farklı bölgelerindeki 50 karışık sürüden 833 kan örneğinde (458 koyun ve 375 keçi) spesifik antikorları belirlemek için ELISA ile *N. caninum* seroprevalansını 77 koyunda (%16.8) ve 26 keçide (%6.9) seropozitif olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar (Anastasia vd., 2013) yaptıkları bu çalışmalarında, *N. caninum* seroprevalansının *T. gondii*'den belirgin bir şekilde düşük olduğunu; ayrıca koyunların keçilerden daha yüksek *Neospora* seroprevalansına, keçilerin de koyunlardan daha yüksek bir *Toxoplasma* seroprevalansına sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Cobadiova vd. (2013) Doğu Slovakya’da keçi ve köpeklerin kan ve serum örneklerini üç yıl boyunca toplayarak 116 keçiden 343 serum örneğini ELISA testi ile incelemişler ve *T. gondii* için seropozitiflik oranı %56.9 (66/116) ve *N. caninum* için seropozitiflik oranını %15.5 (18/116) bulmuşlardır. Araştırmacılar (Cobadiova vd., 2013) inceledikleri 25 keçinin 12’sinde *T. gondii* ve 18 keçinin 14’ünde *N. caninum* DNA’sının bulunduğunu ve dört keçinin her iki parazit ile de enfekte olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar her iki parazit için endojen aktarım riskini 41 yavrunun serum örneklerinin incelenmesi ile takip etmiş; yavruların %31.7’si toxoplasmosis ve %14.6’sı neosporosis için seropozitif, köpeklerin ise *T. gondii* için %61.1 ve *N. caninum* için %38.9 oranında seropozitif olduğunu saptamışlar, ayrıca köpek feçeslerinde koksidiyal ookistlere rastlamadıklarını belirtmişlerdir.

Şuteu vd. (2013) Romanya’daki oğlaklarda PCR kullanarak *N. caninum*’un moleküler prevalansını belirlemek amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmalarında 7 bölgede (Alba, Brasov, Cluj, Hunedoara, Mures, Satu-Mare, Valcea) yer alan 13 sürüden yaşları 2 ve 3 arasında değişen 181 oğlaktan diyafram dokuları toplamışlar ve tüm diyafram dokularını *N. caninum* DNA’sının tanımlanması amacıyla PCR ile test etmişler ve Alba ile Hunedoara bölgesinden toplanan oğlakların, diyafram dokularından alınan örneklerden 2 tanesinde %1.1 oranında *N. caninum*’un DNA’sını bulduklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar (Şuteu vd., 2013) elde ettikleri sonuçlar doğrultusunda küçük ruminantlarda *N. caninum*’un varlığını göstermişlerdir.

Unzaga vd. (2014) Arjantin’deki aborte olmuş keçi fetuslarında *T. gondii* ve *N. caninum*’u IFAT ile araştırmışlar ve tüm fetusların %44’ünde (11/25) protozoal enfeksiyonlara, %24’ünde (6/25) *T. gondii*’ye, %8 (2/25)’inde *N. caninum*’a ve %12’sinde (3/25) ise her iki parazit için seropozitifliğe rastladıklarını bildirmişlerdir.

Topazio vd. (2014) Brezilya’nın Santa Catarina eyaletinde *N. caninum* seroprevalansını araştırmak amacıyla 57 belediyeden 654 keçinin kan örneklerini IFAT ile incelemişler ve 30 keçiyi (%4.58) *N. caninum* için seropozitif bulmuşlardır. Araştırmacılar (Topazio vd., 2014) ayrıca keçilerde neosporosis risk faktörlerinin tanımlanması amacıyla yürüttükleri epidemiyolojik çalışmada tek değişkenli analiz kullanarak; keçi ırkları, hayvanlar için sağlanan beslenme düzeni, köpekler ile etkileşim, düşük gibi üreme sorunları ve çiftlikte uygulanan üretim şeklini belirgin bir şekilde neosporosis enfeksiyonu ile bağlantılı bulmuşlardır.

2.9 *Neospora caninum*'un Klinik Belirtileri ve Patogenez

Keçilerde semptomlar abort ve ölü doğumlar şeklinde kendini göstermekte ayrıca neonatal oğlaklarda ensefalitis, doğum ağırlığında azalma, meningesler ve medulla spinaliste yangı ve ataksi de görülmektedir. Bunun yanında hastalığın keçi fetüslerinde otoliz ve mumifikasyon, plasentitis, diyafram, karaciğer ve akciğerlerde yangıya sebep olduğu bildirilmiştir (Dubey, 2003; Bowman vd., 2003).

Neospora caninum'un sığırlarda meydana getirdiği tek klinik belirti aborttur. *Neospora caninum*'a bağlı abortlar sığırlarda gebeliğin 3. ayından itibaren meydana gelmekte ve daha çok gebeliğin 5. ve 6. aylarında görülmektedir. *Neospora caninum*'la enfekte fetuslar uterusu ölebilir, mumifikasyona uğrayabilir, otoliz olabilir ya da ölü doğabilirler (Anderson vd., 2000; Dubey, 1999, 2003; Dubey vd., 2006; Dumanlı ve Aktaş, 2010; Aydın, 2013). Erken doğan buzağılarda *N. caninum* enfeksiyonunun klinik belirtileri gözlenebilir. Klinik belirti gözlenen buzağılarda zayıflık, büyümede yavaşlama ön veya arka bacaklarında ya da her ikisinde bükülme veya gerilmeler, ayrıca nörolojik muayenelerde ataksi, bilinç kaybı, pateller refleksde azalma, yürürken ve dururken dengeyi sağlayamama, normalin altında doğum ağırlığı, ekzoftalmi veya gözlerde asimetri gözlenebilir. Neosporosis enfeksiyonunun bazen hidrosefalus ve medulla spinaliste daralma gibi doğum anomalilerine de sebep olabildiği yapılan araştırmalar sonucunda bulunmuştur (Dubey, 2003; Dubey vd., 2006; Moore, 2005; Dumanlı ve Aktaş, 2010; Aydın, 2013).

Köpeklerde *N. caninum* hem annede hem de yavrularında görülmekte ve erişkin hayvanlarda genellikle semptom oluşturmamaktadır. Konjenital olarak enfekte yavru köpeklerde ise neosporosis çok şiddetli seyretmektedir (Dubey, 2003). Genç köpeklerde arka bacaklarda ortaya çıkan felç, ilerleyici özellik göstermektedir. Nörolojik belirtiler parazitin enfekte ettiği bölgeye bağlı olmakla birlikte, enfeksiyonda arka bacaklar ön bacaklardan daha çok etkilenmekte ve aşırı deformasyon gelişmektedir. Ayrıca yutma güçlüğü, gırtlakta paraliz, kas gevşemesi, kas atrofisi ve kalp yetmezliği de gözlenir. Arka bacaklarında felç oluşan köpeklerin aylarca hayatta kaldıkları gözlenmiştir. Hastalık taşıyan bazı yavrularda ve erişkin köpeklerde MSS'de multifokal yangılar, polimyozitis, myocarditis, hepatitis, pneumoni ve şiddetli dermatitis görülmektedir. Her yaştan köpek hastalıktan etkilenebilir. Subklinik enfekte anneler paraziti fetuslarına nakledebilmekte ve aynı anneden doğan tüm yavrular enfekte doğabilmektedir (Dubey, 2003; Dumanlı ve Aktaş, 2010).

Son yıllarda atlarda neosporosise, *N. caninum*'un yanında nörolojik bozukluklar ile abort yaptığı bildirilen *Neospora hughesi* türünün de neden olduğu yapılan araştırmalar sonucunda belirlenmiştir. Atlarda klinik belirtiler; abort, neonatal taylarda zayıf doğum, ensefalitis, medulla spinalis ve kaslarda yangı, arka ayaklarda felç şeklinde kendini göstermektedir. (Dubey ve Porterfield, 1990; Walsh vd., 2000; Dumanlı ve Aktaş, 2010).

2.10 *Neospora caninum*'un Teşhisi

Keçilerde neosporosisin klinik belirtileri teşhis için yeterli olmadığından *N. caninum*'un teşhisinde, ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), IFAT (İndirekt Floresans Antikor Testi), NAT (Neospora Agglunitasyon Testi) ve DAT (Direkt Agglunitasyon Testi) gibi serolojik testlerin yanında moleküler teknikler de (PCR) kullanılmaktadır. (Björkman ve Uggl, 1999).

Neosporosisin serolojik teşhisinde ELISA ve IFAT sıklıkla kullanılan tekniklerdir (Björkman ve Uggl, 1999). Serolojik testlerde serumda *N. caninum* spesifik antikorların varlığının tespiti sadece parazite maruz kaldığını göstermekte olup, neosporosisin olduğu anlamına gelmemektedir. Ancak yeni doğanın prekolostal serumundan ve düşük fetüsünden alınan peritoneal, perikardiyal ve serebrospinal sıvılardan elde edilen serolojik sonuçlar, transplasental neosporosisin göstergesidir (Williams vd., 1997; Osawa vd., 1998; Dubey, 2003; Dubey ve Schares, 2006).

Kronik olarak enfekte hayvanlarda serolojik tanı yetersiz olup, neosporosisin kesin tanısı için fetusun muayenesi gereklidir. Tüm fetusu incelemek mümkün değilse bile, kan serumu, vücut sıvıları (serobrospinal, perikardiyal, karın iltihabı sıvıları), beyin, kalp, karaciğer ve plasenta teşhis için en uygun örneklerdir. *Neospora caninum* enfeksiyonundan en çok etkilenen organ beyin olup diğer bazı organlarda da lezyonlar görülebilmektedir. Aborte fetusda en karakteristik bulgu fokal ensefalomyelitistir. Neosporosisin patognomik gözle görülebilen lezyonları yoktur (Dubey, 1999; Dumanlı ve Aktaş, 2010; Kul, 2012).

