



T.C.
NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

NİĞDE YÖRESİ KEÇİLERİNDE *NEOSPORA CANINUM*'UN SEROPREVALANSI

MUSTAFA CAYVAZ

Ağustos 2010

T.C.
NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

NİĞDE YÖRESİ KEÇİLERİNDE *NEOSPORA CANINUM*'UN SEROPREVALANSI

MUSTAFA CAYVAZ

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Doç. Dr. Mustafa KARATEPE

Ağustos 2010

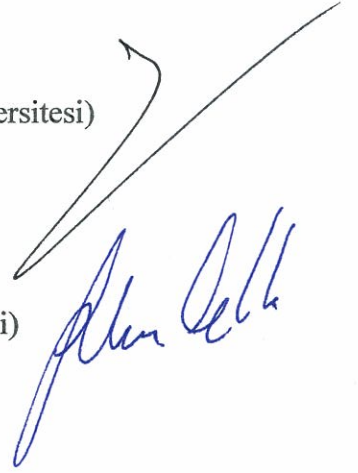
Doç. Dr. Mustafa KARATEPE danışmanlığında **Mustafa CAYVAZ** tarafından hazırlanan “**Niğde Yöresi Keçilerinde *Neospora caninum*’un Seroprevalansı**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji** Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Aydın TOPÇU (Niğde Üniversitesi)



Üye : Doç. Dr. Mustafa KARATEPE (Danışman, Niğde Üniversitesi)

Üye : Doç. Dr. Gökçen YUVALI ÇELİK (Erciyes Üniversitesi)



ONAY:

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

......./...../2010

Doç. Dr. Nurettin ACIR

Enstitü Müdürü

ÖZET

NİĞDE YÖRESİ KEÇİLERİNDE *NEOSPORA CANINUM*'UN SEROPREVALANSI

CAYVAZ, Mustafa

Niğde Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Mustafa KARATEPE

Ağustos 2010, 44 sayfa

Bu çalışma, Şubat 2010-Mayıs 2010 tarihleri arasında Niğde ilinde bulunan keçilerde *Neospora caninum*'un seroprevalansının araştırılması amacı ile yapılmıştır. Çalışmanın materyali olarak Niğde ilinde 8 farklı çalışma merkezine ait (Bahçeli, Merkez Tepeköy, Bor, Çamardı Celaller Köyü, Kızılca, Çukurkuyu, Ulukışla, ve Çamardı Merkez) 1 yaş ve üzeri toplam 181 dişi keçi belirlenmiş ve bu keçilerin serumlarında *N. caninum* antikorları ELISA testi ile araştırılmıştır. Niğde yöresinde ELISA testi ile incelenen toplam 181 keçinin 47 (%25.9)'sinin *N. caninum* antikorları yönünden seropozitif olduğu tespit edilmiştir. Serolojik incelemede, en fazla seropozitiflik %42.3 oranı ile 5 yaşındaki keçilerde tespit edilirken en az seropozitiflik oranı ise %13.8 ile 3 yaşındaki keçilerde belirlenmiştir. Abort yapan 16 keçinin 6 (%37.5)'sı, abort yapmayan 165 keçinin 41 (%24.8)'i seropozitif olarak tespit edilmiştir. Ayrıca çalışma merkezleri arasında en yüksek seropozitiflik %54.5 oranı ile Çamardı'da belirlenmiş, buna karşılık Bahçeli ve Kızılca'da ise muayene edilen keçilerde seropozitiflik saptanmamıştır. Elde edilen seropozitiflik oranlarında; keçilerin yaş grupları ve çalışma merkezlerinin istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$, $P<0.01$) olduğu, abort yapan ve yapmayan keçiler arasında ise önemsiz olduğu saptanmıştır ($P>0.05$). Sonuç olarak, Niğde yöresinde keçilerde *N. caninum*'un varlığı ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuş ve abort olaylarında neosporosisin de dikkate alınması gerektiği kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler : *Neospora caninum*, keçi, Niğde, seroprevalans

SUMMARY

SEROPREVALENCE OF NEOSPORAS CANINUM IN GOATS IN NIĞDE PROVINCE

CAYVAZ, Mustafa

Nigde University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Mustafa KARATEPE

August 2010, 44 pages

This study was performed to investigate seroprevalence of *Neospora caninum* in goats in Niğde province between February 2010-May 2010. A total of 181 goats which were one year old or more than one year old, were selected from eight different study sites (Bahçeli, Merkez Tepeköy, Bor, Çamardı Celaller Köyü, Kızılca, Çukurkuyu, Ulukışla, ve Çamardı Merkez) as the study sample and *N. caninum* antibodies were tested in these goats serum using ELISA. The 47 out of 181 sera (25.9%) were found to be seropositive for *N. caninum*. In the serologic examinations, the seropositivity rate was highest in 5 years old (42.3%) while it was lowest in 3 years old (13.8%) in goats. The 6 (37.5%) out of 16 aborted goats and 41 (24.8%) out of 165 non-aborted were detected as seropositive. The highest seropositivity rate of study sites was determined in Çamardı as 54.5% in addition to this, none of examined goats in Bahçeli and Kızılca detected seropositivity. The difference between the seropositivity rates to *N. caninum* among age groups and study sites was statistically significant ($P<0.05$, $P<0.01$) while the difference to *N. caninum* among aborted and non-aborted goats was statistically insignificant ($P>0.05$). As a result, this is the first serologic survey for *N. caninum* performed on goats in Niğde province and neosporosis should be taken into consideration in abortion cases.

