



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



DOKTORA TEZİ

**İSTANBUL'DAKİ ATLARDA THEILERIA EQUI ve BABESIA CABALLI'NIN
YAYILIŞI ve MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Fatma Nur DAL

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Aynur GÜLANBER**

**II. DANIŞMAN
Prof. Dr. Mustafa Necati MUZ**

Parazitoloji Anabilim Dalı

Veterinerlik Parazitolojisi, Doktora Programı

Haziran, 2023

Bir öge seçin.

Aileme ithaf ediyorum...

BÜTÇE DESTEKLERİ

İSTANBUL'DAKİ ATLARDA THEILERIA EQUI ve BABESIA CABALLI'NIN YAYILIŞI VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Bu tez çalışması için herhangi bir kurumdan bütçe desteği alınmamıştır.



TEŞEKKÜR

Yaşamımda çok özel yere sahip olan, mesleki ve etik duruşunu örnek aldığım, kıymetli hocam doktora tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Aynur GÜLANBER'e doktora eğitimim boyunca esirgemediği bilgeliği, içtenliği ve tez sürecimdeki tüm destek ve katkıları için çok teşekkür ederim.

Bu doktora tezinin laboratuvar aşamalarında ihtiyaç duyulan sarf, cihaz ve hizmet alımlarında, moleküler analiz ve benzeri süreçlerde katkısı olan doktora ikinci danışmanım Sayın Prof. Dr. Mustafa Necati MUZ'a teşekkür ederim.

Tez izleme komitemde olup çalışmalarımı takip eden, destekleyen Sayın Prof. Dr. Handan ÇETİNKAYA'ya ve Sayın Prof. Dr. Mehmet Erman OR'a,

Anabilim dalında görev yaptığım süre boyunca iyi niyeti ve nezaketiyle sağladığı tüm imkânlar için Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalı başkanı Sayın Prof. Dr. Cem VURUŞANER'e,

Doktora dönemim boyunca bilgi ve deneyimlerini paylaşan, moral ve güç veren Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Doç. Dr. Kerem ÖTER'e ve Sayın Doç. Dr. Meltem ULUTAŞ ESATGİL'e, ve aynı mesaiyi paylaştığım Araştırma Görevlileri Dr. İlker EFİL ve Dr. Zahide BİLGİN'e,

Tez çalışmamda atıcılık üzerine bilgileri ve deneyiminden istifade ettiğim Öğr. Gör. Dr. İbrahim KURBAN'a,

Tez materyalinin toplanması sırasında at sahipleriyle iletişim kurmamda ve atları ziyaret etmemde desteklerini gördüğüm veteriner hekim meslektaşlarıma,

Bu tezin ana araştırma materyali olan kan numunelerini sağlayan at sahiplerine,

Saha çalışmalarım ve doktora dönemim boyunca dostluğu ile yanımda olan kıymetli kardeşim, meslektaşım Dokt. Öğr. Şakir PEHLİVAN'a,

ve her zaman desteklerini gördüğüm canım ailemin tüm üyelerine en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Haziran 2023

Fatma Nur DAL

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
BEYAN	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
BÜTÇE DESTEKLERİ	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
TABLO LİSTESİ	viii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	ix
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE	4
2.1. TARİHÇE	4
2.2. SINIFLANDIRMA	4
2.3. MORFOLOJİ	6
2.4. ETKENLERİN BİYOLOJİSİ VE YAŞAM DÖNGÜSÜ	7
2.4.1. <i>Theileria equi</i> ‘nin Yaşam Döngüsü	7
2.4.2. <i>Babesia caballi</i> ‘nin Yaşam Döngüsü	8
2.5. ETKENLERİN VEKTÖRLERİ	9
2.6. EPİDEMİYOLOJİ	10
2.6.1. Tek Tırnaklı Piroplasmosisinin Dünya’daki Yayılışı	11
2.6.2. Tek Tırnaklı Piroplasmosisinin Türkiye’deki Yayılışı	14
2.7. PATOGENEZ	19
2.8. KLİNİK BELİRTİLER ve NEKROPSİ BULGULARI	20
2.9. TANI	22
2.9.1. Mikroskopik Tanı	23
2.9.2. Serolojik Tanı	23
2.9.3. Moleküler Tanı	26

2.9.4. Kültür Yöntemi	28
2.10. BAĞIŞIKLIK.....	29
2.11. KORUNMA KONTROL.....	32
3. YÖNTEM	34
3.1. SAHA ÇALIŞMASI.....	34
3.2. LABORATUVAR ÇALIŞMALARI.....	36
3.2.1. Kan Örneklerinin Hazırlanması ve Saklanması	36
3.2.2. Kan Frotilerinin Hazırlanması ve İncelenmesi.....	36
3.2.3. cELISA Testi.....	36
3.2.4. Genomik DNA Ekstraksiyonu	37
3.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	38
3.2.6. PZR ürünlerinin Jel Elektroforeziyle Görüntülenmesi.....	40
3.3. DİZİ ANALİZİ VE FİLOGENETİK ANALİZ.....	40
3.4. İSTATİSTİK ANALİZİ.....	41
4. BULGULAR	42
4.1. SAHA ÇALIŞMASINDA TOPLANAN BİLGİLER.....	42
4.2. LABORATUVAR ÇALIŞMASI BULGULARI.....	43
4.2.1. Mikroskopik İnceleme Bulguları	43
4.2.2. Seroloji (cELISA) Bulguları	43
4.2.3. PZR Bulguları	45
4.2.4. Karşılaştırmalı Laboratuvar Testi Bulguları	48
4.3. <i>Theileria equi</i> ve <i>Babesia caballi</i> PREVALANSININ İSTATİSTİK ANALİZİ.....	53
4.4. SEKANS VE FİLOGENETİK ANALİZ BULGULARI	59
5. TARTIŞMA.....	64
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	77
KAYNAKLAR.....	78
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	103
ETİK KURUL İZİN YAZISI	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
KURUM İZNİ YAZILARI.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZGEÇMİŞ.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Eritrositlerde <i>B. caballi</i> ve <i>T. equi</i> merozoitleri.....	6
Şekil 2.2: Tek tırnaklı piroplasmosisi etkenlerinin yaşam döngüsü (Wise ve diğ., 2014).	7
Şekil 3.1: İstanbul genelinde kan numunesi toplanan yerler	35
Şekil 4.1: <i>Theileria equi</i> piroplasm formu. X100 objektif büyütmesi (orijinal).	43
Şekil 4.2: <i>Theileria equi</i> test pleytinde görülen pozitif ve negatif örnekler	44
Şekil 4.3: <i>Babesia caballi</i> test pleytinde görülen pozitif ve negatif örnekler.....	45
Şekil 4.4: <i>Theileria equi</i> pozitif örneklerin görüntüsü	46
Şekil 4.5: <i>Babesia caballi</i> pozitif örneklerin görüntüsü.....	46
Şekil 4.6: Örneklem merkezlerinde <i>T. equi</i> ve <i>B. caballi</i> pozitifliği tespit edilen atların toplam prevalansı.....	50
Şekil 4.7: Örneklem bölgelerinde <i>T. equi</i> ve <i>B. caballi</i> pozitifliği tespit edilen atların toplam prevalansı.....	50
Şekil 4.8: İstanbul’ daki atlarda <i>Theileria equi</i> ve <i>Babesia caballi</i> ’ nin tespit edildiği yerler .	52
Şekil 4.9: Araştırmada kısmi 18S rRNA gen bölgeleri dizi analizi yapılan <i>Theileria equi</i> dizilerinin kendi aralarında filogenetik sınıflandırılması..	61
Şekil 4.10: Dizi analizi yapılan <i>Theileria equi</i> izolatlarının ve diğer referans dizilerin kısmi 18 S rRNA gen bölgelerinin filogenetik analizi.	62
Şekil 4.11: Bu çalışmada dizi analizi yapılan <i>Babesia caballi</i> izolatlarının ve diğer referans dizilerin kısmi 18 S rRNA gen bölgelerinin filogenetik analizi.	63

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: <i>Theileria equi</i> ve <i>Babesia caballi</i> ’yi bulaştıran bazı kene türleri	10
Tablo 2.2: Ülkemizde yapılan araştırmalarda bildirilen tek tırnaklı piroplasmosisi prevalans oranları.....	17
Tablo 3.1: Kan örneklerinin alındığı yerler ve örnek sayı dağılımları	35
Tablo 3.2: PZR reaksiyon içeriği.....	39
Tablo 3.3: PZR ısı koşulları.....	40
Tablo 4.1: Örneklem merkezlerinde <i>T. equi</i> ve <i>B. caballi</i> ’nin tanı metotları ile tespit edilen pozitiflik oranları (%)	47
Tablo 4.2: Atların <i>Theileria equi</i> ve <i>Babesia caballi</i> için cELISA ve PZR testindeki pozitiflik durumu.....	48
Tablo 4.3: İstanbul’da örneklem merkezlerinde en az bir teşhis yöntemiyle <i>T. equi</i> ve <i>B. caballi</i> pozitif bulunan toplam at sayısı ve prevalansı	49
Tablo 4.4: <i>Theileria equi</i> ve <i>Babesia caballi</i> pozitif örneklerin bölge, yaş, cinsiyet, ırk özelliği ve atların kullanım kategorilerine göre dağılımları	51
Tablo 4.5: İstanbul’daki atlarda <i>T. equi</i> ve <i>B. caballi</i> prevalansları arasındaki ilişki	56
Tablo 4.6: <i>Theileria equi</i> ’nin örneklem bölgesi, yaş, cinsiyet, ırk ve atların kullanım amacı kategorilerine göre prevalans oranları ilişkisi	57
Tablo 4.7: <i>Babesia caballi</i> ‘nin örneklem bölgesi, yaş, cinsiyet, ırk ve atların kullanım amacı kategorilerine göre prevalans oranları ilişkisi	58
Tablo 4.8: Sekans analizi yapılan izolatlara ait bilgiler.....	59

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
kg	: kilogram
µl	: mikrolitre
µm	: mikrometre
µM	: mikromolar
mg	: miligram
ml	: mililitre
mM	: milimolar
°C	: santigrat derece
%	: yüzde

Kisaltmalar	Açıklama
ALP	: Alkalen Fosfataz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
CFT	: Komleman Fiksasyon Testi
CK-MB	: Kreatin Kinaz Miyokard Bandı
CPK	: Kreatin Fosfokinaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilendiamin-tetraasetik asit
ELISA	: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
EMA	: Equine Merozoit Antijen
GGT	: Gama Glutamil Transferaz
Ig	: İmmunoglobulin
IFN-γ	: İnterferon gama
ICT	: İmmünokromatografik Test
IFAT	: İndirek Floresan Antikor Testi
LAMP	: Loop Mediated Isothermal Amplification
MDA	: Malondialdehit

NK	: Natural killer
NO	: Nitrik oksit
OİE	: Office International des Epizooties
PCV	: Packed Cell Volume
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAP	: Rhoptry Associated Protein
RLB	: Reverse Line Blotting
RNA	: Ribonükleik asit
SCID	: Severe Combined Immunodeficiency
SSU	: Small subunit
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü alfa
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
WB	: Western Blotting

ÖZET

[DOKTORA TEZİ]

[İSTANBUL'DAKİ ATLARDA *Theileria equi* ve *Babesia caballi*'NİN YAYILIŞI VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU]

[Fatma Nur DAL]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Parazitoloji Anabilim Dalı

Veterinerlik Parazitolojisi, Doktora Programı

[Danışman : Prof. Dr. Aynur GÜLANBER

II. Danışman: Prof. Dr. Mustafa Necati MUZ]

[Bu çalışmada atlarda ekonomik kayıplara neden olan tek tırnaklı piroplasmosisinin etkenleri, *Theileria equi* ve *Babesia caballi*'nin, İstanbul' da halk elinde yetiştirilen atlardaki yayılışlarının mikroskopik, serolojik ve moleküler tekniklerle araştırılması, ve etkenlerin filogenetik sınıflandırması yapıldı.

Mayıs-Ekim 2018 tarihleri arasında İstanbul'un Avrupa ve Anadolu yakaları ile Adalar' daki 14 örnekleme merkezinde random örneklenen 400 adet attan EDTA' lı ve serumluk kan örnekleri toplandı. Mikroskopik tanı amacıyla, EDTA' lı kanlardan hazırlanan sürme frotiler, %5 Giemsa solüsyonu ile boyandı, ışık mikroskopunda etkenlerin piroplasm formları açısından incelendi. Serolojik tanı amacıyla, kan örneklerinden hazırlanan serum örnekleri, *B. caballi* ve *T. equi* için spesifik ticari kompetatif ELISA (cELISA) tanı kitleri ile test edildi.

Moleküler tanı amacıyla EDTA' lı kan örneklerinden genomik DNA izolasyonu yapıldı. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) testi, 18s rRNA gen bölgesinde, etkenlere spesifik bölgeleri hedefleyen primerler ile gerçekleştirildi. Pozitif örnekler, dizi analizi hizmeti veren ticari firmaya gönderildi. Sonuçlar, National Center Biotechnology Information (NCBI) servisinin,

Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) web sayfasında sağlanan hizmetten yararlanılarak tanımlandı. İzolatlara ait dizilimler GenBank veri tabanına kaydedildi. Hizmet alımı yoluyla filogenetik sınıflandırma gerçekleştirildi.

İstanbul’ da örneklenen 400 atın 135 tanesinde en az bir tespit yöntemi ile *T. equi* 135/400 (%33,75) ve 11 tanesinde de *B. caballi* 11/400 (%2,75) pozitifliği tespit edildi. Mikroskopik incelemede *T. equi* %1,5 (6/400) oranında tespit edildi, *B. caballi*’ ye rastlanmadı. Serolojik incelemede *T. equi*’nin seroprevalansı %32 (128/400), *B. caballi*’ nin seroprevalansı %1,25 (5/400) olarak tespit edildi. Moleküler tanıda, *T. equi*’ nin moleküler prevalansı %20,25 (81/400), *B. caballi*’ nin moleküler prevalansı %2 (8/400) olarak tespit edildi.

Serolojik ve moleküler incelemede *Theileria equi* pozitifliği, Avrupa yakasındaki atlarda cELISA %28,2; PZR %19,1; Anadolu yakasındaki atlarda cELISA %30, PZR %13, Adalar’ daki atlarda cELISA %42,9, PZR %30,7 oranında tespit edildi. *Babesia caballi* pozitifliği, Avrupa yakasındaki atlarda cELISA %1; PZR 2,9 %; Anadolu yakasındaki atlarda cELISA %2, PZR %0, Adalar’ daki atlarda cELISA %1,1, PZR %2,2 oranında tespit edildi. Örnekleme bölgelerine göre *T. equi* prevalans oranları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulundu ($p<0,05$), *B. caballi* prevalanslarında önemli fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tespit edilen prevalans oranlarının yaş ve cinsiyete göre dağılım oranlarında istatistiksel olarak önemli fark bulunmadı ($p>0,05$). Enfeksiyon prevalansı, sıcak kanlı ırk atlarda, ılık ve soğuk kanlı ırklardaki atlara göre daha yüksek tespit edildi. Prevalans farklılıkları *B. caballi* için önemsiz ($p>0,05$), *T. equi* için istatistiksel olarak önemli bulundu ($p<0,001$). Profesyonel kullanıma yönelik olan sportif amaçlı ve damızlık atlarda, fayton ve diğer amaçlar için kullanılan atlardan daha düşük oranda prevalans tespit edildi. Atların kullanım amacı gruplarına göre prevalans farklılıkları, *T. equi* için istatistiksel olarak önemli ($p<0,001$), *B. caballi* için önemsiz bulundu ($p>0,05$).

Bu çalışmada elde edilen *T. equi* ve *B. caballi* örneklerine ait dizi analizlerinin, dünyadaki önceki örneklerle karşılaştırıldığı moleküler karakterizasyon sonucuna göre, *T. equi*’ nin A, D ve E gruplarında, *B. caballi*’ nin A ve B gruplarında yer aldığı görüldü.

Theileria equi ve *B.caballi*’ nin İstanbul genelinde yayılış sergilediği ve *T. equi*’nin, *B. caballi*’den daha yüksek prevalansa sahip olduğu belirlendi. |

Haziran 2023 , |124| sayfa.

Anahtar kelimeler: | *Theileria equi*, *Babesia caballi*, cELISA, PZR, Filogenetik.

ABSTRACT

[Ph.D. THESIS]

**[PREVALENCE AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *Theileria equi* and
Babesia caballi IN HORSES IN ISTANBUL]**

[Fatma Nur DAL]

Istanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Parasitology

Veterinary Parasitology, PhD Programme

[Supervisor : Prof. Dr. Aynur GÜLANBER

Co-Supervisor: Prof. Dr. Mustafa Necati MUZ]

[This study was aimed to determine the prevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi*, the causative agents of equine piroplasmosis, which cause economic losses in horses, by microscopic, serological and molecular techniques in horses in Istanbul, and do filogenetic classification of the agents.

Between May and October 2018, blood samples were collected in tubes with EDTA and anticoagulant free from 400 horses randomly sampled in 14 regions in Istanbul. Thin blood smears were prepared from EDTA samples, stained with 5% Giemsa solution and examined under light microscope for intracellular forms of piroplasms. Sera collected for serological test analysis were used two commercial cELISA *T. equi* and *B. caballi* antibody test kits. Genomic DNA isolation from EDTA blood samples was performed using a commercial kit. PZR was performed with primers that amplify agent-specific regions in the 18s rRNA gene region. Positive samples that appeared bright at the end of gel imaging were sent to a commercial company for bidirectional sequencing. The sequences obtained were identified using the Basic

Local Alignment Search Tool (BLAST) web page of the National Centre Biotechnology Information (NCBI) and the sequences of the isolates were registered in the GenBank database. Molecular characterization of the isolates obtained from different parts of the world by comparing them with geographical isolates was carried out by the service procurement.

T. equi positivity detected by at least one diagnostic method in horses sampled in Istanbul was 135/400 (33,75%) and *B. caballi* 11/400 (2,75%). According to microscopic examination, *T. equi* was detected in 1,5 % (6/400), *B. caballi* was not found. The seroprevalence of *T. equi* was 32% (128/400) and the seroprevalence of *B. caballi* was 1.25% (5/400) in horses in Istanbul. The molecular prevalence of *T. equi* was 20,25% (81/400) and the molecular prevalence of *B. caballi* was 2% (8/400) in horses in Istanbul. *Theileria equi* positivity was detected by cELISA 28,2% and PZR 19,1% in horses on the European side, cELISA 30% and PZR 13% in horses on the Asian side, cELISA 42,9% and PZR 30,7% in horses on the Prince' Islands. *Babesia caballi* positivity was detected by cELISA 1 % and PZR 2,9% in horses on the European side, cELISA 2% and PZR 0% in horses on the Asian side, cELISA 1,1% and PZR 2,2% in horses on the Prince' Islands.

There was no statistically significant difference in the prevalence rates according to age and gender ($p>0.05$). A higher prevalence of infection was detected in horses of hot blooded breeds than in horses of cold and warm blooded breeds, the differences were insignificant for *B. caballi* ($p>0.05$), but statistically significant for *T. equi* ($p<0.001$). The prevalence of infection was lower in sport and breeding horses intended for professional use than in horses used for carriage and other activities. The difference in prevalence rates was statistically significant for *T. equi* ($p<0.001$), while the difference in prevalence rates was insignificant for *B. caballi* ($p>0.05$).

Comparison of the sequences obtained in this study with the sequences of isolates from different geographical regions of the world showed that *T. equi* isolates were in groups A, D and E, and *B. caballi* isolates were in groups A and B.

In this study, it was determined that *T. equi* and *B. caballi* were distributed in different part of Istanbul and *T. equi* had a higher prevalence than *B. caballi*.

June 2023, 124 pages.

Keywords: Horse, *Theileria equi*, *Babesia caballi*, cELISA, molecular characterization

1. GİRİŞ

Tek tırnaklılar olarak ifade edilen Equidae ailesi (atgiller) taksonomik olarak Perissodactyla takımı altında yer almaktadır. Equidea'nın evrimsel olarak diğer tek tırnaklı alt takımlarından (gergedangiller ve tapirgiller) ayrılışı 56 milyon yıl önceye dayandırılmaktadır. Equidae ailesinden günümüze ulaşan tek cins *Equus* cinsidir ve at, eşek, katır ve zebraları kapsamaktadır. Atın (*Equus caballus*) insanlar tarafından ehlileştirilmesine dair en eski kanıtlar M.Ö 6000 yıllarını göstermektedir (Goodwin, 2007; Shoemaker ve Clauset, 2014).

İnsanlık tarihi boyunca at; tarım, avcılık, ulaşım, askeri ve lojistik amaçlarla kullanılmıştır. Yirminci yüzyılın başlarından itibaren endüstrileşme ve makineleşmeyle kullanım alanları giderek azalmıştır. Günümüzde yarış, oyun, sportif ve hobi amaçlı at yetiştiriciliğinin yaygınlık kazandığı görülmektedir.

Atı evcilleştirerek dünya medeniyetine kazandıran ilk milletin Türkler olduğu kabul edilmektedir. Türk kültüründe atın çok önemli ve manevi bir değeri bulunmaktadır. Kaşgarlı Mahmud, Divanı Lügati't-Türk'de "At Türk'ün kanadıdır" demektedir. Türkler, efsanelerinde, türkülerinde, kaya resimlerinde, kurganlarında, şahıs ve yer adlarının yanı sıra birçok sporlarında atı kullanmışlardır. Atlı cirit, atlı okçuluk, kökbörü, rahvan binicilik, atlı kızak önemli geleneksel atlı sporlarımızdandır (Güven, 2015; Karcıoğlu, 2017).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) 2018 verilerine göre dünyada toplam 59 milyon civarında at bulunmaktadır (FAO, 2018). Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2020 verilerine göre ülkemizde kayıt altına alınan 90.007 at bulunmaktadır (TÜİK, 2020). Ülkemizde kırsal bölgelerde halen gündelik işlerde tek tırnaklılar kullanılmakta olup, ayrıca turistik ve sportif amaçlı faaliyetlerde yararlanılmaktadır. Türkiye Binicilik Federasyonu ve Türkiye Jokey Kulübü başta olmak üzere gösteri ve spor amaçlı atçılık faaliyetleri yürütülmekte olup çok sayıda insana da istihdam sağlamaktadır. Ayrıca devlete ait Türkiye Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü (TİGEM) 'ne bağlı safkan at üretme tesisleri bulunmaktadır, bu tesisler dünyadaki önemli Arap atı yetiştirme ve ıslah merkezlerindendir. Ülkemizin safkan arap atı

yetiştiriciliğindeki üretim payı ile dünyada önde gelen bir konuma sahip olduğu bildirilmiştir (TİGEM, n.d; Şahan, 2020; Unutulmaz ve Atalay, 2021). Ayrıca ordu, jandarma, polis ve zabıta da atlı birlikler bulundurulmaktadır. Son zamanlarda özel gereksinimli bireylere yönelik hippoterapi (atla terapi) merkezleri de hizmet vermeye başlamıştır.

At binek hayvanı olmanın yanında besin kaynağı olarak da ekonomik değere sahiptir. Avrupa, Asya, Amerika ve Avustralya gibi dünyanın çeşitli yerlerinde besi amaçlı at yetiştiriciliği yapılmaktadır. Moğol, Yakut, Kırgız ve Kazak kültürlerinde at eti yemekleri popülerdir. Avrupa’da İtalya, Fransa, Almanya gibi ülkelerde at eti tüketilmektedir. Avrupa’da İspanya’nın at eti üretiminde önder olduğu, son on yılda üretiminin %51 arttığı ve 2020 yılındaki üretilen toplam at etinin değerinin 78 milyon avroya karşılık geldiği bildirilmiştir (Insausti ve diğ., 2021). Dünya’da kırmızı eti üretimi amacıyla at yetiştiriciliği de yapılmaktadır. Kısrak sütünün geleneksel fermentasyonundan elde edilen kırmızı, besin değeri ve prebiyotik zenginliği yüksek bir süt ürünüdür. Orta Asya’da Moğolistan, Kazakistan, Kırgızistan, Çin ve Rusya’nın bazı bölgelerinde çok tüketilen kültürel bir içecektir (Tegin ve diğ., 2020). Ülkemizde yaygın olarak tüketilmemekle birlikte, İzmir’de bir işletmede kırmızı eti üretimi yapılmaktadır. At kanından elde edilen serum insan ve hayvan sağlığına yönelik araştırmalarda kullanılmaktadır. At kılı da çeşitli alanlarda değer gören bir üründür. At kılından üretilen fırçalar kan dolaşımını artırma, cilt bakımı gibi sağlık ve estetik amaçlarla kullanılmaktadır. At kılı, yatak yapımı ve müzik enstrümanı yapımı ve yaylı çalgıda kullanılmaktadır.

Atların manevi ve yüksek ekonomik değeri göz önüne alındığında sağlık ve refahının korunması son derece önemlidir. Atların paraziter etkenlerle enfeksiyonları performans kayıplarına, bazen de ölümlerine neden olabilmektedir (Erol ve diğ., 2022). Hastalıklarının tanı, tedavi ve kontrollerinin yapılması sağlığın korunması ve kayıpların önlenmesi için gereklidir.

Ülkemiz, ılıman ve subtropikal iklim kuşakları arasında yer almakta olup ixodid keneler ve bulaştırdıkları patojenlerin yayılması açısından uygun ortama sahiptir. Kenelerle nakledilen en önemli kan protozoonları arasında bulunan *Theileria* ve *Babesia* türlerine bağlı enfeksiyonlar, çeşitli hayvan türlerinde küresel ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Atlarda görülen tek tırnaklı piroplasmosisi, alyuvarlara yerleşen *Theileria equi* ve *Babesia caballi*’nin neden olduğu bir protozoon hastalığıdır. Tek tırnaklı piroplasmosisi OİE’ye bildirilmesi zorunlu bir hastalıktır (OİE, 2018). Enfeksiyonlar atların uluslararası ithalat ve seyahatlerinde kontrol edilir, özellikle yarış atı olarak yetiştirilen atlarda performans düşüklüklerine neden

olduğu kabul edildiğinden bazı ülkelere girişin sınırlanması sebebiyle ekonomik kayıplara neden olabilmektedir (Camino ve diğ., 2020; USDA-APHIS, 2010). Dünyadaki iklim değişiklikleri ve artan küresel at hareketi nedeniyle hastalığın yayılışının arttığı bildirilmektedir. Ayrıca hastalık etkenlerinin son yıllarda tanımlanan farklı genotipik varyantları ve bu genotiplerin klinik hastalık durumu ile ilişkileri de araştırılmaktadır (Tirosh-Levy ve diğ., 2020).

Dünyanın en önemli kentlerinden biri olan İstanbul, yarış ve binicilik alanında Türkiye'deki atçılık sektörünün kalbi durumundadır. Her yıl İstanbul'da ulusal ve uluslararası katılımlı önemli organizasyonlar düzenlenmektedir. İstanbul, etkinliklere katılmak üzere taşınan atlar için de bir buluşma noktasıdır. İstanbul'da binicilik eğitimi veren çok sayıda profesyonel kulüp bulunmaktadır. Binicilik kulübü tesisleri, binicilik eğitimi vermenin yanında günübirlik gezinti amacıyla gelen çok sayıda insana hoşça vakit geçirme imkânı sunmaktadır. İstanbul'da atçılık büyük ve önemli bir ekonomik sektör kolu olarak çok sayıda insana istihdam sağlamaktadır. Ayrıca İstanbul'a bağlı adalarda doğal sit alanı olmaları sebebiyle 2020 yılına kadar gündelik ve turistik ulaşım, fayton atlarıyla sağlanmaya devam edilmiştir.

Yapılan literatür taramasına göre tek tırnaklı piroplasmosisi hakkında Marmara bölgesini kapsayan çalışmalar sınırlı sayıdadır (Balkaya, 2004; Deniz ve diğ., 2008). At sahipleri ve at hekimlerinden alınan bilgilere göre İstanbul'da tek tırnaklı piroplasmosisinin durumunun tam olarak bilinmediği, etken düzeyinde ayırım yapılamadan semptomatik tedavi girişimlerinin başarısızlıkla sonuçlanabildiği öğrenilmiştir. İstanbul'da tek tırnaklı piroplasmosisine neden olan *T. equi* ve *B. caballi*'nin epidemiyolojik durumunun ortaya çıkarılmasına ihtiyaç duyulduğu anlaşılmıştır.

Bu çalışmanın amacı, İstanbul genelinde Avrupa ve Anadolu yakası ile Adalarda halk elinde farklı kullanım amaçları için yetiştirilen atlarda *Theileria equi* ve *Babesia caballi*'nin yayılışının mikroskopik, serolojik ve moleküler tekniklerle ortaya konulması, ayrıca etkenlerin filogenetik sınıflandırılmasının yapılmasıdır.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. TARİHÇE

Atlarda sarılık ve ateşle seyreden hastalık ilk kez Wiltshire tarafından 1883 yılında Güney Afrika'da Natal eyaletinde, gözlemlenmiş ve “antrax fever/şarbon humması” adıyla tanımlanmıştır. Daha sonra Hutcheon, Ümit burnunda bir İngiliz kolonisi olan Cape Koloni'deki atlardaki hastalığı “biliary fever/safra humması” adıyla tanımlamıştır. Guglielmi 1899'da İtalya'daki atlarda hastalığı “horse malaria/at sıtması” olarak tanımlamış ve enfekte hayvanların kanında parazitleri ilk keşfeden kişi olmuştur. Rickman 1902'de, hastalığa yenik düşen atların kanında parazitleri tespit etmiş ve hastalığın insandaki kötü huylu sıtmaya benzer veya yakın akraba olduğunu düşünmüştür. Theiler 1902'de, hastalığı “equine malaria/ at sıtması” olarak tanımlamış ve Laveran'a gönderdiği numunelerdeki parazitler Laveran tarafından *Piroplasma equi* adıyla tanımlanmıştır. Bowhill, 1905'te “biliary fever veya equine piroplasmosis” olarak hastalığı tanımlamıştır (Bowhill, 1905). Bilimsel araştırmalar ve taksonomik adlandırmalara bağlı olarak “equine nuttalliosis, equine babesiosis veya equine theileriosis” adlarıyla da anılmıştır (Scoles ve Ueti, 2015). Geçmişten günümüze farklı isimlerle anılan tek tırnaklı piroplasmosisi at, eşek, katır ve zebralarda da görülmektedir. İnsanla yakın ilişkide bulunması ve ekonomik değeri nedeniyle araştırmalar atlar üzerinde yoğunlaşmıştır (Onyiche ve diğ., 2019).

2.2. SINIFLANDIRMA

Theileria equi ve *Babesia caballi*, Apicomplexa filumunun Piroplasmida dizisinde yer alan zorunlu hücre içi parazitlerdir. Piroplasmalar (Piroplasmida) *Babesia*, *Theileria* ve *Cytauxzoon*'u içeren ve keneye bulaşan Apicomplexan protozoalardır ve bu üç cins toplu olarak piroplasmalar olarak anılır (Yabsley ve diğ., 2013).

Tek tırnaklı piroplasmosisinin etkenini ilk kez 1901'de Laveran “*Piroplasma equi*” olarak adlandırılmıştır, daha sonra etkenin *Nuttallia* cinsine alınması önerilmiştir (Nuttal ve Strickland, 1912). *Piroplasma equi*'nin tanımlanmasından kısa sonra hastalık vakalarının benzer belirtilerle seyreden fakat aslında iki farklı parazitten kaynaklanabileceği keşfedilmiş (Bowhill, 1905), 1910 yılında Nuttal ve Strickland, enfekte hayvanların kanındaki parazitlerden

morfolojik olarak küçük olanı *Nuttallia equi* (Laveran 1901), daha büyük olanı *Piroplasma caballi* olarak adlandırmışlardır. Daha sonra aynı araştırmacılar *Piroplasma caballi*'yi, *Babesia* cinsine taşımışlardır (Nuttal ve Strickland, 1912). Sonradan *Nuttalia* cins adının Kuzey Amerika'da yaşayan bir kabuklu türe atanmış olduğunun belirlenmesiyle, *Nuttalia equi* de, *Babesia equi* olarak sınıflandırılmıştır (Nuttal ve Strickland, 1912; Scoles ve Ueti, 2015; Schein, 1988). *Babesi equi*'nin jenerik yerleşim yeri hakkındaki araştırmalar sonraki yıllarda da devam etmiş, 1981'de atların lenfosit hücre kültüründe yapılan çalışma ile etkenin lenfositlerde şizogoni geçirdiğinin keşfedilmesiyle önceleri, alyuvar içi aşamaları olan bir *Babesia* türü olarak kabul edilmiş, ancak 1998 yılında kenelerdeki yaşam döngüsü, atlarda lenfositik aşamalar ve diğer *Theileria* türleriyle genetik benzerliklere ve daha sonraki moleküler araştırmalara dayanılarak "*Theileria equi*" olarak yeniden tanımlanmıştır (Mehlhorn ve Schein, 1993, 1998; Schein ve diğ., 1981; Scoles ve Ueti, 2015; Zapf ve Schein, 1994b). *Theileria equi* ve *Babesia caballi*'nin sistematikteki yeri şu şekildedir:

Biota (Canlılar)

Domain: Eukaryota Chatton, 1925

Kingdom: Protozoa (Goldfuss, 1818) R.Owen, 1858

Subkingdom: Biciliata

İnfrakingdom: Alveolata Cavalier-Smith 1991

Phylum: Myxozoa Cavalier-Smith ve Chao, 2004

Subphylum: Apicomplexa Levine, 1970

Class: Aconoidasida Mehlhorn, Peter ve Haberkorn, 1980

Order: Piroplasmida Wenyon, 1926

Family: Theileriidae du Toit, 1918

Genus: *Theileria* Bettencourt, 1907

Species: *Theileria equi* Melhorn ve Schein 1998

Family: Babesiidae Poche, 1913

Genus: *Babesia* Starcovici, 1893

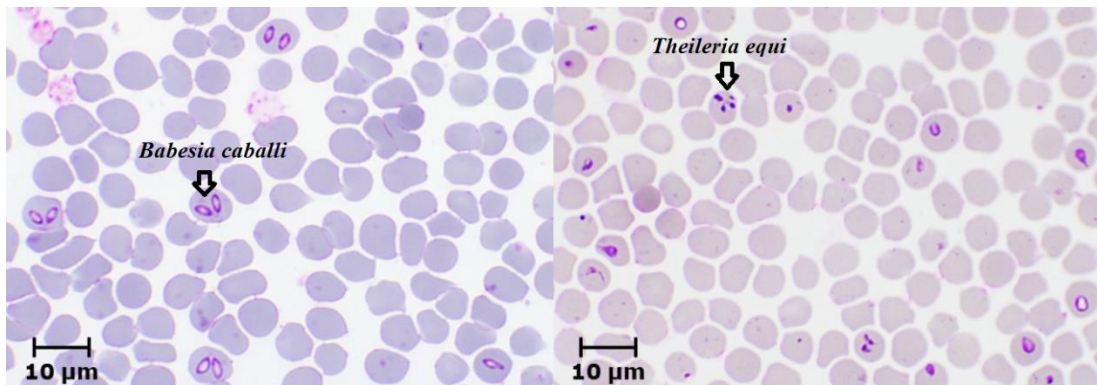
Species: *Babesia caballi* Nuttal 1910.

Son yıllarda moleküler çalışmalarda, *Theileria equi* 'nin hem *Babesia* hem de *Theileria* soylarının özelliklerine sahip olduğu ve muhtemelen bu ikisi arasında yer aldığı gösterilmiştir. Yapılan genomik araştırmalar ve 18S rRNA geninin filogenetik analizleri *T. equi* 'nin Piroplasmida içinde *Theileria* ve *Babesia* cinslerinin dışında konumlandığını göstermektedir. Ayrıca 18S rRNA analizlerine dayalı olarak *T. equi* içinde tespit edilen genetik çeşitlilik, yakın bir zamanda *T. equi* 'nin yakın akrabası olarak tanımlanan, *Theileria haneyi* 'nin keşfedilmesi, *T. equi* 'nin sınıflandırmasının birkaç farklı organizma daha içerebileceği şeklinde değerlendirilmektedir (Dahmana ve diğ., 2019; Hikosaka ve diğ., 2010; Lack ve diğ., 2012; Tirosh-Levy ve diğ., 2020).

2.3. MORFOLOJİ

Babesia caballi merozoitlerinin ebatları $2-5 \mu\text{m} \times 1-1,5 \mu\text{m}$ arasında değişir ve genellikle arka uçlarından birleşmiş çiftler halinde bulunurlar. Trofozoitleri polimorfiktir, ancak çapları $1,5-3 \mu\text{m}$ ebatlarında yuvarlak, oval veya eliptik formlar baskındır (Alı ve diğ., 1996; de Waal, 1992).

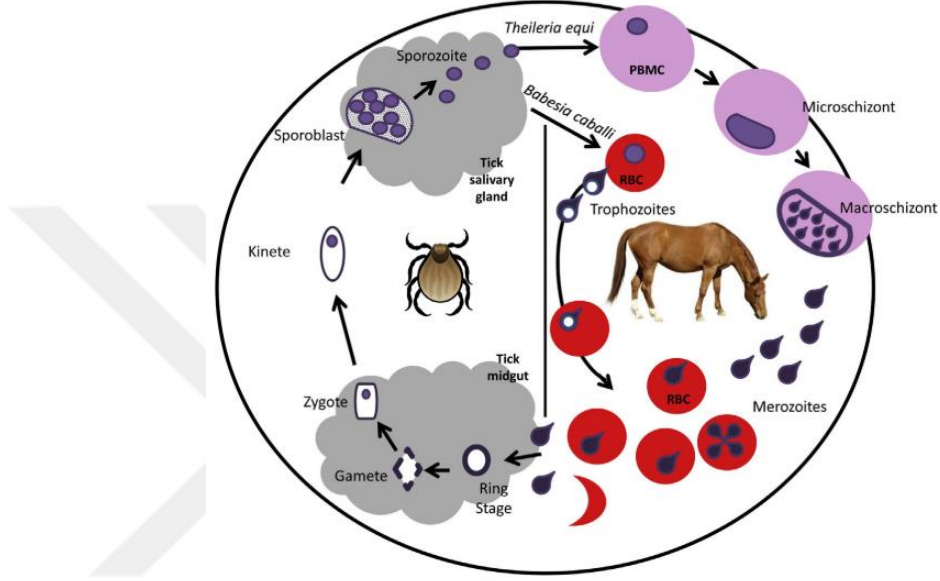
Theileria equi merozoitleri, daha küçüktür ve alyuvarlarda yaklaşık ebatları $1,5 \mu\text{m}$ uzunluğunda dört piriform parazitin bir arada, “Malta haçı” görüntüsüne rastlanabilir. Malta haçı görüntüsü, *B. caballi* 'den ayırıcı bir özellik olarak *T. equi* 'ye özgü kabul edilir (Zapf ve Schein, 1994b). Trofozoitleri çeşitli formlar (oval, yuvarlak, eliptik veya iğ) alır ve çapları $3 \mu\text{m}$ 'ye kadar çıkabilir (Alı ve diğ., 1996; de Waal, 1992).