Işık mikroskobu ile yapılan teşhiste; etkenin görülmesi için beyin-omurilik sıvısı, kemik iliği aspiratı veya perifer kandan direk kan yayma preparatları (vücut ısısı yüksek ise) hazırlanabilir. Preparatlar Giemsa, Wright ve PAS (Periodic Asic Schiff) boyama yöntemleri ile boyandıktan sonra mikroskopik inceleme ile etken saptanır (Aydın, 2013). Işık mikroskobunda *N. caninum*'un takizoitlerini *T. gondii*'nin takizoitlerinden

ayırt etmek mümkün olmadığından elektron mikroskobu ile yapılan teşhiste; *N. caninum*'un doku kistlerinin kist duvarı kalınlığı 1-4 mikron, *T. gondii*'nin kist duvarı kalınlığı 1 mikrondan daha ince olduğundan kolaylıkla teşhis edilir (Dubey, 2003; Dumanlı ve Aktaş, 2010; Aydın, 2013).

Teşhiste aborte olmuş fetusun beyin, kalp, karaciğer, plasenta, vücut sıvıları ve kan serumları kullanılır. Neosporosis lezyonları pek çok organda görülebilmesine rağmen en çok etkilenen organ beyindir. Aborte olmuş fetusların otolize uğraması sebebiyle, histolojik inceleme amacıyla fetuslar %10'luk buffered nötral formalin ile fikse edilmeli, ardından hematoksilen-eozin ile boyalı preparatlar hazırlanmalıdır. Otolize olmuş dokularda sadece birkaç *N. caninum* bulunduğundan, hemotoksilen-eozin yerine immunohistokimyasal yöntemlerin kullanılması tercih edilir (Dubey, 2003).

2.11 Neosporosis'de İmmünite

Neospora caninum'da doğal bağışıklık hızlı bir şekilde gelişmekte ve kazanılmış bağışıklık oluşuncaya kadar vücudu patojen etkenlere karşı korumaktadır. Neosporosiste oluşan doğal immünite kronik enfekte sığırlarda abortun oluşmasını belli bir dereceye kadar engellemektedir. *Neospora caninum*'a karşı şekillenen immünite ile ilgili kısıtlı sayıda araştırma bulunmaktadır. Yapılan araştırmalarda neosporosiste oluşan abort oranının sonraki gebeliklerde azaldığı belirlenmiştir. *Neospora caninum* enfeksiyonunun karakteristik özelliklerinden biri de vertikal bulaşmanın önemli bir rol oynamasıdır. Fetus, annedeki kronik enfeksiyonun nüksetmesi sonucu ya da annenin gebelik sırasında primer akut enfeksiyona maruz kalması neticesinde enfekte olabilmektedir. *Neospora caninum* zorunlu hücre içi bir protozoon olduğundan parazite karşı konakta oluşan kazanılmış immünitede özellikle hücresel bağışıklık etkili olmaktadır (Williams ve Trees, 2006; Sevinç ve Ekici, 2007)

2.12 Neospora caninum'da Tedavi ve Aşı Çalışmaları

Neosporosis'e karşı etkin bir tedavi bulunamamakla birlikte tedavi amacıyla primethamine, sulfadiazine ve clindamisin gibi ilaçlar birlikte veya ayrı ayrı kullanılabilir. Laboratuvar çalışmalarında decoquinate'nin takizoitleri öldürdüğü saptanmıştır (Dumanlı ve Aktaş, 2010; Aydın, 2013). Sülfonamid türevlerinin hücre kültüründeki *N. caninum* takizoitlerini öldürmek için etkili olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (Kul, 2012).

Süt sığırlarında hastalığın tedavisi ekonomik olmakla birlikte tedavide kullanılan ilaçların et ve sütte kalıntı oluşturması çeşitli sorunlara yol açmaktadır (Dubey ve Schares, 2011). Bununla birlikte seropozitif sığırlara toltrazuril ve sülfonamid verilmesinin, bir sonraki sene neosporosis kaynaklı abort oranını azalttığını bildirilmiştir (Cuteri vd., 2005). Kanada’da epidemiyolojik bir çalışmada süt vermeyen ineklere monensin verildiğinde *N. caninum*’un seropozitiflik riskinin azaldığı saptanmıştır (VanLeeuwen vd., 2010). *Neospora caninum* enfeksiyonundan korunmak için canlı zayıflatılmış aşı enfekte olmayan hayvanlarda oldukça etkilidir fakat subklinik olarak enfekte sığırlardaki etkinliği hala şüphelidir (Innes vd., 2007; Dubey ve Schares, 2011).

Toltrazuril ve ponazuril’in *N. caninum* ookistleri üzerinde parasitostatik ve parasitosidal etkilerinin olduğu *in vitro* çalışmalar ile ortaya konulmuştur Ponazuril kullanımından sonra beyin ve diğer organlarda parazit gözlenmediği ve toltrazurilin ise deneysel olarak enfekte buzağılarda enfeksiyonun yayılımını ve şiddetini azalttığı bildirilmiştir (Kritzner vd., 2002; Kul, 2012).

Günümüzde neosporosis’e karşı kullanılan ticari bir aşı henüz bulunmamaktadır. Non-infeksiyöz aşı çalışmaları canlı takizoitlerle ekzojen aşı denemelerinde sığırlarda fetal ölümlerinden korunmak için birinci aşamayı oluşturmaktadır. (Innes vd., 2007; Rojo-Montejo, 2011; Moore vd., 2011).

2.13 Neosporosis’de Korunma ve Kontrol

Günümüzde neosporosis’e karşı uygulanan etkin bir tedavi olmadığından hastalığa karşı korunma önemli olup neosporosis’te konjenital enfeksiyonların engellenmesi tedaviden daha önemli bir yer tutmaktadır (Dubey, 2003; Aydın, 2013).

Tatil amaçlı seyahatlerde insanların köpeklerini de beraberinde götürmek istemeleri, neosporosis enfeksiyonunun bölgeler ve hatta ülkeler arasında hızlı bir şekilde yayılmasına yol açmakta dolayısıyla enfeksiyonun kontrol altına alınması önem taşımaktadır (Dubey ve Schares, 2006, 2011).

Köpekler neosporosis’in yayılmasında önemli rol oynamaktadır. Enfeksiyona karşı önlem olarak; sokak köpeği popülasyonu azaltılmalı, köpek dışkıları keçilerin çevresinden arındırılmalı, köpekler keçilerin otladığı mera alanları ve ağılardan uzak tutulmalı, yem ve su kaynaklarına teması engellenmelidir. Keçi sürülerinde rutin olarak

serolojik incelemeler yapılarak abort vakası ile karşılaşıldığında seropozitiflik saptananların sürüden ayrılması sağlanmalıdır (Dubey ve Lindsay, 1996). Neosporosis'in naklinde rol oynayan plasental membranlar ve atık fetusların köpekler tarafından yenilmesine engel olunmalıdır. Fetuslar ve plasental membranlar toplanmalı ve köpeklerin ulaşma imkânları engellenecek bir şekilde etkisiz hale getirilmelidir (Dubey, 1999; Dumanlı ve Aktaş, 2010).

2.14 Neosporosis'in Ekonomik Önemi

Keçilerde *N. caninum* antikorlarının varlığı Brezilya, Arjantin, İspanya, Polanya, Yunanistan, Romanya, Doğu Slovakya, Kuzey ve Güney Ürdün, Sri Lanka, Tayvan gibi dünyanın birçok ülkesinde ve Türkiye'de yapılan araştırmalarla kanıtlanmıştır. Dünyada neosporosisle ilgili yapılan çalışmalarda abort vakalarının %42'sinin epidemiyolojisinde *N. caninum*'un varlığı tespit edilmiştir (Dubey, 2003; Dubey vd., 2007; Abo-Shehada ve Abu-Halaweh, 2010).

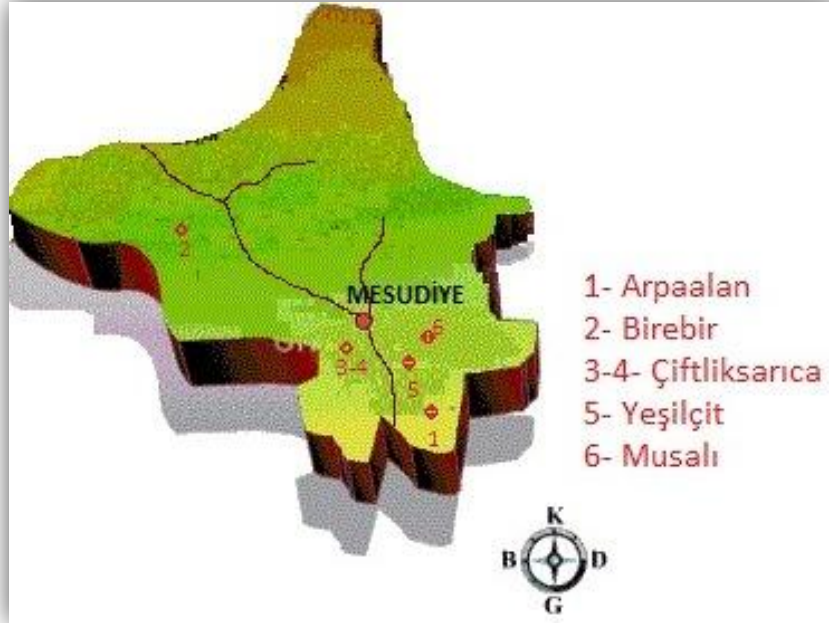
Neosporosis keçi yetiştiriciliğinde özellikle abortlara ve ölü doğumlara sebep olarak önemli ekonomik kayıplar oluşturmasının yanısıra hayvanlarda et ve süt veriminde azalmalara sebep olmaktadır (Aydın, 2013).