Keywords: *Neospora caninum*, goat, Niğde, seroprevalence

ÖNSÖZ

Bu çalışma, değerli danışmanım Doç. Dr. Mustafa KARATEPE' nin sağladığı teknik ve doküman yardımları ile Niğde yöresinde belirlenen 8 farklı çalışma merkezinde bulunan keçilerden alınan kan örneklerinde yürütülmüştür. Çalışma için Niğde Üniversitesi Bor Meslek Yüksekokulunun laboratuvar olanaklarından yararlanılmıştır. Niğde yöresinde halk elinde yetiştirilen toplam 181 dişi keçiden elde edilen kan serumlarının ELISA testi ile serolojik olarak incelenmesiyle keçilerde *Neospora caninum* antikorlarının varlığı araştırılmıştır. Bu araştırma keçilerde *Neospora caninum* antikorlarının belirlenmesi ve keçilerin neosporosisden korunmasının sağlanması açısından büyük önem taşımaktadır.

Bu projenin yürütülmesi konusunda katkılarından dolayı Niğde Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederiz.

TEŞEKKÜR

Çalıőmamda bana yol gösteren, maddi manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Danışmanım Sayın Hocam Doç. Dr. Mustafa KARATEPE'ye sonsuz teőekkürlerimi sunarım. Ayrıca laboratuvar çalıőması ve literatür sağlanması aőamalarında desteğini gördüğüm Doç. Dr. Bilge KARATEPE'ye ve çalıőmamın istatistiksel analizlerinin yapılmasında yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Ayhan CEYHAN'a, çok teşekkür ederim.

Eęitimim ve öğretim hayatım boyunca her zaman yanımda olan, sıkıntılı anlarımda bana yol gösteren çok kıymetli babam Eyüp CAYVAZ'a, annem Hanife CAYVAZ'a ve kardeőim Yusuf CAYVAZ'a teőekkürü bir borç bilirim.

Bunun yanında çalıőmam esnasında bana yardımcı olan Yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarım İsa BAŐKÖSE'ye, Hıdır AKINCI'ya, Zafer AYDINLIK'a, Emel ÇOLAK' a ve Serkan GÜLER' e çok teşekkür eder, akademik hayatlarında başarılar dilerim.

Her zaman yanımda bulunan, çalıőmalarımda ve hayatta en büyük destekçim olan ve hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan sevgili niőanlım Büőra ELİBOL'a sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET	iii
SUMMARY	iv
ÖNSÖZ	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ÇİZELLER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
FOTOĞRAF VB.MALZEMELER DİZİNİ	xi
KISALTMA VE SİMGELER	xii
BÖLÜM I. GİRİŞ	1
BÖLÜM II. GENEL BİLGİLER	2
2.1. <i>Neospora caninum</i> 'un Tarihçesi	2
2.2 <i>Neospora caninum</i> 'un Sınıflandırılması	2
2.3 <i>Neospora caninum</i> 'un Morfolojisi	3
2.4 <i>Neospora caninum</i> 'un Biyolojisi	3
2.5 <i>Neospora caninum</i> 'un Epidemiyolojisi	4
2.6 Türkiye'de Keçilerde <i>Neospora caninum</i>	4
2.7 Dünya'da Keçilerde <i>Neospora caninum</i>	5
2.8 Keçilerde <i>Neospora caninum</i> 'un Klinik Belirtileri ve Patogenzi.....	6
2.9 Keçilerde <i>Neospora caninum</i> 'un Teşhisi	6
2.9.1 Işık mikroskobu ve elektron mikroskobu ile teşhis	6
2.9.2 Histopatolojik ve immunohistokimyasal teşhis	7
2.9.3 Serolojik teşhis	7
2.9.4 Kültür ile teşhis	7
2.9.5 Moleküler teşhis	8
2.10 Bağışıklık	8

2.11 Koruma ve Kontrol	9
2.12 Tedavi	10
2.13 Neosporosis'in Ekonomik Önemi	10
BÖLÜM III. MATERYAL METOT	11
3.1. Çalışma Merkezlerinin Seçimi	11
3.2 Saha Çalışmaları	12
3.3 Laboratuvar Çalışmaları	12
3.3.1. Enzyme Linked Immunosorbent Assay Testi (ELISA)	13
3.3.1.1. Serumların konulması	13
3.3.1.2. Yıkama	14
3.3.1.3. Konjugat	15
3.3.1.4. Yıkama	15
3.3.1.5. Substrat ve stop solüsyonların konulması	15
3.3.1.6. Okuma ve sonuçların hesaplanması	16
3.4. İstatistiksel Değerlendirmeler	17
BÖLÜM IV. BULGULAR	18
BÖLÜM V. TARTIŞMA VE SONUÇ	23
KAYNAKLAR	27