Şekil 2.1: Eritrositlerde *B. caballi* ve *T. equi* merozoitleri
(<https://www.obihiro.ac.jp/facility/protozoa/en/oie-rl-ep-ep> Erişim tarihi: 01.05.2023).

2.4. ETKENLERİN BİYOLOJİSİ VE YAŞAM DÖNGÜSÜ

Theileria equi ve *B. caballi*, doğal vektörleri kabul edilen ixodid kenelerle bulaştırılır. Kenelerle *T. equi* transtadial, *B. caballi* ise hem transtadial hem de transovarial nakledilir. Etkenlerin biyolojisindeki iki temel fark, kenelerde *T. equi*'nin transovarian geçişinin olmaması ve omurgalı konakta alyuvarlarda çoğalmadan önce lenfosit ve monositlerde şizogoni geçirmesidir (Wise ve diğ., 2013).



Şekil 2.2: Tek tırnaklı piropalazmosisi etkenlerinin yaşam döngüsü (Wise ve diğ., 2014).

2.4.1. *Theileria equi* 'nin Yaşam Döngüsü

Kene omurgalı konağa tutunduktan sonra, tükürük bezi alveolleri genişler ve asini hücreleri içinde sporogoni başlar, üretilen sporozoitler kenenin tükürük salgısı ile konağa nakledilir. Sporozoitler konağın lenfositlerine nüfuz eder, burada makroşizontların ve mikroşizontların oluşumu gerçekleşir ve enfekte hücre başına 1,5-2 µm büyüklüğünde yaklaşık 200 merozoit üretilir. Üretilen merozoitler alyuvarlara girer, oval bir hale gelir, ikiye veya dörde bölünerek çoğalmaya başlar ve 2-3 µm uzunluğunda, piriform eritrositik aşamalar oluşur. Bazı alyuvarlarda dört merozoitin Malta haçı olarak adlandırılan görüntüsü ortaya çıkar. Enfekte alyuvarların parçalanmasıyla saçılan merozoitler diğer alyuvarlara girer ve çoğalmaya devam eder. Bununla birlikte, bazı merozoitler gelişmeyi durdurur, oval hale gelir ve yaklaşık 2 ± 3 µm çapa ulaşır. Bunların gametositleri temsil ettikleri düşünülür (Bastos ve diğ., 2013; Jalovecka ve diğ., 2018; Mehlhorn ve Schein, 1984, 1998; Scoles ve Ueti, 2015).

Kene kan emerken, alyuvarlarla etkenleri alır. Alyuvarların sindirilmesiyle, orta barsak lümeninde açığa çıkan gametositler olarak kabul edilen oval merozoitler, mikrogametositleri oluşturur, daha sonra bazıları ışımsal cisimciklere dönüşür ve bölünür bunlar mikrogamet olarak kabul edilir. Bazıları değişmeden kalır ve bunlar da makrogamet kabul edilir. Gametlerin döllenmesiyle zigot oluşur ve gelişerek hareketli ookinet halini alır. Ookinet barsak epiteline girer, olgunlaşıp mayotik bir bölünmeye uğrar ve çomak şeklindeki kinetler oluşur. Kinetler hemolenfe geçerek tükürük bezlerine ulaşır. *Hyalomma* cinsi kenelerde *T. equi*'nin deneysel enfeksiyonu ile yapılan araştırmada enfeksiyonun alınmasından sonraki 4-7. günlerde, nimfin tam doygunluğa ulaşmasından önce, kenenin barsak ve hemolenfindeki kinetleri gözlemlenmiştir. Kinetler tükürük bezlerindeki asini hücrelerine girerek oval bir forma dönüşür, sporogoni geçirir ve sporozoitler oluşur. Atlar için enfektif olan sporozoitler, kene evresi kan emmek için konağa tutunduğunda üretilir ve tükürük salgısı ile konağa bulaştırılır. *Hyalomma* cinsi nimflerde gömlek değiştirmeyi takiben konağa tutunduktan sonra ilkine benzer şekilde ikinci bir sporogoni aşaması geliştiği (intrastadial gelişme) gösterilmiştir (Jalovecka ve diğ., 2018; Zapf ve Schein, 1994b, 1994a).

2.4.2. *Babesia caballi*'nin Yaşam Döngüsü

Babesia caballi'nin yaşam döngüsü tipik olarak *Babesia* cinslerinin yaşam döngüsü gibi tarif edilir. Döngü omurgalı konakta eritrositlerde ikiye veya dörde bölünme ile çoğalma, kenenin orta barsağında eşeysel bir gelişim yani gametogoni ve tükürük bezi epitel hücrelerinde sporogoni ile çoğalmayı takip eder. Kenelerin barsak epitelinde üretilen kinetler, hemolenf yoluyla tükürük bezinden başka diğer iç organları ve ovaryumları da istila etmektedir (Scoles ve Ueti, 2015).

Kene, kan emmek üzere konağa tutunduktan sonra tükürük bezinde sporogoni başlar ve üretilen sporozoitler kenenin tükürüğüyle konağa enjekte edilir. Alyuvarlarda sporozoitlerin temas ettiği noktada aktin-miyosinin rol aldığı bir invaginasyon şekillenir. Sporozoitler alyuvarlara, parazitofor bir vakuol oluşmaksızın, endositozla direk olarak giriş yapar ve piroplasm (trofozoit) forma dönüşür. Piroplasm formlar merogoni ile eşeysiz bir çoğalma geçirir. Genelde ikiye bazen dörde bölünerek gerçekleşen merogoninin sonunda meydana gelen merozoitler, alyuvarın parçalanmasıyla saçılarak yeni alyuvarları enfekte ederler. Çoğalma döngüsü tekrar eder, bu sırada alyuvarlar içerisindeki birkaç merozoit gelişmeyi durdurur ve gamont öncüsü kabul edilen “pregametositlere” dönüşerek başka bir kene tarafından kan emerken alınmayı bekler (Mehlhorn ve Schein, 1984; İnci, Düzlü ve İça, 2010).

Kene kan emerken, etkenleri alyuvarlarla alır. Orta barsak lümeninde alyuvarların sindirilmesiyle serbest kalan, pregametositler olarak kabul edilen, oval şekilli merozoitler açığa çıkar, bunlar strahlenkörper adı verilen ışımsal cisimciklere dönüşür. Bu cisimciklerden, ışık mikroskobunda morfolojik olarak birbirinden ayırt edilemeyen erkek ve dişi gametler meydana gelir, singami ile bir araya gelirler ve döllenmeyle zigot oluşur. Hareketli bir ookinet halini alır ve hemen kenenin barsak epiteline girer, epitelin içine girdikten sonra küresel bir form alır. Barsak epiteline bölünmeye ve çoğalmaya başlar ve çomak şekilli çok sayıda kinetler meydana gelir. Kinetler hemolenfe geçerek ovaryum dahil tüm vücut organlarına, kas fibrilleri, malpigi tübülleri, peritrakeal hücrelere dağılır, o hücrelerde çoğalmaya devam ederler. Tükrük bezine gidenler asini hücrelerinde oval bir hal alarak sporoblastları oluşturur ve sporogoni geçirir, sporozoitler meydana gelir. Kene, kan emme sırasında sporozoitleri omurgalı konağa bulaştırır. Transovarian bulaşan etkenler kene embriyosunun tükrük bezinde bekler, larva çıktıktan sonra kan emmek için konağa tutunur, tükrük bezlerinde sporogoni başlar ve üretilen sporozoitler omurgalı konağa bulaştırılır (Jalovecka ve diğ., 2018; Mehlhorn ve Schein, 1984; Schnittger ve diğ., 2012).

2.5. ETKENLERİN VEKTÖRLERİ

Hastalık etkenlerin bir hayvandan diğerine biyolojik vektörü olan Ixodidae ailesindeki *Dermacentor*, *Rhipicephalus* ve *Hyalomma* cinslerindeki kene türleri tarafından bulaştırılır. Bugüne kadar 30'dan fazla kene türü *T. equi* ve *B. caballi* 'nin nakledicisi olarak bildirilmiştir (de Waal, 1992; Rothschild, 2013; Scoles ve Ueti, 2015).

Scole ve Ueti (2015), kapsamlı bir literatür taraması ile *T. equi* ve *B. caballi* için vektörlüğü doğrulanmış ve henüz şüpheli türleri de kapsayan bir liste yayınlamışlardır. Burada 6 cins altında 33 kene türü listelenmiştir. Bazı araştırma bulgularına dayanılarak listeye dahil edilen *Amblyomma* (Scoles ve diğ., 2011; Scoles ve Ueti, 2013), *Ixodes* (Iori ve diğ., 2010) ve *Haemaphysalis* (Bautista ve diğ., 2001; Ikadai ve diğ., 2007) cinslerindeki 3 kene türünün vektörlüklerinin anlaşılması için daha çok araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Scoles ve Ueti, 2015). Hastalık etkenlerini naklettiği bildirilen kene türlerinden bazıları Tablo 2.1'de sunulmuştur:

Tablo 2.1: *Theileria equi* ve *Babesia caballi*’yi bulaştıran bazı kene türleri

Etken	Vektör
<i>B. caballi</i>	<i>Dermacentor marginatus</i> , <i>D. reticulatus</i> , <i>D. silvarum</i> , <i>D. nitens</i> , <i>D. nuttali</i> <i>Hyalomma anatolicum</i> , <i>H. excavatum</i> , <i>H. dromedari</i> , <i>H. marginatum</i> , <i>H. truncatum</i> , <i>Rhipicephalus bursa</i> , <i>R. sanguineus</i> , <i>R. evertsi</i>
<i>T. equi</i>	<i>Dermacentor marginatus</i> , <i>D. nuttali</i> , <i>H. anatolicum</i> , <i>H. excavatum</i> , <i>H. dromedari</i> , <i>H. marginatum</i> , <i>R. bursa</i> , <i>R. sanguineus</i> , <i>R. evertsi</i> , <i>R. microplus</i>

Türkiye’de atlarda hastalığın vektörleri ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Birkaç araştırmaya göre piroplasmosisli atlarda *H. detritum*, *H. marginatum*, *R. bursa* ve *R. turanicus* tespit edilmiştir. Dik ve diğ. (2010), yabani atlarda *Hae. parva*, *H. excavatum* ve *D. marginatus* tespit etmiştir. Ancak yapılan çalışmalarda tespit edilen kenelerde etkenlerin varlığı ya da kene türünün toplandığı atın enfeksiyon durumu hakkında bilgi sunulmamıştır. Ülkemizde *T. equi* ve *B. caballi*’nin vektörlerinin anlaşılması için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Akkan ve diğ., 2003; Ceylan ve diğ., 2021; Dik ve diğ., 2020; İnci, 1997; Kızıllarslan ve diğ., 2015; Kurt ve Yaman, 2012).

2.6. EPİDEMİYOLOJİ

At piroplazmoz, ilk olarak Güney Afrika’da bölgeye ithal edilen atlar arasındaki görülen hastalık nedeniyle ayrıntılı olarak incelenmiştir. Schein’a atfen 1901’de Fransız Çinhindi’nde askeri kullanım için ithal edilen büyük bir katır grubunda ve Bimbi’ye atfen 1908’de Sardunya’da Macaristan’dan getirilen bir grup atta piroplasmosis semptomları bildirilmiştir. Literatürde, ilk Batı Yarımküre olgusunun Darling’e atfen 1913 yılında Panama Kanalı Bölgesi’nde bir atta *B. caballi* olduğu bildirilmiştir. Soute’ye atfen 1917’deki ayrı bir raporda, Batı Hint Adaları’ndaki Barbados’ta at piroplasmosisi gibi görünen bir hastalığa yenik düşen ithal bir atın belgelendiği bildirilmiştir (Scoles ve Ueti, 2015).

Enfeksiyonlar, çoğunlukla tropikal ve ılıman bölgelerde endemiktir. Endemik bölgelerde enfeksiyon oranlarının %60 ile %90 aralığında olabildiği bildirilmektedir. Son zamanlarda küresel ısınma ve artan küresel ulaşım, hem parazitlerin hem de vektörlerin daha önce endemik olmayan bölgelerde yayılmasına yol açmıştır. Hastalık, tropikal ve ılıman iklim bölgeleri

dışındaki yerlerde giderek daha fazla rapor edilmektedir (Scoles ve Ueti, 2015; Tirosh-Levy, ve diğ., 2020).

Enfeksiyonların bir bölgede ortaya çıkması, konakçı hayvan ile etkenleri nakleden kene türlerinin bir arada bulunmasına bağlıdır. Bölgenin iklimsel ve coğrafik özellikleri, nakledici kene türleri için uygun yaşam alanlarının varlığı bakımından önemlidir. Endemik bölgelerde atların çoğu hastalığı atlatmış, bağışık, klinik olarak sağlıklı görünen latent enfeksiyonlu taşıyıcılardır. Klinik olarak sağlıklı olan bu taşıyıcı hayvanların, kene vektörlerinin bulunduğu bölgelere taşınması ve burada at popülasyonlarının enfeksiyonu için kaynak oluşturması, bu parazitlerin yayılmasının temelini oluşturmaktadır. Hastalığın yayılmasındaki en önemli risk faktörleri, hayvanların enfekte kenelere maruziyetine etki edebilen, sürü ve çiftlik yönetim uygulamalarındaki farklılıklar ile ilişkilendirilmektedir. Hayvan türü, yaş, cinsiyet, ırk, gibi faktörlere bağlı enfeksiyon prevalansları arasında bazen anlamlı farklılıkları bildirilmekle beraber, bu özellikler enfeksiyonlarla daha zayıf ilişkilendirilen faktörler olarak kabul edilmektedir (Coultous ve diğ., 2019; Scoles ve Ueti, 2015; Tirosh-Levy ve diğ., 2020; Wise ve diğ., 2013).

Theileria equi kenelerle transtadial olarak bulaştırılır, tedavi edilse veya akut dönemi atlatsa dahi hayvanlarda muhtemelen ömür boyu latent enfeksiyon şeklinde etkenlerin varlığını sürdürdüğü bildirilmektedir. *Theileria equi*'nin esas rezervuarı omurgalı konaklar, yani tek tırnaklılar, olarak kabul edilmektedir. *Babesia caballi* kenelerle hem transtadial hem de transovarian olarak nakledilmektedir. *Babesia caballi*'nin akut dönem atlatıldıktan sonra bir ile dört yılda tamamen ortadan kaldırıldığı kabul edilmektedir. *Babesia caballi* enfeksiyonları için esas rezervuar omurgasız konakları, sert keneler olarak kabul edilmektedir (Scoles ve Ueti, 2015; Ueti ve diğ., 2005, 2008).

2.6.1. Tek Tırnaklı Piroplasmosisinin Dünya'daki Yayılışı

Balkanlar'da hastalığın yayılışı, Sırbistan, Karadağ ve Bosna-Hersek'teki 142 atta multipleks PZR ile araştırılmıştır. *Theileria equi* %22,5, *B. caballi* %1 ve miks enfeksiyon %0,7 tespit edilmiştir (Davitkov ve diğ., 2016). Macaristan'da *T. equi* yaygınlığı 324 numunede cELISA ve IFAT, rastgele seçilen 101 tanesinde de PZR ile araştırılmıştır. Seroprevalans iki testte de %32, moleküler prevalans %49 olarak bildirilmiştir (Farkas ve diğ., 2013). Yunanistan'da yapılan bir çalışmada, 524 attan alınan serum örnekleri cELISA yöntemiyle incelenmiş, atların %11'i *T. equi*, %2,2'si ise *B. caballi* pozitif olarak saptanmıştır (Kouam ve

diğ., 2010). Romanya’da kırsal bölgelerindeki 178 atta PZR tekniği ile, *T. equi* %38,8 ve *B. caballi* %4,5 olarak tespit edilmiştir (Gallusová ve diğ., 2014).

Orta İtalya’da 10 yıllık bir dönemi kapsayan seroprevalans araştırmasında IFAT ile 1441 at serumu incelemiş, *T. equi* %31,6, *B. caballi* %1,9, miks enfeksiyon oranı ise %0,6 olarak bildirilmiştir (Sgorbini ve diğ., 2015). Orta-Güney İtalya’da bulunan 673 atta cELISA ile *T. equi* %39,8 ve *B. caballi* %8,9 olarak tespit edilmiştir. 673 numunenin seropozitif tespit edilen 273 numunesine real time PZR uygulanmış ve örneklerin %70,3’ü *T. equi* , %10,3’ü *B. caballi* pozitif tespit edilmiştir (Bartolomé Del Pino ve diğ., 2016). İtalya’da başka bir çalışmada ise 130 at kanı PZR ile test edilmiş, *T. equi* %13,3 oranında pozitif bulunmuştur (Zanet ve diğ., 2017). Güney Fransa’da, 443 atta CFT ile *T. equi* %58, *B. caballi* %12,9 oranında saptanmıştır. Test edilen atların 36’sında enfeksiyon miks olarak tespit edilmiştir (Guidi ve diğ., 2015). İspanya’da 3100 atta IFAT ile *T. equi* %44 ve *B. caballi* %21 olarak tespit edilmiştir (Montes Cortés ve diğ., 2017). Başka bir çalışmada ihracata hazırlanan 3386 at ticari cELISA ile test edilmiştir. *Theileria equi* %21, *B. caballi* %4,5 miks enfeksiyon oranı ise %2,5 olarak tespit edilmiştir (Camino ve diğ., 2020). Portekiz ve Atlantik okyanusundaki Azor adalarında *T. equi* ’nin yayılımı araştırılmış, ana karadan alınan 162 numunede *T. equi*, cELISA ile %25,9, nested PZR ile %18,5 olarak bildirilmiştir. Azor adalarındaki 143 atta ise *T. equi* cELISA ile %2,8 ve nested PZR ile %1,4 pozitif tespit edilmiştir (Baptista ve diğ., 2013). Portekiz’de başka bir çalışmada 162 atta cELISA ile, *T. equi* %17,9 ve *B. caballi* %11,1 oranında tespit edilmiştir (Ribeiro ve diğ., 2013).

Enfeksiyonun non-endemik kabul edildiği Hollanda’da 300 atta IFAT ve PZR-RLB teknikleri kullanılarak bir saha taraması yapılmıştır. IFAT ile *T. equi* veya *B. caballi* pozitif olan toplam at sayısının oranı %4 (12/300) tespit edilmiştir. Pozitif atların dokuz tanesi sadece *B. caballi* ile, üç tanesi ise miks enfekte olarak tespit edilmiştir. PZR’da ise iki tanesi seronegatif olan beş örnekte *T. equi* saptanmış, *B. caballi* ise hiç tespit edilememiştir (Butler ve diğ., 2012). İsviçre’de yerli ve ithal hayvanlardan olmak üzere toplam 689 at IFAT ile test edilmiş, equine piroplazmosisin toplam seroprevalansı %7,3 bulunmuştur. Sadece *T. equi* %4,4, sadece *B. caballi* %1,5 ve miks enfeksiyon %1,5 oranında tespit edilmiştir (Sigg ve diğ., 2010).

İran’da 100 atta yapılan bir çalışmada IFAT ile *T. equi* %48, *B. caballi* %2 ve miks enfeksiyon %3 oranında tespit edilmiştir. Mikroskopik incelemede etkenlerin piroplasm formu %5 oranında tespit edilmiştir. Multipleks PZR sonuçlarına göre ise *T. equi* %45’inde tespit edilmiş, *B. caballi* pozitifliği ise tespit edilmediği bildirilmiştir (Abedi ve diğ., 2014). İran’da

240 atın dahil edildiği başka bir araştırmada mikroskopta %6,25 *T. equi* ve %2,80 *B. caballi* pozitifliği tespit edilmiştir. PZR testinde ise *T. equi* %10,83, *B. caballi* %5,83, miks enfeksiyon ise %1,66 olarak bildirilmiştir (Malekifard ve diğ., 2014). Azerbaycan'ın batısında 126 atta *T. equi*, mikroskopik yöntem ve PZR ile araştırılmıştır. Mikroskopta %3,24, PZR ile %27,7 oranında pozitiflik tespit edildiği bildirilmiştir (Ebrahimi ve diğ., 2018). Irak'ta *T. equi* 130 atta cELISA ve PZR ile araştırılmış, seroprevalans %36,5 ve PZR testinde ise %5,86 oranında pozitiflik bildirilmiştir (Sray ve diğ., 2019). Mısır'da 88 atın dahil edildiği IFAT ve nested PZR ile yapılan araştırmada, IFAT ile *T. equi* %23,9 ve *B. caballi* %17; PZR'da ise *T. equi* %36,4, ve *B. caballi* %19,3 olarak bildirilmiştir (Mahmoud ve diğ., 2016). Sudan'da 158 atla ELISA ve PZR teknikleri ile yapılan bir araştırmada, seroprevalans *T. equi* %63,5 *B. caballi* %4,4 bulunmuştur. PZR ile %25,2 *T. equi* tespit edilmiş ancak *B. caballi* hiç tespit edilmemiştir (Salim ve diğ., 2008). *Theileria equi* İsrail'deki 216 atta %50,5 Filistin'deki 108 atta ise %29,6 seropozitiflik bildirmişlerdir (Aharonson-Raz ve diğ., 2014). İsrail'de 257 atta PZR tekniği ile yürütülen başka bir çalışmada *B. caballi* %9,3, 590 hayvanın dahil edildiği bir başka araştırmada ise *T. equi* 'nin moleküler prevalansı %26,4 olarak bildirilmiştir (Rapoport ve diğ., 2014; Steinman ve diğ., 2012). Dubai'deki 105 atta *T. equi* 'nin karşılaştırmalı olarak ele alındığı çalışmada, seroprevalans sırasıyla IFAT ve cELISA da *T. equi* %33,3 ve 32,4; *B. caballi* için %10,5 ve 15,3 olarak bildirilmiştir (Jaffer ve diğ., 2010). Ürdün'de 288 atta PZR tekniği ile %18,8 *T. equi* ve %7,3 *B. caballi* tespit edildiği bildirilmiştir (Qablan ve diğ., 2013). Başka bir çalışma da 235 atta cELISA ile %14,6 *T. equi* tespit edilirken *B. caballi* tespit edilemediği bildirilmiştir (Abutarbush ve diğ., 2012).

Çin'de klinik olarak sağlıklı görünen 1990 adet atın serumu, cELISA testi ile taranmış, *T. equi* %11,5 *B. caballi* %51,2 olarak bildirilmiştir (M. Wang ve diğ., 2014). Başka bir çalışmada 242 at kanı nested PZR ile test edilmiş *T. equi* %30,2, *B. caballi* ise %2,9 oranında tespit edildiği bildirilmiştir (J. Wang ve diğ., 2019). Sincan Uygur Özerk Bölgesi'ndeki 200 atta PZR tekniği ile yapılan bir araştırmada %39,5 *T. equi* ve %24,5 *B. caballi* ile enfekte olarak tespit edildiği bildirilmiştir (Li ve diğ., 2020). Hindistan'da Kumar ve diğ. (2013), geliştirdikleri EMA-2 tabanlı ELISA ile 5651 atta yaptıkları taramada %32,6 *T. equi* prevalansı bildirmişlerdir (Kumar ve diğ., 2013). Moğolistan genelinde 1282 at serumu ELISA ile test edilmiş, *T. equi* %32, *B. caballi* %14,2 olarak tespit edilmiştir (Myagmarsuren ve diğ., 2019), ELISA testinde rekombinant EMA-1 ve P48 antijenleri kullanılan başka bir araştırmada 254 atta, *T. equi* seroprevalansı %72,8, *B. caballi* ise %40,1 olarak bildirilmiştir (Boldbaatar ve diğ., 2005). Moğolistan'ın Tov bölgesinde tek tırnaklılarda piroplasmaların yayılımı ve genetik çeşitliliğinin

konu alındığı bir çalışmada ise 250 atta ELISA ile *T. equi* %19,6 iken *B. caballi* %51,6 olarak, nested PZR ile *T. equi* %6,4 ve *B. caballi* %6,1 olarak bildirilmiştir (Munkhjargal ve diğ., 2013). Japonya’da yapılan bir araştırmada 2019 adet at kanı ELISA ve Westen Blot yöntemiyle incelenmiş, ELISA ile *T. equi* %2,2, *B. caballi* %5,4 olarak bildirilmiş (Ikadai ve diğ., 2002).

Yüksek prevalans oranları bildirilen yerlerden biri olan Brezilya’da 487 atta mikroskopi, IFAT ve multipleks real time PZR kullanılarak yapılan çalışmada *T. equi* seroprevalansı %91, *B. caballi* ise %83 tespit edilmiştir. Moleküler prevalans sonucu ise *T. equi* %59,7, *B. caballi* %12,5 olarak bildirilmiştir (Heim ve diğ., 2007). Brezilya’da real time PZR testi ile 314 atta yapılan başka araştırmada ise %81 oranında *T. equi* tespit edilmiştir (Peckle ve diğ., 2013). Arjantin’de *T. equi*’nin tespiti için geliştirilen bir iELISA testi kullanılarak 180 atta %65 pozitiflik bildirilmiştir (Asenzo ve diğ., 2008). Meksika’nın kuzeyinde *T. equi* ve *B. caballi*’nin yayılışını ortaya koymak üzere 248 atta IFAT ile yapılan bir çalışmada, *T. equi* %45,2, *B. caballi* %27,4 oranında tespit edilmiştir (Cant-Martínez ve diğ., 2012). Meksika’1000 atta yürütülen çalışmada nested PZR tekniği ile *T. equi*’nin moleküler prevalansı %19,7 olarak tespit edilmiştir (Ayala-Valdovinos ve diğ., 2017). Başka bir çalışmada 269 atta cELISA ile %78,8 *T. equi*, %7,8 *B. caballi* tespit edilmiş, PZR ile ise *T. equi* %59,11, *B. caballi*, %15,24 oranında tespit edilmiştir (Salinas-Estrella ve diğ., 2022). Kosta Rika’da 130 at kanında PZR ile *T. equi* %46,2, *B. caballi* %20 ve %7,7 miks enfeksiyon tespit edilmiştir, cELISA testiyle seroprevalans *T. equi* %69,2, *B. caballi* %88,5 olarak bildirilmiştir (Posada-Guzmán ve diğ., 2015).

2.6.2. Tek Tırnaklı Piroplasmosisinin Türkiye’deki Yayılışı

Türkiye’de atlarda ilk klinik piroplasmosis olgusunun Samuel ve Cafer Fahri’ye atfen Balkan Savaşı sırasında görüldüğü; daha sonrada Samuel ve Köylüoğlu’na atfen 1930’da Bursa Karacabey’de ortaya çıktığı bildirilmiştir (Kızılaslan, 2012).

Balkaya’nın 2004 yılında Türkiye’nin çeşitli coğrafik bölgelerindeki 666 at üzerinde mikroskopi, IFAT ve CFT yöntemleri ile yaptığı çalışmada mikroskobik yöntemle sadece bir örnekte *T. equi* tespit edilmiştir, *B. caballi* tespit edilememiştir. IFAT’la *T. equi* %25, 7 ve *B. caballi* %11,1; CFT yönteminde ise *T. equi* %19,7 ve *B. caballi* %0,9 oranında tespit edildiği bildirilmiştir (Balkaya, 2004). cELISA kullanılarak 481 atta yapılan bir çalışmada ise *T. equi* %16,1 (78 at), *B. caballi* %0,83 (4 at) ve miks %1,46 (7 at) oranında pozitif tespit edildiği bildirilmiştir (Sevinç ve diğ., 2008).

Türkiye'nin Doğu sınırında 110 atta yapılan çalışmada IFAT ile *T. equi* %64,5 ve *B. caballi* %4,5 oranında, 1 atta %0,9 ise miks enfeksiyon tespit edildiği bildirilmiştir. Mikroskopik yöntemle ise %52,8 oranın *T. equi* tespit edilmiş, *B. caballi* 'ye ise rastlanmadığı bildirilmiştir (Akkan ve diğ., 2003). Kars yöresinde 108 atta IFAT yöntemi ile *T. equi* prevalansı %25 olarak tespit edildiği bildirilmiştir (Öncel ve diğ., 2007). Kars-Ardahan yöresinde 273 atta cELISA ile yapılan başka bir çalışmada ise *T. equi* %19,0, *B. caballi* %29,3 ve miks enfeksiyon %8,8 oranında tespit edildiği bildirilmiştir (Sarı ve diğ., 2010). Erzurum'da cirit sporunda kullanılan 125 atta yapılan çalışmada, mikroskopta 6 örnekte (%4,8) piroplasma sp. pozitif tespit edilmiştir. Multipleks PZR tekniği ile *T. equi* %8,8 oranında tespit edilmiş, *B. caballi* ise tespit edilememiştir (Güven ve diğ., 2017). Muş'taki, 182 atta cELISA tekniği ile *T. equi* %12,1 ve *B. caballi* %0,5 oranında tespit edildiği bildirilmiştir (Akkoyun ve Oguz, 2019). Muş yöresinde, 102 at üzerinde yürütülen başka bir çalışmada PZR ile *T. equi* %3,2 oranında pozitif tespit edilmiş, *B. caballi* ise tespit edilmemiştir (Oğuz ve diğ., 2020). Malatya Sultansuyu Tarım İşletmesi'nde 130 at mikroskopik olarak incelenmiş *T. equi* %11,5 ve *B. caballi* %3 oranında, miks enfeksiyon ise %1,7 tespit edilmiştir (Aktaş ve Dumanlı, 2000). Malatya ve Elazığ'daki atlardan 78 serum ve 90 kan örneği mikroskopik ve serolojik yöntemle incelenmiştir. CFT ile *T. equi* %18 oranında tespit edilirken, *B. caballi* hiç tespit edilmediği, IFAT ile *T. equi* %20,5 ve *B. caballi* %2,5 oranında pozitif tespit edildiği bildirilmiştir. Mikroskopik incelemede ise etkene hiç rastlanmadığı bildirilmiştir (Erdoğan ve Balkaya, 2006).

Şanlıurfa, Iğdır ve Tunceli illerinde örneklenen 91 adet eşek ve 142 attan oluşan 233 örnekte RLB tekniği ile *T. equi* %20,5 oranında tespit edilmiş, *B. caballi* ise tespit edilememiştir (Özübek ve Aktaş, 2018). Adana yöresindeki 220 atta *T. equi* ve *B. caballi* enfeksiyonları cELISA ve mikroskopik yöntemle araştırılmıştır. Mikroskopik muayenede etkenlere hiç rastlanmamış, cELISA ile *T. equi* %56,8 oranında pozitif tespit edilmiş, *B. caballi* ise hiç tespit edilememiştir (Kurt ve Yaman, 2012; Kurt, 2005).

Akdeniz ve Karadeniz bölgesinde bulunan 8 ildeki 168 atta yapılan çalışmada; *T. equi* sırasıyla IFAT ve CFT ile Akdeniz bölgesinde %23,52 ve %11,76, Karadeniz Bölgesinde %15,66 ve %8,43 olarak saptamıştır. *Babesia caballi* ise Akdeniz Bölgesinde IFAT ile %15,29 ve CFT ile %1,17, Karadeniz Bölgesinde ise %9,63 oranında tespit edilmiş CFT ile pozitiflik tespit edilememiştir (Balkaya ve Erdoğan, 2006). Karadeniz bölgesindeki 5 ilden at, eşek ve katırların dahil edildiği, çalışmada toplam 153 örnek, mikroskopi ve IFAT yöntemleri ile incelenmiştir. Toplam seroprevalans *T. equi* %21,5 ve *B. caballi* %34,6, miks enfeksiyon ise

%5,2 olarak bildirilmiştir. İncelenen 84 atta ise *T. equi* %23,8 ve *B. caballi* %38 ve miks enfeksiyon oran ise %5,6 olarak bildirilmiştir (Açııcı ve diğ., 2008).

Kayseri yöresindeki 89 atta mikroskopik yöntemle yapılan araştırmada *T. equi* %4,5 ve *B. caballi* %7,9 olarak bildirilmiştir (İnci, 2002). Ankara yöresinde sportif ve gösteri amaçlı yetiştirilen 200 atta, mikroskopik yöntemle %3, PZR yöntemi ile *T. equi* %7, *B. caballi* %3 oranında tespit edildiği bildirilmiştir. (Güçlü ve Karaer, 2007). Niğde’de IFAT yöntemiyle 125 atta *T. equi* %12,8 ve *B. caballi* %9,6 oranında tespit edilmiştir. Pozitiflik tespit edilen örneklerden 5 tanesi (%4) miks enfeksiyon şeklinde tespit edilmiştir (Karatepe ve diğ., 2009). Nevşehir’de 105 turistik gezinti atında cELISA ile *T. equi* %73,3, *B. caballi* %1,9 oranında tespit edilmiştir (Erol ve diğ., 2022). Konya’daki 36 adet yolkı atında yapılan çalışmada, mikroskopik incelemede 3 tanesinde (%8,33) *T. equi* ve 1 tanesinde (%2,73) *B. caballi*, 1 tanesinde (%2,73) ise miks olarak; multipleks PZR ile %50 *T. equi*, %38,8 *B. caballi* ve %38,8’inde ise miks enfeksiyon tespit edilmiştir (Derinbay Ekici ve diğ., 2021). Konya, İzmir ve Gaziantep’teki 152 yarış atında PZR tekniği ile yapılan bir araştırmada ise *B. caballi* hiçbir atta tespit edilememiş, *T. equi* ise %3,3 oranında tespit edilmiştir (Ceylan ve diğ., 2021).

Bursa’da Gemlik harasında 133 at mikroskopik yöntemle muayene edimiş, *T. equi* %12 ve *B. caballi* %6 oranında bildirmiştir (İnci, 1997). Bursa Karacabey yöresindeki 203 atta yapılan çalışmada ise real time PZR yöntemi ile *T. equi* %2,96 ve *B. caballi* %1,97 oranında tespit edildiği bildirilmiştir (Kızılaslan ve diğ., 2015; Kızılaslan, 2012). Balıkesir’de tek tırnaklılarda yapılan bir araştırmada 60 atta cELISA ile %34,84 *T. equi*, %12,12 *B. caballi* pozitifliği tespit edilmiştir (Baydar ve diğ., 2022).

Türkiye’de yapılan çalışmalarda bildirilen prevalans oranları kullanılan mikroskopik, serolojik ve moleküler yöntemlere göre Tablo 2.2’de sunulmuştur:

Tablo 2.2: Ülkemizde yapılan araştırmalarda bildirilen tek tırnaklı piroplasmosisi prevalans oranları

Bölge	İncelenen at sayısı	Yöntem	<i>T. equi</i> %	<i>B. caballi</i> %	Miks	Literatür
Bursa Gemlik	133	Mikroskobi	12	6	4,5	(İnci, 1997)
Malatya	130	Mikroskobi	11,5	3	1,7	(Aktaş ve Dumanlı, 2000)
Kayseri	89	Mikroskobi	4,5	7,9	-	(İnci, 2002)
TR Doğu sınırı	110	Mikroskobi	58,18	-	-	
		IFAT	64,5	4,5	0,9	(Akkan ve diğ., 2003)
		Mikroskobi	1 atta	-	-	
Türkiye	666	IFAT	25,7	11,1	-	
		CFT	19,7	0,9	-	(Balkaya, 2004)
Adana	220	Mikroskobi	0	-	-	
		cELISA	56,8	-	-	(Kurt, 2005)
		Mikroskobi	0	-	-	
Elazığ-Malatya	78	IFAT	20,5	2,5	-	(Erdoğan ve Balkaya, 2006)
		CFT	18	-	-	
Akdeniz Bölgesi	85	IFAT	20,52	15,29	-	
		CFT	11,76	1,17	-	(Balkaya ve Erdoğan, 2006)
Karadeniz Bölgesi	83	IFAT	15,66	9,63	-	
		CFT	8,43	-	-	

Kars	108	IFAT	25	-	-	(Öncel ve diğ., 2007)
Ankara	200	Mikroskobi	-	-	3	
		PZR	7	3	-	(Güçlü ve Karaer, 2007)
Karadeniz Bölgesi	84	Mikroskobi	-	-	-	(Açııcı ve diğ., 2008)
		IFAT	23,8	38	5,6	
Türkiye	481	cELISA	16,2	0,83	1,46	(Sevinç ve diğ., 2008)
Niğde	125	IFAT	12,8	9,6	4	(Karatepe ve diğ., 2009)
Kars-Ardahan	273	cELISA	19	29,3	8,8	(Sarı ve diğ., 2010)
Bursa Karacabey	203	Real time PZR	2,96	1,97	-	(Kızılaslan, 2012)
Erzurum	125	Mikroskobi	-	-	4,8	(Güven ve diğ., 2017)
		Multipleks PZR	8,8	-	-	
Şanlıurfa, Iğdır, Tunceli	142 at, 91 eşek	RLB-PZR	20,2	-	-	(Özübek ve Aktaş, 2018)
Muş	182	cELISA	12,1	0,5	-	(Akkoyun ve Oguz, 2019)
Muş	102	PZR	3,9	0	-	(Oğuz ve diğ., 2020)
Konya	36	Mikroskobi	8,33	2,78	2,78	(Derinbay Ekici ve diğ., 2021)
		Multipleks PZR	50	38,8	38,8	
Konya, Gaziantep, İzmir	152	PZR	3,3	-	-	(Ceylan ve diğ., 2021)
Balıkesir	60	cELISA	34,84	12,12	-	(Baydar ve diğ., 2022)
Nevşehir	105	cELISA	73,3	1,9	-	(Erol ve diğ., 2022)

2.7. PATOGENEZ

Tek tırnaklı piroplasmosisi enfeksiyonlarında patogenezin temelinde enfekte alyuvarlarda ve plazma bileşenlerinde meydana gelen değişiklikler rol oynar. Damar değişiklikleri ve damar içi hemoliz çok önemlidir. Patogenezin şiddeti, enfeksiyonun yoğunluğu, miks enfeksiyonun olup olmaması, parazit suşunun virülansı, stres, enfeksiyondan sonra gelişen hayvanın bağışıklık tepkileri gibi faktörlerden etkilenmektedir (Rothschild, 2013; Tirosch-Levy ve diğ., 2020).