BÖLÜM III

MATERYAL ve METOT

3.1 Çalışma Merkezlerinin Seçimi

Bu çalışma, Şubat - Temmuz 2014 tarihleri arasında Ordu ili Mesudiye ilçesinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1). Mesudiye ilçesinin 5 farklı köyünden (Arpaalan, Birebir, Çitliksarıca, Musalı, Yeşilçit) halk tarafından yetiştirilen, 1 yaş ve üzerindeki keçiler rastgele seçilmiştir. Mesudiye yöresinde 5 farklı çalışma merkezinden elde edilen toplam 184 adet dişi keçi çalışmanın materyalini oluşturmuştur.



Şekil 3.1 Keçilerden kan alınan çalışma merkezleri

Mesudiye, Ordu ilinin güneyinde iç kesimde yer alan, hafif eğimli dağlık arazi üzerine kurulmuş şehrin yüzölçümü en büyük ilçesidir. İlçe merkezi Ordu'ya 120km mesafede olup 40°-27'kuzey enlemi ve 37°-46'doğu boylamında bulunmaktadır. Şehir merkezinin denizden yüksekliği 1050m ve yüzölçümü 1101km²'dir. İlçede kışları oldukça soğuk ve uzun sürer. Yağışlar genellikle kar şeklindedir. Yaz ayları ise gündüzleri sıcak, akşama doğru ciddi bir soğuk ile geçer ve yağış yılın her mevsimi etkisini gösterir. Mesudiye'de yıl içinde ölçülen ortalama sıcaklık 10.8°C ve yıllık ortalama yağış miktarı da

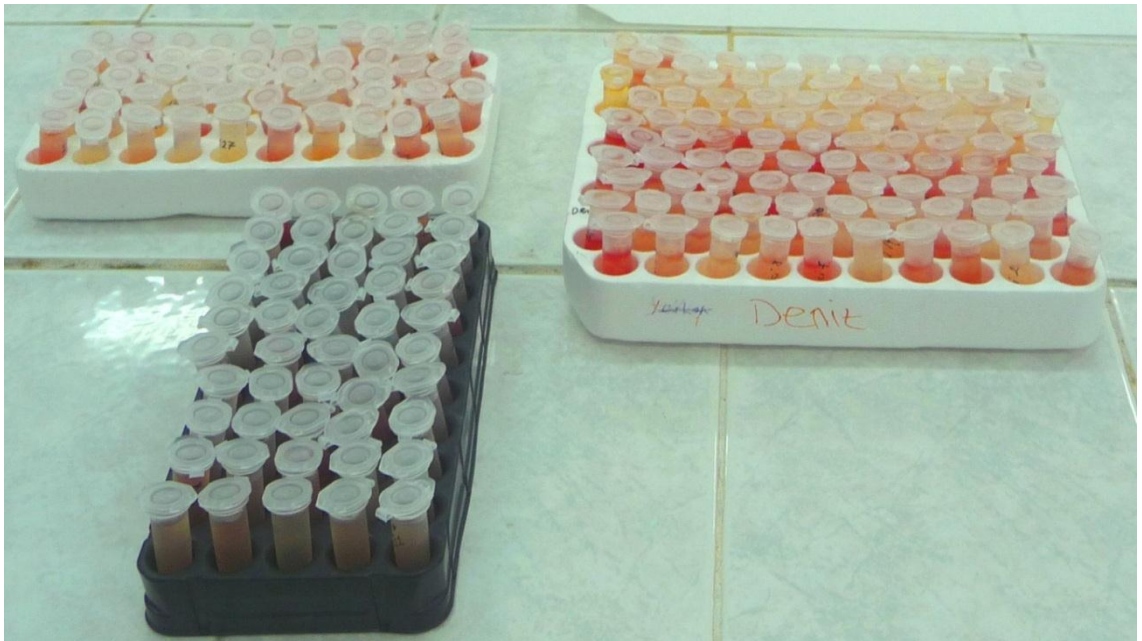
449mm'dir. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2014 verilerine göre Mesudiye'nin nüfusu 16.576'dır. İlçe genel olarak göç veren bir bölgedir. Dolayısıyla tarım faaliyetleri azalmış geçim kaynağı olarak hayvancılık yapılmaya devam etmiştir. Büyükbaş hayvan sayısı 7.766 iken, küçükbaş hayvan sayısı 18.640 olup bunlardan 2985 adetini keçi oluşturmaktadır.

3.2 Saha Çalışmaları

Çalışma merkezlerine çalışma süresince periyodik olarak her ay gidilmiş, Şubat ayında 26 keçi, Mart ayında 30 keçi, Nisan ayında 35 keçi, Mayıs ayında 30 keçi, Haziran ayında 22 keçi ve Temmuz ayında 41 keçi olmak üzere toplam 184 dişi keçinin vena jugularisinden steril vakumlu tüplere tekniğine uygun olarak 10 ml kan alınmıştır. Alınan bu kan örneklerine protokol numaraları verilmiştir. Keçilerin yaşları ve abort yapmış olma durumları belirlenerek kayıt altına alınmıştır. Bunun yanında keçi sahiplerine keçilerin çevresinde köpek olup olmadığı sorulmuş ve köpeklerin varlığı saptanmıştır.

3.3 Laboratuvar Çalışmaları

Keçilerden alınan kan örnekleri laboratuvarında 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları çıkarılmış ve her bir hayvana ait serum 1.5 ml'lik eppendorf tüplere konularak ELISA testi ile serolojik incelemeler yapılincaya kadar -20°C'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir (Fotoğraf 3.1).



Fotoğraf 3.1 Keçi serumlarının eppendorf tüplerde saklanması

3.3.1 Enzyme Linked Immunosorbent Assay Testi (ELISA)

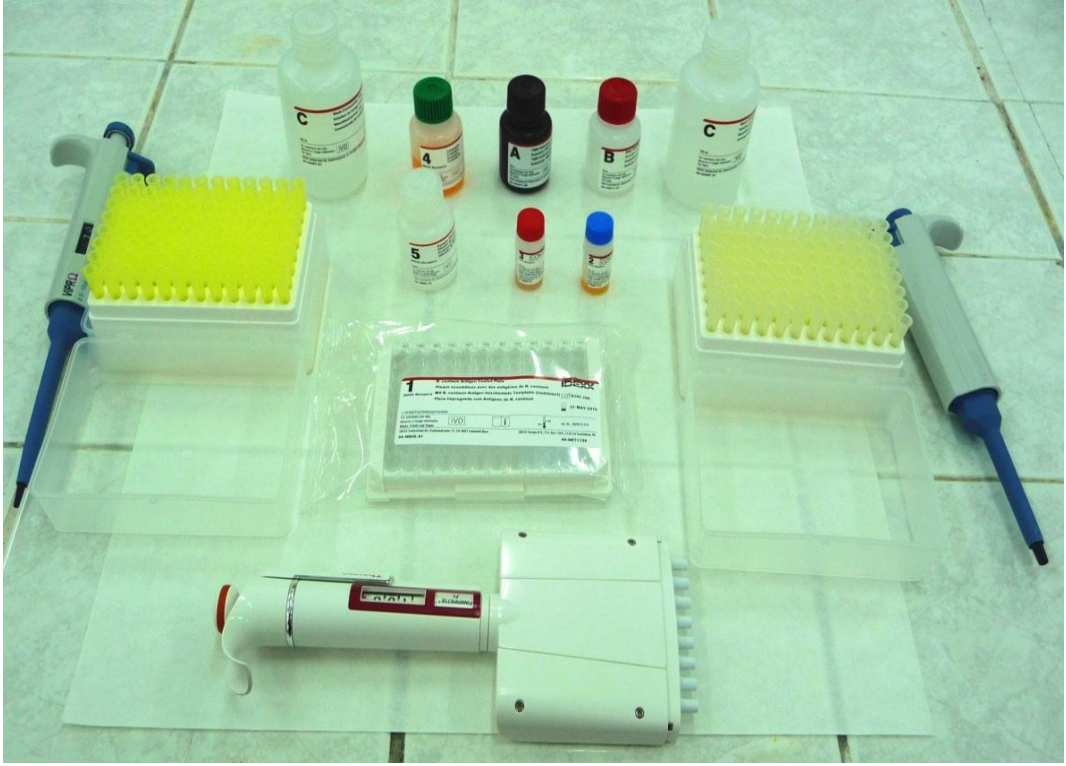
ELISA testi, Niğde Üniversitesi Bor Meslek Yüksekokulu Seroloji Laboratuvarında yapılmıştır. Çalışmada, *N. caninum* antikorlarının araştırılması amacıyla ticari kompetatif ELISA (cELISA) kiti (IDEXX, Switzerland AG Stationsstrasse 12 3097 Liebefeld-Bern, Switzerland) kullanılmıştır. ELISA testi, IDEXX kit prosedüründe belirtildiği şekilde kullanılmıştır (Fotoğraf 3.2).