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1	Yaş gruplarına göre keçilerde ELISA testi ile <i>Neospora caninum</i> 'un seropozitifliği.....	18
Çizelge 4.2	Çalışma merkezlerine göre <i>Neospora caninum</i> 'un seropozitifliği.....	19
Çizelge 4.3	<i>Neospora caninum</i> 'un yaşa göre abortlu hayvanlardaki seropozitifliği...	21
Çizelge 4.4	Abort yapan ve yapmayan keçilerdeki seropozitiflik durumu.....	22

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1	Kan örneği alınan çalışma merkezleri	11
Şekil 4.1	Niğde yöresinde keçilerden elde edilen kan örneklerinin yaş gruplarına göre <i>Neospora caninum</i> antikorumları yönünden pozitiflik oranları	19
Şekil 4.2	Niğde yöresinde muayene edilen keçilerin çalışma merkezleri açısından <i>Neospora caninum</i> antikorumlarının seropozitiflik oranları	20
Şekil 4.3	Niğde yöresinde keçilerden elde edilen kan örneklerinin çalışma merkezlerine göre <i>Neospora caninum</i> antikorumları yönünden pozitiflik oranları	21

FOTOĞRAF VB. MALZEMELER DİZİNİ

Fotoğraf 3.1	Keçi serumlarının mikrotüpler içinde muhafaza edilmesi	12
Fotoğraf 3.2	ELISA testinde kullanılan solüsyon ve malzemeler	13
Fotoğraf 3.3	ELISA testinde kullanılan plate	14
Fotoğraf 3.4	Plate'lerde yıkama işlemi	15
Fotoğraf 3.5	ELISA mikroplate okuyucusu	16

KISALTMA VE SİMGELER DİZİNİ

KISALTMA/SİMGE

TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
PCR	Polymerase Chain Reaction
µm	Mikrometre
PAS	Periodic Acid Schiff
°C	Derece Celsius
HE	Hematoksilen Eozin
IFAT	İndirekt Floresan Antikor Testi
NAT	<i>Neospora caninum</i> Agglunitasyon Testi
DNA	Deoksiribonükleik Asit
%	Yüzde
Rpm	Revolution Per Minute
ml	Mililitre
VMRD	Veterinary Medical Research and Development
OD	Optikal Yoğunluk
SPSS	Statistical Programme for Social Science
IC	Immunocomb

BÖLÜM I

GİRİŞ

Keçi dünyanın özellikle tropik ve subtropik birçok bölgesinde yetiştirilen süt, et, deri, kıl, yapağı ve gübresinden yararlanılan bir hayvandır. Keçi etinin koyun ve sığır etine göre daha az yağlı ve kolesterolünün düşük olduğu bilinmektedir. Ayrıca keçi sütü, besleyici olması yanında alerji, astım ve çeşitli sindirim sistemi hastalıklarının tedavisinde de kullanılmaktadır [1].

TÜİK verilerine göre Türkiye’de 5.128.285 adet keçi bulunmaktadır. Bu keçilerin yaklaşık %97’sini kıl keçileri oluşturmakta ve yaygın olarak orman içi ve kenarında yetiştirilmektedirler. Tiftik keçileri ise keçi varlığının yaklaşık %3’ünü oluşturmaktadır. Ayrıca Türkiye’de kıl ve tiftik keçilerinin yanında az sayıda olmakla birlikte Malta, Kilis, Saanen ve melezleri de yetiştirilmektedir. Niğde ilinde ise 103.975 baş keçi bulunmaktadır [2].

Keçilerde toxoplasmosis, coccidiosis, babesiosis, theileriosis, sarcosporidiosis, cryptosporidiosis gibi çeşitli protozoon hastalıkları görülmekte ve bunlar keçi yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyerek ekonomik kayıplara yol açmaktadır [3]. Bunların yanında yakın zamanda belirlenen, *Neospora caninum*’un oluşturduğu klinik neosporosisin varlığı da Türkiye’de ortaya konulmuştur. Enfeksiyonun yol açtığı en büyük sorunun abortlar olduğu bildirilmiştir [4].

Enfeksiyonda abortla bağlantılı direk ekonomik kayıpların dışında, enfekte hayvanların tedavi giderleri, et ve süt verimi kaybı ile abort yapmış keçilerin elden çıkarılması gibi bazı indirekt kayıplar da önem taşımaktadır [5].

Bu çalışma, Niğde yöresinde yetiştirilen keçilerde *Neospora caninum*’un seroprevalansının ELISA testi ile saptanması amacı ile yapılmıştır.

BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

2.1 *Neospora caninum*'un Tarihçesi

İlk defa 1984 yılında Norveç'te yeni doğmuş köpeklerde morfolojik olarak *Toxoplasma gondii*'ye benzerlik gösteren fakat ondan farklı olan bir protozoona rastlanmış, fakat tanımlanamamıştır [6,7]. Daha sonra 1988 yılında Dubey ve arkadaşları tarafından Amerika'da izole edilerek *Neospora caninum* olarak adlandırılmış ve 1995 yılında Avrupa'da da izole edilmiştir [6]. Sonraki yıllarda bu protozoona kemirici hayvanlar ve ruminantlar gibi arakonakçılarda rastlanmış, son konakçısının köpek olduğu ise 1998 yılında anlaşılabilmiştir [8].

Amerika'da çeşitli araştırmalar için muhafaza edilen köpek dokularında yapılan analizlere göre etkenin 1957 yılından beri var olduğu fakat *T. gondii*'ye benzerliğinden dolayı teşhis edilemediği ve bu yüzden uzun yıllar gözden kaçtığı saptanmıştır [9].