Tek tırnaklı piroplasmosisinde, merozoit evrelerinin salınması sırasında alyuvarların fiziksel olarak parçalanması intravasküler hemolitik anemiye neden olur. Aneminin sadece enfekte eritrositlerin yıkımına bağlı olmadığı, antikorların enfekte eritrosite bağlanması ve komplementin aktivasyonu ile eritrositlerin dolaşımdan uzaklaştırılmasının, eritrositlerin oksidatif dejenerasyonunun ve osmotik kırılabilirliğinin artmasının da aneminin nedenleri arasında olduğu düşünülmektedir (Wise ve diğ., 2013; Altay ve Aktaş, 2013).

Parazitlere karşı gelişen immün yanıtın bir ürünü olan oksidatif reaktiflerin, aşırı salınımı konakta oksidatif strese neden olmaktadır. Oksidatif reaktiflerin yol açtığı lipid peroksidasyonu, hücre zarı hasarına ve seçici geçirgenlik kaybına neden olur. Plasma malondialdehit (MDA) seviyesinin artması, lipid peroksidasyonun bir göstergesi kabul edilir (Gopalakrishnan ve diğ., 2015).

Theileria equi ile deneysel enfeksiyon oluşturularak yapılan bir araştırmada, splenektomiden önce (%1 parazitemi) ve splenektomiden sonra (%1-5, 5-15, 15-50 ve >50 parazitemi seviyelerinde), kandaki alyuvar membran fosfolipitleri ve proteini, hemoglobin ve plazma MDA seviyeleri ölçülmüş ve şiddetli parazitemi sırasında (>%50), toplam fosfolipit ve MDA seviyelerinde önemli derece artış tespit edilmiştir (Ambawat ve diğ., 1999). Eritrosit membranının ayrılmaz bir bileşeni olan çoklu doymamış yağ asidi, enfekte eritrositleri daha ileri biyokimyasal değişikliklere açık hale getiren oksidatif hasara karşı oldukça hassastır. Lipid peroksidasyonunun, ortaya çıkan oksidatif iyonların birikmesine yol açarak alyuvarların membranının biyokimyasal bileşimini değiştirdiği ve hemolize neden olduğu bildirilmiştir. Parazitemi arttıkça alyuvarlarda osmotik kırılabilirliğin arttığı belirlenmiş, MDA konsantrasyonunun *T. equi* enfeksiyonlarında paraziteminin bir belirteci olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Cingi ve diğ., 2012; Gopalakrishnan ve diğ., 2015).

Babesia caballi enfeksiyonunda alyuvarlarda meydana gelen biyokimyasal değişikliklerin mikrovasküler kan akışının yavaşlamasına katkıda bulunabileceği, sistemik yangıya bağlı endotel hasarı ve vazodilatasyon, dolaşım kollapsı, koma ve ölüme neden olabileceği bildirilmektedir. Farklı derecelerde trombositopeni *T. equi* ve *B. caballi* enfeksiyonu ile ilişkilendirilmiştir. Trombositopenin patogenezi belirsizliğini korumaktadır, ancak immün aracılı yıkım veya dalak sekestrasyonu yoluyla olduğu varsayılmaktadır. Enfeksiyonlar sırasında trombositopeni, plasma fibrinojeninde azalma ve pıhtılaşma süresinde uzama ortaya çıktığı bildirilmiştir. Şiddetli enfeksiyonlarda ödem, hemoraji, iskemik ve anoksi görülür ve organ disfonksiyonu ile sonuçlanabilir (Alı ve diğ., 1996; de Waal, 1992; Onyiche ve diğ., 2019; Rothschild, 2013; Wise ve diğ., 2013).

2.8. KLİNİK BELİRTİLER ve NEKROPSİ BULGULARI

Tek tırnaklı piroplasmosisinde klinik hastalık tablosu esas olarak parazit çoğalması ve eritrosit hasarının neden olduğu intravasküler hemolitik aneminin şiddeti ve etkilenen organlarla ilişkilidir. Her iki parazit türü ile enfeksiyonun klinik belirtileri benzerdir, ancak *T. equi* enfeksiyonlarında klinik tablo daha şiddetli olma eğilimindedir. Enfekte atlar çoğunlukla asemptomatik kalırken, klinik olarak perakut, akut, subakut veya kronik hastalık tabloları gelişebilir. En yaygın klinik belirtiler ateş, zayıflık, mukozalarda solgunluk ve sarılıktır. Hemoglobüri daha çok *T. equi* enfeksiyonlarında ortaya çıkar, *B. caballi* enfeksiyonunda daha nadirdir (Tirosh-Levy ve diğ., 2020; Altay ve Aktaş, 2013; Rothschild, 2013).

Etkinlerin inkübasyon süresi, *T. equi* için 12-19 gün, *B. caballi* için 10-30 gün arasında değişmektedir (Rothschild, 2013). Klinik belirtilerin ortaya çıkmasının 7-22 gün sürebileceği bildirilmiştir. *Babesia caballi* enfeksiyonunda paraziteminin %0,1-10 arasında değiştiği, nadiren %1'i aştığı bildirilmektedir. *T. equi* enfeksiyonlarında parazitemi %20'yi aşabildiği, genellikle %1-5 seviyelerinin yaygın olduğu, bazı durumlarda paraziteminin %80'e ulaşabileceği bildirilmektedir (Alı ve diğ., 1996; de Waal, 1992; Friedhoff ve diğ., 1990).

Akut enfeksiyonda genellikle 40 °C ateş, iştahsızlık, halsizlik, egzersiz intoleransı, nefes darlığı, nabız ve solunum hızının artmış olması gibi klinik belirtiler dikkati çeker. Anemi ve sarılıkla ilişkili olarak konjunktivalar solgun ve ikteriktir. Baş, göz ve çevresinde, distal ekstremitelerde ödemli şişlikler, konjonktivada peteşili kanamalar meydana gelebilmektedir. Hasarlı alyuvarların ortadan kaldırılmasında lenfositler ve mononükleer fagosit sistem hücreleri

görev alır. Karaciğer kupfer hücreleri hasarlı alyuvarların ortadan kaldırılmasında görev alan özelleşmiş makrofajlardır ve piroplasma enfeksiyonlarında hiperplaziye uğrar, ayrıca lökosit infiltrasyonuna bağlı karaciğer sinüslerinde genişleme meydana gelir. Lenf yumrularının ve karaciğerin muayenesinde büyümüş olduğu fark edilebilir. Pulmoner ödem ve yangının bir komplikasyonu olarak pnömoni şekillenebilir. Hemolitik anemiye bağlı hemoglobinüri, pigment nefropatisi ve sistemik inflamatuvar reaksiyondan kaynaklanan renal hipotansiyon sebebiyle akut böbrek yetmezliği ortaya çıkabilir (Bowhill, 1905; Schein, 1988; Rothschild, 2013; Wise ve diğ., 2013; Zobba ve diğ., 2008).

Perakut formda, prognoz iyi değildir ve enfeksiyon birkaç günde ölümlerle sonuçlanabilmektedir. Perakut form daha nadir ortaya çıkmaktadır ve daha çok *T. equi*'nin intrauterin bulaşması sonucunda yeni doğan vakalarında tanımlanmıştır. Yetişkinlerde perakut formun endemik alana ilk defa giren safkan atlarda ortaya çıkabileceği bildirilmiştir. Enfekte taylar zayıf doğar, ayakta duramaz, halsizdir ve düzgün bir şekilde anneyi ememezler. Ateş, mukozal peteşi vardır, hemoglobinüri görülebilir. Bazı taylar doğumda normaldir ancak belirtiler 2-3. günde ortaya çıkar. Enfekte alyuvarların kılcal damarlarda kümelenerek tıkanmalara neden olduğu durumlar, etkilenen organın hasarı ve işlev bozukluğu ile sonuçlanır. Klinik belirtiler, hasara ve işlev bozukluğuna uğrayan organlara göre değişir. Lezyonların konumuna bağlı olarak ensefalit, ataksi ve diğer belirtilerle birlikte merkezi sinir sistemi (MSS) tutulumu bildirilmiştir (Chhabra ve diğ., 2012; Hailat ve diğ., 1997; Rothschild, 2013; Sudan ve diğ., 2015).

Subakut formda, akut forma benzer bulgular daha hafif olarak gözlenir. Semptomlar iştahsızlık, kilo kaybı, tüylerde bozulma, intermittent ateş, zayıf egzersiz toleransı, halsizlik, hafif anemi, şeklinde ortaya çıkabilir. Palpasyonla muayenesinde dalak büyümüş olarak hissedilebilir. Terleme, miyaljiye bağlı kaslarda koordinasyon bozuklukları, hafif kolik ve kabızlık olabileceği de bildirilmektedir. Kronik formda belirtiler non-spesifiktir ve halsizlik, zayıflık dikkati çekebilir. Biluribin normal seviyesindedir, hafif anemi fark edilebilir (Bowhill, 1905; OİE, 2018; Rothschild, 2013; Wise ve diğ., 2013; Zobba ve diğ., 2008).

En sık tespit edilen hematolojik laboratuvar bulguları, anemi, trombositopeni ve hemoglobinemidir. Akut dönem, nötropeni ve lenfopeni ile karakterizedir, ayrıca plazma fibrinojeni, serum demir ve fosforunda azalma ve bilirubin konsantrasyonunda artış bildirilmiştir. Hematokrit ve PCV düşüşü, albüminemi, bilirubin artışı, karaciğer enzimlerinde

(ALP, AST, GGT, CPK) artış görülebildiği bildirilmiştir (Zobba ve diğ., 2008; Hailat ve diğ.,1997). *Theileria equi* enfeksiyonlarında kardiyak ve renal biyobelirteçlerin (üre, kreatin, sistatin-C, troponin, homosistein, CK-MB) parazit yüküne bağlı olarak arttığı tespit edilmiş, *T. equi* enfeksiyonları ile renal ve kardiyak belirteçlerin sıkı ilişki içinde bulunduğu bildirilmiştir (Ahmadpour ve diğ., 2020).

Piroplasmosisli atların nekropsisinde fark edilen değişikliklerden başlıcaları hepatomegali, splenomegali, genişlemiş böbrekler, multifokal ödem bölgeleridir. Göğüs ve karın boşluğunda sarımsı renkte eksudat birikimi gözlenebilir. Karaciğer soluk, turuncu-kahverenkte, safra kılcalları tıkanmış olarak gözlenebilir. Dalak büyümüş, kapsulası gergin ve sert kıvamlı, böbreklerde peteşiyel kanamalara bağlı soluk ya da koyu renk, kalpte hidroperikardiyum, subepikardiyal ve subendokardiyal kanamalar gözlenebilir. Ekstremitelerin distalinde hafif ödemli şişlik, sekonder enfeksiyonlara bağlı akciğer pnömonisi, ödem, amfizem gibi bulgulara rastlanabilir (Bowhill, 1905; Gotić ve diğ., 2018; Rothschild, 2013).

Histopatolojik incelemede akciğerlerde konjesyon ve ödem; karaciğerde safra stazı, böbreklerde sentrilobüler nekroz ve tübüler epitelde hidropik ve yağlı dejenerasyon ile korteks ve medulladaki birçok tübülde protein ve hemoglobin döküntüleri ile karakterize nefroz görülür. Ayrıca karaciğer, böbrek, akciğer ve lenf düğümlerinde retiküloendotelial sistem hücrelerinde belirgin bir proliferasyon vardır. Karaciğer ve akciğer damarlarında trombüsler bildirilmiştir (de Waal, 1992).

2.9. TANI

Atlarda tek tırnaklı piroplasmosis enfeksiyonlarının teşhisinde klinik belirtiler hematolojik ve epidemiyolojik faktörler eşliğinde yol gösterici olabilir. Hastalığın klinik belirtileri, benzer belirtilere yol açabilen diğer durumlarla (monositik ehrlichiosis, atların enfeksiyöz anemisi, leptospirozis vd.) karıştırılabilir (Baptista ve diğ., 2013; de Waal, 1992).

Enfeksiyonun tanısı, klinik olarak semptom gösteren hasta hayvanlarda hastalığın ve etken türünün tespiti için önemlidir. Enfeksiyonların ayrımı başarılı bir tedavi ve kontrol uygulanmasına imkân tanır. Ayrıca seyahat öncesinde taşıyıcı/portör atların belirlenmesi önemlidir. Enfeksiyonun akut dönemi atlatıldıktan sonra, kronik dönemde parazitemi oranı düşmektedir. Klinik olarak sağlıklı görünen, hastalık bulgusu gözlenmeyen ancak etkenlerin çoğalma göstermeden varlığını sürdürdüğü durumlar “latent/gizli enfeksiyon” olarak

adlandırılmaktadır. Latent enfeksiyona sahip hayvanlar, keneler ve diğer hayvanlar için rezervuar görevi görmektedir ve bu hayvanlar “taşıyıcı/portör” olarak adlandırılmaktadır. Hastalığın tanısı amacıyla mikroskopik inceleme, kültür, seroloji ve moleküler analizlere dayanan farklı teknikler kullanılmaktadır (Onyiche ve diğ., 2019; Rothschild, 2013; Tirosh-Levy ve diğ., 2020; Wise ve diğ., 2013; Baptista ve diğ., 2013; de Waal, 1992).

Tanıda kullanılan çeşitli testlerin duyarlılığını ve özgüllüğünü değerlendirmeyi amaçlayan ve aralarında karşılaştıran çok sayıda çalışma mevcuttur. Ancak henüz kronik enfekte ve portör atların tespiti için kullanmak üzere diğerlerinden üstün olduğu kabul edilen nihai bir standart oluşturulamamıştır. Bu nedenle, latent enfeksiyonların ve portör atların daha iyi taranması için birden fazla teşhis yönteminin birlikte kullanılması önerilmektedir (Sgorbini ve diğ., 2015; Tirosh-Levy ve diğ., 2020; Wise ve diğ., 2013).

2.9.1. Mikroskopik Tanı

Piroplasmaların teşhisinde eski ve klasik yöntem mikroskopik muayenede etkenlerin gözle görülmesidir. Perifer kan, lenf yumrusu aspiratı ya da nekropside organ tuşelerinden hazırlanacak preparatlar Giemsa, Wright's veya Diff-Quick gibi boyalarla boyanarak etkenler teşhis edilebilmektedir (Kızılaslan, 2012). Deneysel enfekte hayvanlarda, enfekte kenenin tutunmasından 12-14 gün sonra bölgesel lenf yumrusu aspiratından hazırlanan preparatların elektron mikroskopisinde lenfositler içerisinde *T. equi* şizontlarının tespit edildiği bildirilmiştir (Moltmann ve diğ., 1983). Kan yaymaları, genellikle antikoagülanlı perifer kan örneklerinden ince yayma şeklinde kullanılmaktadır. *Theileria equi* merozoitleri akut dönemde tespit edilebilir, ancak *B. caballi* enfeksiyonlarında parazitemi akut dönemde bile çok düşük olma eğilimindedir ve genellikle rastlanması çok zordur (de Waal, 1992). Mikroskopik teşhis alyuvar içindeki parazitin mikroskopik olarak gösterilmesi açısından çok güçlüdür, ancak paraziteminin düşük olduğu dönemde etkenlerin tespit edilmesinde zayıf bir duyarlılığa sahiptir. Basit, ekonomik, sürdürülebilir bir yöntem olmasına karşın, kalifiye personel gerektirir ve tarama amaçlı çok sayıda hayvana uygulama açısından da pratik değildir (Böse ve diğ., 1995; Gotić ve diğ., 2018; OİE, 2018; Sumbria ve Singla, 2015).

2.9.2. Serolojik Tanı

Hastalığın akut fazını atlatanlarda parazitemi düzeyi çok düşük olabileceğinden, mikroskopik incelemede tanı güç ya da imkânsız olabilmektedir. Kronik enfekte veya taşıyıcı olan hayvanların tespitinde ve klinik vakalarda tanıyı doğrulamada serolojik testlerden

faaydalanılmaktadır. Bu testler parazitemi hakkında kesin bilgi veremez. *Babesia caballi* ve *T. equi* 'ye karşı antikorların tespiti için çeşitli serolojik testler mevcuttur. CFT, cELISA, IFAT, WB ve ICT yöntemleri kullanılmaktadır.

CFT önceleri at ithalatında IFAT ile birlikte taramada kullanılan standart bir test iken son yıllarda cELISA onun yerini almıştır. Testte temel prensip, spesifik antijen ve serum antikoruna arasındaki reaksiyon sırasında komplemanın aktive olarak antijen-antikor kompleksine bağlanıp fikse olmasıdır. 1:5 dilüsyonla reaksiyona giren numuneler pozitif kabul edilir (Rothschild, 2013). Titrelerin 2-10 günlük parazitemiden itibaren tanımlandığı ve 1-3 ayda hızla azaldığı bildirilmiştir (Weiland, 1986). CFT oldukça spesifik bir testtir, ancak bazı durumlarda dezavantajlıdır. Test edilecek serumun antikomplementer özellikte olması durumunda test kullanılamaz. Enfeksiyonun geç döneminde üretilen bazı immünoglobulinlerin komplemanla bağlanamamasından dolayı, CFT erken dönemdeki humoral immün yanıtı tespit etmede oldukça başarılı olsa da özellikle tedaviden sonra ya da kronik enfeksiyonlarda geç dönem humoral immnitesini değerlendirmede yanlış negatiflikler verebildiği bildirilmektedir (Rhalem ve diğ., 2001; Rothschild, 2013; Sumbria ve Singla, 2015, Wise 2014, Knowles ve diğ.,1991).

IFA testinde, test antijenleri cam bir lama bağlanır ve üzerine eklenen test serumları ile reaksiyona girmesi sağlanır. Antijenle bağlanan antikorlar, floresan etiketlenmiş anti at immnglobulinin bağlanmasıından sonra ultraviyole ışık altında görülebilir hale gelir. Numune, 1:80 veya daha yüksek bir dilüsyonda güçlü floresan gösteriyorsa, pozitif olarak kabul edilir (Rothschild, 2013). Deneysel enfeksiyonla yapılan bir çalışmada IFAT ile 3-20. günden itibaren pozitifliğin tespit edilebildiği bildirilmiştir (Weiland, 1986). IFAT, CFT'den daha hassas bir testtir, CFT'nin negatif sonuç verdiği kronik ve taşıyıcı dönemdeki vakalarda pozitifliği tespit edebilmektedir (Ogunremi ve diğ., 2008; Weiland, 1986).

Enzim bağlantılı immnosorben testi (ELISA), zgl antijen-antikor reaksiyonunu göstermek amacıyla enzimle işaretli konjugat ve enzim substratı kullanılarak reaksiyonun renklendirilmesi esasına dayanmaktadır. ELISA'nın birçok çeşidi geliştirilerek standardize edilmiştir (Asenzo ve diğ., 2008; El-Sayed ve diğ., 2015; Kumar ve diğ., 2003; Kumar ve diğ., 1997; Kumar ve diğ., 2013). Oldukça duyarlı ve etkili bir test olan ELISA'da kullanılan antijen kalitesi testin duyarlılığını etkilemektedir. Bu güne kadar ELISA testlerinde kullanılmak üzere bir dizi antijen tanımlanmıştır. Bu antijenlerden *T. equi* için equine merozoit yüzey anijenleri

EMA-1 ve EMA-2; *B. caballi* için rhoptry ilişkili protein (RAP-1) ve BC48 proteinleri rekombinant olarak üretilmektedir (Huang ve diğ., 2006; Kappmeyer ve diğ., 1999; Knowles ve diğ., 1992; Kumar ve diğ., 2013; Xuan ve diğ., 2001). Rekombinant antijen kullanımı hayvan refahının korunması, olası çapraz reaksiyonların önlenmesi, uluslararası dağıtım ve standardizasyon için daimi antijen sunması gibi bir çok avantajı sağlamaktadır (OİE, 2018).

EMA-1, EMA-2, RAP-1 ve BC48 proteinleri kullanılarak geliştirilen çeşitli ELISA testleri, enfekte atlarda antikorların saptanmasında yüksek spesifite ve sensitivite göstermiştir (Asenzo ve diğ., 2008; Ikadai ve diğ., 1999; Kappmeyer ve diğ., 1999; Kumar ve diğ., 2013).

Theileria equi için EMA-1 proteini ve bu protein antijeninin epitopunu tanıyan spesifik bir monoklonal antikor bazlı rekabetçi inhibisyon ELISA (cELISA) testini geliştirilmiştir (Knowles ve diğ., 1992). Benzer bir cELISA testi, RAP-1 proteini ve onun antijen epitopunu tanıyan spesifik bir monoklonal antikor kullanılarak *B. caballi* için geliştirilmiştir (Kappmeyer ve diğ., 1999).

Şu anda OİE'ye göre; IFAT ve cELISA testleri atların ithalat için taranmasında kullanılan birincil testlerdir. IFAT ve cELISA'nın, iki etken türü için de spesifik olduğu gösterilmiştir (OİE, 2018; Pelzel-McCluskey ve Traub-Dargatz., 2015; Rothschild, 2013; Tirosh-Levy ve diğ., 2020).

Çeşitli çalışmalarda, geliştirilen cELISA testlerinin IFAT ve CFT ile uyumu tespit edilmiştir. İsrail'de 361 serum örneğinde *T. equi* üzerine yapılan araştırmada, cELISA testi ve IFAT %95,7 düzeyinde uyumlu bulunmuştur (Shkap ve diğ., 1998). Fas'ta 578 serum örneği ile yürütülen çalışmada, rastgele seçilen 98 numunede *T. equi* için IFAT ve cELISA testi uyumu %91 olarak tespit edilmiştir (Rhalem ve diğ., 2001). *Babesia caballi*, Kuzey ve Güney Amerika ve Avrupa'daki 21 ülke ile Güney Afrika ve Katar'dan Amerika Tarım Bakanlığı Ulusal Veteriner Hizmetleri Laboratuvarları'na gönderilmiş olan 302 serum örneğinde, cELISA ve CFT ile test edilmiş, test sonuçları %73 uyum göstermiştir. CFT negatif ve cELISA testi pozitif olan 72 örnekten 48'inin (%67) IFAT pozitif olduğu gösterilirken, CFT pozitif ve cELISA testinde negatif tespit edilen beş örnekten dördü IFAT ile pozitif kaydedilmiştir (Kappmeyer ve diğ., 1999).

cELISA tanı ve sürveyans amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. cELISA, kemosterilizasyondan 1 yıl sonra bile *T. equi* antikor pozitifliği tespit edebilmektedir. Testin çok uzun süreler pozitiflik vermesi, *T. equi* ve *B. caballi* enfeksiyonundan arılık politikası izleyen ülkelerde kullanımının atların karantinadan çıkarılma süresinde zorluk yarattığı bildirilmektedir. Doğrudan etkeni araştıran immünblotlama ve PZR tekniklerinin kullanılmasının tanı için daha etkin bulunduğu bildirilmiştir (Wise ve diğ., 2018).

2.9.3. Moleküler Tanı

Moleküler tanı yöntemlerinin temel prensibi, patojene ait genetik materyalin (DNA, RNA) özgün bölgesinin çoğaltılması ve görüntülenmesidir. Enfeksiyonları tür düzeyinde ve patojen yüküne göre tespit etmeleri mikroskopik tanıya alternatif sunmaktadır. Moleküler teknikler farklı genotipleri tespit etmeye imkân sağlamaktadır. Mevcut enfeksiyonu tespit etmeleri açısından klinik olarak serolojiden daha faydalıdır (Bashiruddin ve diğ., 1999; de Waal, 1992; Nicolaiewsky ve diğ., 2001; Rampersad ve diğ., 2003). Equidealarda *Theileria* ve *Babesia* türlerini tespit etmek üzere konvansiyonel PZR, nested PZR, Real time PZR, multipleks PZR, Reverse Line Blotlama (RLB) ve Loop Mediated izotermal amplifikasyon (LAMP) teknikleri kullanılmaktadır (Rothschild, 2013; Tirosh-Levy ve diğ., 2020).

18S rRNA, ökaryotik ribozomal RNA'nın 40S küçük alt birimin (SSU) bir bileşeni olan yapısal bir RNA'dır ve dolayısı ile tüm ökaryotik hücrelerin temel bileşenlerinden biridir. rRNA'yı kodlayan genler, 18S rRNA genleri olarak adlandırılır. Küçük alt birim (SSU) 18S rRNA geni, ribozomal fonksiyonel çekirdeğin bir parçasıdır. Filogenetik araştırmalarda en sık kullanılan genlerden biridir (Braga ve diğ., 2017; Ueti ve diğ., 2003). Genom içindeki tekrarlayan dizilimleri (multi-copy nature), PZR için bol miktarda şablon DNA sağlar. Geniş bir taksonomik spektrumun hedeflenmesini sağlayan universal primerlerin kullanımına imkân veren yüksek oranda korunmuş gen bölgeleri içermesi sayesinde rRNA gen dizilerine ulaşmak kolaydır. Hiperdeğişken gen bölgeleri düşük taksonomik seviyelerde ayırım yapmaya imkân tanır (Hartmann ve diğ., 2010; Meyer ve diğ., 2010).

Theileria equi ve *B. caballi* teşhisinde kullanılan moleküler tanı tekniklerinin çoğu esas olarak 18S rRNA genini hedefleyen türe özgü PZR deneylerine dayanmaktadır (Criado-Fornelio ve diğ., 2003; Rampersad ve diğ., 2003). Ayrıca *B. caballi* için RAP-1 ve BC48 genlerini, *T. equi* için EMA-1 genini hedefleyen özgün primerler tanı, epidemiyolojik ve

filogenetik çalışmalarda sıklıkla tercih edilmektedir (Baptista ve diğ., 2013; Güçlü ve Karaer, 2007; Heim ve diğ., 2007; Schwint ve diğ., 2008; Ueti ve diğ., 2003).

Hedef gen bölgesi için dış ve iç bölgeleri çoğaltacak primer çiftleri kullanılarak iki basamaklı bir PZR işleminden oluşan nested PZR teknikleri ile teşhis hassaslığının artırılması hedeflenmiştir. *T. equi* ve *B. caballi* 'nin çeşitli gen bölgeleri için tasarlanmış olan nested PZR teknikleri araştırmalarda kullanılmaktadır (Baptista ve diğ., 2013; Montes Cortés ve diğ., 2019; Rampersad ve diğ., 2003; Schwint ve diğ., 2008).

Tek sefer PZR reaksiyonu ile birden fazla türün aynı anda amplifikasyonuna olanak sağlayan multipleks PZR teknikleri, hızlı ve duyarlı teknikler olarak *T. equi* ve *B. caballi* 'nin tespiti için kullanılmaktadır (Alhassan ve diğ., 2005; Derinbay Ekici ve diğ., 2020; Güven ve diğ., 2017). *Babesia caballi* ve *T. equi* 'nin eş zamanlı teşhisinde 18S rRNA genlerini hedefleyen multipleks PZR kullanmışlar ve bu yöntemin epidemiyolojik çalışmalarda ve rutin laboratuvar teşhislerinde basit ve güvenilir bir yöntem olduğunu bildirilmiştir (Alhassan ve diğ., 2005).

Real time PZR, parazit DNA sının hem tespit edilmesi hem de miktarının ölçülmesine olanak veren hassas bir PZR metodudur. Çeşitli gen bölgelerinden primerleri ile dizayn edilmiş ve kullanılmıştır (R. Bhoora, Quan, Franssen, ve diğ., 2010; R. Bhoora, Quan, Matjila, ve diğ., 2010; Jaffer ve diğ., 2010; Kim ve diğ., 2008; Ueti ve diğ., 2003). Kim ve diğ.(2008), 18s rRNA gen bölgesinden tasarladıkları real time PZR ile IFAT ve RLB'yi karşılaştırmalı olarak ele almış, testin IFAT ile uyumlu olduğunu RLB den daha hassas olduğunu bildirmiş, PZR test limitini %0,000114 parazitemi olarak belirlemişlerdir (Kim ve diğ., 2008).

Daha sonraki çalışmalarda multipleks real time PZR testleri geliştirmiştir. Testin yüksek hassaslık ve özgüllükte olduğu, rutin tanı ve epidemiyolojik araştırmalarda hem miks enfeksiyonların araştırması hem de enfeksiyon miktarını ölçmeye imkân tanıyan hızlı bir araç olabileceğini bildirmişlerdir (Bhoora ve diğ., 2018; Heim ve diğ., 2007).

RLB tekniği de çeşitli araştırmacılar tarafından *T. equi* ve *B. caballi* 'nin teşhis edilmesinde kullanılmıştır. Bu teknik yeni genotiplerin veya türlerin tanımlanmasına ve aynı zamanda karışık enfeksiyonların saptanmasına izin veren bir tekniktir. RLB tekniğinin hızlı ve hassas bir teknik olduğu bildirilmektedir (Bhoora ve diğ., 2009; O'Sullivan ve diğ., 2011).

LAMP metodu, PZR'a göre daha uygun maliyetli, hızlı ve pratik bir alternatif olarak ele alınmıştır. LAMP, dört primer kullanılarak tasarlanan bir loop aracılı izotermal nükleik asit amplifikasyon tekniğidir. Reaksiyon bir ısı bloğu ya da bir su banyosunda sabit bir sıcaklıkta gerçekleştirilmektedir. *Theileria equi*'nin EMA-1 ve *B. caballi*'nin Bc48 genlerini hedef alan LAMP testleri geliştirmiş, üstün saptama verimliliğine sahip olduğunu bildirmiştir (Alhassan ve diğ., 2007a, 2007b).

Enfeksiyonun kronik dönemde kalıcılığı, ml/kan başına 10^3 ile 10^6 enfekte periferik alyuvarın sürekli mevcudiyeti ile karakterize edilmiş ve bu miktarın keneler tarafından verimli olarak alınıp bulaştırılması için yeterli geldiği tespit edilmiştir (Ueti ve diğ., 2005). Geliştirilmiş moleküler tekniklerin birçoğunun 10^{-7} parazitemiyi saptama limiti ile yüksek duyarlılığa sahip olduğu gösterilmiştir (Tirosh-Levy ve diğ., 2020). PZR ile at kanındaki parazit DNA'sının saptanmasına dayanan moleküler teşhis, hem klinik hasta hem de taşıyıcı hayvanlarda parazitlerin saptanmasında popülerlik kazanmaktadır. PZR yöntemleri mikroskopik incelemeden daha duyarlıdır ve mevcut enfeksiyonu temsil ettikleri için klinik olarak serolojiden daha faydalı kabul edilmektedir. Ancak rutinde tüm dünyada ve çok sayıda hayvana uygulanabilmesi açısından çeşitli zorlukları vardır. Bu teknikler pahalı laboratuvar alt yapısı ve sarf malzeme, nitelikli personel gerektirmekte ve çok aşamalı prosedürleri içermektedir. Şu anda, bu yöntemler klinik uygulamadan çok araştırma için kullanılmaktadır (Tirosh-Levy ve diğ., 2020).

2.9.4. Kültür Yöntemi

İn vitro kültür yöntemlerinin duyarlı ve spesifik olduğu kanıtlanmıştır. *B. caballi* ve *T. equi* etkenleri, seronegatif, klinik olarak sağlıklı görünen atlardan bile kültürlenebilmiştir (Bonfini ve diğ., 2006; Holman ve diğ., 1993). Ancak bu yöntemler zaman alıcı ve pahalıdır, donanımlı doku kültürü tesisleri ve nitelikli personel gerektirir. Bu yüzden rutin tanıya yaygın olarak tercih edilememektedir. Deney hayvanı kullanmaya gerek kalmadan taşıyıcı hayvanlardan parazit suşları izole etmek, parazit saptama testlerinin değerlendirilmesi gibi araştırmalarda kullanılması bakımından faydalı bir araştırma yöntemidir (Alı ve diğ., 1996; Mans ve diğ., 2015; Tirosh-Levy ve diğ., 2020).

2.10. BAĞIŞIKLIK

Atların piroplasmosis enfeksiyonlarına karşı bağışıklık tepkisi karmaşık ve çok yönlüdür. Enfeksiyonlara karşı konağın doğuştan gelen bağışıklık mekanizmaları hayati bir rol oynamaktadır ancak makrofajlar, nötrofiller ve doğal öldürücü (natural killer) hücreler gibi doğuştan gelen bağışıklık elemanlarının parazit kontrolündeki kesin rolü bilinmemektedir. Kazanılmış bağışıklık tepkileri, humoral ve hücrel immün yanıt unsurları ile birlikte görev alır (Wise ve diğ., 2013). Endemik bölgelerde, kolostrumdaki maternal antikorların, genç taylarda ilk 1-5 ay, çoğu zaman 9 aya kadar koruma sağladığı, endemik stabiliteye sahip ülkelerdeki çoğu atın iki yaşında enfektif hale geldiği bildirilmektedir (de Waal, 1992; Donnelly ve Phipps, 1982; Heuchert ve diğ., 1999; Wise ve diğ., 2013).

Enfeksiyonu takiben gelişen kazanılmış bağışıklığın, premünisyon şeklinde devam ettiği kabul edilmektedir. *Theileria equi* ve *B. caballi* enfeksiyonları genellikle, bağışık yanıtın gelişmesi ve enfeksiyonların latent hale gelerek sınırlandırılması, hayvanların portör hale gelmesiyle sonuçlanmaktadır. Premünisyon bağışıklığı, parazitin sürekli varlığı tarafından immün sistemin sürekli uyarılmasının bir sonucudur, ancak mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. *Theileria equi* ve *B. caballi* arasında çapraz bağışıklık olmadığı bildirilmektedir (Onyiche ve diğ., 2019; Tamzali, 2013).

Dalak, hemoprotozoan parazitlerin ortadan kaldırılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Normal bir bağışıklık sistemine ve dalağa sahip olan atlar, genellikle *T. equi* 'nin neden olduğu enfeksiyonu kontrol altına alabilmektedir, ancak dalağı alınmış (splenektomi uygulanmış) atların, deneysel olarak oluşturulan *T. equi* enfeksiyonuna yenik düştükleri bilinmektedir (Guimarães ve diğ., 1997; Wise ve diğ., 2013). Knowles ve diğ. (2014), spesifik immün yanıtların (hücrel immünite ve humoral immünite) yokluğunda dalağın rolünü araştırmak için ciddi kombine immün yetmezliği olan (Severe Combined Immunodeficiency=SCID) taylarda *T. equi* ile deneysel enfeksiyon oluşturmuşlardır. SCID taylar fonksiyonel T ve B lenfositlerinden yoksundur, yani antijene özgü antikor üretemezler ve hücrel bağışıklık tepkileri de oluşturamazlar; ancak sağlıklı bir dalağa ve doğuştan gelen bağışıklık mekanizmalarına (makrofajlar, granülositler ve doğal öldürücü (natural killer) hücrelere) sahiptirler. Deneysel enfeksiyondan sonraki 7 gün içinde atlarda şiddetli enfeksiyon gelişmiş, parazitemi %29 ile %41 arasında tespit edilmiştir. *T. equi* enfeksiyonunda paraziteminin kontrol altına alınması için dalak ve doğuştan gelen bağışıklık mekanizmalarının yeterli olmadığı,

enfeksiyonun kontrol altına alınmasında spesifik bağışıklık tepkilerinin gerekli olduğu bildirilmiştir (Knowles ve diğ., 1994; Wise ve diğ., 2013).

Antikor yanıtı paraziteminin kontrolüyle ilişkidir. Antikor ilişkili bağışıklık mekanizmaları, hücre girişinin bloke edilmesi, enfekte alyuvarların opsonizasyonu yoluyla hücre dışı parazitlerin nötralizasyonunu, parazitlerin veya enfekte olmuş hücrelerin kompleman lizisini içermektedir (Cunha ve diğ., 2006; Wise ve diğ., 2013). At genomunda ıgG için yedi farklı gen bölgesi keşfedilmiştir. *T. equi* ile enfeksiyonun akut aşamasında immünoglobulin IgG1 (önceden IgGa) ve Ig G4/7 (önceden IgGb) antikor seviyeleri artarken, paraziteminin düştüğü kronik enfeksiyon sırasında IgG (T), büyük ölçüde IgG5 ve daha az ölçüde IgG3 seviyelerinin arttığı bildirilmiştir (Cunha ve diğ., 2006; Lewis ve diğ., 2008; Wise ve diğ., 2013). Yüksek antikor titreleri tek başına koruma sağlamasa da parazitin çoğalmasının önüne geçilmesi ve parazitin ortadan kaldırılması ile ilişkilendirilmiştir. SCID taylarda deneysel enfeksiyondan önce hiperimmün serum verilmesinin paraziteminin zirveye ulaşmasını geciktirebildiği gösterilmiştir. Genel olarak, antikorların koruyucu rolleri tam olarak bilinmemektedir ve tanımlamak için ek araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Mealey ve diğ., 2012).

Theileria equi'ye karşı hücre aracılı bağışıklık mekanizmaları da tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. IFN- γ aracılı Th1 yanıtı ve makrofajların aktivasyonunun hastalığı kontrol etmede önemli olduğu bildirilmiştir (Santos ve diğ., 2021). Atlarda *T. equi* enfeksiyonunun, yüksek IFN- γ , TNF- α ve yüksek interlökin seviyeleri ile ilişkisi gösterilmiştir (Mostafavi ve diğ., 2020). Bağışık hayvanların periferik kanından elde edilen lenfositlerin, in vitro olarak şizont içeren lenfoblastların büyümesini engellediği gösterilmiştir (Zweygarth ve diğ., 1983). Ayrıca *T. equi* ile enfekte eşeklerde gecikmiş kutanöz aşırı duyarlılık ve lökosit göçünün inhibisyonu gözlenmiş (Banerjee ve diğ., 1977), bu bulgular hücre aracılı bağışıklık ile koruyucu bağışıklık arasında bir korelasyon şeklinde yorumlanmıştır (Onyiche ve diğ., 2019).

Atlarda *B. caballi*'ye karşı koruyucu bağışıklık hakkındaki bilgiler, *T. equi*'ye göre daha azdır (Onyiche ve diğ., 2019). *Babesia* enfeksiyonlarına karşı bağışıklık, konağın doğuştan gelen direnci ve *Babesia* antijenlerine karşı kazanılan spesifik immün yanıtı bağlıdır. Aktif makrofajlar ve makrofajların çözünür ürünleri (monokinler) babesiosis'e karşı spesifik olmayan bağışıklığı uyarmada etkilidir. Hücre aracılı bağışıklık ve sitokinlerin *B. caballi* enfeksiyonuna

karşı bağışıklık yanıtında çok önemli bir rol oynamaktadır. *Babesia caballi* ile deneysel enfeksiyonlu atlarda, nitrik oksit (NO), TNF- α ve diğer sitokinlerin, parazitleri nötralize eden optimal miktarda üretildiğinde koruyucu bağışıklığı arttırdığı gözlenmiştir (Hanafusa ve diğ., 1998). *Babesia* enfeksiyonlarından iyileşmenin T lenfosit yanıtına bağımlı olduğuna ve NK hücrelerinin de korumada rol oynadığına dair güçlü kanıtlar olduğu bildirilmiştir (Alı ve diğ., 1996). Humoral immün yanıtın ürünü olan antikorlar, alyuvarların merozoit istilasını nötralize eder ve serbest parazitlerin ve enfekte olmuş hücrelerin fagositozunu artırır. Enfekte atlar, enfeksiyonun serolojik tespitinde kullanılan RAP-1 antijenine karşı antikorlar üretir. Bu korunmuş apikal merozoit proteini *B. caballi* için henüz iyi karakterize edilmemiş olsa da, *B. bovis* için humoral bağışıklığın indüksiyonunda çok önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir (Wise ve diğ., 2013).