Fotoğraf 3.2 Serolojik analizde kullanılan ticari kompetatif ELISA kiti

3.3.1.1 Reaktiflerin Hazırlanması

Reaktifleri kullanmadan önce keçi serumları, test solüsyonları ve mikroplyetler (*N. caninum* Antigen Coated Plates) oda sıcaklığına (18-26°C) çıkarılmıştır. Serumların protokol numaraları daha önceden hazırlanmış veri kayıt formu üzerine yazılmıştır. ELISA testi için kullanılacak bütün test solüsyonları ve serumlar vorteks ile karıştırılmıştır. Yıkama solüsyonunu hazırlamak için, yıkama konsantresi (Wash Concentrate 10X) 1:10 oranında distile su ile seyreltilmiştir (Fotoğraf 3.3).



Fotoğraf 3.3 *Neospora caninum*'un serolojik analizinde kullanılan materyaller

3.3.1.2 Mikropleytlerin Hazırlanması

İlk olarak mikropleytlerin her bir kuyucuğuna pipetle 90 µl örnek sulandırıcı (Sample Diluent) eklenmiştir. Mikropleytlerin pozitif ve negatif kontrol kuyucuğuna pipetle 10 µl pozitif ve negatif kontrol konulduktan sonra, pozitif ve negatif kontrol kuyucuğu hariç mikropleytlerin her bir kuyucuğuna veri kayıt formundaki numaralandırmaya göre pipetle 10 µl sulandırmadan serum örnekleri eklenmiştir. Mikropleyt nazıkçe karıştırıldıktan sonra, üzeri alüminyum folyo ile kapatılarak 37°C ($\pm 3^{\circ}\text{C}$) de 60 dakika (± 5 dakika) inkübasyona bırakılmıştır.

3.3.1.3 Yıkama

Mikropleytlerin her bir kuyucuğu 300 µl yıkama solüsyonu (Wash Concentrate 10X) ile 3 kez yıkanmıştır. Her bir yıkamadan sonra tüm kuyucukların içindeki yıkama solüsyonu kağıt havlu üzerine sert bir şekilde birkaç kez vurularak içlerindeki yıkama solüsyonu boşaltılmıştır.

3.3.1.4 Konjugatın Eklenmesi ve İnkübasyonu

Mikropleytlerin her bir kuyucuğuna 100 µl konjugat (Conjugate anti-ruminant IgG) eklenmiştir. Yine aynı şekilde mikropleytlerin üzeri alüminyum folyo ile kapatılarak 37°C (±3°C)'de 60 dakika (±5 dakika) inkübasyona bırakılmıştır.

3.3.1.5 Yıkama

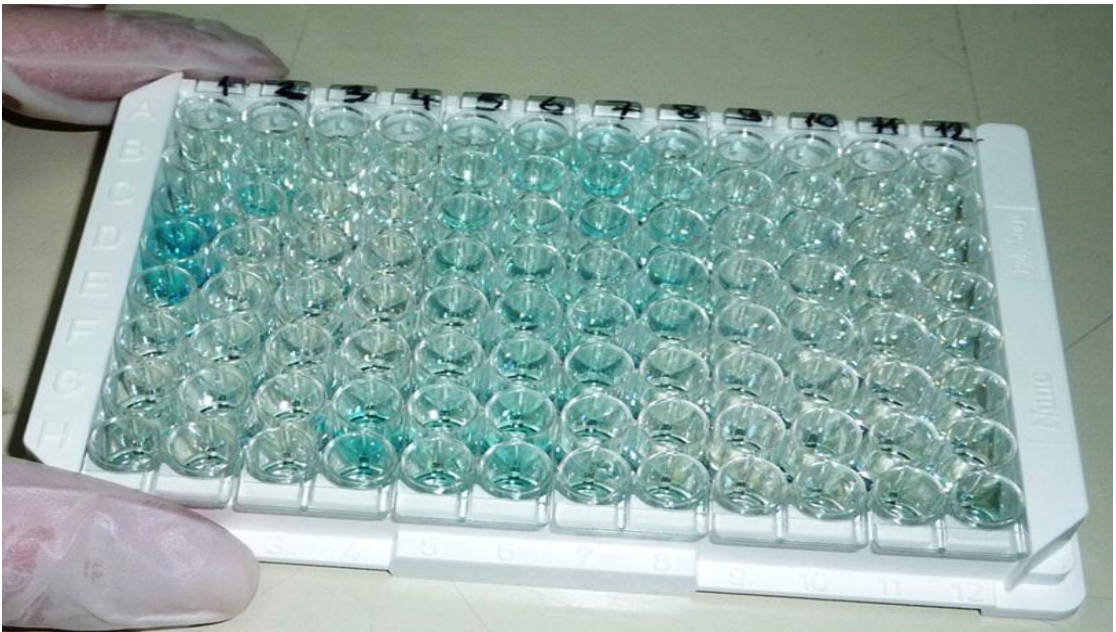
Yıkama işlemi, kit prosedürüne uygun olarak daha önce yapıldığı gibi 3 kez tekrar yapılmıştır.

3.3.1.6 Substratın Eklenmesi ve İnkübasyonu

Mikropleytlerin her bir kuyucuğuna 100 µl substrat (TMB Substrate N.12) eklenmiştir. Oda sıcaklığında (18-26°C) 15 dakika (±1 dakika) inkübasyona bırakılmıştır.

3.3.1.7 Reaksiyonun Durdurulması

Mikropleytlerin her bir kuyucuğuna 100 µl stop solüsyonu (Stop Solution N.3) düzenli ve hızlı bir şekilde eklenmiş ve renk reaksiyonu durdurulmuştur (Fotoğraf 3.4). Test için kullanılan bütün solüsyonlar tekrar kullanılabilmesi amacıyla 2°C-8°C arasında muhafaza edilmiştir.



Fotoğraf 3.4 Mikropleytlere stop solüsyonu eklenerek reaksiyonun durdurulması



Fotoğraf 3.5 ELISA Mikropleyt Okuyucusu

3.3.1.8 Okuma ve Sonuçların Hesaplanması

Stop solüsyonu eklendikten hemen sonra, mikropleyt boşaltılmadan 450 nm dalga boyunda ELISA cihazında (mikrotiter plate okuyucusu, MR-96A) okutularak elde edilen değerler IDEXX kit prosedüründe belirtilen formülden yararlanılarak hesaplanmıştır (Fotoğraf 3.5).

Formül;

$$\% \text{ Değer} = 100 \times \frac{\text{O.D. örnek} - \text{O.D. negatif}}{\text{O.D. pozitif} - \text{O.D. negatif}}$$

O.D. pozitif - O.D. negatif

O.D. örnek : Örneklerin Optikal Yoğunluğu

O.D. pozitif : Pozitif Kontrollerin Optikal Yoğunluğu

O.D. negatif : Negatif Kontrollerin Optikal Yoğunluğu

Bu hesaplama sonucunda, test örneği % değeri;

$< \%30$ küçük ise sonuç negatif

$\geq \%30 - < \%40$ arasında ise sonuç şüpheli

$\geq \%40$ ise sonuç pozitif olarak kabul edilmiştir.

3.4 İstatistiksel Değerlendirmeler

Çalışmada keçilerin yaş grupları, çalışma merkezleri ve abort yapıp yapmadıkları açısından seropozitiflik oranlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Ki-kare testi kullanılmıştır. Bu amaçla SPSS (Statistical Programme for Social Science) for Windows 15.0 İstatistik Paket Programından yararlanılmıştır.

BÖLÜM IV

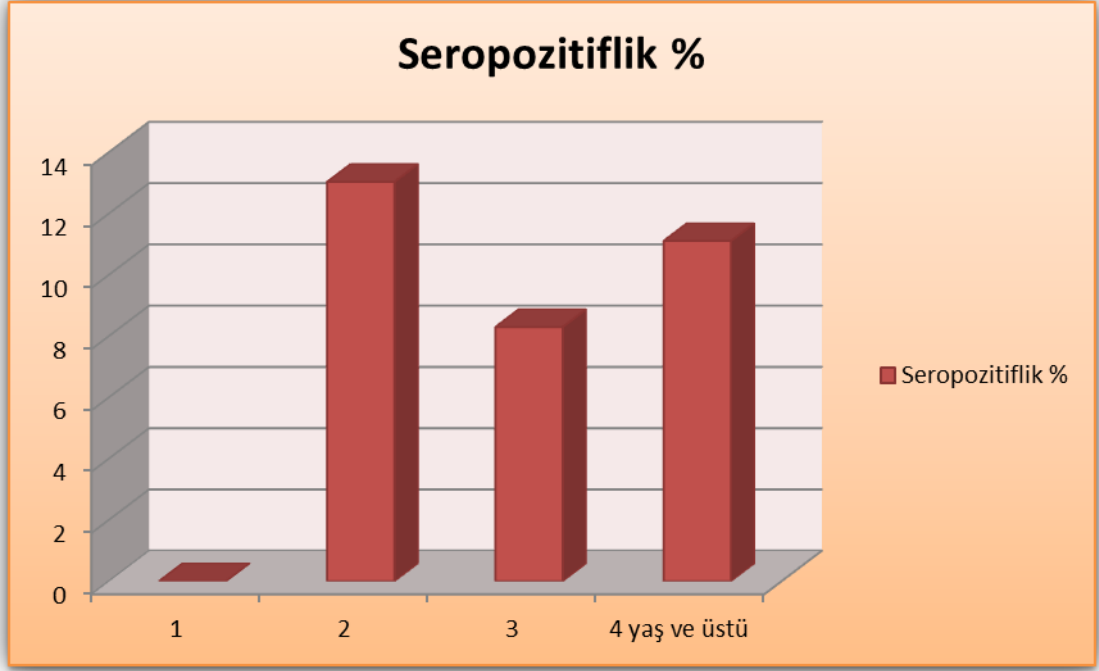
BULGULAR

Ordu'nun Mesudiye ilçesine bağlı 5 farklı çalışma merkezinde 1 yaş ve üzerinde toplam 184 dişi keçinin 16'sında (%8.69) ELISA testi ile *N. caninum* seropozitifliği belirlenmiştir. Ayrıca yöredeki çalışma merkezlerinde incelenen keçi sürülerinin yakınlarında köpeklerin bulunduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Yaş gruplarına göre keçilerde ELISA ile *N. caninum* seropozitifliği

Yaş Grupları	Muayene Edilen Hayvan Sayısı	Seropozitif Hayvan Sayısı	Seroprevalans (%)
1 yaş	26	0	0
2 yaş	23	3	13.04
3 yaş	72	6	8.3
4 yaş ve üstü	63	7	11.11
Toplam	184	16	8.69

Çizelge 4.1.'de belirtildiği gibi yaş grupları açısından; 2 yaşındaki 23 keçinin 3'ünde (%13.04), 3 yaşındaki 72 keçinin 6'sında (%8.33), 4 yaş ve üstü 63 keçinin 7'sinde (%11.11) seropozitiflik saptanırken 1 yaşındaki keçilerde seropozitiflik belirlenememiştir.