2.2 *Neospora caninum*'un Sınıflandırılması

Neospora caninum aşağıdaki şekilde sınıflandırılmıştır [10].

Alem	: Protista
Alt Alem	: Protozoa
Kök	: Apicomplexa
Sınıf	: Sporozoea
Sınıf Altı	: Coccidia
Dizi	: Eucoccida
Aile	: Eimeriidae
Soy	: Neospora
Tür	: <i>Neospora caninum</i>

2.3 *Neospora caninum*'un Morfolojisi

Neospora caninum'un yaşam döngüsünde takizoitler, doku kistleri içerisindeki bradizoitler ve ookistler içerisinde bulunan sporozoitler olmak üzere 3 enfektif safha bulunmaktadır. Takizoit ve bradizoitler enfekte ara ve son konakların dokularında bulunurken sporozoitler son konakların dışkıları ile çıkardıkları ookistlerde bulunur [5,11].

Takizoitler 2x6µm büyüklüğünde hızlı çoğalan form olup konaklarının çeşitli organ ve doku hücrelerini (sinir hücreleri, damar endotel hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, myositler, böbrek tubulus epitelyum hücreleri, hepatositler) endodyogeni ile çoğalarak enfekte edebilir. Hücre içerisinde parazitofor vakuolde bulunanlar kabaca muz şeklinde, hücre dışında serbest olanlar ise kısmen yuvarlağa yakın şekildedir [5,11].

Bradizoitler ise parazitin yavaş çoğalan formudur ve ikiye bölünerek özellikle sinir dokusunda (beyin, omurilik, sinirler ve retina) kist oluşturur. Doku kistleri, içerisindeki bradizoit sayısına bağlı olarak yaklaşık 100µm büyüklüğe ulaşabilir ve duvar kalınlığı 4µm kadar olup bölmelere ayrılmamıştır. Bradizoitler 7-8x2 µm büyüklüğündedir [5,11].

Neospora caninum ookistleri yaklaşık 10-12 µm büyüklükte olup yuvarlak veya yuvarlağa yakın şekildedir ve köpek dışkıları ile sporlanmamış olarak dışarı atılır. Sporlandıktan sonra her ookist 2 sporokist ve bunların her biride 6.5x2 µm büyüklükte 4 sporozoit içerir [5,12-15].

2.4 *Neospora caninum*'un Biyolojisi

Neospora caninum, *Toxoplasma gondii*'ye benzerlik gösteren zorunlu hücre içi bir protozoondur. Parazit heteroksen bir gelişmeye sahiptir. Son konağı köpekler olup sığır, koyun, keçi, geyik ve at gibi ara konaklar köpeklerin dışkıları ile çıkardıkları ookistlerle bulaşık yem ve sularla enfekte olurken köpekler bu ara konak hayvanların doku kisti içeren enfekte etleri ile ve aynı zamanda kendi dışkıları ile çıkardıkları ookistlerle enfekte olurlar [5,8,11,13,14,16,17].

Enfekte köpeklerde bulunan ookistler sporlanmamış bir şekilde dışkı ile dış ortama atılır. Dış ortamda 3 gün içinde sporlanan ookistler at, sığır, koyun, keçi fare, tavşan gibi arakonakçılar tarafından alındıklarında endodyogeni yoluyla çoğalırlar. Takizoitler arakonakçıların makrofaj, sinir hücresi, kas hücresi, damar endotel hücreleri ve hepatositlerine yerleşir. Bradizoitler ise retinayı da içine alan merkezi sinir sisteminde doku kistleri içinde bulunur [5,9,18].

2.5 *Neospora caninum*'un Epidemiyolojisi

Seroepidemiolojik çalışmalara göre *Neospora caninum*'un ookistlerinin doğaya atılmasında son konak köpeklerin rolü büyüktür. Köpeklerin dışkılarıyla atılan ookistler ara konakların besinlerini ve sularını kontamine ederek arakonakçılara bulaşır. Köpekler de abort olmuş hayvanları, plasenta artıklarını ve enfekte arakonakların çığ etlerini yiyerek enfekte olurlar. Abortlara sebep olan ookistlerin köpeklerin dışkısıyla atılmasını engelleyecek bir aşı bulunamamıştır [5,11,18,19].

Neosporosis sporlanmış ookistlerle bulaşık yem ve suların ağız yoluyla alınmasıyla arakonakçılara bulaşır. Arakonakçıları tek ve çift tırnaklı hayvanlar ile kemirgenlerdir. Köpek, sığır, koyun, keçi, at ve geyiklerde doğal enfeksiyonlara rastlanmıştır. Fare, rat, tavşan, koyun, keçi, sığır, domuz, kedi, köpek, tilki ve gerbiller deneysel olarak enfekte edilebilmişlerdir. Bu tür bulaşmanın yanı sıra transplasental bulaşmada görülür. Seropozitif anneden onun fötüsüne vertikal taşınma neosporosisin epidemiyolojisinde büyük rol oynar. Deneysel olarak enfeksiyon; transplasental, intraperitoneal, intramuskuler, subkutan, intravenöz ve oral yollarla nakledilebilmiştir [5,11,19,20].