2.10. TEDAVİ

Atlarda tedavi hedefleri, endemik olan ve olmayan bölgelerde değişiklik gösterir. Endemik bölgelerde tedavinin amacı, klinik belirtileri ve akut enfeksiyonlardan ileri gelen ölümleri azaltmak ve iyileşmeyi hızlandırmaktır. Premünisyon bağışıklığının devamı açısından etkenlerin tamamen ortadan kaldırılması tercih edilmez. Amerika gibi endemik olmayan ülkelerde ise tedavi hedefi, etkenlerin tamamen ortadan kaldırılmasıdır ki bu çok zor veya imkânsız olabilmektedir. Bu amaçla çok sayıda ilaç ve tedavi protokolü denenmektedir. Genel olarak, *T. equi*'nin tamamen ortadan kaldırılmasının *B. caballi*'den daha zor olduğu bildirilmektedir (Wise ve diğ., 2014).

Bir karbanilid türevi olan imidokarb dipropiyonat (ID), hem *T. equi* ve hem *B. caballi* 'ye karşı etkili bulunmuştur. Şu anda tedavide kullanılan ilaçlardan en güçlüsü kabul edilmektedir ve pek çok araştırmada kemosterilizasyon amacı için de denenmiştir (Schwint ve diğ., 2009; Ueti ve diğ., 2012). Kemosterilizasyon için kullanılan dozlar toksisite ve yan etkilere neden olabilmektedir. Ayrıca eşek ve katırlar bu ilaca duyarlı olduğundan kullanımı önerilmemektedir (Wise ve diğ., 2014). Diminazen aseturat ve diminazen diaseturat *T. equi* ve *B. caballi* 'ye karşı tedavide %90 başarılı bulunmuştur (Rashid ve diğ., 2008). Oksitetrasiklin 7 gün boyunca günde bir kez 5-6 mg/kg dozunda intravenöz uygulandığında *T. equi* 'ye karşı etkili bulunmuş, ancak *B. caballi* 'ye karşı etkili bulunmamıştır (Zobba ve diğ., 2008).

Bazı hayvanlarda ek olarak nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, ağrı yönetimi, kan transfüzyon ve destekleyici sıvı sağaltımı gerekebilmektedir.

2.11. KORUNMA KONTROL

Tek tırnaklılarda piroplasmosisten korunma için çeşitli deneysel bağışıklama stratejileri denenmiştir (Cunha ve diğ., 2006; Kumar ve diğ., 2002; Lewis ve diğ., 2008; Santos ve diğ., 2021; Vianna ve diğ., 2019). Ancak şu anda, *T. equi* veya *B. caballi* için ticari olarak temin edilebilen etkili bir aşı bulunmamaktadır (Rothschild, 2013; Tirosh-Levy ve diğ., 2020).

Önleme ve kontrol stratejileri, endemik ve endemik olmayan ülkeler arasında farklılıklar gösterir. Hastalığın endemik olduğu bölgelerde hastalığı tamamen önlemek neredeyse imkânsızdır. Korunma için esas olarak atların kenelerle temasının minimuma indirilmesi hedeflenmektedir. Endemik olmayan ülkelerde ise, hastalığın bölgeye girişinin engellenmesine yönelik tedbirler esas alınmaktadır (Wise ve diğ., 2014).

Atların uluslararası seyahatlerinde ülkelerin girişinde test veya karantina tedbirleri uygulamaktadır. Uygulamalar ülkeden ülkeye değişebilmektedir. Örneğin, Amerika Birleşik Devletleri'nde *T. equi* pozitif atların ülkeye girişi reddedilmektedir. *Babesia caballi* pozitif tespit edilen atlar karantinaya alınarak, kemosterilizasyona tabi tutulduktan sonra, testi negatif olanların girişi sağlanmaktadır. Pozitif atların yerli olması durumunda hemen karantinaya alınır. Bu atları ithal etme, ömür boyu karantinada tutma ya da ötenazi seçenekleri değerlendirilmektedir. Seropozitif atların spor müsabakalarına girmesine izin verilmesi halinde, böyle atlar karantinaya alınarak iyice muayene edilmekte, akarisit uygulanarak süreç boyunca sıkı gözlem altında tutulmaktadır (OİE, 2018; Rothschild, 2013; Wise ve diğ., 2013, 2014).

Etkili kene mücadele stratejilerinin uygulanmasının enfeksiyon oranlarını düşürdüğü bildirilmiştir. Kenelere karşı fiziksel mücadelede atların barınma yerlerinde kene habitatı olabilecek alanlar kontrol altına alınmalıdır, bu amaçla meraların biçilmiş halde tutulması, çalılarının ve yabani otlarının kaldırılması fayda sağlar. Kimyasal mücadele için hayvanlara pasta/bol, dökme/sürme veya enjektabl formdaki antiparaziter uygulamalar yapılır. Özellikle kenelerin aktif olduğu mevsimlerde, bahar aylarından itibaren, akarisit uygulamaları düzenli takip edilmelidir. Mücadelenin etkin olabilmesi için at sahipleri ve atların bakıcılarına yönelik, bilgilendirici dokümanlar hazırlanması, bilinçlendirici eğitimler düzenlenmesi önerilmektedir (Kerber ve diğ., 1999; Onyiche ve diğ., 2019; Scoles ve Ueti, 2015).

Enfeksiyonların endemik olmadığı bölgelerde ortaya çıkabilecek salgın riskine karşı, özel muayenehanelerdeki veteriner hekimlerin ve yerel veteriner teşhis laboratuvarlarının,

şüpheli yabancı hayvan hastalıklarının tanınması ve raporlanmasında ve bu tür hastalıkların önlenmesi ve yok edilmesinde hayvan sağığı kanun düzenleyicilerinin rolü önemlidir. Aynı zamanda, kan bağışçılarının transfüzyon yoluyla bulaşabilecek patojenler için test edilmesi önemlidir. Sektörde çalışan çiftlik elemanlarının steril iğne ve enjektör kullanılmasının önemi konusunda bilinçlendirilmeleri de faydalıdır (Short ve diğ., 2012).



3. YÖNTEM

Bu çalışmada, İstanbul ilindeki atlarda *T. equi* ve *B. caballi*'nin yaygınlığının belirlenmesi, tespit edilen türlerin moleküler karakterizasyonunun yapılması ile *T. equi* ve *B. caballi* enfeksiyonları hakkında epidemiyolojik veriler elde edilmesi amaçlandı. Çalışma, İstanbul iline bağlı ilçeler ve adalarda halk elinde yetiştirilen atlardan toplanan 400 adet at kanı ve serumu üzerinde yürütüldü. Bu amaçla, mikroskopik teşhis, cELISA ve PZR yöntemleri kullanıldı. Elde edilen sonuçlar istatistiki değerlendirmeye tabi tutuldu.

3.1. SAHA ÇALIŞMASI

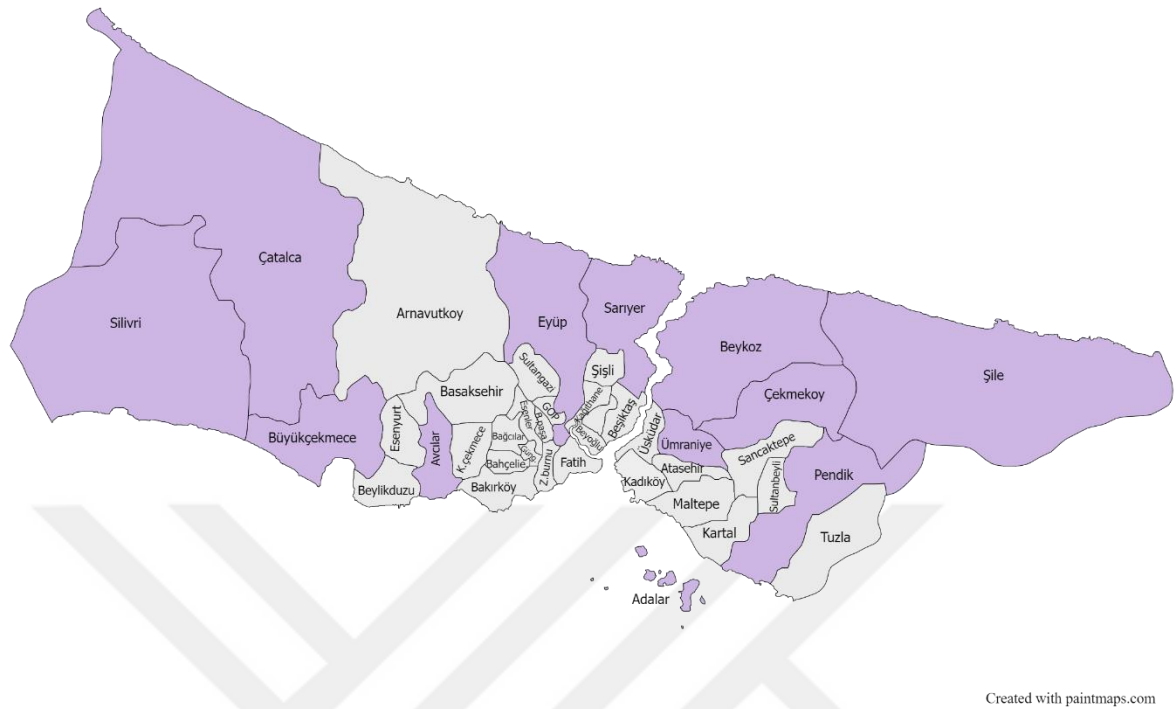
Marmara Bölgesinde yer alan İstanbul ili, 28° 01' ve 29° 55' Doğu boylamları, 41° 33' ve 40° 28' Kuzey enlemleri arasında bulunmaktadır. Toplam yüz ölçümü 5712 km²'dir. Karadeniz ile Akdeniz arasında bir geçiş iklimine sahip olup, Marmara Bölgesi'nin en çok yağış alan şehirlerinden biridir. Yıllık ortalama sıcaklık 16,2 °C, yıllık yağış miktarı 690,5 mm dir. Marmara Denizi içinde İstanbul'a bağlı bulunan 9 adet adadan Büyükada, Heybeliada, Burgaz, Kınalı ve Sedef adaları yerleşime açıktır. Adaların toplam yüzölçümü 15,85 km² dir (<https://www.mgm.gov.tr> Erişim tarihi: 01 Mayıs 2023; <http://www.istanbul.gov.tr> Erişim tarihi: 01 Mayıs 2023).

Mayıs-Ekim 2018 tarihleri arasında; İstanbul'un Avrupa yakasında 6 (Silivri, Büyükçekmece, Çatalca, Avcılar, Sarıyer, Eyüp), Anadolu yakasında 5 (Beykoz, Şile, Çekmeköy, Ümraniye, Pendik) ilçe ile Büyük ada, Heybeli ve Burgaz adalarındaki at işletmeleri ve barınakları yerinde ziyaret edildi.

Kan örneği toplanan hayvanlara ait bilgiler (yaş, cinsiyet, ırk vb.) kaydedildi. Atlar kene enfestasyonu açısından kontrol edildi. İşletme ve at sahiplerinden atlar hakkında yetiştiricilik amaçları, düzenli antiparaziter uygulamaların yapılıp yapılmadığı, padok veya mera gibi yerlere çıkma olanaklarının bulunup bulunmadığı hakkında bilgiler alındı.

Hayvanlar zaptı rapta alındıktan sonra *Vena jugularis*'ten tekniğine uygun olarak 10 ml EDTA'lı ve jelli pıhtı aktivatörlü serumluk tüplerde olmak üzere ikişer tüp kan alındı. Örnekler, aynı gün soğuk zincirde laboratuvara getirildi.

Şekil 3.1: İstanbul genelinde kan numunesi toplanan yerler



3.2. LABORATUVAR ÇALIŞMALARI

3.2.1. Kan Örneklerinin Hazırlanması ve Saklanması

Serumluk kan örnekleri, 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi, serum kısmı steril 1,5 ml ependorf tüplere alınarak -20 °C’de muhafaza edildi.

Sürme kan frotileri tekniğine uygun olarak EDTA’lı kan örneklerinden hazırlanmıştır. Nükleik asit ekstraksiyonda kullanılmak üzere örneklerde 200 µl kan steril ependorf tüplere alınarak -20 °C’de muhafaza edildi.

3.2.2. Kan Frotilerinin Hazırlanması ve İncelenmesi

EDTA’lı kan örneklerinden sürme frotiler tekniğine uygun olarak hazırlandı. Hazırlanan sürme frotiler havada kurtulduktan sonra, metanoll ile 2-3 dakika (dk.) süre ile tespit edilerek, %5 Giemsa solüsyonu ile 30-40 dk. boyandı ve hafif akan çeşme suyu altında yıkanıp kurutuldu. İmmersiyon yağı damlatılarak 100’lük objektifte (x1000 büyütme) piroplasm varlığı yönünden incelendi. Mikroskopik bakıda en az 100 mikroskop sahası taranarak ve en az bir etkenin görülmesi durumunda pozitif kabul edildi. Tespit edilen pozitif örnekler fotoğraflanarak kaydedildi.

3.2.3. cELISA Testi

Çalışmada, *B. caballi* ve *T. equi* IgG antikorlarının araştırılması amacıyla ticari kompetatif ELISA (cELISA) test kitleri (VMRD Inc., Veterinary Medical Research and Development, Pulman, WA, USA) kullanıldı. Testin prensibi, test edilecek at kanı serumlarındaki antikorlar ile cELISA testine eklenmiş özgün monoklonal antikorların, test plakalarına kaplanmış haldeki rekombinant antijende bulunan epitoplara için rekabet etmesidir. Testin içeriği ve kullanma prosedürü kitler için aynıdır:

cELISA test kitinin içeriği:

Antijen Kaplı Plakalar

Pozitif Kontrol

Negatif Kontrol

100X Primer Antikor

100X Sekonder Antikor-Peroksidaz Konjugatı

Antikor Seyreltme Tamponu

Serum Seyreltme Tamponu

10X Yıkama Solüsyonu

Substrate Solüsyonu

Stok Solüsyonu

cELISA testi ticari kit prosedüründe belirtildiği şekilde yapılmıştır. Buna göre test edilecek serum örnekleri, kit reaktifleri ve mikropleytler çıkarılarak oda ısısına getirildi. Antijen kaplı pleytler çıkarılıp, numaralandırıldı. Başka bir pleytte, pozitif kontrol, negatif kontrol ve test edilecek serumlar, serum seyreltme tamponu ile ½ oranında seyreltildi. 100X primer antikor solüsyonundan, antikor seyreltme solüsyonu ile 1X primer antikor hazırlandı. 100X sekonder antikor peroksidaz konjugatından, antikor seyreltme solüsyonu ile 1X sekonder antikor konjugatı hazırlandı. 10X yıkama solüsyonundan distile su ile 1X yıkama solüsyonu hazırlandı. Antikor solüsyonları kuyu başı 50 µl, yıkama solüsyonu ise kuyu başı 1,8 ml olarak hesaplanarak hazırlandı.

Testin uygulanmasına geçildi. ½ oranında sulandırılan serum örneklerinden 50'şer µl spesifik antijen kaplı test plakalarına eklendi, 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda pleytlerdeki sıvı dökülerek yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı. Her yıkamadan sonra plakalar temiz kağıt havlu üzerinde sertçe vurularak içerisinde solüsyon kalıntısı kalmaması sağlandı. Ardından 50'şer µl primer antikor eklenip, 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre bitiminde, dökülerek yıkama ve kurutma basamağı tekrarlandı. Ardından 50'şer µl sekonder antikor-peroksidaz konjugat eklenip, 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda dökülerek, yıkama ve kurutma basamağı tekrarlandı. 50 µl substrate eklenerek folyo ile kapatıldı ve 15 dakika beklendi. Süre sonunda 50 µl durdurma solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. Hemen ardından pleytler ELISA okuma cihazında 620 nm dalga boyunda okutuldu.

Elde edilen absorbens değerleri uygulama protokolünde belirtildiği şekilde değerlendirildi. İnhibisyon yüzdesi (%I) = $100 [1 - (\text{Serum OD} \div \text{Ortalama Negatif Kontrol OD})]$ formülüne göre hesaplandı. %40 ve üzeri pozitif, %40 dan düşük olanlar negatif olarak değerlendirildi. Serolojik testler, tez ikinci danışmanın Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ndeki laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. Genomik DNA Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu ticari kit (Thermo Fisher Scientific Waltham, MA USA) kullanılarak yapıldı.

DNA ekstraksiyon kitinin içeriği:

Proteinaz K Solüsyonu

Lizis Solüsyonu

Wash Buffer I (konsantre)

Wash Buffer II (konsantre)

Elution Buffer (10 mM Tris-Cl, pH 9.0, 0.1 mM EDTA)

Toplama Tüpleri ile önceden monte edilmiş GeneJET Genomik DNA Saflaştırma Kolonları

Toplama Tüpleri

DNA ekstraksiyonu ticari kit içerisindeki üretici talimatlarına göre yapıldı. Buna göre; önceden hazırlanarak ependorf tüplerde muhafaza edilen kan örnekleri dondurucudan çıkarılarak oda ısısında çözünmeleri sağlandı. Kit içerisindeki solüsyonların hazır hale getirilmeleri için gerekenlere etil alkol ilave edildi. 200 µl kan örneği üzerine, 400 µl Lysis solüsyonu ve 20 µl proteinaz K eklendi, pipetlenip vortekslenerek 60 °C’de ısı bloğunda 15 dakika tutuldu. Üzerine 200 µl etil alkol eklenip vortekslendi ve ependorf tüp üzerine oturtulmuş kolonlara aktarılarak 6.000 g de 1 dakika santrifüj edildi. Alttaki tüp atıldı, 2 ml hacimli toplama tüpü yerleştirildi. 500 µl wash buffer I eklenerek 8000 g de 1 dakika santrifüj edildi. Alttaki tüp boşaltılıp tekrar yerleştirildi, 500 µl wash buffer II eklendi. 12.000 g ‘de 3 dakika santrifüj edildi. Alttaki tüp atıldı, steril ependorf üzerine yerleştirildi. 200 mikrolitre elution buffer eklenip 2 dakika oda ısısında inkübe edildi. Son olarak 8.000 g de 1,5 dakika santrifüjün ardından ependorf tüpler içinde DNA ekstraktları elde edilmiş oldu. Örnekler PZR analizlerinde kullanılıncaya kadar -24 °C’de muhafaza edildi.

3.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Moleküler tanıda kullanılan primerler 18s rRNA gen bölgesi içerisindeki etken spesifik bölgeyi tür düzeyinde hedeflemektedir. At kanlarından izole edilen DNA örnekleri önce, *Theileria* ve *Babesia* etkenlerini cins düzeyinde tanıyan evrensel primer çiftleri kullanılarak PZR ile test edildi (Allsopp ve diğ., 1993; Inokuma ve diğ., 2003). Evrensel primerler ile pozitif olduğu tespit edilen DNA örnekleri, *T. equi* ve *B. caballi* ‘yi tür düzeyinde tanıyan primerlerle PZR ile test edildi (Alhassan ve diğ., 2005). Moleküler tanı testleri, tez ikinci danışmanın Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi’ndeki laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Theileria sp. üniversal primerler F (5'-AGTTTCTGACCTATCAG- 3'), R (5'-TTGCCTTAAACTTCCTTG-3'), beklenen ürün büyüklüğü 1098 bp dir. (Allsopp ve diğ., 1993). *Babesia* sp. üniversal primerler F (5'-GTGAAACTGCGAATGGCTCA- 3'), R (5'-CCATGCTGAAGTATTCAAGAC-3'), beklenen ürün büyüklüğü 650 bp'dir (Inokuma ve diğ., 2003).

Tür düzeyinde tanımlamada *T. equi* için 392 bp ve *B. caballi* için 540 bp bölgeyi hedefleyen aşağıdaki primerler kullanıldı:

BEC_UF2 (5'-TCGAAGACGATCAGATACCGTCG-3'),

Cab-R (5'-CTCGTTCATGATTTAGAATTGCT-3'),

Equi-R (5'-TGCCTTAAACTTCCTTGCGAT-3')(Alhassan ve diğ., 2005).

Kullanılacak olan primerler ticari firmaya sentezletirilerek temin edildi. Üretici talimatlarına göre 100 µM olarak sulandırılarak stok primer solüsyonları hazırlandı. PZR reaksiyonlarında stoktan 1/10 sulandırılarak, 10 µM olarak kullanıldı.

Negatif kontrol için bütün reaksiyonlarda moleküler kalite su (ultra saf su, Thermo Fisher, USA) kullanıldı. Pozitif kontrol için cins ve tür düzeyinde pozitif DNA örnekleri Namık Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim dalında, ikinci tez danışmanında bulunan pozitif DNA örneklerinden kullanıldı.

PZR, Bio-Rad T100 thermal cycler cihazında gerçekleştirildi. PZR reaksiyonları toplam 50 µl hacimde hazırladı. PZR reaksiyon içeriği ve miktarları Tablo 3.2 ve PZR ısı koşulları Tablo 3.3' de verilmiştir.

Tablo 3.2: PZR reaksiyon içeriği

Bileşen/Karışım	Son konsantrasyon	Miktar (µl)
Taq Buffer	1X	5
MgCl ₂	3 mM	5
dNTP	0,2 mM	1,5
Primer Forward	0,3 µM	1,5
Primer Reverse	0,3 µM	1,5
Taq DNA polimeraz	2,5 ünite	0,5
Template DNA		8
Nükleaz ari su		27
Toplam		50

Tablo 3.3: PZR ısı koşulları

<i>Theileria</i> sp.			<i>Babesia</i> sp.		
95 °C	5 dk		95 °C	5 dk	
95 °C	1 dk		95 °C	30 sn	
56 °C	1 dk	40 döngü	52 °C	30 sn	40 döngü
72 °C	1 dk		72 °C	1 dk	
72 °C	7 dk		72 °C	7 dk	
<i>T. equi</i>			<i>B. caballi</i>		
95 °C	5 dk		95 °C	5 dk	
95 °C	30 sn		95 °C	30 sn	
55 °C	30 sn	40 döngü	51,5 °C	30 sn	40 döngü
72 °C	1 dk		72 °C	1 dk	
72 °C	7 dk		72 °C	7 dk	

3.2.6. PZR ürünlerinin Jel Elektroforeziyle Görüntülenmesi

Agaroz jel, 100 ml 0,5X TAE (Tris-Asetat-EDTA, 50X TAE Tamponu, Thermo Fisher, USA) solüsyonu için 1,5 gram agaroz tartılarak (%1,5'luk) hazırlandı. 5µg/ml etidyum bromürle boyandı.

PZR ürünü ve loading dye, parafilm üzerinde (1:6) karıştırılarak jeldeki kuyucuklara yüklendi.

Elektroforez işlemi 0,5X TAE tampon solüsyonu kullanılarak jel tankında 150 voltta 185 mA, 30 dakika süreyle gerçekleştirildi. UV (Ultraviole) transillüminatörde spesifik bantların varlığı yönünden incelendi. İncelenen jel örnekleri fotoğraflanarak kaydedildi.

3.3. DİZİ ANALİZİ VE FİLOGENETİK ANALİZ

PZR testi sonrasında yapılan jel görüntülemeye pozitif örnekler arasında en parlak görünenler kesilerek tüplere alındı ve çift yönlü dizi analizi için ticari firmaya gönderildi.

Elde edilen diziler BLAST web hizmeti kullanılarak DNA bankasındaki diğer dizilerle karşılaştırıldı ve adlandırıldı. Gen Bankasındaki referans diziler FASTA formatında kaydedildi. Tüm diziler BioEdit programı (versiyon 7.2.5) kullanılarak hizalandı. Tanımlanan dizilerin Gen Bankasına kaydı yapıldı. Filogenetik analiz için Mega XI programı kullanıldı. Kimura'nın ikili

parametresi metoduyla Neighbor joining yöntemi kullanılarak (1000 bootstrap tekrarlı) filogenetik ağaçlar çizildi. Filogenetik sınıflandırmada Gen bankasında kayıtlı Türkiye ve diğer ülkelerden bildirilmiş referans diziler de kullanıldı.

3.4. İSTATİSTİK ANALİZİ

Tüm veriler SPPS version.23 paket program kullanılarak gerçekleştirildi. Ki-kare ve fisher exact testleri kullanıldı.



4. BULGULAR

4.1. SAHA ÇALIŞMASINDA TOPLANAN BİLGİLER

Kan numunesi alınan atlardan hiçbirinde kene enfestasyonuna rastlanmadı. İstanbul genelinde halk elinde yetiştirilen atların kan örneklerinin toplama odaklarına göre dağılımı incelendiğinde, Anadolu yakasından 100, Avrupa yakasından 209 ve Adalar'dan 91 adet numune alındığı kaydedildi. Kan numunesi alınan toplam 400 adet atın 161'i erkek, 239'u dişidir. Atların yaşları 2 ile 25 arasında değişmekte olup, 36 tanesi 0-5 yaş aralığında; 175 tanesi 6-10 yaş aralığında; 129 tanesi 11-15 yaş aralığında ve 60 tanesi de 15 yaşından büyüktü.

Örneklenen atların kullanım amaçları kaydedildi. 400 adet attan 134 adedi profesyonel spor ve yarış, 47 adedi hobi ve binicilik, 66 adedi damızlık, 85 adedi fayton ve 68 adedinin halk elinde yük taşıma, turist gezdirme vs. farklı amaçlarla kullanıldığı kaydedildi.

Kan alınan atların 16 farklı ırk ve ayrıca farklı ırkların melezlerinden oluştuğu kaydedildi. Atlardan 117 tanesi Avrupa'dan getirilmiş ılık ve soğuk kanlı ırklardan (KWPN, Oldenburg, Haflinger, BWP, Holsteiner, Hanoverian, Selle Français vd. ithal ırklar ve bunların melezleri), 283 tanesi ise sıcak kanlı ırklardan (Yerli ırklar, İngiliz atı, Arap atı, bu ırkların melezleri) oluşmaktadır.

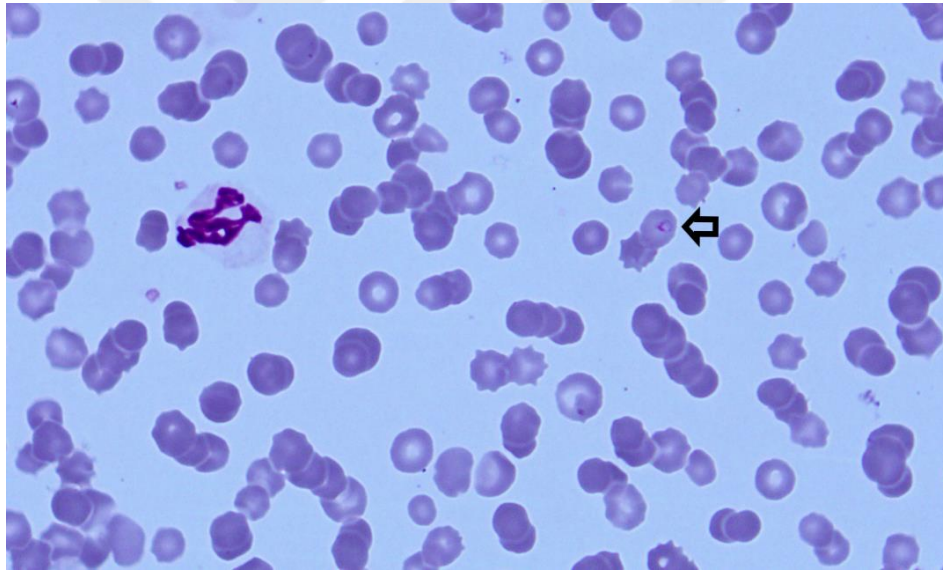
İstanbul'daki at sahiplerinden edinilen bilgilere göre atların iki şekilde yetiştirildiği anlaşıldı. Profesyonel kullanıma yönelik yetiştirilen atlar, binicilik federasyonuna kayıtlı, yarış ve gösteri amacıyla kullanılan sportif amaçlı atlar ve bu alana yönelik üretim yapan damızlık at üretme çiftliklerinde yetiştirilen atlardır. Barınma alanları ve beslenme koşulları iyi düzenlenmiştir. Düzenli olarak veteriner hekimlik ve danışma hizmetlerini almaktadırlar. Bunların dışında kalan diğer atlar ise kulüp, hobi atları, binicilik eğitimlerinde kullanılan atlar, zaman zaman farklı gündelik işlerde kullanılabilen, yük çeken, alım satımı yapılan, mevsime göre turistik amaçlı kullanılan, kahvaltı ve yemek mekanlarının arazisi içinde başka çeşit hayvanlarla birlikte pet olarak bulundurulmuş ve adalardaki tarihi fayton atlarıdır. Genel anlamda profesyonel kullanıma yönelik atlar kadar iyi kontrol edilmeyen, veteriner hekim hizmetlerinden sadece ciddi klinik hastalık semptomu durumunda faydalanabilen, düzensiz antiparaziter tedavi uygulanan ya da hiç yapılmayan atlardır.

4.2. LABORATUVAR ÇALIŞMASI BULGULARI

4.2.1. Mikroskopik İnceleme Bulguları

İstanbul'daki atlardan toplanan 400 adet EDTA'lı kan örneğinden hazırlanan Giemsa boyalı sürme frotilerin incelenmesinde 6 örnekte *T. equi* tespit edildi, *B. caballi* ise hiçbir örnekte rastlanmadı. İstanbul'daki atlarda *T. equi*'nin toplam mikroskopik prevalansı %1,5 (6/400) olarak tespit edildi.

Theileria equi pozitif tespit edilen 6 örneğin, 2'si Eyüp'ten, 1'i Sarıyer'den, 1 'i Beykoz'dan ve 2 tanesi de Büyükkada'dan toplanan örneklerde tespit edildi. Pozitif vak'a oranı en yüksek Eyüp'te (%14,2), en düşük Sarıyer'de (%1,6) tespit edildi. Avcılar, Büyükçekmece, Çatalca, Silivri, Çekmeköy, Pendik, Şile, Ümraniye, Burgazada ve Heybeliada örneklerinde mikroskopik yöntemle pozitiflik tespit edilemedi. Örneklem merkezlerine göre mikroskopik inceleme bulguları Tablo 4.1'de sunulmuştur.



Şekil 4.1: *Theileria equi* piroplasm formu. X100 objektif büyütmesi (orijinal).

4.2.2. Seroloji (cELISA) Bulguları

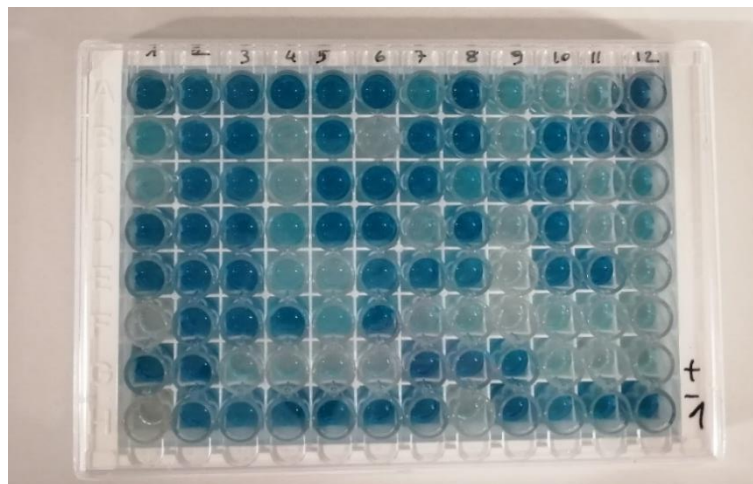
Serolojik tanı amaçlı kullanılan cELISA testinde spesifik antikörlerin epitoplarna, monoklonal antikörlerin bağlandığı reaksiyonlarda renk değişimi meydana gelmektedir. Konağa ait antikörlerin bağlandığı reaksiyonlarda ise renk değişimi oluşmamaktadır. Teşhis renk değişimlerinin ELISA okuma cihazından elde edilen absorbands değerlerinin test talimatına göre değerlendirilmesi sonucunda yapıldı.

Serolojik açıdan test edilen 400 adet kan örneğinde cELISA testine göre 128 adet *T. equi* ve 5 adet *B. caballi* seropozitifliği tespit edildi. Miks enfeksiyon tespit edilmedi. İstanbul'daki atlarda, *T. equi*'nin seroprevalansı %32 (128/400), *B. caballi*'nin seroprevalansı %1,25 (5/400) olarak tespit edildi.

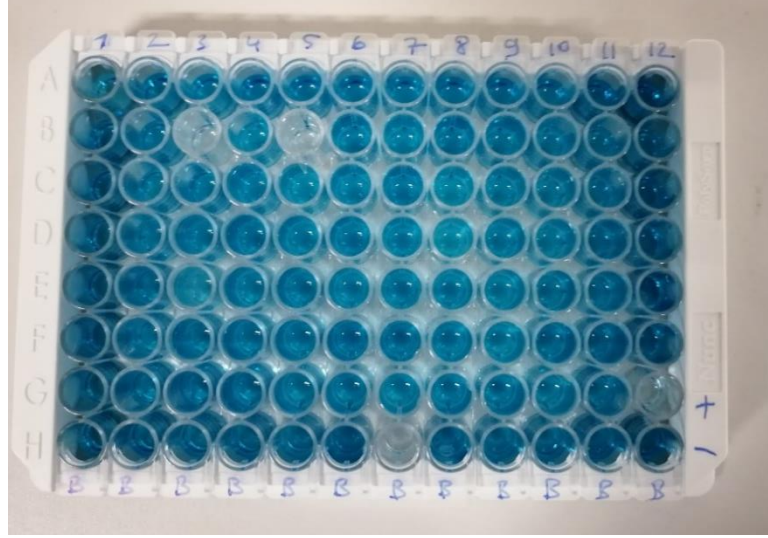
Theileria equi seropozitifliği Avrupa yakasında; Avcılar'da 7, Büyükçekmece'de 1, Çatalca'da 22, Eyüp'te 9, Sarıyer'de 20 adet atta, Anadolu yakasında; Beykoz'da 11, Çekmeköy'de 7, Pendik'te 4, ve Ümraniye'de 8 adet atta, adalarda ise Burgazada'da 15, Büyükada'da 18 ve Heybeliada'da 6 adet atta tespit edildi. Pozitiflik oranı Avrupa yakasında en yüksek Eyüp (%64,2) ve en düşük Büyükçekmece'de (%3), Anadolu yakasında en yüksek Ümraniye (%61) ve en düşük Beykoz'da (%23,4), adalarda ise en yüksek Burgazada (%46,8) ve en düşük Heybeliada'daki (%31,5) atlarda tespit edildi. Şile ve Silivri'den alınan örneklerde *T. equi* seropozitifliği tespit edilmedi.

cELISA testinde *B. caballi* pozitif bulunan 5 örneğin; 1 tanesi Çatalca'dan, 1 tanesi Silivri'den, 2'si Beykoz'dan, 1'i de Büyükada'daki atlardan alınan örneklerde tespit edildi. Pozitiflik oranı en yüksek Beykoz'da (%4,2) en düşük Çatalca'da (%1,7) tespit edildi. Avcılar, Büyükçekmece, Eyüp, Sarıyer, Çekmeköy, Pendik, Şile, Ümraniye Burgazada ve Heybeliada'daki örneklerde *B. caballi* seropozitifliği tespit edilmedi.

Örnekleme merkezlerine göre *T. equi* ve *B. caballi* cELISA bulguları Tablo 4.1'de sunulmuştur.



Şekil 4.2: *Theileria equi* test pleytinde görülen pozitif ve negatif örnekler



Şekil 4.3: *Babesia caballi* test pleytinde görülen pozitif ve negatif örnekler

4.2.3. PZR Bulguları

Moleküler tanı amacıyla PZR testi uygulanmıştır. Etkenleri hem cinsi hem de tür düzeyinde tanıyan primerler kullanmıştır. PZR ürünlerinin jel elektroforezinde görüntülenmesi sonucunda *Theileria sp.* için 1098 bp, *Babesia sp.* için 650 bp, *T. equi* için 392 bp ve *B. caballi* 540 bp'lık spesifik bantların varlığı ile PZR pozitifliği değerlendirilmiştir.

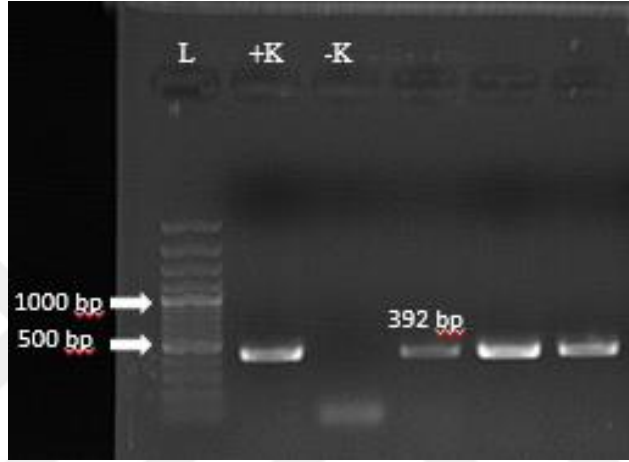
Moleküler tanı amaçlı test edilen 400 adet örnekten toplam 81 tanesinde *T. equi* pozitif tespit edildi. Pozitif örnekler Avrupa yakasında Avcılar'da 2, Büyükçekmece'de 1, Çatalca'da 14, Eyüp'te 6, Sarıyer'deki 17 örnekte; Anadolu yakasında Beykoz'da 4, Çekmeköy'de 2, Pendik'te 5, Ümraniye'de 2 örnekte, adalarda ise Burgazada'da 12, Büyükada'da 12, Heybeliada'da 4 örnekte tespit edildi. Pozitiflik oranı Avrupa yakasında en yüksek Eyüp (%42,8) ve en düşük Büyükçekmece'deki (%3) atlarda, Anadolu yakasında en yüksek Pendik'de (%35,7) ve en düşük Beykoz'daki (%8,5) atlarda, adalarda ise en yüksek Burgazada'da (%37,5) ve en düşük Heybeliada'daki (%21) atlarda tespit edildi. Silivri ve Şile'deki örneklerde *T. equi* PZR pozitifliğine rastlanmadı.