Şekil 4.1. Yaş gruplarına göre *N. caninum* antikorlarının seropozitiflik oranı

Şekil 4.1.'de görüleceği üzere, 1 yaşındaki keçilerde seropozitiflik oranı belirlenemezken en fazla seropozitiflik oranı %13.04 ile 2 yaşındaki keçilerde saptanmıştır. Hayvan yaşlarına göre *N. caninum*'un seropozitifliği istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

Çizelge 4.2. Çalışma merkezlerine göre *N. caninum*'un seropozitifliği

Çalışma Merkezi	Aylar	Muayene Edilen Keçi Sayısı	Seropozitif Keçi Sayısı	Seroprevalans (%)
Arpaalan	Şubat	26	1	3.8
Birebir	Mart	30	11	36.6
Çiftlik Sarıca	Nisan	35	0	0
Çiftlik Sarıca	Mayıs	30	1	3.33
Yeşilçit	Haziran	22	0	0
Musalı	Temmuz	41	3	7.31
TOPLAM		184	16	8.69

Çizelge 4.2.'de görüldüğü üzere çalışma merkezleri açısından *N. caninum* seropozitifliği; Arpaalan'da 26 keçiden 1'inde (%3.8), Birebir'de 30 keçiden 11'inde (%36.6), Çiftlikсарıca'da 30 keçiden 1'inde (%3.33) ve Musalı'da 41 keçiden 3'ünde (%7.31) belirlenmiş olup, Nisan ayında Çiftlikсарıca'dan alınan 35 keçide ve Haziran ayında Yeşilçit'ten alınan 22 keçide *N. caninum* antikorları saptanmamıştır.



Şekil 4.2. Çalışma merkezlerine göre *N. caninum* antikorlarının seropozitiflik oranları

Şekil 4.2.'de verildiği gibi en yüksek seropozitiflik oranı %36.6 ile Birebir köyünde saptanmış olup, Çiftlikсарıca (Nisan) ve Yeşilçit köyündeki keçilerden alınan kan örneklerinde *N. caninum* antikorlarına karşı seropozitiflik belirlenememiştir. Çalışma merkezleri açısından Mesudiye yöresinde *N. caninum*'un seropozitifliği istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.001$).

Çizelge 4.3. Abort yapan ve yapmayan keçilerdeki seropozitiflik durumu

Gruplar	Keçi Sayısı	Seropozitif Keçi Sayısı	%
Abort Yapan	6	0	0
Abort Yapmayan	178	16	8.98
Toplam	184	16	8.69

Çizelge 4.3.'de abort yapan ve yapmayan keçilerdeki seropozitiflik durumu verilmiştir. Abort geçmişi olan 6 keçiden hiçbirinde seropozitiflik tespit edilemezken, abort yapmayan 178 keçinin 16'sı (%8.98) seropozitif bulunmuştur. Gruplar arasında seropozitiflik oranı karşılaştırıldığında ortaya çıkan veriler istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

BÖLÜM V

TARTIŞMA VE SONUÇ

Keçiler tropik ve subtropik bölgelerde, zengin hayvansal protein üretimi için yetiştirilen hayvanlardır (Erişir ve Gürdoğan, 2004). Keçilerde neosporosisin de içinde olduğu toxoplasmosis, coccidiosis, babesiosis, theileriosis, sarcosporidiosis, cryptosporidiosis gibi çeşitli protozoon hastalıkları görülmekte ve bu hastalıkların keçi yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyerek ekonomik kayıplara yol açtığı yapılan araştırmalar ile ortaya konulmuştur (Karaer ve Nalbantoğlu, 2005).

Keçilerde neosporosis, *N. caninum* tarafından meydana getirilen dişilerde abort ve ölü doğumlar, neonatal oğlaklarda ensefalitisle sonuçlanan önemli bir protozoer enfeksiyondur (Dubey, 2003; Dubey vd., 2007).

Neosporosisin klinik belirtileri teşhis için yeterli olmadığından, hastalığın teşhisinde ELISA, IFAT, NAT ve DAT gibi serolojik testler ile özellikle moleküler tabanlı tekniklerden yararlanılmaktadır. Neosporosisin serolojik teşhisinde özellikle ELISA ve IFAT sıklıkla kullanılan tekniklerdir (Björkman ve Uggla, 1999).

Dünyada yapılan çalışmalarda, abort vakalarının epidemiyolojisinde *N. caninum*'un varlığı tespit edilmiş ve seropozitif hayvanlarda abort riskinin diğer hayvanlara nazaran daha yüksek olduğu saptanmıştır (Dubey, 2003).

Dünyada keçilerde *N. caninum* ile ilgili yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda; Sri Lanka'da 486 keçide *N. caninum* antikorları ELISA, Western Blot ve IFAT ile incelenmiş ve sadece 3 keçinin serumunda (%0.7) anti-*Neospora caninum*'un antikorları saptanmıştır (Naguleswaran vd., 2004). İtalya'da abort yapan keçilerin beyin ve kalp doku örnekleri incelenmiş ve *N. caninum*'un varlığı keçilerin beyin doku örneklerinde saptanırken, kalp doku örneklerinde belirlenememiştir (Eleni vd., 2004). Brezilya'nın Sao Paulo eyaletinde 19 çiftlikte 394 keçinin serum örneklerinde IFAT ile *N. caninum*'un prevalansı %6.4 (25/394) olarak bulunmuştur (Figliuolo vd., 2004). Brezilya'nın Kuzeydoğu Bölgesinde keçilerde anti-*N. caninum* antikorlarının prevalansı IFAT ile %3.3 olarak saptanmıştır (Faria vd., 2007). Brezilya'nın Bahia eyaletinde *N. caninum* antikorlarının prevalansı IFAT ile 384 serum örneğinin 58'inde (%15) saptanmıştır (Uzeda vd., 2007). Güney Ürdün'de ticari bir enzim immuno-deney kiti (Bommeli Diagnostic) ile 300 keçinin 24'ünde (%8) *N. caninum* seropozitifliği

saptanmıştır (Al-Majali vd., 2008). Polonya’da keçi sürülerinde *N. caninum* enfeksiyonunun seroprevalansı ELISA ve IFAT ile 1060 keçide %9 olarak bulunmuştur (Czopowicz vd., 2011). Kuzeydoğu Brezilya’nın Ibimirim eyaletinde IFAT ile 319 keçinin 85’inde (%26.6) seropozitiflik belirlenmiş ve küçük ruminantlarda hastalığın klinik belirtileri olmamasına rağmen *N. caninum* antikoru tespit edilmiştir (Tembue vd., 2011). Romanya’da ELISA ile *N. caninum*’un seropozitifliği 512 keçiden 12 (%2.3)’sinde bulunmuştur (Iovu vd., 2012). İspanya’da PCR yöntemini kullanarak abort yapmış 26 keçi fetusunun 4’ünde (%15.4) protozoal enfeksiyonlar, 26 keçi fetusunun 3’ünde (%11.5) *N. caninum*’un DNA’sı ve 2 keçi fetusunda protozoal bağımlı lezyonlar gözlenmiş ve küçük ruminant abortlarında *N. caninum*’un önemli bir rol oynadığı vurgulanmıştır (Moreno vd., 2012). Çek Cumhuriyeti’nde ELISA testi kullanarak 251 keçinin 15’inde (%6) seropozitiflik saptanmış ve Çek Cumhuriyeti’nde keçilerde *N. caninum* varlığı ilk kez belirlenmiştir (Bartova ve Sedlak, 2012). Yunanistan’da ELISA testi ile 375 keçinin 26’sında (%6.9) seropozitiflik bulunmuştur (Anastasia vd., 2013). Doğu Slovakya’da ELISA testi ile 116 keçiden 18’inde (%15.5) seropozitiflik ve 18 keçinin 14’ünde *N. caninum* DNA’sı saptanmış, parazitin endojen aktarım riskini saptamak için 41 keçi yavrusunun serumunda %14.6 neosporosis seropozitifliği bulunmuştur (Cobadiova vd., 2013). Romanya’da PCR yöntemi ile 181 oğlağın diyafram dokularından 2 tanesinde %1.1 oranında *N. caninum* DNA’sı bulunmuştur (Şuteu vd., 2013). Arjantin’de IFAT ile 25 keçinin 2’sinde (%8) *N. caninum* için seropozitiflik bulunmuştur (Unzaga vd., 2014). Brezilya’nın Santa Catarina eyaletinde IFAT ile 654 keçinin 30’unda (%4.58) *N. caninum* seropozitifliği bulunmuştur (Topazio vd., 2014). Bu çalışmada Mesudiye yöresinde keçilerde saptanan %8.69’luk prevalans oranının dünyada yapılan bu çalışmalar sonucunda elde edilen prevalans oranlarından farklılık göstermesi, çalışmaların dünyanın değişik coğrafi bölgelerinde yapılmış olmasına, keçilerin yetiştirilme-beslenme şekline ve çalışmalarda kullanılan teşhis yöntemlerine bağlanabilir.