2.6 Türkiye'de Keçilerde *Neospora caninum*

Türkiye'de köpeklerde ve sığırlarda *N. caninum*'un seroprevalansını saptamak için yapılmış çalışmalar bulunmaktadır [4,21-29]. Fakat keçiler üzerinde yapılmış tek bir çalışma bulunmaktadır [30]. Şanlıurfa yöresinde yapılmış olan bu çalışmada 85 kıl keçisinin 4'ü, 95 Halep keçisini ise 5 tanesi seropozitif olarak saptanmıştır [30].

2.7 Dünya’da Keçilerde *Neospora caninum*

Neosporosis; Orta Doğu, Belçika, Kanada, Danimarka, Kosta Rika, İngiltere, Fransa, Finlandiya, Almanya, Macaristan, Norveç, Hollanda, İsveç, İsviçre, A.B.D, Güney Afrika ve Avustralya’da görülmüştür [14,31].

Dünyada, sığırlarda *Neospora caninum* üzerinde yapılmış çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen, keçilerde yapılan çalışmalar daha azdır. Amerika’da keçiler üzerinde yapılan araştırmaya göre yeni doğan keçilerdeki ölü doğumlar *N. caninum* ile ilişkilendirilmiştir [32]. Kostarika’da yapılan araştırmaya göre 77 keçiden 5 tanesinde *N. caninum* antikoruna bulunduğu ve sürülerdeki abortların *N. caninum*’dan kaynaklanabileceği bildirilmiştir [33]. Brezilya’da keçi yavrularında *N. caninum* varlığı saptanmış ve granulomatoz ensefalitis yaptığı belirlenmiştir [34]. Yapılan araştırmalar *N. caninum*’la enfekte edilen yavru keçilerin enfeksiyona karşı oldukça duyarlı olduğunu göstermektedir [19]. Tayvan’da 24 keçi üzerinde yapılan bir araştırmaya göre keçilerin kanında *N. caninum* antikoruna rastlanmamıştır [35]. Brezilya’nın Sao Paulo şehrinde yapılan çalışmada 394 keçiden 25 (%6.4) tanesi seropozitif bulunmuştur [36]. Sri Lanka’ daki 486 keçinin kan serumları IFAT, ELISA ve Western blot ile araştırılmış, sadece 3 (%0.7) tanesinde seropozitifliğe rastlanmıştır [37]. Brezilya’ da IFAT ile yapılan bir başka çalışmada 306 keçiden 10 tanesi seropozitif bulunmuştur [38]. Aynı yıl içerisinde Brezilya’da IFAT ile incelenen 384 keçiden 58 (%15) tanesi seropozitif olarak belirlenmiştir [39]. Yine Brezilya’ da PCR ile 102 keçi üzerinde yapılan çalışmada 2 adet (%1.96) seropozitiflik kaydedilmiştir [40]. Arjantin’ de 1594 keçi üzerinde IFAT ile yapılan çalışmada 106 keçi (%6.6) seropozitif olarak bulunmuştur [41]. İtalya’da abort olmuş keçilerin beyin ve kalp dokusunun PCR ile yapılan incelemeleri sonucunda parazitik yapılara beyinde cerebral kortekste rastlanmış fakat kalp dokusunda rastlanamamıştır [42]. Jordan’da ELISA testi ile 302 keçinin 2’sinde seropozitiflik bulunmuştur [43].

2.8 Keçilerde *Neospora caninum*'un Klinik Belirtileri ve Patogenezi

Neospora caninum'un keçilerdeki klinik belirtileri; dişilerde abort ve ölü doğumlar, neonatal oğlaklarda ensefalitis, doğum ağırlığının azalması, meningeslerde ve medulla spinaliste yangı ve ataksi'dir. Keçi fütüslerinde otoliz ve mumifikasyon, plasentitis, diyafram, karaciğer ve akciğerlerde yangı dikkati çeker [11,15,44].

Enfekte olmuş arakonağın beyinde bulunan ankiste kistler, gebe hayvanların karşılaşacağı hormonal değişiklikler, stres ve diğer olumsuz etkenler karşısında bağışıklık sisteminin zayıflaması sonucu aktif hale geçebilmektedir. Bu durumda kist içerisindeki bradizoitler bölünerek kan dolaşımına geçebilirler. Bu da anne karnındaki fötusun transplasental yolla enfekte olmasına, bunun sonucunda da ya aborta ya da konjenital enfekte yavru doğumuna sebebiyet verir [45].

2.9 Keçilerde *Neospora caninum*'un Teşhisi

Neosporosis'in kesin tanısını koymak oldukça zordur. Teşhis için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden bazıları aşağıda belirtildiği gibidir [11,45].