PZR testinde 400 adet örnekten 8 tanesinde *B. caballi* pozitif tespit edildi. Avrupa yakasında Çatalca'da 1, Sarıyer'de 4, Silivri'de 1 ve Adalarda ise yalnız Burgazada'da 2 atta pozitiflik tespit edildi. Pozitif vak'a oranı en yüksek Sarıyer'de (%6,7), en düşük Çatalca'da (%1,7) tespit edildi. Avcılar, Büyükçekmece, Eyüp, Beykoz, Çekmeköy, Pendik, Şile, Ümraniye, Heybeliada ve Büyükada'dan alınan örneklerde pozitifliğe rastlanmadı.

İstanbul'daki atlarda *Theileria equi*'nin moleküler prevalansı %20,25 (81/400) ve *Babesia caballi*'nin moleküler prevalansı %2 (8/400) olarak tespit edildi.

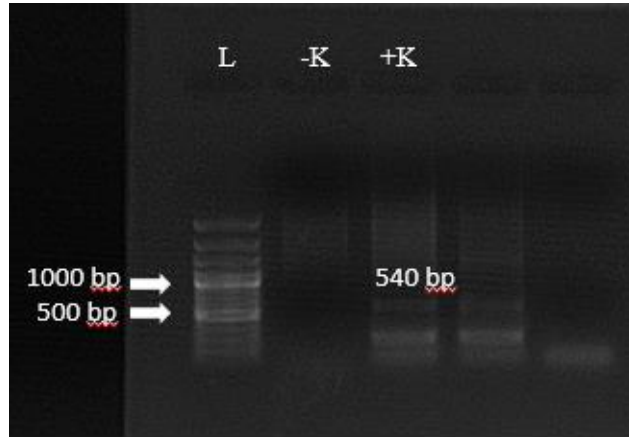
Örnekleme merkezlerine göre *T. equi* ve *B. caballi* PZR bulguları Tablo 4.1'de sunulmuştur.

Şekil 4.4: *Theileria equi* pozitif örneklerin görüntüsü



L: Moleküler ağırlık (Ladder), +K: pozitif kontrol -K: negatif kontrol

Şekil 4.5: *Babesia caballi* pozitif örneklerin görüntüsü



L: Moleküler ağırlık (Ladder), +K: pozitif kontrol -K: negatif kontrol

Tablo 4.1: Örnekleme merkezlerinde *T. equi* ve *B. caballi*'nin tanı metotları ile tespit edilen pozitiflik oranları (%)

Bölge	Merkez	Toplam	<i>T. equi</i>			<i>B. caballi</i>		
		örnek sayısı	Mikroskobi + (%)	cELISA + (%)	PZR + (%)	Mikroskobi + (%)	cELISA + (%)	PZR + (%)
Avrupa yakası	Avcılar	17	-	7 (41,1)	2 (11,7)	-	-	-
	Büyüçekmece	33	-	1 (3)	1 (3)	-	-	-
	Çatalca	56	-	22 (39,2)	14 (25)	-	1 (1,7)	1 (1,7)
	Eyüp	14	2 (14,2)	9 (64,2)	6 (42,8)	-	-	-
	Sarıyer	59	1 (1,6)	20 (33,8)	17 (28,8)	-	-	4 (6,7)
	Silivri	30	-	-	-	-	1 (3,3)	1 (3,3)
	Toplam	209	3 (1,4)	59 (28,2)	40 (19,1)	-	2 (1)	4 (2,9)
Anadolu yakası	Beykoz	47	1 (2,1)	11 (23,4)	4 (8,5)	-	2 (4,2)	-
	Çekmeköy	17	-	7 (41,1)	2 (11,7)	-	-	-
	Pendik	14	-	4 (28,5)	5 (35,7)	-	-	-
	Şile	9	-	-	-	-	-	-
	Ümraniye	13	-	8 (61)	2 (15,3)	-	-	-
	Toplam	100	1 (1)	30 (30)	13 (13)	-	2 (2)	-
Adalar	Burgazada	32	-	15 (46,8)	12 (37,5)	-	-	2 (6,2)
	Büyükada	40	2 (5)	18 (45)	12 (30)	-	1 (2,5)	-
	Heybeliada	19	-	6 (31,5)	4 (21)	-	-	-
	Toplam	91	2 (2,2)	39 (42,9)	28 (30,7)	-	1 (1,1)	2 (2,2)
TOPLAM		400	6 (1,5)	128 (32)	81 (20,25)	0	5 (1,25)	8 (2)

4.2.4. Karşılaştırmalı Laboratuvar Testi Bulguları

Mikroskopik inceleme ve cELISA testinde miks enfeksiyon durumu hiç tespit edilmedi. PZR’da pozitiflik tespit edilen 5 örnek (Burgazada’daki 1 at, Çatalca’daki 1 at, Sarıyer’deki 3 at) ise *T. equi* ve *B. caballi* ile miks enfeksiyon şeklinde tespit edildi.

Mikroskopik incelemede *T. equi* pozitif tespit edilen 6 örnek PZR testinde de pozitif. Örneklerden 5 tanesi cELISA testinde de pozitif, 1 tanesi ise cELISA testinde negatif.

cELISA’da *T. equi* pozitif tespit edilen 128 numuneden 74 tanesi PZR testinde de pozitif. PZR testinde *T. equi* pozitif tespit edilen 81 örnekten 7 tanesi ise cELISA testinde negatif.

Babesia caballi, cELISA’da pozitif tespit edilen 5 numuneden 2 tanesi PZR testinde de pozitif. PZR testinde *B. caballi* pozitif tespit edilen 8 örnekten 6 tanesi ise cELISA testinde negatif.

T. equi ve *B. caballi* içine test edilen 400 atın cELISA ve PZR testlerindeki karşılaştırmalı sonuçları Tablo 4.2’de sunulmuştur:

Tablo 4.2: Atların *Theileria equi* ve *Babesia caballi* için cELISA ve PZR testindeki pozitiflik durumu

Etken türü	Toplam	cELISA(+)	cELISA(+)	cELISA(-)	cELISA(-)
	örnek sayısı	PZR(+)	PZR (-)	PZR (+)	PZR (-)
<i>T. equi</i>	400	74	54	7	265
<i>B. caballi</i>	400	2	3	6	389

Theileria equi, cELISA testinde negatif, PZR testinde pozitif olan 7 örneğin 2 tanesi Sarıyer, 2 tanesi Pendik, 3 tanesi Burgazada’daki atlarda tespit edilmiştir. *B. caballi*, cELISA ve PZR testinde pozitif olan 2 örnek Silivri ve Çatalca’daki atlarda tespit edildi. İstanbul’daki atlarda en az bir teşhis yöntemi ile *T. equi* ve *B. caballi* pozitifliği tespit edilen atların toplam sayısı ve oranları Tablo 4.3’de ve Şekil 4.6’ da sunulmuştur.

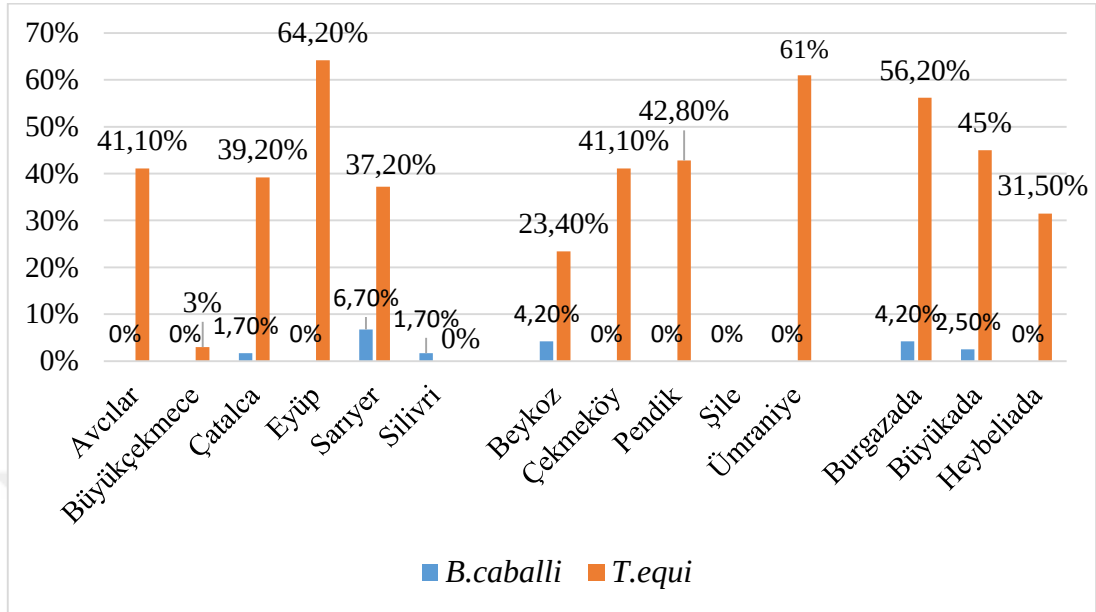
Tablo 4.3: İstanbul’da örnekleme merkezlerinde en az bir teşhis yöntemiyle *T. equi* ve *B. caballi* pozitif bulunan toplam at sayısı ve prevalansı

Örneklenen yer	Örnek sayısı	<i>T. equi</i> + (%)	<i>B. caballi</i> + (%)
Avrupa yakası	209	61 (29,2)	6 (2,8)
Avcılar	17	7 (41,1)	-
Büyükçekmece	33	1 (3)	-
Çatalca	56	22 (39,2)	1 (1,7)
Eyüp	14	9 (64,2)	-
Sarıyer	59	22 (37,2)	4 (6,7)
Silivri	30	-	1 (3,3)
Anadolu yakası	100	32 (32)	2 (2)
Beykoz	47	11 (23,4)	2 (4,2)
Çekmeköy	17	7 (41,1)	-
Pendik	14	6 (42,8)	-
Şile	9	-	-
Ümraniye	13	8 (61)	-
Adalar	91	42 (46,2)	3 (3,3)
Burgaz ada	32	18 (56,2)	2 (6,2)
Büyük ada	40	18 (45)	1(2,5)
Heybeli ada	19	6 (31,5)	-
TOPLAM	400	135 (33,75)	11 (2,75)

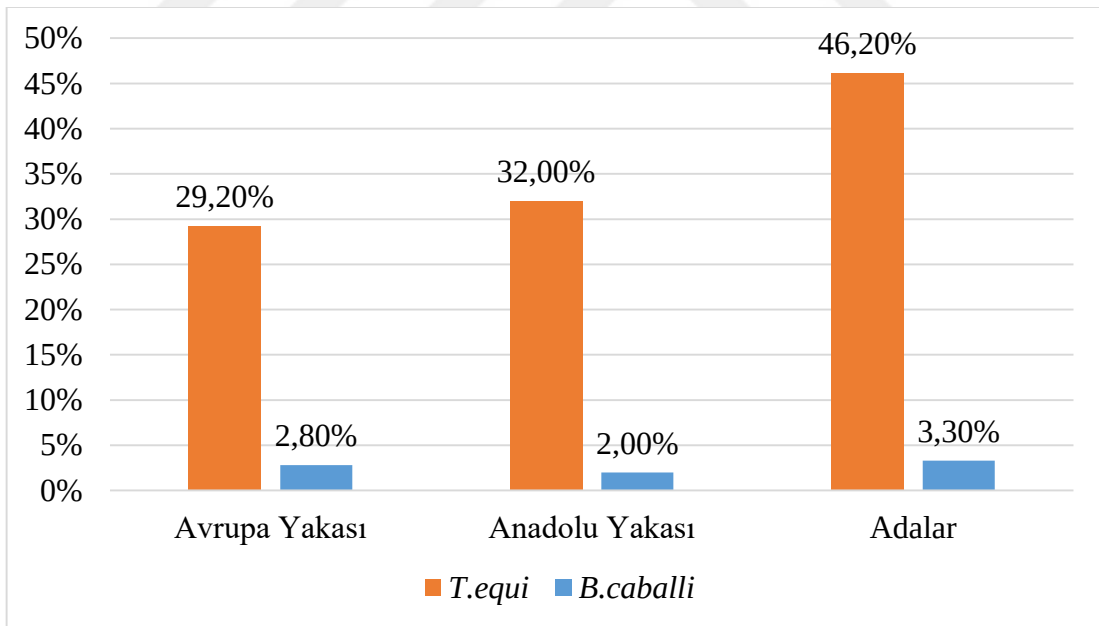
Sonuçta, İstanbul’da araştırma döneminde örneklenen 400 adet atın 135 tanesinde, en az bir teşhis yöntemi ile *T. equi* pozitifliği tespit edildi, İstanbul’daki atlarda *T. equi*’nin toplam prevalansı %33,75 (135/400) olarak bulundu. *T. equi* ’nin toplam prevalansı Avrupa yakasında %29,2 (61/209), Anadolu yakasında %32 (32/100) ve Adalarda %46,2 (42/91) oranında tespit edildi (bkz Tablo 4.3, Şekil 4.7).

İstanbul’da araştırma döneminde örneklenebilen 400 adet attan 11 tanesinde, en az bir teşhis yöntemiyle *B. caballi* pozitifliği tespit edildi. İstanbul’daki atlarda *B.caballi*’nin toplam prevalansı %2,75 (11/400) olarak bulundu. Avrupa yakasında *B. caballi* ’nin toplam prevalansı %2,8 (6/209), Anadolu yakasında %2 (2/100) ve Adalarda %3,3 (3/91) oranında tespit edildi (bkz Tablo 4.3, Şekil 4.7).

Şekil 4.6: Örneklem merkezlerinde *T. equi* ve *B. caballi* pozitifliği tespit edilen atların toplam prevalansı



Şekil 4.7: Örneklem bölgelerinde *T. equi* ve *B. caballi* pozitifliği tespit edilen atların toplam prevalansı

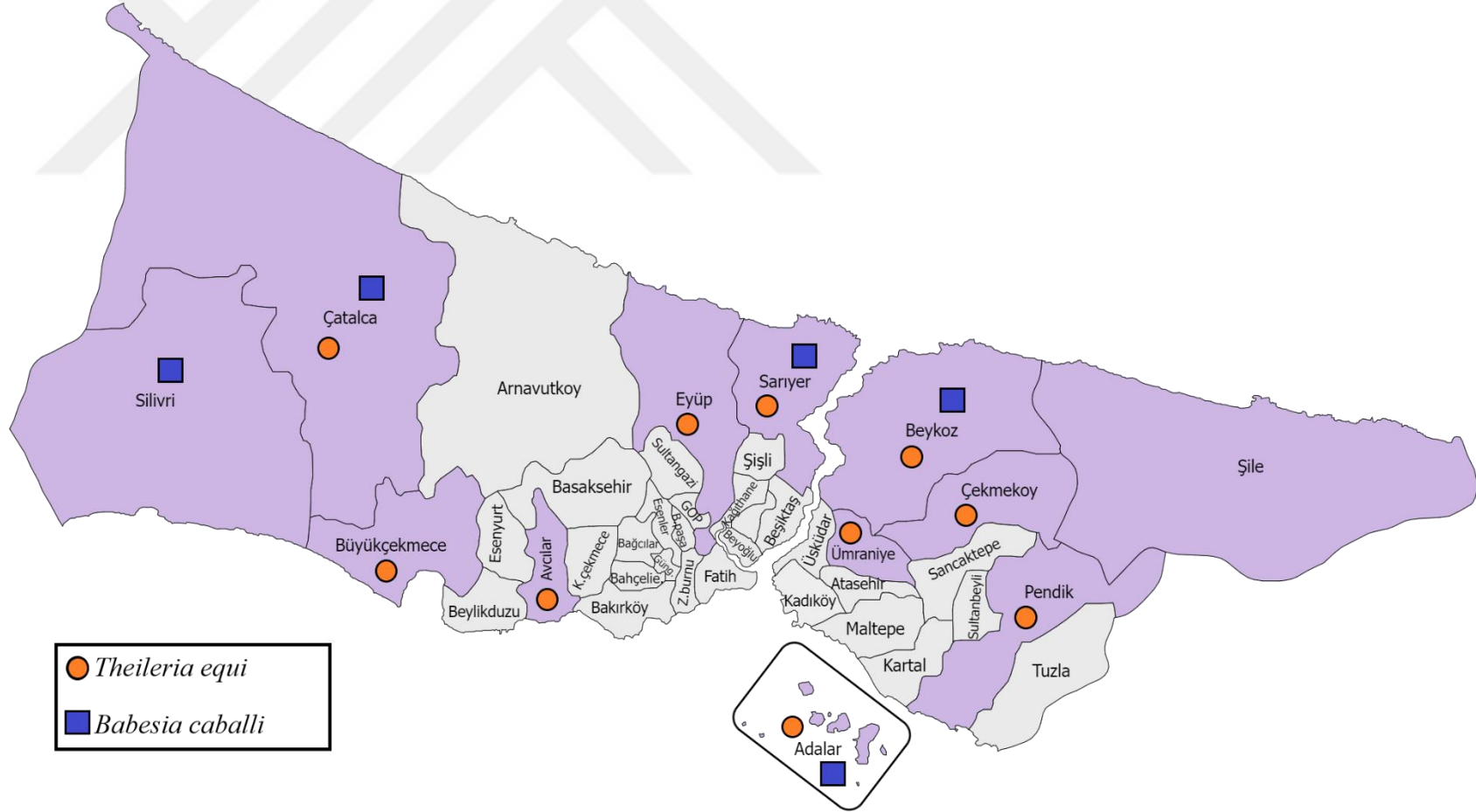


T. equi ve *B. caballi* pozitif tespit edilen atların örneklendiği bölge, atların yaş, cinsiyet, ırk ve kullanım amacı kategorilerine göre sayı (%) dağılımları Tablo 4.4' de sunulmuştur.

Tablo 4.4: *Theileria equi* ve *Babesia caballi* pozitif örneklerin bölge, yaş, cinsiyet, ırk özelliği ve atların kullanım kategorilerine göre dağılımları

			<i>T. equi</i>			<i>B. caballi</i>	
			Mikroskopi + (%)	cELISA+ (%)	PZR + (%)	cELISA + (%)	PZR + (%)
Bölge	Avrupa yakası	209	3 (1,4)	59 (28,2)	40 (19,1)	2 (1)	4 (2,9)
	Anadolu yakası	100	1 (1)	30 (30)	13 (13)	2 (2)	0
	Adalar	91	2 (2,2)	39 (42,9)	28 (30,7)	1 (1,1)	2 (2,2)
Yaş	0-5 Yaş	36	0	13 (36,1)	11 (30,6)	1 (2,8)	1 (2,8)
	6-10 Yaş	175	4 (2,3)	61 (34,9)	38 (21,7)	3 (1,7)	4 (2,3)
	11-15 Yaş	129	2 (1,6)	42 (32,6)	24 (18,6)	1 (0,8)	3 (2,3)
	>15 Yaş	60	0	12 (20)	8 (13,3)	0	0
Cinsiyet	Erkek	161	2 (1,2)	54 (33,5)	30 (18,6)	2 (1,2)	3 (1,9)
	Dişi	239	4 (1,7)	74 (30,9)	51 (21,3)	3 (1,3)	5 (2,1)
İrk Özelliği	Ilık kanlı- Soğuk kanlı	117	0	10 (8,5)	9 (7,7)	1 (0,8)	0
	Sıcak kanlı	283	6 (2,1)	118 (41,7)	72 (25,4)	4 (0,4)	8 (2)
Kullanım Amacı	Spor-Yarış	134	0	16 (11,9)	14 (10,4)	2 (1,5)	0
	Damızlık	66	0	18 (27,3)	12 (18,2)	2 (3)	2 (3)
	Hobi-Binicilik	47	0	14 (29,8)	5 (10,6)	0	0
	Diğer	68	4 (5,9)	41 (60,3)	22 (32,4)	0	4 (5,9)
	Fayton	85	2 (2,4)	39 (45,9)	28 (32,9)	1 (1,2)	2 (2,4)

Şekil 4.8: İstanbul' daki atlarda *Theileria equi* ve *Babesia caballi*' nin tespit edildiği yerler



4.3. *Theileria equi* ve *Babesia caballi* PREVALANSININ İSTATİSTİK ANALİZİ

İstanbul atlarında örnekleme bölgesine göre yaş, cinsiyet, ırk ve kullanım amacı kategorilerindeki *Theileria equi* ve *Babesia caballi* pozitiflik oranlarının dağılımları arasındaki farklılıklar, ki-kare ve fisher exact test ile SPSS Version 23 programında değerlendirildi.

Babesia caballi, cELISA da pozitif bulunan 5 örnek ve PZR'da pozitif bulunan 8 örnek, *T. equi* mikroskopik incelemede pozitif olan 6 örnek, değerlendirme gruplarına göre pozitif örneklerin sayı dağılımları 5'ten küçük geldiğinden fisher exact testi ile değerlendirildi.

İstanbul'daki atlarda *T. equi* (mikroskopi %1,5, cELISA %32 ve PZR %20,25, toplamda ise %33,75), *B. caballi* (mikroskopi %0, cELISA %1,25 ve PZR %2, toplamda %2,75)' den daha yüksek prevalansa sahipti ve prevalans oranları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0,0001$). Değerlendirme bulguları Tablo 4.5'te sunulmuştur.

Örnekleme bölgesi, yaş, cinsiyet, ırk ve atların kullanılma amacı kategorilerine göre pozitif atların dağılımlarının istatistiksel analiz bulguları *T. equi* için Tablo 4.6 ve *B. caballi* için Tablo 4.7' de sunulmuştur.

Örnekleme bölgeleri arasında, *T. equi*'nin cELISA ve PZR prevalansı oranlarındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0,05$), mikroskopik prevalans oranları arasında önemli fark bulunmadı ($p > 0,05$).

Theileria equi cELISA pozitifliği Avrupa yakasında %28,2, Anadolu yakasında %30 ve Adalar'da %42,9 oranında tespit edildi. Avrupa-Anadolu ve Anadolu-Adalar arasındaki farklar önemli bulunmazken ($p > 0,05$), İstanbul adaları ve Avrupa yakasındaki rastlanma oranı farklılıkları istatistiksel olarak önemli bulundu ($p = 0,013$). *T. equi* PZR pozitifliği Avrupa yakasında %19,1, Anadolu yakasında %13 ve Adalar'da %30,8 oranında tespit edildi. Avrupa-Anadolu yakaları arasındaki farklılık test edilen parametreler açısından önemli bulunmazken Adalar-Avrupa ve Adalar-Anadolu prevalans oranları arasındaki farklılıklar önemli bulundu ($P < 0,05$).

Theileria equi toplam prevalansı sırasıyla en yüksek Adalar %46,2, Anadolu yakası %32 ve en düşük Avrupa yakasında %29,2 oranında tespit edildi (bkz Tablo 4.3). *T. equi*'nin örnekleme bölgelerindeki prevalans oranlarındaki farklılıklar ki-kare testiyle değerlendirildi. Adalar'daki oranın, Avrupa ve Asya yakalarına göre yüksek olması istatistiksel olarak önemli bulundu ($p = 0,015$).

Babesia caballi cELISA pozitifliği Avrupa yakasında %1, Anadolu yakasında %2 ve Adalar'da %1,1 oranında tespit edildi. *B. caballi* PZR pozitifliği Avrupa yakasında %2,9, Asya yakasında %0 ve Adalar'da %2,2 oranında tespit edildi. *B. caballi*'nin toplam prevalansı sırasıyla en yüksek Adalar %3,3, Avrupa yakası %2,8 ve en düşük Anadolu yakasında %2 oranında tespit edilmiştir. *B. caballi*'nin örnekleme bölgelerindeki prevalans oranları arasındaki farklılıklar fisher exact testi ile değerlendirildi ve farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($P=1,000$).

Theileria equi pozitifliğinin yaşa göre dağılımı Tablo 4.4'de, değerlendirilmesi ise Tablo 4.6'de sunulmuştur: *Theileria equi* mikroskopik yöntemle pozitiflik oranları 0-5 yaş grubunda %0; 6-10 yaş grubunda %2,3, 11-15 yaş grubunda %1,6 ve >15 yaş grubunda %0 oranında tespit edildi. *T. equi* cELISA pozitifliği 0-5 yaş grubunda %36,1; 6-10 yaş grubunda %34,9, 11-15 yaş grubunda %32,6 ve >15 yaş grubunda %20 oranında tespit edildi. *T. equi* PZR pozitifliği 0-5 yaş grubunda %30,6; 6-10 yaş grubunda %21,7, 11-15 yaş grubunda %18,6 ve >15 yaş grubunda %13,3 oranında tespit edildi. Her üç yöntemle göre *T. equi* pozitiflik oranlarının yaş gruplarına göre dağılımları arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmadı ($P>0,05$).

Babesia caballi pozitifliğinin yaşa göre atlardaki dağılımı Tablo 4.4'de, değerlendirilmesi Tablo 4.6'de sunulmuştur. *Babesia caballi* cELISA pozitifliği 0-5 yaş grubunda %2,8; 6-10 yaş grubunda %1,7, 11-15 yaş grubunda %0,8 ve >15 yaş grubunda %0 oranında tespit edildi. *B. caballi* PZR pozitifliği 0-5 yaş grubunda %2,8; 6-10 yaş grubunda %2,3 11-15 yaş grubunda %2,3 ve >15 yaş grubunda %0 oranında tespit edildi. Her iki test yöntemine göre yaş gruplarında *B. caballi* pozitifliği arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($P>0,05$).

Theileria equi, mikroskopik incelemede pozitiflik oranı dişilerde %1,7, erkeklerde %1,2 oranında tespit edildi. *T. equi*, cELISA pozitifliği dişilerde %33,5 erkeklerde %30,9 oranında; PZR pozitifliği ise dişilerde %18,6, erkeklerde %21,3 oranında tespit edildi. Her üç yöntemle göre *T. equi* pozitiflik oranlarının cinsiyet gruplarındaki dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($P>0,05$).

Babesia caballi, cELISA pozitifliği dişilerde %1,2 erkeklerde %1,3 oranında; PZR pozitifliği ise dişilerde %1,9, erkeklerde %2,1 oranında tespit edildi. Her iki yöntemle göre *B. caballi* pozitiflik oranlarının cinsiyete göre dağılımları arasında fark önemsiz bulundu ($P>0,05$).

Theileria equi pozitifliği mikroskopik yöntemle soğuk ve ılık kanlı atlarda %0 ve sıcak kanlı atlarda %2,1 oranında tespit edildi, gruplar arasındaki prevalans farklılığı istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($p < 0,05$). cELISA testinde ise ılık ve soğuk kanlı atlarda %8,5, sıcak kanlılarda %41,7 oranında pozitiflik tespit edildi. PZR testinde ise ılık ve soğuk kanlı atlarda %7,7 sıcak kanlı atlarda %25,4 oranında pozitiflik tespit edildi. Her iki yöntemle göre ırk kategorileri arasındaki *T. equi* pozitiflik oranlarının dağılımları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0,001$).

Babesia caballi cELISA testinde ise ılık ve soğuk kanlı atlarda %0,9 sıcak kanlılarda %1,3 oranında pozitiflik tespit edildi. PZR testinde ise ılık ve soğuk kanlı atlarda %0 sıcak kanlı atlarda %2,8 oranında pozitiflik tespit edildi. Her iki yöntemle göre ırk kategorileri arasındaki *B. caballi* pozitiflik oranlarının dağılımları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($p > 0,05$).

Theileria equi pozitifliğinin atların kullanım amacı gruplarına göre dağılımı Tablo 4.4 ve istatistiksel değerlendirmesi Tablo 4.6’de sunulmuştur. *T. equi*, en yüksek pozitiflik oranları sırasıyla mikroskopik yöntemle “Diğer” kategorisindeki atlarda %4, fayton atlarında %5,9 oranında bulundu. cELISA testinde spor-yarış amaçlı yetiştirilen atlarda %11,9, damızlık atlarda %27,3, hobi-binicilik amaçlı kullanılan atlarda %29,4, fayton atlarında %45,9 ve “diğer” kategorisindeki atlarda %60,3 oranında pozitiflik tespit edildi. PZR testinde spor-yarış amaçlı yetiştirilen atlarda %10,4, damızlık atlarda %18,2, hobi-binicilik amaçlı kullanılan atlarda %10,6, fayton atlarında %32,9 ve “diğer” kategorisindeki atlarda %32,4 oranında pozitiflik tespit edildi. Her teste göre atların kullanım amaçları kategorilerinde *T. equi* pozitiflik oranlarının dağılımları arasındaki farklılıkları istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0,001$).

Babesia caballi pozitifliğinin kullanım amacına göre atlardaki dağılımı Tablo 4.4 ve değerlendirilmesi ve Tablo 4.6’da sunulmuştur. cELISA testinde spor-yarış amaçlı yetiştirilen atlarda %1,5, damızlık atlarda %3, hobi-binicilik amaçlı kullanılan atlarda %0, fayton atlarında %1,2 ve “diğer” kategorisindeki atlarda %0 oranında pozitiflik tespit edildi. PZR testinde spor-yarış amaçlı yetiştirilen atlarda %0, damızlık atlarda %3, hobi-binicilik amaçlı kullanılan atlarda %0, fayton atlarında %2,4 ve “diğer” kategorisindeki atlarda %5,9 oranında pozitiflik tespit edildi. Her testte atların kullanım amaçları kategorilerine göre *B. caballi* pozitiflik oranlarının dağılımları arasındaki farklılıkları istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($p > 0,05$).

Tablo 4.5: İstanbul'daki atlarda *T. equi* ve *B. caballi* prevalansları arasındaki ilişki

Etken	Toplam at sayısı	cELISA		PZR		Toplam	
		+ %	P değeri	+ %	P değeri	+ %	P değeri
<i>T. equi</i>	400	32	0,0001	20,25	0,0001	33,75	0,0001
<i>B. caballi</i>	400	1,25		2		2,75	

Tablo 4.6: *Theileria equi*'nin örnekleme bölgesi, yaş, cinsiyet, ırk ve atların kullanım amacı kategorilerine göre prevalans oranları ilişkisi

		Toplam	Mikroskobi		cELISA		PZR	
		sayı	+ sayı (%)	P değeri*	+ sayı (%)	P değeri	+ sayı (%)	P değeri
Bölge	Avrupa yakası	209	3 (1,4)	0,829	59 (28,2)	0,039	40 (19,1)	0,008
	Anadolu yakası	100	30 (30)		13 (13)			
	Adalar	91	3 (1,2)		39 (42,9)		28 (30,8)	
Yaş	0-5	36	4 (1,9)	0,687	13 (36,1)	0,177	11 (30,6)	0,204
	6-10	175			61 (34,9)		38 (21,7)	
	11-15	129			42 (32,6)		24 (18,6)	
	>15	60	2 (1)		12 (20)		8 (13,3)	
Cinsiyet	Erkek	161	2 (1,2)	1,000	54 (33,5)	0,509	30 (18,6)	0,588
	Dişi	239	4 (1,7)		74 (30,9)		51 (21,3)	
İrk	Ilık kanlı-Soğuk kanlı	117	0	0,187	10 (8,5)	<0,001	9 (7,7)	<0,001
	Sıcak kanlı	283	6 (2,1)		118 (41,7)		72 (25,4)	
Atların Kullanım Amacı	Spor-Yarış	134	0	0,008	16 (11,9)	<0,001	14 (10,4)	<0,001
	Damızlık	66			18 (27,3)		12 (18,2)	
	Hobi-Binicilik	47			14 (29,4)		5 (10,6)	
	Fayton	85			39 (45,9)		28 (32,9)	
	Diğer	68	6 (4)		41 (60,3)		22 (32,4)	

*fisher exact test P değeri alınmıştır.

Tablo 4.7: *Babesia caballi* ‘nin örnekleme bölgesi, yaş, cinsiyet, ırk ve atların kullanım amacı kategorilerine göre prevalans oranları ilişkisi

		Toplam sayı	cELISA		PZR		
			+ sayı (%)	P değeri *	+ sayı (%)	P değeri*	
Bölge	Avrupa yakası	209	2 (1)	0,673	6 (2,9)	0,287	
	Anadolu yakası	100					
	Adalar	91	3 (1,6)		2 (1)		
Yaş	0-5	36	4 (1,8)	0,376	5 (2,4)	0,727	
	6-10	175					
	11-15	129	1 (0,5)		3 (1,6)		
	>15	60					
Cinsiyet	Erkek	161	2 (1,2)	0,679	1,9	0,589	
	Dişi	239	3 (1,3)		2,1		
İrk	Ilık kanlı- soğuk kanlı	117	1 (0,9)	1,000	0	0,112	
	Sıcak kanlı	283	4 (1,3)		8 (2,8)		
Atların Kullanım Amacı	Spor-Yarış	134	4 (1,6)	0,653	2 (0,8)	0,059	
	Damızlık	66					
	Hobi-Binicilik	47					
	Fayton	85	1 (0,7)		6 (3,9)		
	Diğer	68					

*fisher exact test P değeri alınmıştır.

4.4. SEKANS VE FİLOGENETİK ANALİZ BULGULARI

Dizi analizleri sonucunda on beş adet dizi *T. equi* ve iki adet dizi *B. caballi* olarak adlandırıldı. *Theileria equi* için OP941809- OP941823 arasındakiler, *B. caballi* için OP941824 ve OP941825 numaralı erişim numaraları alındı. Elde edilen sekanslara ait GenBank numaraları Tablo 4.8’de sunulmuştur.

Tablo 4.8: Sekans analizi yapılan izolatlarla ait bilgiler

	Etkenin adı	Erişim numarası	İzolatın adı	Örnekleme Bölgesi-Yeri	Yaş	Cinsiyet
1	<i>T. equi</i>	OP941809	TR-146	Avrupa-Sarıyer	7	Erkek
2	<i>T. equi</i>	OP941810	TR-185	Anadolu-Pendik	12	Dişi
3	<i>T. equi</i>	OP941811	TR-152	Avrupa-Sarıyer	10	Erkek
4	<i>T. equi</i>	OP941812	TR-198	Anadolu-Pendik	16	Dişi
5	<i>T. equi</i>	OP941813	TR-153	Avrupa-Sarıyer	7	Erkek
6	<i>T. equi</i>	OP941814	TR-224	Adalar-Büyükada	11	Dişi
7	<i>T. equi</i>	OP941815	TR-155	Avrupa-Sarıyer	11	Erkek
8	<i>T. equi</i>	OP941816	TR-272	Adalar-Heybeliada	9	Dişi
9	<i>T. equi</i>	OP941817	TR-164	Avrupa-Eyüp	5	Erkek
10	<i>T. equi</i>	OP941818	TR-277	Adalar-Heybeliada	14	Dişi
11	<i>T. equi</i>	OP941819	TR-165	Avrupa-Eyüp	10	Dişi
12	<i>T. equi</i>	OP941820	TR-166	Avrupa-Eyüp	4	Erkek
13	<i>T. equi</i>	OP941821	TR-231	Adalar-Büyükada	8	Dişi
14	<i>T. equi</i>	OP941822	TR290	Adalar-Burgazada	7	Dişi
15	<i>T. equi</i>	OP941823	TR-374	Avrupa-Çatalca	9	Dişi
16	<i>B. caballi</i>	OP941824	TR-374	Avrupa-Çatalca	9	Dişi
17	<i>B. caballi</i>	OP941825	TR-347	Avrupa-Sarıyer	12	Erkek

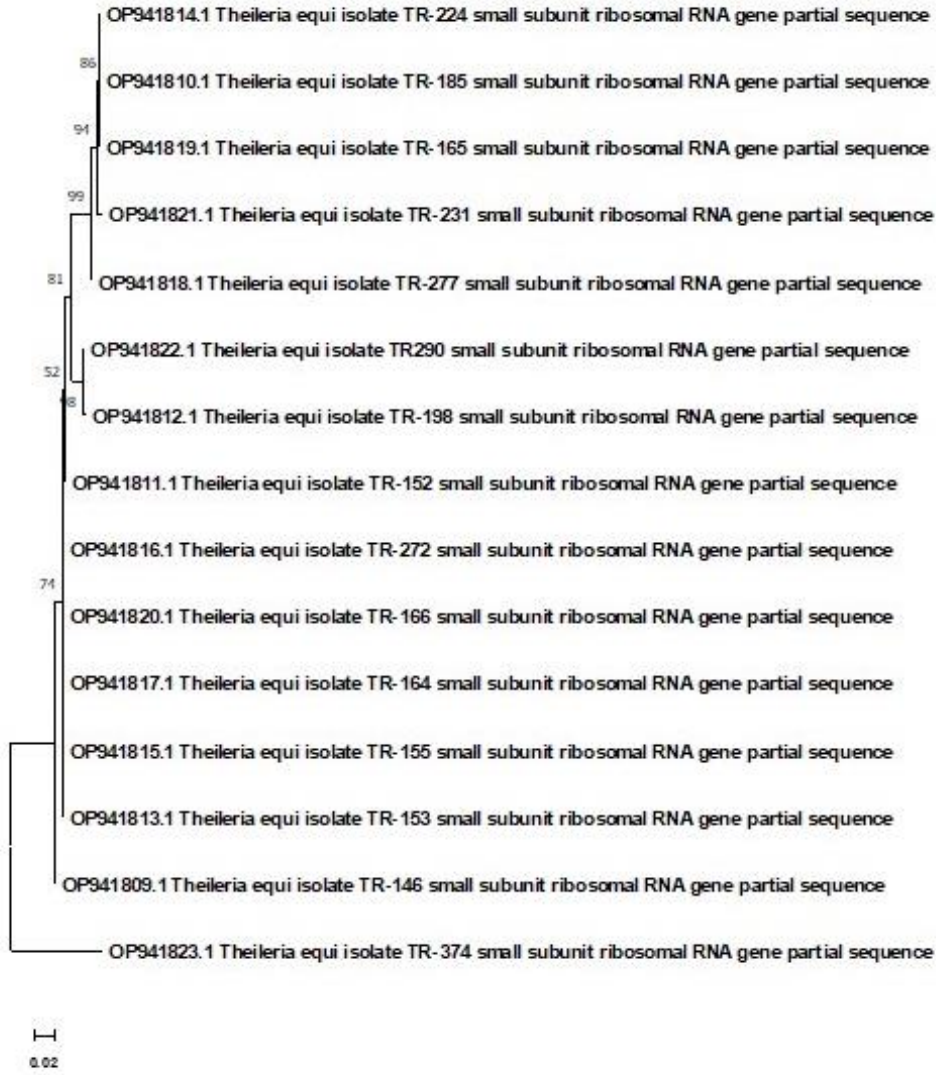
Türkiye *Theileria equi* dizileri kendi aralarında %83,75 - 100 oranlarında nükleotid düzeyinde homolojiyle benzerlik gösterdi. On beş diziden TR-374 (OP941823) nolu izolatın %83,75- 87,91 homoloji oranlarıyla diğer dizilerden daha uzak olduğu saptandı. TR-374 dışındaki on dört adet *T. equi* dizisi arasındaki nükleotid benzerliğinin %95,98- 100 oranları

arasında olduğu belirlendi. Türkiye *T. equi* dizileri Gen bankasındaki diğer referans dizilerle %84- %99 arasında değişen oranlarda nükleotid homolojisine sahip olduğu kaydedildi. Analiz edilen iki Türkiye *B. caballi* dizisi arasında %68,44 oranında nükleotid benzerliğine sahip olduğu belirlendi. Bu iki dizinin Gen bankasında kayıtlı diğer dizilerle %37,63- 92,03 arasında çok değişen oranlarda nükleotid benzerliğine sahip olduğu kaydedildi.