Türkiye’de *N. caninum* ile ilgili yapılmış birçok çalışma vardır. Bu çalışmalar özellikle sığırlar üzerinde gerçekleştirilmiş olup, ayrıca koyun, keçi, at ve köpekler üzerine yapılmış çalışmalar da bulunmaktadır. Türkiye’de keçilerde *N. caninum* ile ilgili yapılmış çalışmalarda ise; Şanlıurfa’da 180 dişi keçinin kan örneği ELISA testi ile incelenmiş ve *N. caninum* enfeksiyonuna 85 kıl keçisinin 4’ünde (%4.7), 95 halep keçisinin 5’inde (%5.2) rastlandığı bildirilmiştir (Sevgili vd., 2003a). Niğde yöresinde

N. caninum antikorlarını belirlemek için ELISA testini kullanarak 181 dişi keçinin 47'sinde (%25.9) seropozitiflik belirlenmiştir (Cayvaz ve Karatepe, 2011). Elazığ, Erzurum ve Kırşehir illerinde *N. caninum* antikorlarını belirlemek amacıyla ELISA testi ile 87 Saanen keçisinin 12'sinde (%13.8) ve 41 Kıl keçisinin 1'inde (%2.4) seropozitiflik bulunmuştur (Utuk vd., 2011). Yapılan bu çalışmada ise Ordu'nun Mesudiye yöresindeki 184 keçinin 16'sında (%8.69) *N. caninum* seropozitifliği saptanmıştır. Bu çalışmada elde edilen seropozitiflik oranının Şanlıurfa yöresinde gerçekleştirilen çalışmada (Sevgili vd., 2003a) tespit edilen sonuçlardan daha yüksek olduğu, Utuk vd. (2011)'nin Elazığ, Erzurum ve Kırşehir yörelerinde elde ettikleri sonuçla uyumluluk gösterdiği, fakat Cayvaz ve Karatepe, (2011)'nin Niğde yöresinde tespit ettikleri sonuçlarla kıyaslandığında ise daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmalarda elde edilen farklı seroprevalans oranları, araştırmanın yapıldığı yöre, keçilerin yetiştirilme şartları, keçi sayısı ve kullanılan serolojik yöntemler gibi faktörlerden kaynaklanabilir.

Bu araştırmada Ordu'nun Mesudiye yöresindeki 1 yaşındaki keçilerde seropozitiflik oranı belirlenemezken en fazla seropozitiflik oranı %13.04 ile 2 yaşındaki keçilerde saptanmıştır. Utuk vd. (2011) Elazığ, Erzurum ve Kırşehir yörelerinde *N. caninum* seropozitifliğini 2-4 yaş arası keçilerde saptadıklarını bildirmişlerdir. Sevgili vd. (2003a) Şanlıurfa yöresi keçilerinde 0-1 yaş arasındaki keçiler ile 1 yaşından büyük olanlar arasında seropozitiflik oranı arasında istatistiksel fark bulamadığını belirtmiştir. Cayvaz ve Karatepe (2011) Niğde yöresinde hayvan yaşlarına göre *N. caninum* seropozitifliğini önemli olarak bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise hayvan yaşlarına göre *N. caninum* seropozitifliği istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Bu farklılıkların nedeni çalışmaların farklı bölgelerde yapılmış olmasına ve çalışmada kullanılan keçilerin sayısı ve ırkına bağlanabilir.

Bu araştırmada Ordu'nun Mesudiye yöresindeki keçilerde çalışma merkezleri açısından *N. caninum*'un seropozitifliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş olup ($P<0.001$) en yüksek seropozitiflik oranı %36.6 ile Birebir köyünde saptanmış, Çiftlik Sarıca (Nisan ayı) ve Yeşilçit köyündeki keçilerde ise *N. caninum* seropozitifliği belirlenememiştir. Bu sonuç araştırmaların gerçekleştirildiği çalışma merkezlerinde uygulanan farklı yetiştirme koşullarına ve son konak köpeklerin sayısı ile bunların keçilerin ağıl, yem ve suları ile temasındaki farklılıklarla ilişkili olabilir.

Bunun yanında bu çalışmada abort yapan ve yapmayan keçilerde *N. caninum* seropozitifliğinin varlığı karşılaştırıldığında elde edilen veriler istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Bu sonuç Niğde yöresinde Cayvaz ve Karatepe (2011)'nin keçilerin abort yapma oranlarında buldukları istatistiksel sonuçla uyum göstermektedir.

Küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplara sebep olan neosporosisin biyolojisinde son konak köpekler önemli rol oynamaktadır. Bu sebeple enfeksiyondan korunma ve kontrolde, sokak köpeklerinin sayısı sınırlandırılmalı, köpek dışkıları keçilerin çevresinden arındırılarak keçilerin otladığı mera alanlarına ve ağıllara, yem ve su kaynaklarına teması engellenmelidir. Plasental membranlar ve atık fetus kalıntıları ve çiğ etlerin köpekler tarafından yenilmesine engel olunmalı ve son konak köpeklerin keçilerin yem ve suları ile kontaminasyonu önlenmelidir.

Sonuç olarak, bu çalışma ile Mesudiye yöresindeki keçilerde *N. caninum*'un varlığı ve yaygınlığı saptanmıştır. Enfeksiyonun keçilerde abortlara ve ölü doğumlara neden olabileceği dikkate alındığında özellikle küçükbaş hayvanlarda abortların sebeplerinin araştırıldığı çalışmalarda neosporosis'in de göz önünde tutulmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Abo-Shehada, M.N. and Abu-Halaweh, M.M., “Flock-level seroprevalence of and risk factors for, *Neospora caninum* among sheep and goats in northern Jordan”, ***Preventive Veterinary Medicine*** 93, 25-32, 2010.

Akca, A., Gokce, H.I., Guy, C.S., McGarry, J.W. and Williams D.J.L., “Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in local and imported cattle breeds in the Kars province of Turkey”, ***Research in Veterinary Science*** 78, 123-126, 2005.

Aktaş, M., Şaki, C.E., Altay, K., Şimşek, S., Ütük, A.E., Köroğlu, E. ve Dumanlı, N., “Doğu Anadolu Bölgesinin Bazı İllerinde Bulunan Sığırlarda *Neospora caninum*’un Araştırılması”, ***Türkiye Parazitoloji Dergisi*** 29(1), 22-25, 2005.

Al-Majali, A.M., Jawasreh, K.I., Talafha, H.A. and Talafha, A.Q., “Neosporosis in Sheep and Different Breeds of Goats from Southern Jordan: Prevalence and Risk Factors Analysis”, ***American Journal of Animal and Veterinary Sciences*** 3(2), 47-52, 2008.

Anastasia, D., Elias, P., Nikolaos, P., Charilaos, K. and Nektarios, G., “*Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* seroprevalence in dairy sheep and goats mixed stock farming”, ***Veterinary Parasitology*** 198, 387-390, 2013.

Anderson, M.L., Andrianarivo, A.G. and Conrad, P.A., “Neosporosis in cattle”, ***Animal Reproduction Science*** 60(61), 417-431, 2000.

Aguiar, D.M., Cavalcante, G.T., Rodrigues, A.A.R., Labruna, M.B., Camargo, L.M.A., Camargo, E.P. and Gennari, S.M., “Prevalence of anti- *Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from Western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors”, ***Veterinary Parasitology*** 142(1-2), 71-77, 2006.

Atkinson, R.A., Cook, R.W., Reddacliff, L.A., Rothwell, J., Broady, K.W., Harper, P.A.W. and Ellis, J.T., “Seroprevalence of *Neospora caninum* infection following an abortion outbreak in a dairy cattle herd”, ***Australian Veterinary Journal*** 78(4), 262-266, 2000.

Aydın, L., Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları, Cilt-1, ed., Özcel, M.A., İnci, A., Köroğlu, E., Karaer, Z., Eren, H., Yukarı, B.A., Dumanlı, N. ve Yıldırım, A., **Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No: 24, Meta Basım**, İzmir, 2013.

Aytekin, H., Kamburgil, K., Handemir, E. ve Altınöz, F., “Konya yöresindeki sığırlarda *Neospora caninum*’un yaygınlığının serolojik olarak araştırılması”, **Etlik Vet. Mikrobiyol Derg.** 24, 49-53, 2013.

Barr, B.C., Anderson, M.L., Blanchard, P.C., Daft, B.M., Kinde, H. and Conrad, P.A., “Bovine Fetal Encephalitis and Myocarditis Associated with Protozoal Infections”, **Veterinary Pathology** 27, 354-361, 1990.

Bartova, E. and Sedlak, K., “*Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in goats in the Czech Republic”, **Veterinarni Medicina** 57(3), 111-114, 2012.

Bıyıkoglu, G., Aksoy, E., Bozkır, M., Küçükayan, U ve Ertürk, A., “İç Anadolu Bölgesi Sığırlarında *Neospora caninum*’un Varlığının Araştırılması”, **12. Ulusal Parazitoloji Kongresi**, Elazığ, 2001.

Björkman, C. and Uggla, A., “Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection”, **International Journal for Parasitology** 29(10), 1497-1507, 1999.

Bowman, D.D., Lynn, R.C. and Eberhard, M.L., *Georgis Parasitology for Veterinarians*, Elsevier Science, **USA** 2003.