2.9.1 Işık mikroskobu ve elektron mikroskobu ile teşhis

Işık mikroskobu ile yapılan teşhiste; kemik iliği, beyin-omurilik sıvısı ve ateşli olgulardan kan alınarak sürme preparatlar hazırlanır. Preparatlar takizoitleri görmek için Giemsa ve Wright boyaları ile, doku kistlerini görmek için de PAS (Periodic Acid Schiff) ve Wright-Giemsa boyaları ile boyanmaktadır. Muayene edilecek materyal biyopsi yapılmış ise alınmış doku kesitleri hematoksilin-eozin ile boyanır. Eğer alınan materyal sıvı ise 2000 devirde 20 dakika santrifuj edilir ve elde edilen çökeltiden preparat hazırlanıp aynı boyama yöntemleriyle boyanarak ışık mikroskobu ile incelenir. Elektron mikroskobu ile yapılan teşhiste ise *N. caninum* ile *T. gondii*'nin kist yapısı ve kistlerin bulunduğu dokular arasındaki farklılıklardan yararlanır. *Toxoplasma gondii*'nin kistleri ince duvarlı olup beyin, iskelet ve kalp kasını tercih ettikleri halde *Neospora caninum* kistleri *T. gondii* kistlerine göre kalındır (0,5 µm'den kalın) ve merkezi sinir sistemini daha çok tercih eder [9,46].

2.9.2 Histopatolojik ve immunohistokimyasal teşhis

Neosporosis'in kesin teşhisinde fötusun histolojik muayenesinin yapılması gerekmektedir. Teşhis için beyin, kalp, karaciğer, plasenta, vücut sıvıları kullanılmaktadır. Ancak kesit alınan dokuların irinsiz ve otolize olmaması gerekir. Fötal beyin enfeksiyondan en çok etkilenen organ olduğu için en uygun materyaldir. Histolojik muayenelerde beyin dokusu %10'luk buffered nötral formalin solüsyonunda tespit edilmeli ve HE (Hematoksilen eosin) ile boyalı kesitler hazırlanmalıdır. Abortların çoğu muhtemelen otoliz olduğundan *N. caninum*'u immunohistokimyasal olarak ortaya çıkarmak abortun teşhisi için en iyi kanıttır. Beyin dokusu parçalarında avidin-biotin immunohistokimyasal tekniği kullanılarak bradizoit ve doku kistlerinin varlığını ortaya konulmalıdır. Bu tekniğin ayırıcı teşhiste oldukça spesifik olduğu belirtilmektedir [5,47].

2.9.3 Serolojik teşhis

Keçilerde neosporosisin klinik belirtileri teşhis için yeterli olmadığından çeşitli serolojik testlerle (ELISA, IFAT, IC, NAT ve Western blot gibi) *Neospora caninum*'un seroprevalansı ortaya konulmuştur [11,37,48-50]. ELISA testi daha hızlı sonuç vermesi sebebiyle özellikle çok sayıda hayvanın serolojik analizinin yapılmasında daha fazla tercih edilmektedir [37,51,52].

Bu testlerde doku kültüründen hazırlanan *N. caninum* takizoitleri antijen olarak kullanılırlar. Fareler üzerinde yapılan çalışmada *N. caninum* ile *T. gondii* arasında antijenik farklılık bulunduğu ve bu iki protozoon arasında çapraz reaksiyonun meydana gelmediği saptanmıştır [9,45,51-53].

2.9.4 Kültür ile teşhis

Neosporosisin teşhisinde kültür yapmanın pek fazla değeri yoktur. *Neospora caninum* kistlerinin, in vivo olarak deney hayvanlarından elde edilen takizoitlerin veya beyin omurilik sıvısından sağlanan materyalin doku kültürlerinde üretilmesiyle teşhis

yapılabilir. Bunun yanısıra elde edilecek takizoitler farklı çalışmalar için olanak sağlarlar [11,45].

2.9.5 Moleküler teşhis

Son yıllarda serolojik teşhis yöntemlerinin yanısıra PCR gibi moleküler yöntemler de kullanılmaya başlanmıştır [11,40,42,43].

Bu yöntemde *N. caninum*'un DNA'sı, PCR ile ortaya konmaktadır [5,11,45].

2.10 Bağışıklık

Hayvanlar gebe kalmadan önce *N. caninum* ile doğal olarak enfekte olursa, bu hayvanlarda aborta ve fötusun konjenital enfeksiyonuna karşı bir bağışıklık gelişebilir. Gebelikten önce *N. caninum* takizoitleri ile aşılansmış farelerde *N. caninum*'un transplasental taşınması bloke edilmiştir. Sonra yapılan fare challenge'leri ile elde edilen etkenlerle deneysel olarak enfekte edilen gebe arakonakta *N. caninum*'un konjenital transferine karşı bir bağışıklık oluşturduğu görülmüştür [54].

Neopora caninum enfeksiyonunda fötal enfeksiyon ve aborta karşı her zaman bir immünite oluşması beklenmez. Pozitif hayvanların bazılarında abort meydana gelirken diğerlerinde neden abort görülmediği anlaşılamamıştır. Maternal ve fötal bağışıklık sistemi muhtemelen birbirleriyle ilişkilidir. Enfeksiyonun fetusun oluşumunun hangi döneminde görüldüğü önemlidir. Gebeliğin başlangıcından 17 haftalık olana kadar geçen sürede yavruların bağışıklık sistemi gelişir. Sağlıklı gebe bir hayvana hamileliğin 10. haftasında deneysel olarak *N. caninum* enfekte edildiğinde abort görülmektedir. Ancak hamileliğin 13. haftasında *N. caninum* enfekte edildiğinde yavrunun sağlıklı ancak konjenital olarak enfekte doğduğu belirlenmiştir [55]. Bağışıklık sistemine sahip olmayan fötuslarda takizoitler hızlı bir şekilde gelişir ve enfeksiyon baskın hale gelir. Bunun sonucunda yavru ölü doğar. Bağışıklık sistemi oluşmuş fötuslarda ise takizoitlerin artışı yavaş olur ve takizoitler merkezi sinir sisteminde ve beyinde ankiste kist olarak kalırlar. Sonuç olarak yavru sağ fakat konjenital enfekte olarak doğar. Eğer hamilelik esnasında bağışıklık mekanizması, stres, beslememe ya da hastalık yüzünden