Yapılan filogenetik değerlendirmelerinde Türkiye *T. equi* izolatları kendi aralarında iki ana dalda yer aldığı ve TR-374 nolu izolatın filogenetik ağaçta da diğer dizilerden ayrı bir dalda yer aldığı saptandı. Temel olarak ikinci grupta yer alan on dört *T. equi* dizisi, kendi içerisinde üç grupta (I.grup; TR-165/TR-185/TR-224/TR-231/TR-277, II.grup; TR-198/TR-290 ve III.grup; TR-146/TR-152/TR-153/TR-155/TR-164/TR-166/TR272 olmak üzere) yer aldılar (Şekil 4.9).

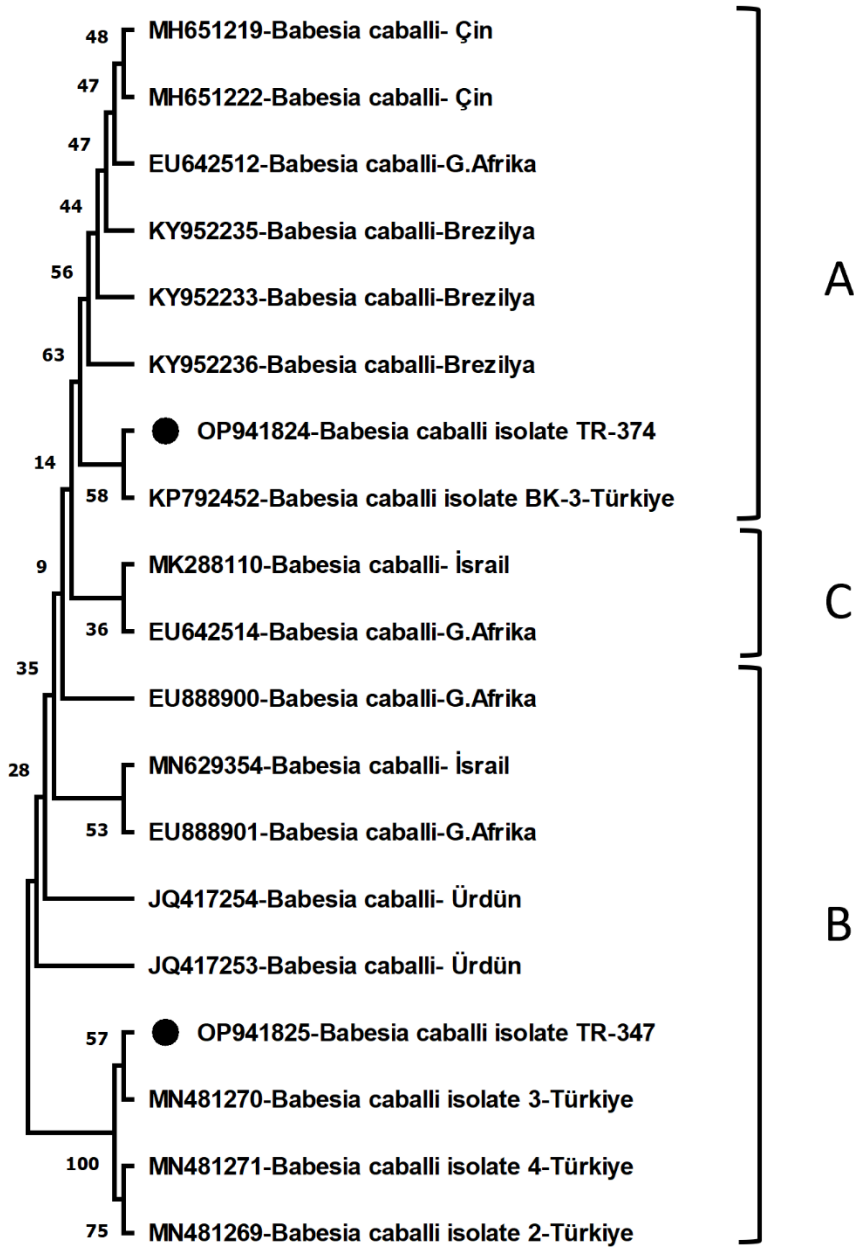
Farklı ülkelerden ve coğrafyalardan izole edilen ve Gen bankasında kayıtlı referans diziler kullanılarak oluşturulan filogenik ağaçta (Şekil 4.10) tüm *T. equi* dizilerinin beş (A-E) gruplarında olduğu tanımlandı. Bu çalışmada elde edilen *T. equi* dizileri A, D ve E gruplarında yer aldığı kaydedildi. TR-146/ TR-152/ TR-153/ TR-155/ TR-164/ TR-166/ TR272/ TR-374 olmak üzere sekiz dizi A grubunda sınıflandırıldı. TR-165/ TR-185/ TR-224/ TR-231/ TR-277 olmak üzere beş dizi D grubunda olarak tanımlandı. TR-198 ve TR-290 numaralı iki dizi ise E grubu *T. equi* dizileriyle aynı grupta sınıflandırıldı. Türkiye'den daha önceki çalışmalarda bildirilen *T. equi* dizilerinin de benzer olarak A, D ve E grubunda yer aldığı görüldü. TR-374 nolu izolatın ise A grubundaki dizilerle ve Türkiye'den daha önce bildirilen dizilere daha yakın olarak dallandığı saptandı.

Babesia caballi dizilerine ait filogenetik analiz, Gen bankasında farklı ülkelerden kayıtlı önceki diziler kullanılarak gerçekleştirildi (Şekil 4.11). *Babesia caballi* dizileri A, B ve C olmak üzere üç grupta sınıflandırıldı. Bu çalışmada *B. caballi* olarak tanımlanan iki izolatın (TR-347 ve TR-374) yapılan filogenetik ağaçta ayrı kümelerde yer aldığı belirlendi. TR-374 nolu izolatın A grubundaki ve TR-347 nolu izolatın ise B grubunda sınıflandırılan, önceki dizilerle aynı grupta yer aldığı saptandı. Türkiye'den daha önce bildirimi yapılan dizilerle, A ve B grubunda da aynı grupta ve ortak ana dalda kümelenildiği kaydedildi. Türkiye'den izole edilen *B. caballi* dizilerinin diğer ülkelerdeki özdeş dizilerden daha uzak olduğu, Türkiye izolatları ile daha yakın grup için dallandığı kaydedildi.



Şekil 4.9: Araştırmada kısmi 18S rRNA gen bölgeleri dizi analizi yapılan *Theileria equi* dizilerinin kendi aralarında filogenetik sınıflandırılması. Filogenetik ağaç Kimura'nın ikili parametresi (Kimura 1980) kullanılarak (1000 bootstrap tekrarlı) Neighbor Joining yöntemiyle Mega XI programında oluşturuldu (Tamura ve ark 2021).

Şekil 4.10: Dizi analizi yapılan *Theileria equi* izolatlarının ve diğer referans dizilerin kısmi 18 S rRNA gen bölgelerinin filogenetik analizi. Filogenetik ağaç Kimura'nın ikili parametresi (Kimura 1980) kullanılarak (1000 bootstrap tekrarlı) Neighbor Joining yöntemiyle Mega XI programında oluşturuldu (Tamura ve ark 2021). Bu çalışmada izole edilen diziler siyah daire ile işaretlenmiştir.



Şekil 4.11: Bu çalışmada dizi analizi yapılan *Babesia caballi* izolatlarının ve diğer referans dizilerin kısmi 18 S rRNA gen bölgelerinin filogenetik analizi. Filogenetik ağaç Kimura'nın ikili parametresi (Kimura 1980) kullanılarak (1000 bootstrap tekrarlı) Neighbor Joining yöntemiyle Mega XI programında oluşturuldu (Tamura ve ark 2021). Bu çalışmada izole edilen diziler siyah daire ile işaretlenmiştir.

5. TARTIŞMA

Tek tırnaklı piroplasmosisi, *Theileria equi* ve *Babesia caballi* 'nin neden olduğu, akut dönemde ateş, anemi, sarılık, ödem ve mukozalarda peteşiyel kanamalarla karakterize, ixodid kenelerle bulaştırılan ekonomik kayıplı bir protozoon hastalığıdır (OİE, 2018; Onyiche ve diğ., 2019; Camino ve diğ., 2020).

Theileria equi ve *B. caballi* enfeksiyonları dünya genelinde yayılım göstermektedir. Etkenlerin coğrafik dağılımları vektör kene türlerinin yayılımı ile ilişkilidir ve enfeksiyonlar tropik, subtropik iklim kuşağındaki bölgelerde endemiktir. Belirli bir alanda aynı vektörleri paylaşabildikleri halde *T. equi*, *B. caballi*'ye göre daha geniş coğrafi dağılıma sahiptir (Onyiche ve diğ., 2019). *Theileria equi*'nin dünya genelindeki ortalama seroprevalansı %33,2, moleküler prevalansı ise %34,6 olarak bildirilmiştir. *Babesia caballi*'nin dünya genelindeki ortalama seroprevalansı %20,5 ve moleküler prevalansı ise %7,5 olarak bildirmiştir. Her iki parazitin en yüksek yayılım oranı Afrika'dadır, bunu sırasıyla Güney ve Orta Amerika, Avrupa ve Asya izlemektedir. Akdeniz havzası ve Orta Doğu'daki prevalanslarının genel olarak Kuzey Avrupa ve Uzak Doğu'dakinden daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Tirosh-Levy ve diğ., 2020).

Atlarda eritrositler içindeki protozoonlar ilk kez 1899'da keşfedilmiş, daha sonra hastalıktan sorumlu iki ayrı parazit türü tanımlanmıştır. *Babesia caballi* sınıflandırılmadığı yerinde korumuş, ancak *Theileria equi* keşfedilmesinden itibaren birkaç kez yeniden sınıflandırılmıştır (Mehlhorn ve Schein, 1998; Scoles ve Ueti, 2015). Son yıllarda moleküler tekniklerin araştırmalarda yaygın ve ileri düzeyde kullanılmasıyla, tek tırnaklı piroplasmosis etkenlerinin dünyanın farklı yerlerindeki izolatları arasında genotipik varyantları olduğu ortaya konulmuştur. 18s rRNA genine dayalı moleküler araştırmalar *T. equi* 'nin A, B, C, D ve E olmak üzere beş farklı genotipini, *B. caballi* 'nin ise A, B ve C olmak üzere üç genotipini ortaya çıkarmıştır (Bhoora ve diğ., 2009; Tirosh-Levy ve diğ., 2020). Ayrıca tek tırnaklılardan elde edilen piroplasma izolatlarının filogenetik analizleri farklı genotiplerin potansiyel yeni türler olabileceğini öngörmektedir (Dahmana ve diğ., 2019). Yakın zamanda tanımlanan *Theileria haneyi*'nin, atların piroplasmosisinden sorumlu üçüncü yeni tür olabileceği tartışılmaktadır (Knowles ve diğ., 2018; Nadal ve diğ., 2021). Amerika-Meksika sınırındaki bir atta keşfedilen

bu tür, farklı Afrika ülkelerindeki atlarda da tanımlanmış, ancak henüz ülkemizde ve Avrupa’da bildirilmemiştir (Nadal ve diğ., 2021).

Küresel ısınmaya bağlı iklim değişikliği ve akarisitlere direnci artan kene popülasyonlarının gelişmesi, atların sportif faaliyetler ve ithalat amacıyla uluslararası hareketliliğinin artması gibi faktörlerin enfeksiyonların yayılma riskini arttırdığı ve enfeksiyonların daha önce görülmediği bölgelerde yayılmasına neden olduğu bildirilmektedir. Dünya genelinde tek tırnaklıların piroplasma enfeksiyonlarının epidemiyolojilerinin anlaşılmasına olan ihtiyaç artmaktadır (Baptista ve diğ., 2013; Dominguez ve diğ., 2016; Nadal ve diğ., 2021; Scoles ve Ueti, 2015; Tirosh-Levy ve diğ., 2020).

Türkiye keneler için uygun iklim ve habitat özelliklerine sahiptir. Atları enfeste eden kene türleri ve bulaştırdıkları patojenlerle ilgili araştırmalar çok sınırlı olsa da, etkenlerin vektörü olarak tanımlanmış kene türlerinin ülkemizde bulunduğu bilinmektedir (Aydın ve Bakırcı, 2007). Türkiye’de hastalık hakkındaki ilk araştırmalar mikroskopik yöntemle yapılmıştır. Sonraki yıllarda ise CFT, IFAT, cELISA testleri kullanılarak seroprevalans çalışmaları yapılmıştır. Moleküler araştırmalar daha az sayıdadır ve henüz son on yılda ağırlık kazanmıştır.

Dünyanın en önemli kentlerinden biri olan İstanbul, Türkiye’de atçılığın önemli merkezlerinden biridir. Literatür taraması ve sektördeki at sahipleri ve hekimlerden edinilen bilgilere göre İstanbul’da tek tırnaklı piroplasmosisinin durumunun iyi bilinmediği anlaşılmıştır. İstanbul ilinin de içinde olduğu Marmara bölgesinde hastalık hakkındaki çalışmalar sınırlı sayıdadır. Türkiye’nin coğrafik bölgelerinde 666 at üzerinde yürüttüğü çalışmada, Marmara bölgesinden 105 at örneklenmiş ve *T. equi* IFAT ile %3,8, CFT ile %4,8 oranında; *B. caballi* IFAT ile %13,3, CFT ile %1 oranında tespit edilmiştir (Balkaya, 2004). Bursa’daki Gemlik harasında 133 atta mikroskopik yöntemle *T. equi* %12, *B. caballi* %6 oranında tespit edilmiştir (İnci, 1997). Bursa Karacabey harasındaki 205 atta real time PZR ile *T. equi* %2,96, *B. caballi* %1,97 oranında tespit edilmiştir (Kızılaslan, 2012). Balıkesir’de 66 atta cELISA ile %12,12 *B. caballi*, %34,8 *T. equi* tespit edildiği bildirilmiştir (Baydar ve diğ., 2022). İstanbul’daki atlarla ilgili yalnızca, Türkiye genelindeki sekiz ilden 300 adet kan örneğinin dahil edildiği bir çalışmada İstanbul’dan örneklenen 20 atta IFAT ile 6 at *T. equi*, 6 at *B. caballi* ve 3 atın miks enfekte tespit edildiği; aynı atlarda CFT ile 3 atta *T. equi* tespit edildiği, *B. caballi* tespit edilemediği; nested PZR ile, *T. equi* 6 atta, *B. caballi* 2 atta ve miks enfeksiyonun 6 atta tespit edildiği ileriye sürülmüştür (Deniz ve ark., 2008).

Türkiye’de daha önce atlarda mikroskopik yöntemle yapılan çalışmalarda tespit edilen pozitiflik oranları Tablo 2.2’de sunulmuştur. Buna göre mikroskopik yöntemle, *T. equi* %0-58,18, *B. caballi* ise %0-7,9 arasındaki oranlarda bildirilmiştir (Açııcı ve diğ., 2008; Akkan ve diğ., 2003; Aktaş ve Dumanlı, 2000; Balkaya, 2004; Derinbay Ekici ve diğ., 2021; Erdoğan ve Balkaya, 2006; Güçlü ve Karaer, 2007; İnci, 1997, 2002; Kurt, 2005; Sevinç ve diğ., 2008).

Bu çalışmada 400 örnekten hazırlanan giemsa boyalı sürme frotilerin incelenmesinde, 6 örnekte (%1,5) *T. equi* tespit edilmiş, *B. caballi*’ye ise rastlanmamıştır. Bu bulgular Türkiye’de mikroskopik yöntemle bildirilen diğer çalışmalarda bildirilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Bu çalışmada *T. equi*’nin pozitif tespit edildiği önceki çalışmalardan nispeten daha düşük oranda pozitiflik tespit edilmiş olmakla beraber (Akkan ve diğ., 2003; Aktaş ve Dumanlı, 2000; Derinbay Ekici ve diğ., 2021; İnci, 1997, 2002), hiç pozitifliğin tespit edilemediği çalışmalar da vardır (Açııcı ve diğ., 2008; Erdoğan ve Balkaya, 2006; Güçlü ve Karaer, 2007; Güven ve diğ., 2017; Kurt, 2005).

Mikroskopik yöntem *T. equi* ve *B. caballi* enfeksiyonlarını akut döneminde, yüzeye yakın kapiller kandan hazırlanan frotilerde teşhis edebilmektedir, ancak düşük parazitemi durumlarında duyarlılığı çok düşüktür. *Babesia caballi* genellikle daha düşük parazitemi ile seyretme eğiliminde olduğundan akut dönemde bile tespitinin çok zor olabildiği bildirilmektedir (de Waal, 1992). Bu çalışmada klinik olarak sağlıklı görünen hayvanların random olarak örneklenmesi ve latent enfeksiyona bağlı mikroskopide düşük parazitemi bulunmuştur. Ayrıca kan örneklerinin vena jugularis’ten alınması düşük parazitemiyi tespit edememenin bir nedeni olabilir (Böse ve diğ., 1995; Derinbay Ekici ve diğ., 2021).

Theileria equi ve *B. caballi* enfeksiyonlarının tanısı ve rutin taramasında kullanılmak üzere çeşitli serolojik testler (CFT, IFAT, ELISA vd.) geliştirilmiştir. Kullanım kolaylığından dolayı serolojik testler yaygın olarak sürveyans araçları olarak tercih edilmektedir. Rekombinant olarak üretilen EMA-1 ve RAP-1 antijenlerine dayalı geliştirilen ticari cELISA testinin yüksek spesifite ve sensitivite gösterdiği belirlenmiştir. Ticari cELISA 2004’ten itibaren OİE tarafından, teşhis ve tarama programlarında kullanılmak üzere resmi test olarak onaylanmıştır (Kappmeyer ve diğ., 1999; Knowles ve diğ., 1991; Onyiche ve diğ., 2019). Şu anda OİE, atların ithalatı ve uluslararası hareketliliğinde, rutin tarama ve epidemiyolojik araştırmalarda cELISA ve IFAT testlerinin kullanılmasını tavsiye etmektedir (OİE, 2018; Rothschild, 2013).

Türkiye’de CFT, IFAT ve cELISA teknikleri kullanılarak yapılan serolojik araştırmalarda tespit edilen prevalans oranları Tablo 2.2’de sunulmuştur. Buna göre Türkiye’de farklı serolojik tanı teknikleriyle yapılan araştırmalarda *T. equi* seroprevalansı %8,43-73,3, *B. caballi* seroprevalansı %0-29,3 arasındaki oranlarda bildirilmiştir (Açııcı ve diğ., 2008; Akkan ve diğ., 2003; Akkoyun, 2018; Balkaya, 2004; Baydar ve diğ., 2022; Erdoğan ve Balkaya, 2006; Karatepe ve diğ., 2009; Kurt, 2005; Öncel ve diğ., 2007; Sevinç ve diğ., 2008).

Çalışmamızda *T. equi* ve *B. caballi*’ye spesifik ıgG’leri tespit etmek üzere ticari cELISA testi kullanılmıştır. İstanbul’daki atlarda *T. equi* seroprevalansı %32, *B. caballi* seroprevalansı ise %1,25 olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada tespit edilen *T. equi* seroprevalansı (%32) Türkiye’de daha önceden bildirilen seroprevalans oranların çoğundan biraz daha yüksek bulunmuş olmakla birlikte (Açııcı ve diğ., 2008; Akkoyun ve Oguz, 2019; Balkaya, 2004; Balkaya ve Erdoğan, 2006; Erdoğan ve Balkaya, 2006; Karatepe ve diğ., 2009; Sevinç ve diğ., 2008), bu çalışmadakinden daha yüksek oranlarda pozitiflik bildirilen araştırmalar da bulunmaktadır (Akkan ve diğ., 2003; Baydar ve diğ., 2022; Erol ve diğ., 2022; Cemal Kurt, 2005).

Bu çalışmada tespit edilen *B. caballi* seropozitiflik oranı (%1,25) ülkemizde daha önce bildirilen oranların çoğundan biraz daha düşük olmakla birlikte (Açııcı ve diğ., 2008; Akkan ve diğ., 2003; Balkaya ve Erdoğan, 2006; Baydar ve diğ., 2022; Erdoğan ve Balkaya, 2006; Erol ve diğ., 2022; Karatepe ve diğ., 2009; Sarı ve diğ., 2010), *B. caballi*’nin hiç tespit edilemediği veya bu çalışmadan daha düşük oranda tespit edilen araştırmalar da bulunmaktadır (Akkoyun, 2018; Kurt, 2005; Sevinç ve diğ., 2008).

Pozitiflik oranlarındaki farklılıklar, kullanılan test tekniğinin çeşidinden, bölgesel coğrafik iklimsel farklılıklardan, örneklenen atların bakım ve yetiştirme özellikleri, barınma koşulları ve kene kontrol önlemlerindeki farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir (Erol ve diğ., 2022; García-Bocanegra ve diğ., 2013; Kouam ve diğ., 2010). Bunun yanında enfeksiyon oranlarının temelde kene popülasyonu ve dolayısı ile patojene maruz kalma seviyesini belirleyen biyotik ve abiyotik parametrelerin ilişkilerinden etkilendiği bildirilmektedir (Bartolomé Del Pino ve diğ., 2016).

Babesia caballi ve *T. equi* teşhisi için PZR tekniği, düşük parazitemi düzeylerini tespit edebildiği, kronik ve latent enfeksiyonların tespitine olanak sağladığı ve enfekte eden etkenleri tür düzeyinde belirlemeyi sağladığı için oldukça etkili bir teşhis aracıdır (Battsetseg ve diğ.,

2002; Rampersad ve diğ., 2003). Tüm dünyada enfeksiyonların teşhisinde ve serolojik tanı araçlarıyla birlikte tarama ve epidemiyolojik araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır, ayrıca moleküler karakterizasyon çalışmaları ile genomik düzeyde etken epidemiyolojisinin araştırılmasına olanak sağlamaktadır (Tirosh-Levy ve diğ., 2020).

Türkiye’de atlarda moleküler tekniklerle yapılan sınırlı sayıdaki araştırmada, konvansiyonel PZR, real time PZR, multipleks PZR, PZR-RLB teknikleri kullanılmıştır. Ülkemizde ilk defa PZR tekniği ile Ankara’da gösteri ve sportif amaçlı yetiştirilen 200 atta *T. equi* %7 ve *B. caballi* %3 oranında tespit edilmiştir (Güçlü, 2005). Bursa Karacabey harasındaki 203 atta real time PZR ile *T. equi* %2,96, *B. caballi* %1,97 oranında tespit edilmiş, toplam prevalans %4,93 olarak bildirmiştir (Kızılaslan, 2012). Erzurum’da cirit sporunda kullanılan 125 atta multipleks PZR ile *T. equi* %8,8 oranında tespit edilmiş, *B. caballi* ise tespit edilememiştir (Güven ve diğ., 2017). Şanlıurfa, Iğdır ve Tunceli illerindeki 142 at ve 91 eşekte piroplasma enfeksiyonları RLB tekniği ile araştırılmış, toplam incelenen 233 örnekte *T. equi* %20,2 oranında tespit edilmiş, *B. caballi* ise tespit edilememiştir (Özübek ve Aktaş, 2018). Muş’ta halk elindeki 102 atta PZR ile *T. equi* %3,9 oranında tespit edilmiş, *B. caballi* ise tespit edilememiştir (Oğuz ve diğ., 2020). 152 yarış atında kene kaynaklı patojenlerin araştırıldığı başka bir çalışmada, PZR ile *T. equi* %5,5 oranında tespit edilmiş, *B. caballi* pozitifliği tespit edilememiştir (Ceylan ve diğ., 2021). Konya’da 36 yıllık atında multipleks PZR ile *T. equi* örneklerin %50’sinde, *B. caballi* ise %38,8’inde pozitif bulunmuştur. Pozitifliğin %38,8’i miks enfeksiyon şeklinde rastlanmıştır (Derinbay Ekici ve diğ., 2021).

Bu çalışmada İstanbul’daki atlarda *T. equi*’nin moleküler prevalansı %20,25 (81/400), *B. caballi*’nin moleküler prevalansı %2 (8/400) olarak belirlenmiştir. Pozitif örneklerin 5 tanesi (%1,25) miks enfeksiyon şeklinde tespit edilmiştir. Bu çalışmada atlarda PZR tekniği ile tespit edilen *T. equi*’nin pozitiflik oranı ülkemizde önceden bildirilen araştırmalardaki oranların çoğundan biraz daha yüksek bulunmuştur (Ceylan ve diğ., 2021; Güçlü ve Karaer, 2007; Kızılaslan, 2012; Oğuz ve diğ., 2020; Özübek ve Aktaş, 2018).

Bu çalışmada tespit edilen *B. caballi* pozitiflik oranı ülkemizde önceden bildirilen PZR pozitiflik oranlarıyla benzerlik göstermektedir (Güçlü, 2005; Kızılaslan, 2012). Daha yüksek oranda tespit edilen (Derinbay Ekici ve diğ., 2021) veya *B. caballi*’nin hiç tespit edilmediği çalışmalar da vardır (Ceylan ve diğ., 2021; Güven ve diğ., 2017; Oğuz ve diğ., 2020; Özübek ve Aktaş, 2018).

Yapılan moleküler çalışmalarda pozitiflik oranları, örnekleme bölgelerini coğrafik özelliklerine ve vektör kene türlerinin varlığına, incelenen örneklemedeki atların yetiştirme ve bakım şartlarına, örnekleminin yapıldığı mevsime göre farklılık gösterebilir (García-Bocanegra ve diğ., 2013). Çalışmamızda *T. equi* prevalansının önceki çalışmalardan daha yüksek oranda tespit edilmesinin muhtemel bir nedeni, bu çalışmada örneklenen atların bakım ve koruma-kontrol şartlarındaki farklılıklar olabilir. Bu çalışmada, kan örnekleri İstanbul genelinde halk elindeki atlardan toplanmıştır. Çalışmamızda *T. equi*'nin en yüksek PZR pozitifliği adalardaki fayton atlarından alınan örneklerde tespit edilmiştir. Fayton atlarının iyi bakım ve koruma şartlarına sahip olmadığı görülmüştür. Profesyonel kullanıma yönelik olmayan atların bakım ve koruma şartları ihmal edilebilmektedir. Ülkemizdeki önceki moleküler çalışmaların çoğunda örneklenen atların sportif amaçla yetiştirilen atlar oldukları bildirilmiştir (Ceylan ve diğ., 2021; Güçlü, 2005; Güven ve diğ., 2017; Kızılaslan, 2012). Profesyonel kullanıma yönelik yetiştirilen atlarda muhtemelen düzenli ve iyi veteriner bakımı aldıkları için, enfeksiyonlar daha düşük düzeyde tespit edilebilir.

Çalışmamızda tespit edilen *T. equi* ve *B. caballi* pozitiflik oranları, Akdeniz havzasındaki ve komşumuz olan diğer ülkelerde bildirilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Azerbaycan'ın batısında *T. equi* 126 atta mikroskopik yöntemle %3,24, PZR'da %27,7 oranında tespit edildiği bildirilmiştir (Ebrahimi ve diğ., 2018). İran'da 100 atta yapılan bir çalışmada IFAT ile *T. equi* %48, *B. caballi* %2 olarak tespit edilmiştir (Abedi ve diğ., 2014). Irak'ta 349 tek tırnaklının (209 at, 62 katır, 57 eşek, 21 pony) dahil edildiği çalışmada, mikroskopik yöntemle %8,3 *T. equi*, %1,7 *B. caballi*, %0,6 miks enfeksiyon tespit edilmiş, cELISA testiyle *T. equi* %20,9 *B. caballi* ise %10,2 oranında tespit edilmiştir (Aziz ve Al-Barwary, 2019). Yunanistan'da 524 attan alın kan serum örnekleri cELISA yöntemiyle incelenmiş, atların %11'i *T. equi*, %2,2'si ise *B. caballi* seropozitif olarak saptanmıştır (Kouam ve diğ., 2010). Balkanlar'daki 142 atta multipleks PZR ile araştırılmıştır. *T. equi* %22,5, *B. caballi* %1 ve miks enfeksiyon %0,7 tespit edilmiştir (Davitkov ve diğ., 2016). Orta-Güney İtalya'da bulunan 673 atta cELISA ile *T. equi* %39,8 ve *B. caballi* %8,9 olarak tespit edilmiştir. Seropozitif tespit edilmiş olan 273 örneğin real time PZR ile %70,3'ü ile *T. equi*, %10,3'ü *B. caballi* pozitif tespit edilmiştir (Bartolomé Del Pino ve diğ., 2016). İspanya'da 740 atta cELISA ile *T. equi* %35,8 ve *B. caballi* %15,6, miks enfeksiyon %8,6 oranında tespit edilmiş, PZR ile 740 attan %29 *T. equi*, %1,8 *B. caballi*, %0,7 oranında miks enfeksiyon tespit edilmiştir (Camino ve diğ., 2021). Fas'ta 415 atta *T. equi* cELISA ile %67 oranında bildirilmiştir (Rhalem ve diğ., 2001). İsrail'de 257 atta *B. caballi* IFAT ile %69,6, PZR ile %9,7 oranında (Tirosh-

Levy ve diğ., 2021), başka bir çalışmada 590 atta *T. equi* PZR ile %26,4 oranında bildirilmiştir (Steinman ve diğ., 2012). Mısır'da 370 atta cELISA ile *T. equi* %39 ve *B. caballi* %11, miks enfeksiyon ise %5,6 oranında tespit edilmiştir (Selim ve Khater, 2020). Mısır'da başka bir çalışmada 88 atta IFAT ile *T. equi* %23,9, *B. caballi* %17 oranında bildirilmiştir (Mahmoud ve diğ., 2016).

Çalışmamızda kullanılan üç teşhis yönteminde de *T. equi* pozitifliği, *B. caballi*'den daha yüksek oranda tespit edilmiştir. Ortaya çıkan bu bulgu dünyanın farklı yerlerinde yapılan çalışmalarla da benzerlik göstermektedir (Abedi ve diğ., 2014; Aziz ve Al-Barwary, 2019; Bartolomé Del Pino ve diğ., 2016; Camino ve diğ., 2021; Davitkov ve diğ., 2016; Ebrahimi ve diğ., 2018; Kouam ve diğ., 2010; Tirosh-Levy ve diğ., 2020). Dünya genelinde, *T. equi* prevalansının *B. caballi*'den daha yüksek tespit edilmesi etkenlerin epidemiyolojik enfeksiyon dinamiklerindeki farklılıkların bir sonucu olarak değerlendirilmektedir (Montes Cortés ve diğ., 2017; Onyiche ve diğ., 2019; Rüegg ve diğ., 2008; Scoles ve Ueti, 2015). Toplu veriler, tek tırnaklıların bağışıklık tepkisinin *T. equi* enfeksiyonlarını ortadan kaldıramadığını, enfeksiyonun uzun yıllar hatta hayat boyu kalıcı olduğunu göstermektedir. *Theileria equi*'nin antiprotozoer ilaçlara dirençli olduğu ve tedaviden sonra bile pozitifliğin devam ettiği bildirilmektedir (Bhoora ve diğ., 2010; Rothschild, 2013). *Babesia caballi*'nin prevalansının daha düşük tespit edilmesinin nedeni, atların tedavi edilmiş olmaları veya akut enfeksiyon dönemini atlatanlarda parazitin tamamen ortadan kaldırılması olabilir (Akkoyun ve Oguz, 2019). Rüegg ve ark(2008), *T. equi* ve *B. caballi*'nin atlarda bulaşma dinamiklerinin tahmini üzerine yapılan bir araştırmada *B. caballi*'nin konaktaki kalıcılığı tahmini 1,5 yıl olarak bildirilmiştir (Rüegg ve diğ., 2008). Genel olarak *B. caballi* enfeksiyonlarının 1-4 yılda elemine edildiği kabul edilmektedir, paraziteminin *T. equi*'den daha kısa sürede ortadan kalktığı ya da tespit edilebilir düzeyin altına indiği bildirilmektedir (de Waal, 1992; Kouam ve diğ., 2010). Bu aynı zamanda *B. caballi*'nin, enfeksiyonun erken akut fazı dışında hastalığın herhangi bir aşamasında kan yaymalarında tespit edilmesinin zor olduğu bulgularıyla da desteklenebilir (Salim ve diğ., 2008).

Çalışmamızda *T. equi* mikroskopik yöntemle %1,5 oranında tespit edildi, *B. caballi* ise hiç tespit edilmedi. PZR tekniğinde ise *T. equi* %20,25, *B. caballi* %2 örnekte tespit edildi. Türkiye'de ve dünyada yapılan çalışmalarda PZR'ın perifer kan frotisi bakılarına göre daha üstün bir teknik olduğu bildirilmektedir (Aziz ve Al-Barwary, 2019; Cant-Martínez ve diğ., 2012; Güçlü ve Karaer, 2007). Klinik olarak sağlıklı görünen hayvanlarda, kanda parazitlerin

tespiti için PZR, mikroskobiden 2,2-3,2 kat daha hassas bulunmuştur (Böse ve diğ., 1995; Rampersad ve diğ., 2003). Bu çalışmadaki bulgular önceki literatürlerle uyumlu bulunmuştur.

Çalışmamızda cELISA’da *T. equi* pozitif tespit edilen 128 örnekten, 74 tanesi PZR testinde ve bunlardan da 6 tanesi mikroskobik incelemede pozitif. Geriye kalan 54 seropozitif örnek, PZR testinde negatifti. PZR testinde pozitif tespit edilen 81 örnekten 7 tanesi ise cELISA testinde negatifti. *B. caballi* cELISA’da pozitif tespit edilen 5 örnekten 2 tanesi PZR testinde de pozitif. PZR testinde pozitif olan 8 örnekten 6 tanesi ise cELISA’da negatifti (bkz Tablo 4.2).

cELISA ve PZR yöntemleriyle tespit edilen, pozitiflik oranları da farklılık göstermiştir. İstanbul’daki atlarda *T. equi* prevalansı cELISA ile %32, PZR ile %20,25; *B. caballi* prevalansı cELISA ile %1,25, PZR ile %2 belirlenmiştir. Teshiş yöntemine göre ortaya çıkan farklı pozitiflik oranları, temelde cELISA ve PZR’ın farklı parametreleri araştırması ve enfeksiyon durumu ile ilgili olabilir. cELISA, konağın parazite karşı geliştirdiği humoral immün yanıtla bağlı gelişen spesifik IgG’leri saptar. Deneysel bir çalışmada *T. equi*’nin kandan elemine edildiğinin gösterildiği atlarda, cELISA pozitifliğinin 24 aya kadar pozitif devam edebildiği bildirilmiştir (Ueti ve diğ., 2012; Wise ve diğ., 2014). Konvansiyonel PZR testi parazit DNA’sında seçilen spesifik gen bölgesinin tespitini sağlar, ve örnekleme anında kanda etkenlerin var olduğu gösterilir.

Theileria equi enfeksiyonları için prepatent süre 12-14 gün olduğundan, örnekleme zamanı dolaşımdaki parazitlerin saptanmasında kritik bir rol oynar (Mehlhorn ve Schein, 1998). Grause ve diğ. (2013) ’nın 15 at üzerinde yürüttükleri deneysel bir çalışmada, 10^6 parazit içeren kanın intravenöz inokulasyonu ile enfeksiyon oluşturulmasından sonra, 1.haftadan itibaren, deneklerin çoğunda 3.haftadan itibaren, enfeksiyon PZR ile tespit edilebilmiştir. Ticari cELISA ile enfeksiyonun tespiti ise 5-12. haftadan itibaren mümkün olmuştur (Grause ve diğ., 2013). Knowles ve diğ.(1992), *T. equi*’nin *Boophilus micropus* ile bulaştırılmasıyla oluşturulan deneysel çalışmada, cELISA’nın enfeksiyondan sonraki 7. haftadan itibaren pozitiflik tespit edebildiğini bildirmiştir (Knowles ve diğ., 1992). *Babesia caballi* hakkındaki bir çalışmada Schwint ve diğ. (2009), kan nakli yoluyla 10^4 parazit ile oluşturulan deneysel enfeksiyondan sonraki 8. günde cELISA ve PZR’da pozitifliği tespit etmiştir. Aynı çalışmada *B. caballi* atlara *Dermacentor nitens*’in larvaları ile bulaştırıldığında, enfeksiyondan sonraki 12.günde cELISA testinde pozitiflik tespit edilmiştir. Tedavi edilen atlarda *B. caballi* cELISA’da 201.gün negatife

dönmüştür. Tedavi edilmeyen atlarda seropozitifliğin 9 aydan fazla süre devam ettiği gözlenmiştir (Schwint ve diğ., 2009).

Test edilen örneklerdeki cELISA ve PZR pozitifliği kronik enfeksiyonu temsil eder (Posada-Guzmán ve diğ., 2015). cELISA negatif, ancak PZR veya mikroskopik incelemede pozitif tespit edilen sonuçlar, henüz antikorların gelişmediği yeni bir enfeksiyon olarak yorumlanır (Baptista ve diğ., 2013; Jaffer ve diğ., 2010; Rosales ve diğ., 2013; Sumbria ve diğ., 2016). cELISA pozitif ancak PZR negatif sonuçlar ise, parazitlerin yokluğunda antikorların mevcut olabileceği gerçeğiyle açıklanabilir (Baptista ve diğ., 2013; R. Bhoora, Quan, Franssen, ve diğ., 2010). Bu durum atların enfeksiyonu yendiğini, paraziteminin tespit edilebilir bir seviyenin altına kadar düştüğünü veya tedavi edildiğini gösterir (Moretti ve diğ., 2010; Posada-Guzmán ve diğ., 2015; Tirosh-Levy ve diğ., 2021). Ayrıca literatürde, *T. equi* için PZR negatif, seropozitif tespit edilen bulgularla ilgili olarak asemptomatik atlarda parazitlerin kan damarlarında, dalakta, merkezi sinir sisteminde ve kemik iliğinde tutulabileceğinden şüphelenilmektedir (Nadal ve diğ., 2021; Wise ve diğ., 2013). Çalışmamızda atların çoğu PZR ve cELISA pozitifliği birlikte tespit edilmiştir ve İstanbul’ daki atların çoğunun enfeksiyonu kronik olarak geçirdiğini düşündürmektedir. Farklı oranda tespit edilen cELISA ve PZR bulgularımız enfeksiyonların teşhisinde iki testin birlikte kullanılmasının faydalı olduğunu göstermektedir.