Cayvaz, M. ve Karatepe, M., “Niğde Yöresi Keçilerinde *Neospora caninum*’un Seroprevalansı”, **Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.** 17(6), 935-939, 2011.

Cedillo, C.J.R., Martinez, M.J.J., Santacruz, A.M., Banda, R.V.M. and Morales, S.E., “Models for experimental infection of dogs fed with tissue from fetuses and neonatal cattle naturally infected with *Neospora caninum*”, **Veterinary Parasitology** 154, 151-155, 2008.

Cobadiova, A., Reiterova, K., Derdakova, M., Spilovska, S., Turcekova, L., Hviscova, I. and Hisira, V., “*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and tick-transmitted

bacterium *Anaplasma phagocytophilum* infections in one selected goat farm in Slovakia”, *Acta Parasitologica* 58(4), 541-546, 2013.

Coskun, S.Z., Aydın, L. and Bauer, C., “Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in domestic dogs in Turkey”, *The Veterinary Record* 146, 649, 2000.

Czopowicz, M., Kaba, J., Szalu’s-Jordanow, O., Nowicki, M., Witkowski, L. and Frymus, T., “Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goats in Poland”, *Veterinary Parasitology* 178, 339–341, 2011.

Cuteri, V., Nisoli, L., Prezioso, S., Attili, A.R., Guerra, C., Lulla, D. and Traldi, G., “Application of a New Therapeutic Protocol Against *Neospora caninum*-Induced Abortion in Cattle: A Field Study”, *Journal of Animal and Veterinary Advances* 4(5), 510, 2005.

Dubey, J.P., Carpenter, J.L., Speer, C.A., Topper, M.J. and Uggla, A., “Newly recognized fatal protozoon disease of dogs”, *Journal of the American Veterinary Medical Association* 192, 1269-1285, 1988.

Dubey, J.P. and Porterfield, M.L., “*Neospora caninum* (Apicomplexa) in an aborted equine fetus”, *Journal Parasitology* 76, 732-734, 1990.

Dubey, J.P. and Lindsay, D.S., “A review of *Neospora caninum* and neosporosis”, *Veterinary Parasitology* 67, 1-59, 1996.

Dubey, J.P., “Recent advances in *Neospora* and neosporosis”, *Veterinary Parasitology* 84, 349-367, 1999.

Dubey, J.P., Barr, B.C., Barta, J.R., Bjerkas, I., Björkman, C., Blagburn, B.L., Bowman, D.D., Buxton, D., Ellis, J.T., Gottstein, B., Hemphill, A., Hill, D.E., Howe, D.K., Jenkins, M.C., Kobayashi, Y., Koudela, B., Marsh, A.E., Mattsson, J.G., McAllister M.M., Modry, D., Omata, Y., Sibley, L.D., Speer, C.A., Trees, A.J., Uggla, A., Upton, S.J., Williams, D.J.L. and Lindsay, D.S., “Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia”, *International Journal for Parasitology*, 32, 929-946, 2002.

Dubey, J.P., “Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals”, ***The Korean Journal of Parasitology*** 41(1), 1-16, 2003.

Dubey, J.P., “Toxoplasmosis-a waterborne zoonosis”, ***Veterinary Parasitology*** 126, 57-72, 2004.

Dubey, J.P. and Schares, G., “Diagnosis of bovine neosporosis”, ***Veterinary Parasitology*** 140(1-2), 1-34, 2006.

Dubey, J.P., Buxton, D. and Wouda, W., “Pathogenesis of Bovine Neosporosis”, ***Journal of Comparative Pathology*** 134(4), 267-289, 2006.

Dubey, J.P., Schares, G. and Ortega-Mora, L.M., “Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*”, ***Clinical Microbiology Reviews*** 20(2), 323-367, 2007.

Dubey, J.P. and Schares, G., “Neosporosis in animals-The last five years”, ***Veterinary Parasitology*** 180, 90-108, 2011.

Dumanlı, N. ve Aktaş, M., Veteriner Protozooloji, ed., Dumanlı, N. Karaer, Z., ***Medisan Yayınevi***, Ankara, 2010.

Düzlü, Ö., İnci, A., Yıldırım, A., Önder, Z. ve Çiloğlu, A., “Köpek periferik kan örneklerinde *Neospora caninum* ve *Toxoplasma gondii* takizoitlerinin TaqMan prob bazlı Real Time PCR ile araştırılması”, ***Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*** 61, 283-288, 2014.

Eleni, C., Crotti, S., Manuali, E., Costarelli, S., Filippini, G., Moscati, L. and Magnino, S., “Detection of *Neospora caninum* in an aborted goat foetus”, ***Veterinary Parasitology*** 123, 271–274, 2004.

Erişir, Z. ve Gürdoğan, F., “Ekstansif Şartlarda Kıl Keçilerinin Döl ve Süt Verim Özellikleri”, ***Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları***, 109-112, 2004.

Faria, E.B., Gennari, S.M., Pena, H.F.J., Athayde, A.C.R., Silva, M.L.C.R. and Azevedo, S.S., “Prevalence of anti- *Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum*

antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Parai'ba State, Northeast region of Brazil", **Veterinary Parasitology** 149, 126-129, 2007.

Figliuolo, L.P.C., Rodrigues, A.A.R., Viana, R.B., Aguiar, D.M., Kasai, N. and Gennari, S.M., "Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goat from São Paulo State, Brazil", **Small Ruminant Research** 55, 29–32, 2004.

Georgieva, D.A., Prelezov, P.N. and Koinarski, V.T.S., "*Neospora caninum* and Neosporosis in Animals- A Review", **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine** 9(1), 1-26, 2006.

Gondim, L.F.P., McAllister, M.M., Pitt, W.C. and Zemlicka, D.E., "Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*", **International Journal for Parasitology** 34, 159-161, 2004a.

Gondim, L.F.P., McAllister, M.M., Mateus-Pinilla, N.E., Pitt, W.C., Mech, L.D. and Nelson, M.E., "Transmission of *Neospora caninum* between wild and domestic animals", **Journal of Parasitology** 90(6), 1361-1365, 2004b.

Günlü, A. ve Alaşahan, S., "Türkiye’de Keçi Yetiştiriciliği ve Geleceği Üzerine Bazı Değerlendirmeler", **Vet Hekim Der Derg** 81(2), 15-20, 2010.

Innes, E.A., Bartley, P.M., Maley, S.W., Wright, S.E. and Buxton, D., "Comparative host-parasite relationships in ovine toxoplasmosis and bovine neosporosis and strategies for vaccination", **Vaccine** 25, 5495-5503, 2007.

Iovu, A., Györke, A., Mircean, V., Gavrea, R. and Cozma, V., "Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dairy goats from Romania", **Veterinary Parasitology** 186, 470– 474, 2012.

İça, A., Yıldırım, A., Düzlü, Ö. ve İnci, A., "Kayseri Yöresinde Sığırlarda *Neospora caninum*’un Seroprevalansı", **Türkiye Parazitoloji Dergisi** 30(2), 92-94, 2006.

- Jardine, J.E., “The ultrastructure of bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum* in dogs: absence of distinguishing morphological features between parasites of canine and bovine origin”, ***Veterinary Parasitology*** 62, 231-240, 1996.
- Karaer, Z. ve Nalbantoğlu, S., Parazit Hastalıklarında Tedavi, ed., Burgu, A. ve Karaer, Z., ***Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No: 19, Meta Basım***, İzmir, 2005.
- Karatepe, M. ve Karatepe, B., “Niğde Yöresinde Atlarda *Neospora spp.* Seroprevalansının Araştırılması”, ***Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*** 18, A39-A42, 2012.
- Kritzner, S., Sager, H., Blum, J., Krebber, R., Greif, G. and Gottstein, B., “An explorative study to assess the efficacy of Toltrazuril-sulfone (Ponazuril) in calves experimentally infected with *Neospora caninum*”, ***Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*** 1, 1-4, 2002.
- Kul, O., Kabakci, N., Yildiz, K., Ocal, N., Kalender, H. and İlkme, N.A., “*Neospora caninum* associated with epidemic abortions in dairy cattle: The first clinical neosporosis report in Turkey”, ***Veterinary Parasitology*** 159(1), 69-72, 2009.
- Kul, O., “Epidemiology and Pathogenesis of *Neospora caninum* Infection: Special Emphasis to Neosporosis Status of Turkey”, ***Animal Health, Production and Hygiene*** 1(2), 70-79, 2012.
- Kurtdede, A., Küplülü, Ş., Ural, K., Cıngı, C.Ç., Güzel, M., Karakurum, M.Ç. ve Haydardedeoğlu, A.E., “Serodiagnosis of bovine neosporosis with immunocomb assay in Ankara region”, ***Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*** 53, 207-209, 2006.
- McAllister, M.M., Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Jolley, W.R., Wills, R.A. and McGuire, A.M., “Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*”, ***International Journal for Parasitology*** 28, 1473-1478, 1998.
- Moore, D.P., “Neosporosis in South America”, ***Veterinary Parasitology*** 127, 87-97, 2005.

Moore, D.P., Echaide, I., Verna, A.E., Leunda, M.R., Cano, A., Pereyra, S., Zamorano, P.I., Odeon, A.C. and Campero, C.M., “Immune response to *Neospora caninum* native antigens formulated with immune stimulating complexes in calves”, **Veterinary Parasitology** 175, 245-251, 2011.

Mor, N. ve Akça, A., “Kars Yöresinde Sığır ve Köpeklerde *Neospora caninum* Üzerine Epidemiyolojik Araştırmalar: Gruplararası Çalışma”, **Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.** 18, A193-A199, 2012.