zayıflarsa bradizoitler çok hızlı bir şekilde çoğalır ve kan dolaşımına geçebilmektedir. Bu da fötusun transplasental enfeksiyonuna, sonuçta ya konjenital enfekte yavru doğumuna ya da aborta sebep olur [45]. Bazı araştırma sonuçlarına göre hayvanlar *N. caninum* ile önceden enfekte olarak hamile kalabilirler. Bu hayvanlar bu parazite karşı sağlam bir bağışıklık sistemi oluşturarak abortu engelleyebilirler [54,55]. Bazı hayvanların seropozitif oldukları halde düşük yapmamaları da bu şekilde açıklanmaktadır [45].

2.11 Koruma ve Kontrol

Keçi yetiştiriciliğinde köpeklerin varlığı neosporosis için bir risk faktörüdür. Bu sebeple neosporosisden korunmada keçi yem ve sularının köpek dışkısı ile kontaminasyonu önlenmelidir. Bu amaçla son konak köpekler ağıl ve yemliklerden uzak tutulmalıdır [17,44].

Enfeksiyondan korunmak için gebe hayvanın bağışıklık sistemini zayıflatacak durumlardan sakınılmalıdır. Enfeksiyonun bulaşmasını önlemek için ölü fötüs, plasenta ve uterus artıkları karnivorlara yedirilmemelidir. Bunun yanı sıra doğal enfeksiyonların görüldüğü hayvanların çiğ etleri köpeklere verilmemelidir [11,45].

Kontrol için bir sürünün abort problemi araştırıldığında, abort yapmış hayvanların yanı sıra sürüdeki abort yapmayan hayvanlardan da kan örneklerinin toplanması tavsiye edilmektedir. Eğer abort yapanlarda, abort yapmayanlardakinden daha yüksek bir *N. caninum* antikor titresini elde edilirse, abort probleminin nedeninin muhtemelen *Neospora* olabileceği bildirilmektedir. Her iki grupta da seropozitiflik benzer ise *Neospora*'dan başka diğer nedenler de göz önünde tutulmalıdır. Eğer bir sürüde neosporosis düşük bir seviyede yaygınlık gösteriyorsa seropozitif hayvanlar ve bu hayvanların yavruları sürüden ayrılabilirler. Enfekte hayvan bulunan fakat sağlıklı bir sürüde, sürüden ayrılacak hayvanların belirlenmesinde ve hastalığın yıl içerisindeki sıklığına göre *N. caninum*'un seropozitifliği de dikkate alınabilir [45].

2.12 Tedavi

Hücre kültürlerinde üretilen *Neospora*'lara karşı insan ve hayvanlarda protozoonların tedavisinde kullanılan ilaçlar kullanılmış fakat enfekte hayvanlara fazla yararı olmadığı görülmüştür. Buna karşın enfeksiyonun erken teşhis edilebildiği vakalarda Clindamycin ile Sülfonamid/Trimethoprim kombinasyonlarının klinik belirtileri azalttığı, fakat oluşan lezyonlar geri dönüşümsüz olması sebebi ile tam anlamıyla tedavi edilemediği belirtilmektedir. Amerika ve Kanada'da 2001 yılında *N. caninum* aşısı üretildiği bildirilmiş, bu aşının enfekte ineklere uygulanması durumunda abort ihtimalini azalttığı ve konjenital enfekte buzağı doğumu engellediği saptanmıştır [45].

2.13 Neosporosis'in Ekonomik Önemi

Dünya genelinde hayvanlarda *Neospora caninum*'un meydana getirdiği neosporosis; başta abort olmak üzere, zayıf veya ölü doğum ve ensefalitise neden olarak büyük ekonomik kayıplara yol açan önemli bir hastalıktır. Enfeksiyonda abortla bağlantılı direk ekonomik kayıpların dışında, enfekte hayvanların tedavi giderleri, muhtemel süt kaybı ve abort yapmış hayvanların elden çıkarılarak yerlerine yenilerinin yetiştirilmesi gibi bazı indirekt kayıplar da önem arz etmektedir [47,56].

Dünyadaki sığırların yaklaşık % 42'sinin neosporosisden dolayı abort yaptığı düşünülmektedir. Yapılan taramalarda, sığırlarda neosporosisden kaynaklanan ekonomik kayıpların milyonlarca dolar olduğu ifade edilmektedir. Neosporosisin keçilerde de benzer ekonomik kayıplara sebep olabileceği belirtilmektedir [47,56,57].