Theileria equi enfeksiyonu, İstanbul genelinde Anadolu yakası (Beykoz, Çekmeköy, Pendik, Ümraniye), Avrupa yakası (Avcılar, Çatalca, Eyüp, Sarıyer) ve Adalar (Büyükkada, Heybeliada, Burgazada)’daki 14 örnekleme merkezinin 12’sinde tespit edildi. cELISA ve PZR ile en yüksek oran Eyüp’te tespit edildi, Silivri ve Şile’de hiç *T. equi* pozitifliği tespit edilmedi. Örnek alınan merkezlerde prevalans farklılıkları, ziyaret edilen işletme ve at sahipleri özelindeki bakım ve yetiştiricilik uygulamalarındaki farklardan kaynaklanmış olabilir. *T. equi* pozitifliği, Avrupa yakasındaki atlarda cELISA %28,2; PZR %19,1; Anadolu yakasındaki atlarda cELISA %30, PZR %13, Adalar’daki atlarda cELISA %42,9, PZR %30,7 oranında tespit edildi. *T. equi*’nin hem cELISA hem de PZR’da en yüksek oranı Adalar’da tespit edildi. Örnekleme bölgelerine göre pozitiflik oranları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulundu ($p<0,05$). Kan alma sırasında at sahiplerinden toplanan bilgilere göre, Adalar’da faytonlarda çalıştırılan atlar, hiçbir zaman iç ve dış parazitler yönünden ilaçlanmıyor, ciddi hastalık durumu olmadıkça veteriner hekim bakımı ve tedavisi almıyordu. Bazı atların çalışmadıkları mevsimlerde, otlak alanlarda serbest bırakıldığı öğrenildi. Adalarda tespit edilen

yüksek prevalansın muhtemel nedeni atların bakım ve yetiştirme koşulları olabilir. Ayrıca Adalar'da *T. equi* seropozitif atların neredeyse dörtte üçü kadar atın PZR testinde de pozitif tespit edilmesi, tekrarlayan enfeksiyonları, yoğun egzersiz ve iyi olmayan bakım şartları nedeniyle immün gücü kısıtlanarak atların enfeksiyonları yenmekte zorlandıklarını işaret edebilir. Atlarda yoğun egzersiz ile hastalığın ilişkisi önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Hailat ve diğ., 1997). Ağır egzersiz, bağışıklık sistemini geçici olarak olumsuz etkileyebilen önemli bir fiziksel stres etkenidir. Bağışıklığı baskılanmış hayvanların, hastalığa daha duyarlı oldukları bildirilmiştir (Horahov ve diğ., 1999, Sevinç ve diğ., 2008).

İstanbul'daki atlarda *B. caballi* enfeksiyonu Anadolu yakasında (Beykoz), Adalar (Burgazada, Büyükada) ve Avrupa yakasında (Çatalca, Sarıyer ve Silivri) örneklen 14 merkezin 6'sında tespit edilmiştir (bkz tablo 4.2). Pozitiflik tespit edilen merkezler içinde en yüksek oran Sarıyer'de (%6,7), en düşük Çatalca'da (%1,7) tespit edilmiştir. *B. caballi* pozitifliği, Avrupa yakasındaki atlarda cELISA %1; PZR %2,9; Anadolu yakasındaki atlarda cELISA %2, PZR %0, Adalar'daki atlarda cELISA %1,1, PZR %2,2 oranında tespit edilmiş olup *B. caballi*, örnekleme bölgelerindeki prevalansları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Bununla birlikte *B. caballi*'nin İstanbul'un farklı yakalarında ve adalarında yayılmış olduğu anlaşılmaktadır. İstanbul'da *B. caballi* enfeksiyonu tespit edilen bölgeler genel itibarıyla İstanbul'un bitki örtüsünün bol olduğu keneler için uygun iklim ve habitat özelliklerine sahip ilçeleridir.

Çalışmamızda, *T. equi* ve *B. caballi*, kullanılan her bir teşhis yöntemleriyle tespit edilen pozitiflik oranlarının yaş grupları arasındaki farklılıkları istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Çoğu araştırmada *T. equi* prevalansının yaşla ilişkisinin bulunmadığı bildirilmiştir, ve çalışmamızdaki bulgu önceki literatürlerle uyumlu bulunmuştur (Açııcı ve diğ., 2008; Aziz ve Al-Barwary, 2019; Camino ve diğ., 2018; Davitkov ve diğ., 2016; Kızılaslan, 2012; Moretti ve diğ., 2010; Öncel ve diğ., 2007). Bulgularımız, *B. caballi* prevalansının yaşla ilişkisinin tespit edilmediği daha önceki literatürlerle de uyumlu bulunmuştur (Açııcı ve diğ., 2008; Akkoyun ve Oguz, 2019; Grandi ve diğ., 2011; Kızılaslan, 2012; Moretti ve diğ., 2010; Tirosch-Levy ve diğ., 2021).

Çalışmamızda, *T. equi* ve *B. caballi*, cELISA ve PZR yöntemleriyle tespit edilen pozitiflik oranlarının cinsiyet grupları arasındaki farkı istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Bu çalışmadaki bulgular cinsiyetle *T. equi* prevalansı arasında ilişki bulunmadığını bildiren (Camino ve diğ., 2018; Ebrahimi ve diğ., 2018; Sarı ve diğ., 2010; Steinman ve diğ.,

2012) ve cinsiyetle *B. caballi* prevalansı arasında ilişki bulunmadığını bildirilen (Kızıllarslan ve diğ., 2015; Kouam ve diğ., 2010; Oğuz ve diğ., 2020; Sarı ve diğ., 2010) önceki literatürlerle uyumludur.

Çalışmamızda kan alınan atların ırkları 16'dan fazla çeşidi içerdi ve 2 ana kategoride değerlendirildi. Kullanılan test yöntemlerine göre *T. equi* prevalansının at ırkları arasındaki pozitiflik oranlarındaki farklılıkları önemli bulunmuştur ($p < 0,001$). *T. equi* prevalansı sıcak kanlı ırk arların yer aldığı gruba kıyasla ılık kanlı ve soğuk kanlı ırk atların dahil olduğu grupta bariz bir şekilde düşük tespit edilmiştir (bkz Tablo 4.6). Kullanılan test yöntemlerine göre *B. caballi* prevalansının at ırkları arasındaki pozitiflik oranlarındaki farklılıkları önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$). At ırklarının enfeksiyona genetik yatkınlığı üzerine ayrıntılı çalışmalar olmamakla birlikte, bazı çalışmalarda istatistiksel olarak anlamlı bulunan sonuçlar bildirilmiştir. Melez ırkların ve yerli ırkların genellikle enfeksiyonlara daha dayanıklı olduğu bildirilmiştir (Baptista ve diğ., 2013; Bartolomé Del Pino ve diğ., 2016). Enfeksiyon prevalansının at ırklarına göre istatistiksel açıdan anlamlı tespit edilen ilişkisi, atların ekonomik değeri ve profesyonel kullanıma yönelik olup olmamasına göre yönetim uygulamalarındaki farklılıklara atfedilmiştir (Bartolomé Del Pino ve diğ., 2016, Camino ve diğ., 2021). Çalışmamızda örnelemeye dahil edilen, soğuk ve ılık kanlı ırkların neredeyse tamamı Avrupa'dan ithal getirilmiş atlardı ve çok özenle bakılan, günlük egzersizler için kullanılan manejleri dışında bir alana çıkmayan atlardı. İstanbul genelindeki atların büyük bölümünü ise sıcak kanlı ırklara dahil olan olan Arap atı, İngiliz atı, yerli ırklar ile bunların melezlerinden oluşturmaktadır. Irklar arasındaki prevalans farklılıkları, örneklenen ılık-soğuk kanlı ırktaki atların iyi bakım ve koruma şartlarında yetiştiriliyor olmalarından kaynaklanmış olabilir.

Atlara ait sahiplerinden toplanarak kaydedilen bilgilerine göre, İstanbul'da atların yetiştirilme amaçları açısından beş temel kategori ortaya çıkmıştır. Kullanılan test yöntemlerine göre *B. caballi* prevalansının at grupları arasındaki pozitiflik oranlarındaki farklılıkları önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$). *T. equi* pozitifliği en düşük spor-yarış amaçlı yetiştirilen atlarda tespit edilmiştir, bunu damızlık ve hobi-binicilik amaçlı atlar takip ettiği görülmüştür. En yüksek oranlar ise fayton ve diğer genel amaçlı yetiştirilen atlarda ortaya çıkmıştır (bkz Tablo 4.4). *T. equi* enfeksiyon oranlarının yetiştiricilik amacına göre at grupları arasındaki farklılıkları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,001$). Bildirilen çalışmalarda yarış ve damızlık amaçlı yetiştirilen atlardaki enfeksiyon oranları, hobi ve çiftlik işlerinde kullanılan atlara göre önemli ölçüde düşük tespit edilmiştir. Hayvanların iyi bakım koşulları ve keneye maruz kalma

ihtimalini artıran yetiştirme koşullarının bu farklılıkta önemli etken olduğu bildirilmektedir (Camino ve diğ., 2021; Davitkov ve diğ., 2016; Zanet ve diğ., 2017). Çalışmamızda ortaya çıkan sonuçlar muhtelemen, yüksek pozitiflik oranlarına sahip atların yetiştirme koşulları ve korunma uygulamalarının yetersizliğinden kaynaklanmaktadır.

Bugüne kadar dünyanın farklı coğrafik bölgelerinde 18s rRNA geninin filogenetik analizlerine göre *T. equi*'nin 5 farklı genotipi, *B. caballi*'nin 3 farklı genotipi bulunduğu bildirilmiştir (Bhoora ve diğ., 2020; Tirosh-Levy ve diğ., 2020). *Theileria equi*'nin genotip çeşitliliğinin, farklı coğrafi bölgelerde yapılan sekans analizlerinin eklenmesiyle artacağını düşünüldüğü bildirilmektedir. *B. caballi*'nin genotipleri hakkında bilgiler daha azdır ve parazitin küresel epidemiyolojisinin anlaşılması için ek moleküler çalışmalara ihtiyaç duyulduğu bildirilmektedir (Bhoora ve diğ., 2009; Qablan ve diğ., 2013; Salim ve diğ., 2010).

Ülkemizde tek tırnaklı piroplazmosis etkenlerinin moleküler tespiti ve genotipik çeşitliliği üzerine çalışmalar sınırlı sayıdadır (Ceylan ve diğ., 2021; Derinbay Ekici ve diğ., 2020; Güven ve diğ., 2017; Kızılarşlan ve diğ., 2015; Oğuz ve diğ., 2020; Özübek ve Aktaş, 2018). Kızılarşlan ve diğ.(2015)., Bursa'daki atlardan elde edilen *T. equi* izolatlarının E genotipinde, *B. caballi* izolatının ise A genotipinde bulunduğunu bildirilmiştir (Kızılarşlan ve diğ., 2015). Özübek ve Aktaş (2018), Şanlıurfa, Tunceli ve Iğdır illerindeki *T. equi* izolatlarının dizi ve filogenetik analizleri sonucunda genotiplerinin A ve D olduğunu bildirmişlerdir (Özübek ve Aktaş, 2018). Oğuz ve ark (2020), Muş ilindeki atlardan elde edilen *T. equi* izolatlarının A genotipinde bulunduğunu bildirmişlerdir (Oğuz ve diğ., 2020).

Bu çalışmada elde edilen *T. equi* dizilerinin A, D ve E gruplarında yer aldığı kaydedildi. Türkiye'den daha önceki araştırmalarda bildirilen *T. equi* dizilerinin de benzer olarak A, D ve E grubunda yer aldığı görüldü (Kızılarşlan ve diğ., 2015; Oğuz ve diğ., 2020; Özübek ve Aktaş, 2018). TR-374 nolu izolatın ise A grubundaki dizilerle ve Türkiye'den daha önce bildirilen dizilere daha yakın olarak dallandığı saptandı (Güven ve diğ., 2017; Oğuz ve diğ., 2020).

Bu çalışmada elde edilen *B. caballi* izolatlarının filogenetik analizi sonucunda A ve B kümelerinde yer aldığı görülmüştür. Türkiye'den daha önce bildiriimi yapılan dizilerle, A ve B grubunda da aynı grupta ve ortak ana dalda kümelenildiği kaydedildi. Türkiye'den izole edilen *B. caballi* dizilerinin diğer ülkelerdeki özdeş dizilerden daha uzak olduğu, Türkiye izolatları ile daha yakın grup için dallandığı kaydedildi (Derinbay Ekici ve diğ., 2020; Kızılarşlan ve diğ., 2015).

Theileria equi'nin A genotipi daha önceki çalışmalarda Amerika, Brezilya, Güney Afrika, İspanya, Fransa, Romanya, İsrail, Güney Kore, Hindistan ve Moğolistan'daki atlarda bildirilmiştir (Tirosh-Levy ve diğ., 2020).

D genotipi Brezilya, Güney Afrika, İran, İsrail, Sudan ve Romanya'daki atlarda bildirilmiştir (Tirosh-Levy ve diğ., 2020).

E genotipi İspanya, İran, Irak, Ürdün, Moğolistan, Çin, Güney Kore, İsviçre, Rusya, ve Ukrayna'daki atlarda bildirilmiştir (Tirosh-Levy ve diğ., 2020).

Theileria equi'nin farklı genotiplerinin klinik enfeksiyonlar açısından farklılıklar oluşturup oluşturmadığı tam olarak bilinmemektedir. Manna ve ark (2018), *T. equi*'nin A genotipinin semptomatik hayvanlarda daha yaygın olduğunu, B genotipinin asemptomatik hayvanlarda görüldüğünü tespit etmişlerdir (Manna ve diğ., 2018).

İsrail'de subklinik ve klinik enfeksiyona sahip atların, *T. equi* parazit yükleri ve genotipleri araştırmış, tüm klinik vakalarında sadece A genotipinin tespit edildiği ve bu genotipin klinik vakalarla ilişkili olabileceğini bildirmiştir (Tirosh-Levy, Steinman, ve diğ., 2020).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, ilk defa bu çalışmayla, İstanbul genelinde Avrupa ve Anadolu yakasında halk elinde farklı kullanım amaçları için yetiştirilen atlar ile İstanbul'a bağlı Adalardaki nostaljik fayton atlarında *Theileria equi* ve *Babesia caballi*'nin yayılışı ortaya konulmuştur. Etkenlerin İstanbul genelinde yayılışa sahip olduğu anlaşılmıştır. Yaygın enfeksiyonlardan esas olarak *T. equi*'nin sorumlu olduğu ve *B. caballi*'den daha yüksek prevalansa sahip olduğu belirlenmiştir.

Akut dönemi atlattıktan sonra atlar genellikle portör olarak kalmakta ve vektör keneler için enfeksiyon kaynağı oluşturmaktadır. Hastalık riskinin azaltması ve uygun kontrol önlemlerinin belirlenmesi için latent enfeksiyonlu hayvanların tespit edilmesi önemlidir. Çalışmamızda elde edilen bulgular, enfeksiyonların teşhisi için direk veya dolaylı testlerin birlikte kullanılmasının faydalı olduğunu göstermektedir. Literatür taramasında ulaşılabildiği kadarıyla, bu çalışma Türkiye'de tek tırnaklı piroplasmosis hakkında mikroskopik, serolojik ve moleküler tekniklerin birlikte kullanıldığı ilk çalışmadır.

Araştırma sonuçlarımız sportif amaçlı ve damızlık atlar ile ithal ırktaki atlarda enfeksiyonların daha düşük oranda tespit edildiğini, profesyonel kullanıma yönelik olmayan fayton atları ile diğer atlarda enfeksiyonların daha yüksek oranlarda tespit edildiğini ortaya çıkarmıştır. İstanbul'da tek tırnaklı piroplasmosis enfeksiyonlarından korunma için atların düzenli antiparaziter uygulamalarının takibine, bakım ve barınma alanlarının iyi düzenlenmesine dikkat edilmesi önemlidir.

Ayrıca bu çalışmada elde edilen *T. equi* ve *B. caballi* izolatlarının, GenBank'ta kayıtlı dünyanında farklı coğrafik bölgelerindeki izolatlar ile karşılaştırılmasıyla moleküler karakterizasyonu yapıldı. Elde edilen *T. equi* ve *B. caballi* izolatlarının *T. equi*'nin A, D ve E gruplarında, *B. caballi*'nin A ve B gruplarında yer aldığı görülmüştür.

Bu çalışmadan elde edilen epidemiyolojik veriler sonraki araştırmalar için literatüre katkı sağlayacak olup, atlarda bu hastalıktan kaynaklı ekonomik kayıpların önlenmesi için at sahipleri ve veteriner hekimlere faydalı olacağı umulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abedi, V., Razmi, G., Seifi, H., & Naghibi, A. (2014), Molecular and serological detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infection in horses and ixodid ticks in Iran, *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 5(3), 239–244.
- Abutarbush, S. M., Alqawasmeh, D. M., Mukbel, R. M., & Al-Majali, A. M. (2012), Equine Babesiosis: Seroprevalence, Risk Factors and Comparison of Different Diagnostic Methods in Jordan, *Transboundary and Emerging Diseases*, 59(1), 72–78.
- Açııcı, M., Umur, S., Guvenc, T., Arslan, H. H., & Kurt, M. (2008), Seroprevalence of equine babesiosis in the Black Sea region of Turkey, *Parasitology International*, 57(2), 198–200.
- Aharonson-Raz, K., Rapoport, A., Hawari, I. M., Lensky, I. M., Berlin, D., Zivotofsky, D., Klement, E., & Steinman, A. (2014), Novel description of force of infection and risk factors associated with *Theileria equi* in horses in Israel and in The Palestinian Authority, *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 5(4), 366–372.
- Ahmadpour, S., Esmailnejad, B., Dalir-Naghadeh, B., & Asri-Rezaei, S. (2020), Alterations of cardiac and renal biomarkers in horses naturally infected with *theileria equi*. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 71(May), 101502.
- Akkan, H. A., Karaca, M., Tutuncu, M., Deger, S., Keles, I., & Agaoglu, Z. (2003), Serologic and Microscopic Studies on Babesiosis in Horses in the Eastern Border of Turkey, *Journal of Equine Veterinary Science*, 23(5), 181–183.
- Akkoyun, Z. (2018), *Muş Yöresi Atlarında Theileria equi ve Babesia caballi' nin seroprevalansı*, Yüksek Lisans Tezi. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Akkoyun, Z., & Oguz, B. (2019), Seroprevalance of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in Horses of Mus Provice, Turkey, *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 60(1), 22–29.

- Aktaş, M., & Dumanlı, N. (2000), Malatya Sultansuyu Tarım İşletmesi atlarında subklinik *Babesia equi* (Laveran, 1901) ve *Babesia caballi* (Nuttall, 1910) enfeksiyonları, *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 24, 55–56.
- Alhassan, A., Govind, Y., Tam, N. T., Thekisoe, O. M. M., Yokoyama, N., Inoue, N., & Igarashi, I. (2007a), Comparative evaluation of the sensitivity of LAMP, PCR and in vitro culture methods for the diagnosis of equine piroplasmiasis, *Parasitology Research*. 100, 1165-1168.
- Alhassan, A., Pumidonming, W., Okamura, M., Hirata, H., Battsetseg, B., Fujisaki, K., Yokoyama, N., & Igarashi, I. (2005), Development of a single-round and multiplex PCR method for the simultaneous detection of *Babesia caballi* and *Babesia equi* in horse blood, *Veterinary Parasitology*, 129(1–2), 43–49.
- Alhassan, A., Thekisoe, O. M. M., Yokoyama, N., Inoue, N., Motloang, M. Y., Mbatia, P. A., Yin, H., Katayama, Y., Anzai, T., Sugimoto, C., & Igarashi, I. (2007b), Development of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method for diagnosis of equine piroplasmiasis, *Veterinary Parasitology*, 143(2), 155–160.
- Ali, S., Sugimoto, C., & Onuma, M. (1996), Equine Piroplasmiasis, *Journal of Equine Science*, 7(4), 67–77.
- Allsopp, B. A., Bayliss, H. A., Allsopp, M. T., Cavalier-Smith, T., Bishop, R. P., Carrington, D. M., Sohanpal, B., & Spooner, P. (1993), Discrimination between six species of *Theileria* using oligonucleotide probes which detect small subunit ribosomal RNA sequences, *Parasitology*, 107(2), 157–165.
- Allsopp, M. T. E. P., Cavalier-Smith, T., De Waal, D. T., & Allopp, B. A. (1994), Phylogeny and evolution of the piroplasms, *Parasitology*, 108(2), 147–152.
- Altay K, Aktaş M. (2013), *Tek Tırnaklılarda Görülen Hastalıklar, Babesiosis*. Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları, Özcel M A, Cilt:1, Bölüm:3, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No:24, Meta Basım ve Matbaacılık, İzmir, ISBN:978-605-84556-1.
- Ambawat, H. K., Malhotra, D. V., Kumar, S., & Dhar, S. (1999), Erythrocyte associated haemato-biochemical changes in *Babesia equi* infection experimentally produced in

- donkeys, *Veterinary Parasitology*, 85(4), 319–324.
- Asenzo, G., Wilkowsky, S., Barrandeguy, M., Mesplet, M., Benitez, D., & Florin-Christensen, M. (2008), Development of an indirect ELISA for the diagnosis of equine piroplasmosis, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1149 (1), 235–238.
- Ayala-Valdovinos, M. A., Lemus-Flores, C., Galindo-García, J., Bañuelos-Pineda, J., Rodríguez-Carpena, J. G., Sánchez-Chiprés, D., & Duifhuis-Rivera, T. (2017), Diagnosis and prevalence of *Theileria equi* horses in western Mexico by nested PCR, *Parasitology International*, 66(1), 821–824.
- Aydin, L., & Bakirci, S. (2007), Geographical distribution of ticks in Turkey, *Parasitology Research*, 101, 163-166.
- Aziz, K. J., & Al-Barwary, L. T. O. (2019), Epidemiological study of equine piroplasmosis (*Theileria equi* and *Babesia caballi*) by microscopic examination and competitive-ELISA in Erbil Province North-Iraq, *Iranian Journal of Parasitology*, 14(3), 404–412.
- Balkaya, İ. (2004), *Türkiye'nin farklı bölgelerinde atlarda Babesia equi (Laveran, 1901) ve Babesia caballi (Nuttall, 1910)'nin Yayılışının Mikroskopik ve Serolojik yöntemlerle Araştırılması*, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Balkaya, I., & Erdogmus, S. Z. (2006), Prevalence of *Babesia equi* and *Babesia caballi* in Horses by serological methods in the Mediterranean Sea and the Black Sea Regions of Turkey, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 5(2), 168–171.
- Banerjee, D. P., Singh, B., Gautam, O. P., & Sarup, S. (1977), Cell-mediated immune response in equine babesiosis, *Tropical Animal Health and Production*, 9(3), 153–158.
- Baptista, C., Lopes, M. S., Tavares, A. C., Rojer, H., Kappmeyer, L., Mendonça, D., & Da Câmara Machado, A. (2013), Diagnosis of *Theileria equi* infections in horses in the Azores using cELISA and nested PCR, *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 4(3), 242–245.
- Bartolomé Del Pino, L. E., Roberto, N., Veneziano, V., Francesca, I., Antonella, C., Luca, A. G., Francesco, B., & Teresa, S. M. (2016), *Babesia caballi* and *Theileria equi* infections in horses in Central-Southern Italy: Sero-molecular survey and associated risk factors, *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 7(3), 462–469.

- Bashiruddin, J. B., Cammà, C., & Rebêlo, E. (1999), Molecular detection of *Babesia equi* and *Babesia caballi* in horse blood by PCR amplification of part of the 16S rRNA gene, *Veterinary Parasitology*, 84(1–2), 75–83.
- Bastos, R. G., Suarez, C. E., Laughery, J. M., Johnson, W. C., Ueti, M. W., & Knowles, D. P. (2013), Differential Expression of Three Members of the Multidomain Adhesion CCp Family in *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* and *Theileria equi*, *PLoS One*, 8(7), e67765.
- Battsetseg, B., Lucero, S., Xuan, X., Claveria, F. G., Inoue, N., Alhassan, A., Kanno, T., Igarashi, I., Nagasawa, H., Mikami, T., & Fujisaki, K. (2002), Detection of natural infection of *Boophilus microplus* with *Babesia equi* and *Babesia caballi* in Brazilian horses using nested polymerase chain reaction, In *Veterinary Parasitology* (Vol. 107), 351-357.
- Baydar, E., Aydoğdu, U., Ütük, A. E., Kaya, F., Tümurkan, Ö., Erol, U., & Babür, C. (2022), Infectious diseases in rising riding-horse and donkey milk industry : First detection of *Neospora sp* . antibodies in donkeys in Turkey, Research Square, preprint.
- Bhoora, R., Franssen, L., Oosthuizen, M. C., Guthrie, A. J., Zwegarth, E., Penzhorn, B. L., Jongejan, F., & Collins, N. E. (2009), Sequence heterogeneity in the 18S rRNA gene within *Theileria equi* and *Babesia caballi* from horses in South Africa, *Veterinary Parasitology*, 159(2), 112–120.
- Bhoora, R., Quan, M., Franssen, L., Butler, C. M., Van der Kolk, J. H., Guthrie, A. J., Zwegarth, E., Jongejan, F., & Collins, N. E. (2010), Development and evaluation of real-time PCR assays for the quantitative detection of *Babesia caballi* and *Theileria equi* infections in horses from South Africa, *Veterinary Parasitology*, 168(3–4), 201–211.
- Bhoora, R., Quan, M., Matjila, P. T., Zwegarth, E., Guthrie, A. J., & Collins, N. E. (2010), Sequence heterogeneity in the equi merozoite antigen gene (ema-1) of *Theileria equi* and development of an ema-1-specific TaqMan MGBTM assay for the detection of *T. equi*, *Veterinary Parasitology*, 172(1–2), 33–45.
- Bhoora, R. V., Collins, N. E., Schnittger, L., Troskie, C., Marumo, R., Labuschagne, K., Smith, R. M., Dalton, D. L., & Mbizeni, S. (2020), Molecular genotyping and epidemiology of equine piroplasmids in South Africa, *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 11(2), 101358.

- Bhoora, R. V., Pienaar, R., Cornelius, F., Josemans, A., Matthee, O., Marumo, R., Troskie, C., & Mans, B. J. (2018), Multiplex hydrolysis-probe assay for the simultaneous detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in equids, *Veterinary Parasitology*, 255, 61–68.
- Boldbaatar, D., Xuan, X., Battsetseg, B., Igarashi, I., Battur, B., Batsukh, Z., Bayambaa, B., & Fujisaki, K. (2005), Epidemiological study of equine piroplasmosis in Mongolia, *Veterinary Parasitology*, 127 (1), 29-32.
- Bonfini, B., Semproni, G., & Savini, G. (2006), Use of an in vitro culture system to detect *Theileria equi* strains from infected equids and/or reservoirs, *Veterinaria Italiana*, 42 (3), 217-223.
- Böse, R. B., Jorgensen, W. K., Dalglish, R. J., & Friedhoff, K. T. (1995), Current state and future trends in the diagnosis of babesiosis, *Veterinary Parasitology*, 57, 61–74.
- Bowhill, T. (1905), Equine piroplasmosis, or “Biliary fever.”, *Journal of Hygiene*, 5(1), 7–17.
- Braga, M. do S. C. de O., Costa, F. N., Gomes, D. R. M., Xavier, D. R., André, M. R., Gonçalves, L. R., Freschi, C. R., & Machado, R. Z. (2017), Genetic diversity of piroplasmids species in equids from island of São Luís, northeastern Brazil, *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 26(3), 331–339.
- Butler, C. M., Oldruitenborgh-oosterbaan, M. M. S. Van, Stout, T. A. E., Kolk, J. H. Van Der, Wollenberg, L. Van Den, Nielen, M., Jongejan, F., Werners, A. H., & Houwers, D. J. (2012), Prevalence of the causative agents of equine piroplasmosis in the South West of The Netherlands and the identification of two autochthonous clinical *Theileria equi* infections, *The Veterinary Journal*, 193(2), 381–385.
- Camino, E., Buendia, A., Dorrego, A., Pozo, P., de Juan, L., Dominguez, L., & Cruz-Lopez, F. (2021), Sero-molecular survey and risk factors of equine piroplasmosis in horses in Spain, *Equine Veterinary Journal*, 53(4), 771–779.
- Camino, E., Luisa, M., Cruz, D., Dominguez, L., Alejandra, K., Fores, P., Juan, L. De, & Cruz-lopez, F. (2018), Epidemiological Situation of the Exposure to Agents Causing Equine Piroplasmosis in Spanish Purebred Horses in Spain : Seroprevalence and Associated Risk

- Factors, *Journal of Equine Veterinary Science*, 67, 81–86.
- Camino, E., Pozo, P., Dorrego, A., Carvajal, K. A., Buendia, A., Gonzalez, S., de Juan, L., Dominguez, L., & Cruz-Lopez, F. (2020), Importance of equine piroplasmosis antibody presence in Spanish horses prior to export, *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 11(2), 101329.
- Cant-Martínez, M. A., Segura-Correa, J. C., Silva-Pez, M. L., Avalos-Ramírez, R., & Wagner, G. G. (2012), Prevalence of Antibodies to *Theileria equi* and *Babesia caballi* in Horses from Northeastern Mexico, *Journal of Parasitology*, 98(4), 869–870.
- Ceylan, O., Benedicto, B., Ceylan, C., Tumwebaze, M., Galon, E. M., Liu, M., Xuan, X., & Sevinc, F. (2021), A survey on equine tick-borne diseases: The molecular detection of *Babesia ovis* DNA in Turkish racehorses, *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 12(5), 101784.
- Ceylan, O., Xuan, X., & Sevinc, F. (2021), Primary tick-borne protozoan and rickettsial infections of animals in Turkey, *Pathogens*, 10(2), 231.
- Chhabra, S., Ranjan, R., Uppal, S. K., & Singla, L. D. (2012), Transplacental transmission of *Babesia equi* (*Theileria equi*) from carrier mares to foals, *Journal of Parasitic Diseases*, 36(1), 31–33.
- Cingi, C. C., Utuk, A. E., Karafakioglu, Y. S., Balkaya, I., Piskin, F. C., & Fidan, A. F. (2012), Serum lipid and protein oxidation and antioxidant status in horses naturally infected with *Theileria equi*, *Revue de Medecine Veterinaire*, 163(4), 183–186.
- Coultous, R. M., Phipps, P., Dalley, C., Lewis, J., Hammond, T. A., Shiels, B. R., Weir, W., & Sutton, D. G. M. (2019), Equine piroplasmosis status in the UK: An assessment of laboratory diagnostic submissions and techniques, *Veterinary Record*, 184(3), 95.
- Criado-Fornelio, A., Martinez-Marcos, A., Buling-Saraña, A., & Barba-Carretero, J. C. (2003), Molecular studies on *Babesia*, *Theileria* and *Hepatozoon* in southern Europe: Part I. Epizootiological aspects, *Veterinary Parasitology*, 113(3–4), 189–201.
- Cunha, C. W., McGuire, T. C., Kappmeyer, L. S., Hines, S. A., Lopez, A. M., Dellagostin, O. A., & Knowles, D. P. (2006), Development of specific immunoglobulin G_a (IgG_a) and IgG_b antibodies correlates with control of parasitemia in *Babesia equi* infection, *Clinical and Vaccine Immunology*, 13(2), 297–300.

- Dahmana, H., Amanzougaghene, N., Davoust, B., Normand, T., Carette, O., Demoncheaux, J. P., Mulot, B., Fabrizio, B., Scandola, P., Chik, M., Fenollar, F., & Mediannikov, O. (2019), Great diversity of *Piroplasmida* in *Equidae* in Africa and Europe, including potential new species, *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 18, 100332.
- Davitkov, D., Vucicevic, M., Stevanovic, J., Krstic, V., Slijepcevic, D., Glavinic, U., & Stanimirovic, Z. (2016), Molecular detection and prevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses of central Balkan, *Acta Parasitologica*, 61(2), 337–342.
- Deniz, A., Pişkin, F. Ç., Balkaya, İ., Dündar, B., Karaer, Z., Çakmak, A., Vatansever, Z. & Nalbantoğlu S.(2008). Türkiye’de Atlarda Babesia Etkenlerinin Saptanmasında PCR Tekniğinin Uygulanması, T.C. Tarım Ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Hayvan Sağlığı Araştırmaları Program Değerlendirme Toplantısı, s 186-200, 25-28 Şubat 2008, Antalya.
- de Waal, D. T. (1992), Equine piroplasmosis: A review.,In *British Veterinary Journal*, 148, 6-13.
- Derinbay Ekici, Ö., Ceylan, O., Sönmez, G., Dik, B., Ceylan, C., & Semassel, A. (2020), Molecular detection and phylogenetic analysis of equine piroplasmosis of wild horses in Turkey, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 68, 275-281.
- Derinbay Ekici, Ö., Ceylan, O., Sönmez, G., Dik, B., Ceylan, C., & Semassel, A. (2021), Molecular detection and phylogenetic analysis of theileria equi and babesia caballi in wild horses in konya province of Turkey, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 68(3), 275–281.
- Dik, B., Ceylan, O., Ceylan, C., & Agah, M. (2020), Ectoparasites of feral horses [*Equus ferus caballus* (Linnaeus., 1758)] on Karadag˘ Mountain, Karaman, Turkey, *Journal of Parasitic Disease*, 44(3), 590–596.
- Dominguez, M., Münstermann, S., de Guindos, I., & Timoney, P. (2016),Equine disease events resulting from international horse movements: Systematic review and lessons learned, *Equine Veterinary Journal*, 48(5), 641–653.
- Donnelly, J., & Phipps, L. P. (1982), Evidence of maternal antibodies to *Babesia equi* and *B*

- caballi* in foals of seropositive mares, *Equine Veterinary Journal*, 14(2), 126–128.
- Ebrahimi, M., Adinehbeigi, K., Hamidinejat, T. & Tabandeh M.R. (2018), Molecular characterization of *Theileria equi* infection in horse populations belonging to West Azerbaijan, Iran: insights into the importance of Equine Merozoite Antigen (EMA)-1 in its diagnosis, *Annals of Parasitology*, 64(1), 21-27.
- El-Sayed, S. A. E. S., Rizk, M. A., Terkawi, M. A., Mousa, A., El Said, E. S. E. S., Elsayed, G., Fouda, M., Yokoyama, N., & Igarashi, I. (2015), Cocktail of *Theileria equi* antigens for detecting infection in equines, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(12), 977–981.
- Erdogmus, S. Z., & Balkaya, I. (2006), Investigation of prevalence of *Babesia equi* (Lavera, 1901) and *Babesia caballi* (Nuttall, 1910) in horses by Serological Methods in Elazığ and Malatya Province, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 20(1), 61–63.
- Erol, U., Pekkaya, S., Babür, C., Beyhan, Y. E., Kuzugüden, F., Balkaya, İ., Demir, P., & Ütük, A. E. (2022), Investigation of *Theileria equi*, *Babesia caballi*, *Neospora* spp. and *Toxoplasma gondii* by Serological Methods in Horse Breed for Touristic Purpose in Nevşehir Province, *Kocatepe Veterinary Journal*, 15(2), 161–166.
- FAO (Gıda ve Tarım Örgütü), *Livestock Patterns*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, (<http://www.fao.org/faostat/en/#data/EK>) Son erişim tarihi: 05/01/2021)
- Farkas, R., Tánčzos, B., Gyurkovszky, M., Földvári, G., Solymosi, N., Edelhofer, R., & Hornok, S. (2013), Serological and molecular detection of *Theileria equi* infection in horses in Hungary, *Veterinary Parasitology*, 192(1-3), 143-148.
- Friedhoff, K. T., Tenter, A. M., & Müller, I. (1990), Haemoparasites of equines: impact on international trade of horse, *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 9(4), 1187–1194.
- Gallusová, M., Qablan, M. A., D'Amico, G., Oborník, M., Petrželková, K. J., Mihalca, A. D., & Modrý, D. (2014), Piroplasms in feral and domestic equines in rural areas of the Danube Delta, Romania, with survey of dogs as a possible reservoir, *Veterinary Parasitology*, 206(3–4), 287–292.

- García-Bocanegra, I., Arenas-Montes, A., Hernández, E., Adaszek, Ł., Carbonero, A., Almería, S., Jaén-Téllez, J. A., Gutiérrez-Palomino, P., & Arenas, A. (2013), Seroprevalence and risk factors associated with *Babesia caballi* and *Theileria equi* infection in equids, *Veterinary Journal*, 195(2), 172–178.
- Goodwin, D. (2007), Horse Behaviour: Evolution, Domestication and Feralisation, *The Welfare of Horses*, 1–18.
- Gopalakrishnan, A., Maji, C., Dahiya, R. K., Suthar, A., Kumar, R., & Kumar, S. (2015), Oxidative Damage Inflicted by *Theileria equi* on Horse Erythrocytes When Cultured In Vitro by Microaerophilous Stationary Phase Technique, *Journal of Equine Veterinary Science*, 35(9), 763–767.
- Gotić, J., Šmit, I., Crnogaj, M., Brkljača Bottegaro, Grden, D., Mrljak, V., & Beck, R. (2018), Equine piroplasmiasis, *Veterinarska Stanica*, 52(1), 1–6.
- Grandi, G., Molinari, G., Tittarelli, M., Sasser, D., & Kramer, L. H. (2011), Prevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* Infection in Horses from Northern Italy, *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 11(7), 955–956.
- Graese, J. F., Ueti, M. W., Nelson, J. T., Knowles, D. P., Kappmeyer, L. S., & Bunn, T. O. (2013), Efficacy of imidocarb dipropionate in eliminating *Theileria equi* from experimentally infected horses, *Veterinary Journal*, 196(3), 541–546.
- Güçlü, H. Z., & Karaer, K. Z. (2007), Ankara Yöresinde Sportif ve Gösteri Amaçlı Yetiştirilen Atlarda *Babesia caballi* (Nuttall , 1910) ve *Theileria equi* Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Araştırılması, *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 31(2), 89–93.
- Güçlü, Z. (2005). *Ankara Yöresinde Sportif ve Gösteri Amaçlı Yetiştirilen Atlarda Babesia caballi (nuttall, 1910) ve Babesia equi (laveran, 1901)'nin Yayılışının Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Araştırılması*. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Guidi, E., Pradier, S., Lebert, I., & Leblond, A. (2015), Piroplasmiasis in an endemic area: analysis of the risk factors and their implications in the control of Theileriosis and Babesiosis in horses, *Parasitology Research*, 114, 71–83.