Moreno, B., Collantes-Fernandez, E., Villa, A., Navarro, A., Regidor-Cerrillo, J. and Ortega-Mora, L.M., “Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in ovine and caprine abortions”, **Veterinary Parasitology**, 187, 312-318, 2012.

Naguleswaran A., Hemphill A., Rajapakse R.P.V.J. and Sager H., “Elaboration of a crude antigen ELISA for serodiagnosis of caprine neosporosis: validation of the test by detection of *Neospora caninum*-specific antibodies in goats from Sri Lanka”, **Veterinary Parasitology** 126, 257–262, 2004.

Osawa, T., Wastling, J., Maley, S., Buxton, D. and Innes, E.A., “A multiple antigen ELISA to detect *Neospora*-specific antibodies in bovine sera, bovine foetal fluids, ovine and caprine sera”, **Veterinary Parasitology** 79, 19-34, 1998.

Öncel, T. ve Bıyıkoglu, G., “Sakarya Yöresi Süt Sığırlarında Neosporosis Caninum”, **Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med.** 22(1-2-3), 87-89, 2003.

Pare, J., Thurmond, M.C. and Hietala, S.K., “*Neospora caninum* Antibodies in Cows During Pregnancy as a Predictor of Congenital Infection and Abortion”, **Journal Parasitology** 83, 82-87, 1997.

Reichel, M.P., “*Neospora caninum* infections in Australia and New Zealand”, **Australian Veterinary Journal** 78(4), 258-261, 2000.

Reitt, K., Hilbe, M., Voegtlin, A., Corboz, L., Haessig, M. and Pospischil, A., “Aetiology of Bovine Abortion in Switzerland from 1986 to 1995- A Retrospective

Study with Emphasis on Detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* by PCR”, *Journal of Veterinary Medicine* 54, 15-22, 2007.

Rojo-Montejo, S., Collantes-Fernandez, E., Regidor-Cerrillo, J., Rodriguez-Bertos, A., Prenafeta, A., Gomez-Bautista, M. and Ortega-Mora, L.M., “Influence of adjuvant and antigen dose on protection induced by an inactivated whole vaccine against *Neospora caninum* infection in mice”, *Veterinary Parasitology* 175, 220-229, 2011.

Sevgili, M., Çimtay, İ. ve Keskin, O., “Şanlıurfa Yöresindeki Keçilerde *Neospora caninum* Enfeksiyonunun Seroprevalansı”, *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 27(4), 249-251, 2003a.

Sevgili, M., Şahin, T., Çimtay, İ., Çetin, H., Keskin, O. ve Gökçen, A., “Şanlıurfa Yöresi Safkan Arap Kısıraklarında *Neospora caninum* Antikorlarının Belirlenmesi”, *YYÜ Vet. Fak. Derg.* 14(2), 15-17, 2003b.

Sevgili, M., Altaş, M.G. and Keskin, O., “Seroprevalence of *Neospora caninum* in Cattle in the Province of Şanlıurfa”, *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 29, 127-130, 2005.

Sevinç, F. ve Ekici, Ö.D., Tıbbi ve Veteriner İmmunoparazitoloji, ed., Özcel, M.A., Turgay, N., İnci A., Köroğlu, E. *Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No: 21, Meta Basım*, İzmir, 2007.

Schares, G., Heydorn, A.O., Cüppers, A., Conraths, F.J. and Mehlhorn, H., “Cyclic transmission of *Neospora caninum*: serological findings in dogs shedding oocysts”, *Parasitology Res* 87, 873-877, 2001a.

Schares, G., Heydorn, A.O., Cüppers, A., Conraths, F.J. and Mehlhorn, H., “*Hammondia heydorni*- like oocysts shed by a naturally infected dog and *Neospora caninum* NC-1 cannot be distinguished”, *Parasitology Res* 87, 808-816, 2001b.

Slapeta, J.R., Modry, D., Kyselova, I., Horejs, R., Lukes, J. and Koudela, B., “Dog shedding oocysts of *Neospora caninum*: PCR diagnosis and molecular phylogenetic approach”, *Veterinary Parasitology* 109, 157-167, 2002.

Silva, A.F.da; Brandao, F.Z. Ferreira, A.M.R. Historico da Neosporose na Caprinocultura. **Arq. Cienc. Vet. Zool. UNIPAR, Umuarama**, 16, (1), 73-78, 2013.

Systema Natura, 2010. <http://taxonomicon.taxonomy.nl/TaxonTree.aspx?id=637468&src=0>, 10.06.2015.

Şuteu, O., Paştiu, A., Györke, A., Avram, E. and Cozma, V., “Molecular detection of *Neospora caninum* in slaughtered goat kids from Romania”, **Sci. Parasitol** 14(1), 43-46, 2013.

Tembue, A.A.S.M., Ramos, R.A.N., Sousa, T.R., Albuquerque, A.R., Costa, A.J., Meunier, I.M.J., Faustino, M.A.G. and Alves, L.C., “Serological survey of *Neospora caninum* in small ruminants from Pernambuco State, Brazil”, **Rev. Bras. Parasitol. Vet. Jaboticabal** 20(3), 246-248, 2011.

Thilsted, J.P. and Dubey, J.P., “Neosporosis- like abortions in a herd of dairy cattle”, **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation** 1, 205-209, 1989.

Topazio, J.P., Weber, A., Camillo, G., Vogel, F.F., Machado, G., Ribeiro, A., Moura, A.B., Lopes, L.S., Tonin, A.A., Solda, N.M., Braunig, P. and Silva, A.S., “Seroprevalence and risk factors for *Neospora caninum* in goats in Santa Catarina state, Brazil”, **Braz. J. Vet. Parasitol Jaboticabal** 23(3), 360-366, 2014.

Trees, A.J. and Williams, D.J.L., “Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*”, **Trends in Parasitology** 21, 558-561, 2005.

TÜİK, T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu, Nüfus İstatistikleri, www.tuik.gov.tr, 2015. (25.03.2015)

Unzaga, J.M., More, G., Bacigalupe, D., Rambeaud, M., Pardini, L., Dellarupe, A., Felice, L.D., Gos, M.L. and Venturini, M.C., “*Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goat abortions from Argentina”, **Parasitology International** 63, 865-867, 2014.

- Uzeda, R.S., Pinheiro, A.M., Fernandez, S.Y., Ayres, M.C.C., Gondim, L.F.P. and Almeida, M.A.O., “Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy goats from Bahia, Brazil”, ***Small Ruminant Research*** 70, 257–259, 2007.
- Utuk, A.E., Simsek, S., Piskin, F.C. and Balkaya, I., “Detection of *Neospora caninum* IgG Antibodies in Goats in Elazig, Erzurum and Kırsehir Provinces of Turkey”, ***Israel Journal of Veterinary Medicine*** 66(4), 157-160, 2011.
- VanLeeuwen, J.A., Haddad, J.P., Dohoo, I.R., Keefe, G.P., Tiwari, A. and Tremblay, R., “Associations between reproductive performance and seropositivity for bovine leukemia virus, bovine viral-diarrhea virus, *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis and *Neospora caninum* in Canadian dairy cows”, ***Preventive Veterinary Medicine*** 94, 54-64, 2010.
- Vural, G., Aksoy, E., Bozkir, M., Kuçukayan, U. and Erturk, A., “Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle herds in central Anatolia, Turkey”, ***Veterinarski Arhiv*** 76(4), 343-349, 2006.
- Yıldız, K., Yasa Duru, S., Yagcı, B.B., Babur, C., Ocal, N., Gurcan, S. and Karaca, S., “Seroprevalence of *Neospora caninum* and Coexistence with *Toxoplasma gondii* in Dogs”, ***Türkiye Parazitoloji Dergisi*** 33(2), 116-119, 2009a.
- Yıldız, K., Kul, O., Babur, C., Kılıc, S., Gazyagcı, A.N., Celebi, B. and Gurcan, I.S., “Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle ranches with high abortion rate: Special emphasis to serologic co-existence with *Toxoplasma gondii*, *Brucella abortus* and *Listeria monocytogenes*”, ***Veterinary Parasitology*** 164, 306-310, 2009b.
- Walsh, C.P., Durcan Jr, R.B., Zajac, A.M., Blagburn, B.L. and Lindsay, D.S., “*Neospora hughesi*: experimental infections in mice, gerbils and dogs”, ***Veterinary Parasitology*** 92, 119-128, 2000.
- Williams, D.J.L., McGarry, J., Guy, F., Barber, J. and Trees, A.J., “Novel ELISA for detection of *Neospora*-specific antibodies in cattle”, ***The Veterinary Record*** 140, 328-331, 1997.

Williams, D.J.L. and Trees, A.J., "Protecting babies: vaccine strategies to prevent foetopathy in *Neospora caninum* infected cattle", *Parasite Immunology* 28, 61-67, 2006.

Wouda, W., "Diagnosis and epidemiology of bovine neosporosis: a review", *Veterinary Quarterly* 22(2), 71-74, 2000.

ÖZ GEÇMİŞ

Deniz Özdamar 22.05.1989 tarihinde Mesudiye’de doğdu. İlkokul 3’üncü sınıfa kadar Ordu Mesudiye Yatılı İlköğretim Bölge Okulu’nda, 4. ve 5. sınıfları Ordu Perşembe Atatürk İlkokulu’nda, 6. 7. 8. sınıfları Ordu Hamdullah Suphi Tanrıöver Ortaokulu’nda, liseyi Ordu Fatih Lisesi’nde tamamladı. 2008 yılında yerleştiği Niğde Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden Haziran 2012’de mezun oldu. 2012’de Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Parazitoloji üzerine yüksek lisans öğrenimine başladı.