- Guimarães, A. M., Lima, J. D., Tafuri, W. L., Ribeiro, M. F. B., Sciavicco, C. J. S., & Botelho, A. C. C. (1997), Clinical and histopathological aspects of splenectomized foals infected by *Babesia equi*, *Journal of Equine Veterinary Science*, 17(4), 211–216.
- Güven, E., Avcioglu, H., Deniz, A., Balkaya, I., Abay, U., Yavuz, S., & Akyüz, M. (2017), Prevalence and molecular characterization of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in jereed horses in Erzurum, Turkey, *Acta Parasitologica*, 62(1), 207–213.
- Güven, V. (2015), Atın Türk Kültüründeki Yeri Ve Osmanlı Döneminde Kocaeli Özelinde Türk At Yetiştiriciliği, *Kocaeli Tarihi Sempozyumu Bildirisi*, 1823–1833.
- Hailat, N. Q., Lafi, S. Q., Al-Darraj, A. M., & Al-Ani, F. K. (1997), Equine babesiosis associated with strenuous exercise: Clinical and pathological studies in Jordan, *Veterinary Parasitology*, 69(1–2), 1–8.
- Hanafusa, Y., Cho, K. O., Kanemaru, T., Wada, R., Sugimoto, C., & Onuma, M. (1998), Pathogenesis of *Babesia caballi* Infection in Experimental Horses, *Journal of Veterinary Medical Science*, 60(10), 1127–1132.
- Hartmann, M., Howes, C. G., Abarenkov, K., Mohn, W. W., & Nilsson, R. H. (2010), V-Extractor: An open-source, high-throughput software tool to identify and extract hypervariable regions of small subunit (16S/18S) ribosomal RNA gene sequences, *Journal of Microbiological Methods*, 83(2), 250–253.
- Heim, A., Passos, L. M. F., Ribeiro, M. F. B., Costa, L. M., Bastos, C. V., Cabral, D. D., Hirzmann, J., & Pfister, K. (2007), Detection and molecular characterization of *Babesia caballi* and *Theileria equi* isolates from endemic areas of Brazil, *Parasitology Research*, 102(1), 63–68.
- Heuchert, C. M. S., Jr, V. de G., Athaide, D. F. de, Böse, R., & Friedhoff, K. T. (1999), Seroepidemiologic studies on *Babesia equi* and *Babesia caballi* infections in Brazil, *Veterinary Parasitology*, 85 (1), 1–11.
- Hikosaka, K., Watanabe, Y. I., Tsuji, N., Kita, K., Kishine, H., Arisue, N., ... & Tanabe, K. (2010), Divergence of the mitochondrial genome structure in the apicomplexan parasites, *Babesia* and *Theileria*, *Molecular biology and evolution*, 27(5), 1107–1116.

- Holman, P. J., Frerichs, W. M., Chieves, L., & Wagner, G. G. (1993), Culture confirmation of the carrier status of *Babesia caballi*-infected horses, *Journal of Clinical Microbiology*, 31(3), 698–701.
- Horohov, D.W., Dimock, A., Guirnalda, P., Folsom, R.W., McKeever, K.H., Malinowski, K., 1999, Effect of exercise on the immune response of young and old horses, *Am. J. Vet. Res.* 60, 643–647.
- Huang, X., Xuan, X., Yokoyama, N., Katayama, Y., Anzai, T., & Igarashi, I. (2006), Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays with recombinant antigens for the serodiagnosis of equine *Babesia* infections, *Veterinary Parasitology*, 140(1–2), 158–161.
- Ikadai, H., Nagai, A., Xuan, X., Igarashi, I., Kamio, T., Tsuji, N., Oyamada, T., Suzuki, N., & Fujisaki, K. (2002), Seroepidemiologic studies on *Babesia caballi* and *Babesia equi* infections in Japan, *Journal of Veterinary Medical Science*, 64(4), 325–328.
- Ikadai, H., Xuan, X., Igarashi, I., Tanaka, S., Kanemaru, T., Nagasawa, H., Fujisaki, K., & Suzuki, N. (1999), Cloning and Expression of a 48-Kilodalton *Babesia caballi* Merozoite Rhoptry Protein and Potential Use of the Recombinant Antigen in an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, *Journal of Clinical Microbiology*, 37(11), 3475–3480.
- Inokuma, H., Yoshizaki, Y., Shimada, Y., Sakata, Y., Okuda, M., & Onishi, T. (2003), Epidemiological survey of *Babesia* species in Japan performed with specimens from ticks collected from dogs and detection of new *Babesia* DNA closely related to *Babesia odocoilei* and *Babesia divergens* DNA, *Journal of Clinical Microbiology*, 41(8), 3494–3498.
- Insausti, K., Beldarrain, L. R., Lavín, M. P., Aldai, N., Mantecón, Á. R., Sáez, J. L., & Canals, R. M. (2021), Horse meat production in northern Spain: Ecosystem services and sustainability in High Nature Value farmland, *Animal Frontiers*, 11(2), 47–54.
- İnci, A., Düzlü, Ö., İça, A. (2010), *Babesidae*. Veteriner Protozooloji, In: Dumanlı N, Karaer Z (ed), Medisan Yayınevi, Ankara, ISBN: 978-975-7774-67-9, 183-206.
- İnci, A. (1997), Detection of *Babesia caballi* (Nuttall, 1901) and *Babesia equi* (Laveran, 1901) in horses by microscopic examination in military farm in Gemlik, *Turkish Journal of*

Veterinary and Animal Sciences, 21(1), 43–46.

İnci, A. (2002), Kayseri yöresinde tek tırnaklılarda *Babesia equi* (Laveran, 1901) ve *Babesia caballi* (Nuttall, 1910) yaygınlığının mikroskopik muayeneyle araştırılması, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 16, 85–88.

İstanbul Valiliği, <http://www.istanbul.gov.tr> Erişim tarihi: 01 Mayıs 2023

Jaffer, O., Abdishakur, F., Hakimuddin, F., Riya, A., Wernery, U., & Schuster, R. K. (2010), A comparative study of serological tests and PCR for the diagnosis of equine piroplasmiasis, *Parasitology Research*, 106(3), 709–713.

Jalovecka, M., Hajdusek, O., Sojka, D., Kopacek, P., & Malandrin, L. (2018), The complexity of piroplasms life cycles, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8, 248.

Kappmeyer, L. S., Perryman, L. E., Hines, S. A., Baszler, T. V., Katz, J. B., Hennager, S. G., & Knowles, D. P. (1999), Detection of Equine Antibodies to *Babesia caballi* by Recombinant *B. caballi* Rhoptry-Associated Protein 1 in a Competitive-Inhibition Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, *Journal of Clinical Microbiology*, 37(7), 2285–2290.

Karatepe, B., Karatepe, M., Çakmak, A., Karaer, Z., & Ergün, G. (2009), Investigation of seroprevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses in Nigde province, Turkey, *Tropical Animal Health and Production*, 41, 109–113.

Karcioğlu, U. (2017). Türk Kültüründe Atın önemi ve Ata Sporlarımızdan Atlı Cirit Oyunu. *Anasay*, 2, 167–198.

Kerber, C. E., Ferreira, F., & Pereira, M. G. (1999). Control of equine piroplasmiasis in Brazil. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 66, 123-127

Kızılaslan, F., Yıldırım, A., Düzlü, O., İnci, A., Önder, Z., & Çilolu, A. (2015), Molecular Detection and Characterization of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in Horses (*Equus ferus caballus*) in Turkey, *Journal of Equine Veterinary Science*, 35(10), 830–835.

Kızılaslan, F. (2012), *Bursa Karacabey Yöresinde Atlarda Theileria equi ve Babesia caballi' nin Real Time PCR ile Araştırılması ve Moleküler Karakterizasyonu*, Doktora

Tezi.Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

- Kim, C. M , Blanco, L. B. C., Alhassan, A., Iseki, H., Yokoyama, N., Xuan, X., & Igarashi, I. (2008), Diagnostic real-time PCR assay for the quantitative detection of *Theileria equi* from equine blood samples, *Veterinary Parasitology*, 151(2–4), 158–163.
- Kimura, M. (1980), A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences, *J Mol Evol*, 16:111-120.
- Knowles, D. P., Kappmeyer, L. S., & Perryman, L. E. (1994), Specific immune responses are required to control parasitemia in *Babesia equi* infection, *Infection and Immunity*, 62(5), 1909–1913.
- Knowles, Donald P., Kappmeyer, L. S., Haney, D., Herndon, D. R., Fry, L. M., Munro, J. B., Sears, K., Ueti, M. W., Wise, L. N., Silva, M., Schneider, D. A., Grause, J., White, S. N., Tretina, K., Bishop, R. P., Odongo, D. O., Pelzel-McCluskey, A. M., Scoles, G. A., Mealey, R. H., & Silva, J. C. (2018), Discovery of a novel species, *Theileria haneyi* n. sp., infective to equids, highlights exceptional genomic diversity within the genus *Theileria*: implications for apicomplexan parasite surveillance, *International Journal for Parasitology*, 48(9–10), 679–690.
- Knowles, Donald P, Kappmeyer, L. S., Stiller, D., Hennager, S. G., & Perryman, L. E. (1992), Antibody to a Recombinant Merozoite Protein Epitope Identifies Horses Infected with *Babesia equi*, *Journal of Clinical Microbiology*, 30(12), 3122–3126.
- Knowles, Donald P, Perryman, L. E., Lowell, S., & Hennager, S. G. (1991), Detection of Equine Antibody to *Babesia equi* Merozoite Proteins by a Monoclonal Antibody-Based Competitive Inhibition Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, *Journal of Clinical Microbiology*, 29(9), 2056–2058.
- Kouam, M. K., Kantzoura, V., Gajadhar, A. A., Theis, J. H., Papadopoulos, E., & Theodoropoulos, G. (2010), Seroprevalence of equine piroplasms and host-related factors associated with infection in Greece, *Veterinary Parasitology*, 169(3–4), 273–278.
- Kouam, M. K., Masuoka, P. M., Kantzoura, V., & Theodoropoulos, G. (2010), Geographic distribution modeling and spatial cluster analysis for equine piroplasms in Greece,

Infection, Genetics and Evolution, 10(7), 1013–1018.

- Kumar, S., Malhotra, D. V., & Dhar, S. (1997), Serodiagnosis of *Babesia equi* infection - A comparison of Dot-ELISA, complement fixation test and capillary tube agglutination test, *Veterinary Parasitology*, 69(3–4), 171–176.
- Kumar, S., Malhotra, D. V., Dhar, S., & Nichani, A. K. (2002), Vaccination of donkeys against *Babesia equi* using killed merozoite immunogen, *Veterinary Parasitology*, 106(1), 19–33.
- Kumar, S., Kumar, R., Gupta, A. K., Yadav, S. C., Goyal, S. K., Khurana, S. K., & Singh, R. K. (2013), Development of EMA-2 recombinant antigen based enzyme-linked immunosorbent assay for seroprevalence studies of *Theileria equi* infection in Indian equine population, *Veterinary Parasitology*, 198(1–2), 10–17.
- Kumar, S., Kumar, Y., Malhotra, D. V., Dhar, S., & Nichani, A. K. (2003), Standardisation and comparison of serial dilution and single dilution enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) using different antigenic preparations of the *Babesia (Theileria) equi* parasite, *Veterinary Research*, 34 (1), 71–83.
- Kumar, Y., Malhotra, D. V., Nichani, A. K., Kumar, A., Dhar, S., & Kumar, S. (2013), Immunokinetics of *theileria equi* specific antibodies: A comparison in serial and single dilution elisa antibody end titres, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 37(4), 429–433.
- Kurt, C., & Yaman, M. (2012), Adana Yöresi Atlarında *Babesia equi* ve *Babesia caballi*'nin Yayılışının Mikroskopik ve Serolojik (cELISA) Yöntemlerle Araştırılması, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(1), 1–4.
- Kurt, C. (2005), *Adana Yöresi Atlarında Babesia equi ve Babesia cabali' nin Yayılışının Mikroskopik ve Serolojik (elisa) Yöntemlerle Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi. Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Lack, J. B., Reichard, M. V., & Van Den Bussche, R. A. (2012), Phylogeny and evolution of the *Piroplasmida* as inferred from 18S rRNA sequences, *International Journal for Parasitology*, 42(4), 353–363.
- Lewis, M. J., Wagner, B., & Woof, J. M. (2008), The different effector function capabilities of

- the seven equine IgG subclasses have implications for vaccine strategies, *Molecular Immunology*, 45(3), 818–827.
- Li, J., Li, Y., Moumouni, P. F. A., Lee, S. H., Galon, E. M., Tumwebaze, M. A., Yang, H., Huercha, Liu, M., Guo, H., Gao, Y., Benedicto, B., Zhang, W., Fan, X., Chahan, B., & Xuan, X. (2020), First description of *Coxiella burnetii* and *Rickettsia spp.* infection and molecular detection of piroplasma co-infecting horses in Xinjiang Uygur Autonomous Region, China, *Parasitology International*, 76 , 102028.
- Mahmoud, M. S., Abu El-Ezz, N. T., Abdel-Shafy, S., Nassar, S. A., El Namaky, A. H., Khalil, W. K. B., Knowles, D., Kappmeyer, L., Silva, M. G., & Suarez, C. E. (2016), Assessment of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in equine populations in Egypt by molecular, serological and hematological approaches, *Parasites and Vectors*, 9(1), 1–10.
- Malekifard, F., Tavassoli, M., Yakhchali, M., & Darvishzadeh, R. (2014), Detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* using microscopic and molecular methods in horses in suburb of Urmia, Iran, *Veterinary Research Forum : An International Quarterly Journal*, 5(2), 129–133.
- Manna, G., Cersini, A., Nardini, R., Bartolomé Del Pino, L. E., Antognetti, V., Zini, M., Conti, R., Lorenzetti, R., Veneziano, V., Autorino, G. L., & Scicluna, M. T. (2018), Genetic diversity of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infecting horses of Central-Southern Italy and preliminary results of its correlation with clinical and serological status, *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 9(5), 1212–1220.
- Mans, B. J., Pienaar, R., & Latif, A. A. (2015), A review of *Theileria* diagnostics and epidemiology, *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 4(1), 104–118.
- Mealey, R. H., Kappmeyer, L. S., Ueti, M. W., Wagner, B., & Knowles, D. P. (2012), Protective effects of passively transferred merozoite-specific antibodies against *Theileria equi* in horses with severe combined immunodeficiency, *Clinical and Vaccine Immunology*, 19(1), 100–104.
- Mehlhorn, H., & Schein, E. (1984), The Piroplasm: Life Cycle and Sexual Stages, *Advanced in Parasitology*, 23, 37–103.

- Mehlhorn, H., & Schein, E. (1993), The piroplasms: “A long story in short” or “Robert Koch has seen it.”, *European Journal of Protistology*, 29 (3), 279–293.
- Mehlhorn, & Schein. (1998), Redescription of *Babesia equi* Laveran, 1901 as *Theileria equi* Mehlhorn, Schein 1998., *Parasitology Research*, 84(6), 467–475.
- Meteoroloji Genel Müdürlüğü, <https://www.mgm.gov.tr> Erişim tarihi: 01 Mayıs 2023
- Meyer, A., Todt, C., Mikkelsen, N. T., & Lieb, B. (2010), Fast evolving 18S rRNA sequences from Solenogastres (Mollusca) resist standard PCR amplification and give new insights into mollusk substitution rate heterogeneity, *BMC Evolutionary Biology*, 10, 1-2.
- Moltmann, U. G., Mehlhorn, H., Schein, E., Rehbein, G., Voigt, W. P., & Zwegarth, E. (1983), Fine Structure of *Babesia equi* Laveran , 1901 within Lymphocytes and Erythrocytes of Horses : An In vivo and In vitro Study, *The Journal of Parasitology*, 69(1), 111–120.
- Montes Cortés, M. G., Fernández-García, J. L., & Habela Martínez-Estéllez, M. (2019), A multinested PCR for detection of the equine piroplasmids *Babesia caballi* and *Theileria equi*, *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 10(2), 305–313.
- Montes Cortés, Maria Guadalupe, Fernández-García, J. L., & Martínez-Estéllez, M. Á. H. (2017), Seroprevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses in Spain, *Parasite*, 24, 14.
- Moretti, A., Mangili, V., Salvatori, R., Maresca, C., Scoccia, E., Torina, A., Moretta, I., Gabrielli, S., Tampieri, M. P., & Pietrobelli, M. (2010), Prevalence and diagnosis of *Babesia* and *Theileria* infections in horses in Italy: A preliminary study, *Veterinary Journal*, 184(3), 346–350.
- Mostafavi, E., Esmaeilnejad, B., & Meysam Abtahi Foroushani, S. (2020), Evaluation of cytokines and sialic acids contents in horses naturally infected with *Theileria equi*. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 70, 101453.
- Munkhjargal, T., Sivakumar, T., Battsetseg, B., Nyamjargal, T., Aboulaila, M., Purevtseren, B., Bayarsaikhan, D., Byambaa, B., Terkawi, M. A., Yokoyama, N., & Igarashi, I. (2013), Prevalence and genetic diversity of equine piroplasms in Tov province, Mongolia, *Infection, Genetics and Evolution*, 16, 178–185.

- Myagmarsuren, P., Sivakumar, T., Enkhtaivan, B., Davaasuren, B., Zoljargal, M., Narantsatsral, S., Davkharbayar, B., Mungun-Ochir, B., Battur, B., Inoue, N., Igarashi, I., Battsetseg, B., & Yokoyama, N. (2019), A Seroepidemiological Survey of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in Horses in Mongolia, *The Journal of Parasitology*, 105(4), 580–586.
- Nadal, C., Bonnet, S. I., & Marsot, M. (2021), Eco-epidemiology of equine piroplasmosis and its associated tick vectors in Europe: A systematic literature review and a meta-analysis of prevalence, *Transboundary and Emerging Diseases*, 69 (5), 2474-2498.
- Nicolaiewsky, T. B., Richter, M. F., Lunge, V. R., Cunha, C. W., Delagostin, O., Ikuta, N., Fonseca, A. S., Da Silva, S. S., & Ozaki, L. S. (2001), Detection of *Babesia equi* (Laveran, 1901) by nested polymerase chain reaction, *Veterinary Parasitology*, 101(1), 9–21.
- Nuttall, F., & Strickland, C. (1912), On the occurrence of two species of parasites in equine “piroplasmosis” or “biliary fever.”, *Parasitology*, 5(1), 65–96.
- O’Sullivan, M. V. N., Zhou, F., Sintchenko, V., Kong, F., & Gilbert, G. L. (2011), Multiplex PCR and reverse line blot hybridization assay (mPCR/RLB), *Journal of Visualized Experiments*, 54, e2781.
- Ogunremi, O., Halbert, G., Mainar-Jaime, R., Benjamin, J., Pfister, K., Lopez-Rebollar, L., & Georgiadis, M. P. (2008), Accuracy of an indirect fluorescent-antibody test and of a complement-fixation test for the diagnosis of *Babesia caballi* in field samples from horses, *Preventive Veterinary Medicine*, 83(1), 41–51.
- Oğuz, B., Özdal, N., Değer, M., & Biçek, K. (2020), Molecular Investigation and Genotyping of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in Horses in Mus Province, Turkey, *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 71(4), 2531–2538.
- OİE. (2018). EQUINE PİROPLASMOSİS. In *OİE Terrestrial Manual 2018: Vol. Chapter 3*. (sayfa 1310–1319).
- Öncel, T., Vural, G., Gıcık, Y., & Arslan, M. Ö. (2007), Detection of *Babesia (Theileria) equi* (Laveran, 1901) in horses in the Kars province of Turkey, *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 31(3), 170–172.

- Onyiche, T. E., Suganuma, K., Igarashi, I., Yokoyama, N., Xuan, X., & Thekisoe, O. (2019), A review on equine piroplasmosis: Epidemiology, vector ecology, risk factors, host immunity, diagnosis and control, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(10), 1736.
- Özübek, S., & Aktaş, M. (2018), Genetic diversity and prevalence of piroplasm species in equids from Turkey, *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 59, 47–51.
- Peckle, M., Pires, M. S., Dos Santos, T. M., Roier, E. C. R., Da Silva, C. B., Vilela, J. A. R., Santos, H. A., & Massard, C. L. (2013), Molecular epidemiology of *Theileria equi* in horses and their association with possible tick vectors in the state of Rio de Janeiro, Brazil, *Parasitology Research*, 112, 2017–2025.
- Pelzel-McCluskey, A. M., & Josie L., T.-D. (2015), Equine Piroplasmosis. In *Robinson's Current Therapy in Equine Medicine* (Seventh Ed). Elsevier Inc.
- Posada-Guzmán, M. F., Dolz, G., Romero-Zúñiga, J. J., & Jiménez-Rocha, A. E. (2015), Detection of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in Blood from Equines from Four Indigenous Communities in Costa Rica, *Veterinary Medicine International*, 236278.
- Qablan, M. A., Oborník, M., Petrželková, K. J., Sloboda, M., Shudiefat, M. F., Hořín, P., Lukeš, J., & Modrý, D. (2013), Infections by *Babesia caballi* and *Theileria equi* in Jordanian equids: Epidemiology and genetic diversity, *Parasitology*, 140(9), 1096–1103.
- Rampersad, J., Cesar, E., Campbell, M. D., Samlal, M., & Ammons, D. (2003), A field evaluation of PCR for the routine detection of *Babesia equi* in horses, *Veterinary Parasitology*, 114(2), 81–87.
- Rapoport, A., Aharonson-Raz, K., Berlin, D., Tal, S., Gottlieb, Y., Klement, E., & Steinman, A. (2014), Molecular characterization of the *Babesia caballi* rap-1 gene and epidemiological survey in horses in Israel, *Infection, Genetics and Evolution*, 23, 115–120.
- Rashid, H. Bin, Chaudhry, M., Rashid, H., Pervez, K., Khan, M. A., & Mahmood, A. K. (2008), Comparative efficacy of diminazene diaceturate and diminazene aceturate for the

- treatment of babesiosis in horses, *Tropical Animal Health and Production*, 40, 463–467.
- Rhalem, A., Sahibi, H., Lasri, S., Johnson, W. C., Kappmeyer, L. S., Hamidouch, A., Knowles, D. P., & Goff, W. L. (2001), Validation of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosing *Babesia equi* infections of Moroccan origin and its use in determining the seroprevalence of *B. equi* in Morocco, *J Vet Diagn Invest*, 13, 249–251.
- Ribeiro, A. J., Cardoso, L., Maia, J. M., Coutinho, T., & Cotovio, M. (2013), Prevalence of *Theileria equi*, *Babesia caballi*, and *Anaplasma phagocytophilum* in horses from the north of Portugal, *Parasitology Research*, 112(7), 2611–2617.
- Rosales, R., Rangel-Rivas, A., Escalona, A., Jordan, L. S., Gonzatti, M. I., Aso, P. M., Perrone, T., Silva-Iturriza, A., & Mijares, A. (2013), Detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in Venezuelan horses using Competitive-Inhibition ELISA and PCR, *Veterinary Parasitology*, 196(1–2), 37–43.
- Rothschild, C. M. (2013), Equine piroplasmiasis, *Journal of Equine Veterinary Science*, 33(7), 497–508.
- Rüegg, S. R., Heinzmann, D., Barbour, A. D., & Torgerson, P. R. (2008), Estimation of the transmission dynamics of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses, *Parasitology*, 135(5), 555–565.
- Salim, B., Bakheit, M. A., Kamau, J., Nakamura, I., & Sugimoto, C. (2010), Nucleotide sequence heterogeneity in the small subunit ribosomal RNA gene within *Theileria equi* from horses in Sudan, *Parasitology Research*, 106, 493–498.
- Salim, B. O. M., Hassan, S. M., Bakheit, M. A., Alhassan, A., Igarashi, I., Karanis, P., & Abdelrahman, M. B. (2008), Diagnosis of *Babesia caballi* and *Theileria equi* infections in horses in Sudan using ELISA and PCR, *Parasitology Research*, 103(5), 1145–1150.
- Salinas-Estrella, E., Ueti, M. W., Lobanov, V. A., Castillo-Payró, E., Lizcano-Mata, A., Badilla, C., Martínez-Ibáñez, F., & Mosqueda, J. (2022), Serological and molecular detection of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in Mexico: A prospective study, *Plos One*, 17(3), e0264998.
- Santos, A. C., Nogueira, C. E. W., dos Santos Suñe Moraes, B., Müller, V., Mousquer, M. A.,

- & Leite, F. P. L. (2021), Immune response of adult horses, pregnant mares and foals to an experimental vaccine with recombinant EMA-2 protein of *Theileria equi*, *Research in Veterinary Science*, 139, 186–192.
- Sarı, B., Kırmızıgül, A. H., Deniz, A., & Taşçı, G. T. (2010), Seroprevalance of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in Horses from Kars and Ardahan Provinces During the Winter Season, *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 16(4), 657–661.
- Schein E (1988), Equine babesiosis, In: Ristic M (ed) Babesiosis of domestic animals and man. CRC, Boca Raton, Florida, sayfa 197-208.
- Schein, E., Rehbein, G., Voigt, W. P., & Zweygarth, E. (1981), *Babesia equi* (Laveran 1901) 1. Development in horses and in lymphocyte culture, *Tropenmedizin Und Parasitologie*, 32(4), 223–227.
- Schnittger, L., Ganzinelli, S., Bhoora, R., Omondi, D., & Nijhof, A. M. (2022). The Piroplasmida *Babesia*, *Cytauxzoon*, and *Theileria* in farm and companion animals : species compilation, molecular phylogeny, and evolutionary insights, *Parasitology Research*, 121 (5), 1207-1245.
- Schnittger, L., Rodriguez, A. E., Florin-Christensen, M., & Morrison, D. A. (2012), *Babesia*: A world emerging, *Infection, Genetics and Evolution*, 12(8), 1788–1809.
- Schwint, O. N., Knowles, D. P., Ueti, M. W., Kappmeyer, L. S., & Scoles, G. A. (2008), Transmission of *Babesia caballi* by *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) is restricted to one generation in the absence of alimentary reinfection on a susceptible equine host, *Journal of Medical Entomology*, 45(6), 1152–1155.
- Schwint, O. N., Ueti, M. W., Palmer, G. H., Kappmeyer, L. S., Hines, M. T., Cordes, R. T., Knowles, D. P., & Scoles, G. A. (2009), Imidocarb dipropionate clears persistent *Babesia caballi* infection with elimination of transmission potential, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(10), 4327–4332.
- Scoles, G. A., & Ueti, Ma. W. (2015), Vector ecology of equine piroplasmosis, In *Annual Review of Entomology*, 60, 561–580).
- Selim, A., & Khater, H. (2020), Seroprevalence and risk factors associated with Equine

- piroplasmosis in North Egypt, *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 73, 101549.
- Sevinc, F., Maden, M., Kumas, C., Sevinc, M., & Ekici, O. D. (2008), A comparative study on the prevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in horse sub-populations in Turkey, *Veterinary Parasitology*, 156(3–4), 173–177.
- Sgorbini, M., Bonelli, F., Nardoni, S., Rocchigiani, G., Corazza, M., & Mancianti, F. (2015), Seroprevalence and Molecular Analysis of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in Horses From Central Italy During a 10-Year Period, *Journal of Equine Veterinary Science*, 35(10), 865–868.
- Shkap, V., Cohen, I., Leibovitz, B., Pipano, E., Avni, G., Shofer, S., Giger, U., Kappmeyer, L., & Knowles, D. (1998), Seroprevalence of *Babesia equi* among horses in Israel using competitive inhibition ELISA and IFA assays, *Veterinary Parasitology*, 76, 251–259.
- Shoemaker, L., & Clauset, A. (2014), Body mass evolution and diversification within horses (family Equidae), *Ecology Letters*, 17(2), 211–220.
- Short, M. a., Clark, C. K., Harvey, J. W., Wenzlow, N., Hawkins, I. K., Allred, D. R., Knowles, D. P., Corn, J. L., Grause, J. F., Hennager, S. G., Kitchen, D. L., & Traub-Dargatz, J. L. (2012), Outbreak of equine piroplasmosis in Florida, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 240(5), 588–595.
- Sigg, L., Gerber, V., Gottstein, B., Doherr, M. G., & Frey, C. F. (2010), Seroprevalence of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in the Swiss horse population, *Parasitology International*, 59(3), 313–317.
- Sray, A. H. K., Al-Shabbani, A. H. A., & Gharban, H. A. J. (2019), Serological and Molecular Estimation of *Theileria Equi* Infections in Horses of Baghdad, Al-Qadisiyah, and Wasit Provinces / Iraq, *The Journal of Research on the Lepidoptera*, 50(4), 391–404.
- Steinman, A., Zimmerman, T., Klement, E., Lensky, I. M., Berlin, D., Gottlieb, Y., & Baneth, G. (2012), Demographic and environmental risk factors for infection by *Theileria equi* in 590 horses in Israel, *Veterinary Parasitology*, 187(3–4), 558–562.
- Sudan, V., Jaiswal, A. K., Srivastava, A., Saxena, A., & Shanker, D. (2015), A rare clinical

presentation of transplacental transmission and subsequent abortion by *Babesia (Theileria) equi* in a mare, *Journal of Parasitic Diseases*, 39(2), 336–338.

Sumbria, D., & Singla, L. Das. (2015), Recent Diagnostic and control approaches in Equine piroplasmiasis Recent Diagnostic and control approaches in Equine piroplasmiasis, *Veterinaria*, 2(1), 1–6.

Sumbria, D., Singla, L. Das, & Sharma, A. (2016), *Theileria equi* and *Babesia caballi* infection of equids in Punjab, India: a serological and molecular survey, *Tropical Animal Health and Production*, 48(1), 45–52.

Şahan F. (11 Aralık 2020), *Safkan arap atında dünya birincisiyiz*. Yenişafak. <https://www.yenisafak.com/hayat/safkan-arap-atinda-dunya-birincisiyiz-3589022>. [Ziyaret tarihi: 23 Mart 2023]

Tamura, K., Stecher, G., Kumar, S. (2021). MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*

Tamzali, Y. (2013), Equine piroplasmiasis: An updated review, In *Equine Veterinary Education*, 25(11), 590–598.

Tegin, R. A. A., Gonulalan, Z., & Deidiev, A. (2020), Lactic Acid Bacteria Diversity of Koumiss Samples, *Bozok Vet Sci*, 1(2), 1–6.

Türkiye Tarım İşletmeleri Müdürlüğü, *Atçılık*. Türkiye Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü (TİGEM). <https://www.tigem.gov.tr/Sayfalar/Detay/4bfd30cb-e2a7-414d-9c40-f5589082e578>. Son Erişim Tarihi: 23/03/2023

Tirosh-Levy, S., Gottlieb, Y., Fry, L. M., Knowles, D. P., & Steinman, A. (2020), Twenty years of equine piroplasmiasis research: Global distribution, molecular diagnosis, and phylogeny, *Pathogens*, 9(11), 926.

Tirosh-Levy, S., Mazuz, M. L., Savitsky, I., Pinkas, D., Gottlieb, Y., & Steinman, A. (2021), Serological and molecular prevalence of *Babesia caballi* in apparently healthy horses in Israel, *Pathogens*, 10(4), 445.

Tirosh-Levy, S., Steinman, A., Levy, H., Katz, Y., Shtilman, M., & Gottlieb, Y. (2020), Parasite

load and genotype are associated with clinical outcome of piroplasm-infected equines in Israel, *Parasites and Vectors*, 13(1), 267.

TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu), Aralık 2020. Hayvansal Üretim İstatistikleri, Aralık 2020(Düzeltilmiş), (<https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Hayvansal-Uretim-Istatistikleri-Aralik-2020-37207>) Son Erişim Tarihi: 27/08/21)

Ueti, M. W., Mealey, R. H., Kappmeyer, L. S., White, S. N., Kumpula-McWhirter, N., Pelzel, A. M., Grause, J. F., Bunn, T. O., Schwartz, A., Traub-Dargatz, J. L., Hendrickson, A., Espy, B., Guthrie, A. J., Fowler, W. K., & Knowles, D. P. (2012), Re-Emergence of the Apicomplexan *Theileria equi* in the United States: Elimination of Persistent Infection and Transmission Risk, *Plos One*, 7(9), e44713.

Ueti, M. W., Palmer, G. H., Kappmeyer, L. S., Scoles, G. A., & Knowles, D. P. (2003), Expression of Equi Merozoite Antigen 2 during Development of *Babesia equi* in the Midgut and Salivary Gland of the Vector Tick *Boophilus microplus*., *Journal of Clinical Microbiology*, 41(12), 5803–5809.

Ueti, M. W., Palmer, G. H., Kappmeyer, L. S., Statfield, M., Scoles, G. A., & Knowles, D. P. (2005), Ability of the vector tick *Boophilus microplus* to acquire and transmit *Babesia equi* following feeding on chronically infected horses with low-level parasitemia, *Journal of Clinical Microbiology*, 43(8), 3755–3759.

Ueti, M. W., Palmer, G. H., Scoles, G. A., Kappmeyer, L. S., & Knowles, D. P. (2008), Persistently infected horses are reservoirs for intrastadial tick-borne transmission of the apicomplexan parasite *Babesia equi*, *Infection and Immunity*, 76(8), 3525–3529.

Unutulmaz F, Atalay Ş. (15 Ağustos 2021), *Safkan Arap atından 18 milyon 866 bin TL gelir.DHA.* <https://www.dha.com.tr/ekonomi/171-safkan-arap-atindan-18-milyon-866-bin-tl-gelir-1842881> [Ziyaret tarihi: 23 Mart 2023].

USDA-APHIS. (2010), A Literature Review of Equine Piroplasmosis. *Animal and Plant Health Inspection Service*.

https://www.aphis.usda.gov/animal_health/animal_diseases/piroplasmosis/downloads/ep_literature_review_september_2010.pdf

- Vianna, A. M., Santos, A. C., Cunha, R. C., de Souza Stori de Lara, A. P., Weege, G. B., & Leivas Leite, F. P. (2019), Antigenicity assessment of the *Theileria equi* merozoite antigen (EMA-2) expressed in *Pichia pastoris* in mice and horses, *Experimental Parasitology*, 206, 107757.
- Yabsley, M. J., & Shock, B. C. (2013), Natural history of zoonotic *Babesia*: role of wildlife reservoirs, *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 2, 18-31.
- Wang, J., Liu, J., Yang, J., Wang, X., Li, Z., Jianlin, X., Li, X., Xiang, Q., Li, Y., Liu, Z., Luo, J., Guan, G., & Yin, H. (2019), The first molecular detection and genetic diversity of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in horses of Gansu province, China, *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 10(3), 528–532.
- Wang, M., Guo, W., Igarashi, I., Xuan, X., Wang, X., Xiang, W., & Jia, H. (2014), Epidemiological investigation of equine piroplasmosis in China by enzyme-linked immunosorbent assays, *The Journal of Veterinary Medical Science*, 76, 549–552.
- Weiland, G. (1986), Species-Specific Serodiagnosis of Equine *Pirolasma* Infections by Means of Complement Fixation Test (CFT) Immunofluorescence (IIF), and Enzym-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), *Veterinary Parasitology*, 20, 43–48.
- Wise, L. N., Kappmeyer, L. S., Mealey, R. H., & Knowles, D. P. (2013), Review of equine piroplasmosis, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27, 1334–1346.
- Wise, L. N., Kappmeyer, L. S., Silva, M. G., White, S. N., Grause, J. F., & Knowles, D. P. (2018), Verification of post-chemotherapeutic clearance of *Theileria equi* through concordance of nested PCR and immunoblot, *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 9(2), 135–140.
- Wise, L. N., Pelzel-McCluskey, A. M., Mealey, R. H., & Knowles, D. P. (2014). Equine piroplasmosis. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 30(3), 677–693.
- Xuan, X., Larsen, A., Ikadai, H., Tanaka, T., Igarashi, I., Nagasawa, H., Fujisaki, K., Toyoda, Y., Suzuki, N., & Mikami, T. (2001), Expression of *Babesia equi* merozoite antigen 1 in insect cells by recombinant baculovirus and evaluation of its diagnostic potential in an enzyme-linked immunosorbent assay, *Journal of Clinical Microbiology*, 39(2), 705-709.

- Zanet, S., Bassano, M., Trisciuglio, A., Taricco, I., & Ferroglia, E. (2017), Horses infected by Piroplasms different from *Babesia caballi* and *Theileria equi*: species identification and risk factors analysis in Italy, *Veterinary Parasitology*, 236, 38–41.
- Zapf, F., & Schein, E. (1994a), New findings in the development of *Babesia (Theileria) equi* (Laveran, 1901) in the salivary glands of the vector ticks, *Hyalomma* species, *Parasitology Research*, 80, 543–548.
- Zapf, F., & Schein, E. (1994b), The development of *Babesia (Theileria) equi* (Laveran, 1901) in the gut and the haemolymph of the vector ticks, *Hyalomma* species, *Parasitology Research*, 80, 297–302.
- Zobba, R., Ardu, M., Niccolini, S., Chessa, B., Manna, L., Cocco, R., & Pinna Parpaglia, M. L. (2008), Clinical and Laboratory Findings in Equine Piroplasmosis, *Journal of Equine Veterinary Science*, 28(5), 301–308.
- Zweygarth, E., Ahmed, J. S., Rehbein, G., & Voigt, W. P. (1983), Cell-mediated immune response to *Babesia equi*-transformed lymphoblastoid cells in vitro, *Zentralblatt Fur Bakteriologie Mikrobiologie Und Hygiene - Abt. 1 Orig. A*, 254(2), 281–289.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

İSTANBUL'DAKİ ATLARDA THEİLERİA EQUİ ve BABESİA CABALLİ'NİN YAYILIŞI VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

ORJİNALLIK RAPORU

%**9**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**7**

İNTERNET KAYNAKLARI

%**3**

YAYINLAR

%**2**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

%**3**

2

Submitted to The Scientific & Technological
Research Council of Turkey (TUBITAK)

Öğrenci Ödevi

%**1**

3

openaccess.firat.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

4

www.tarimorman.gov.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

5

YILMAZ, Yunus, ÜSTEBAY, Sefer, ÜSTEBAY
ÜLKER, Döndü and TEZGÜN TEKKANAT, Zuhâl.
"Kars ili ve çevresinde 0-18 yaş arası
çocuklarda Hepatit A seropozitifliği", Dicle
Üniversitesi, 2015.

Yayın

<%**1**

6

toad.halileksi.net

İnternet Kaynağı

<%**1**

7

aile.gov.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**