BÖLÜM III

MATERYAL ve METOT

3.1 Çalışma Merkezlerinin Seçimi

Bu çalışma, Şubat 2010-Mayıs 2010 tarihleri arasında Niğde ilinde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Niğde ilinde halk tarafından yetiştirilen ve rastgele seçilen 1 yaş ve üzerindeki keçiler belirlenmiştir. Çalışmanın materyalini Niğde ilinde 8 farklı bölgeden (Bahçeli, Merkez Tepeköy, Bor, Çamardı Celaller Köyü, Kızılcıca, Çukurkuyu, Ulukışla, ve Çamardı Merkez) elde edilen toplam 181 adet dişi keçi oluşturmuştur (Şekil 3.1). Keçilerden abort yapmış olanlar belirlenerek kayıt altına alınmıştır.



Şekil 3.1 Kan örneği alınan çalışma merkezleri

3.2 Saha Çalışmaları

Keçilerin bulunduğu çalışma merkezlerine çalışma süresince her ay gidilmiş ve 1-5 yaş arasında bulunan yaklaşık 40 keçinin vena jugularisinden steril vakumlu tüplere 10 ml kan alınmıştır. Alınan bu kan örneklerine protokol numaraları verilmiş ve laboratuvara getirilmiştir. Ayrıca kanları alınan keçilerin çevresinde köpek varlığı araştırılmıştır.

3.3 Laboratuvar Çalışmaları

Keçilerden alınan kan örnekleri 3000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilerek serumlar elde edilmiş ve her bir hayvana ait serum 1.5 ml’lik mikrotüplere konularak ELISA testi ile serolojik incelemeler yapılncaya kadar -20°C’lik derin dondurucuda muhafaza edilmiştir (Fotoğraf 3.1).

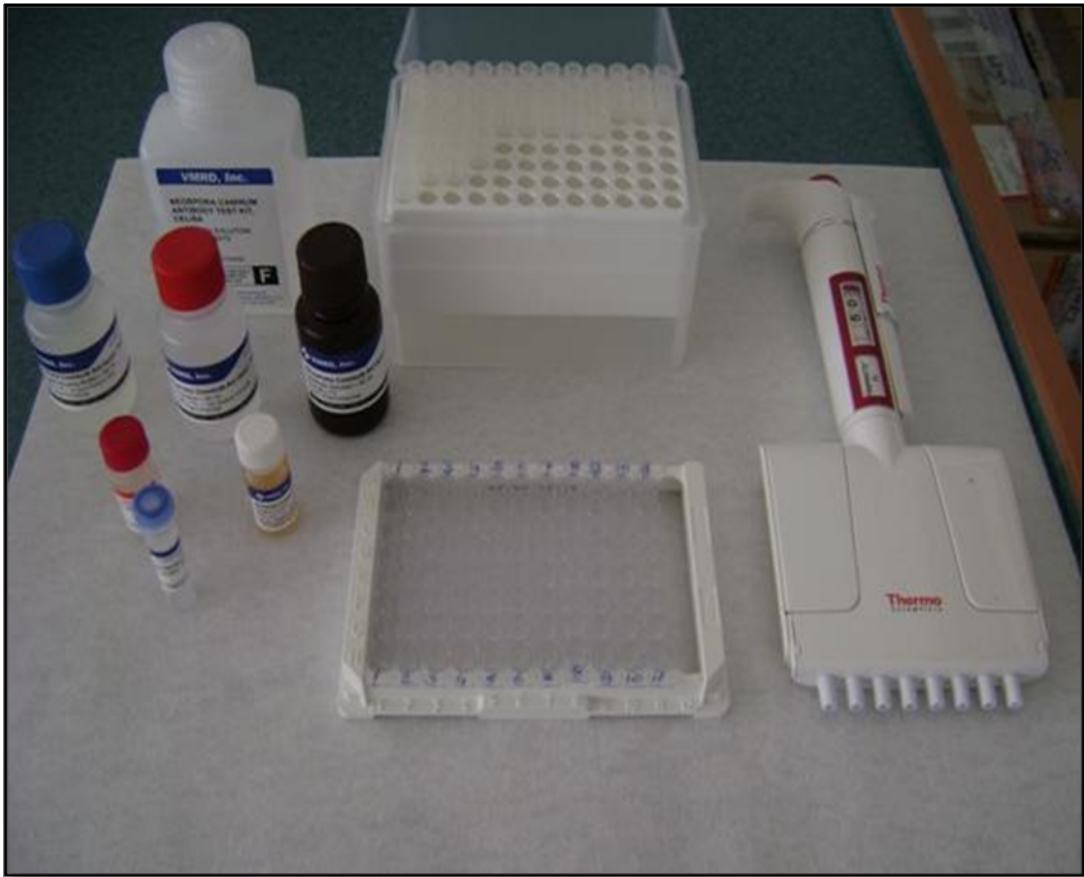


Fotoğraf 3.1 Keçi serumlarının mikrotüpler içinde muhafaza edilmesi

3.3.1 Enzyme Linked Immunosorbent Assay Testi (ELISA)

ELISA testi, Niğde Üniversitesi Bor Meslek Yüksekokulu Seroloji Laboratuvarında yapılmıştır. Çalışmada, *Neospora caninum* antikorlarını araştırılması amacıyla ticari kompetatif ELISA (cELISA) kiti (VMRD Inc., Veterinary Medical Research and Development, Pulman, WA, USA) kullanılmıştır. ELISA testi kit prosedüründe belirtildiği şekilde yapılmıştır.

3.3.1.1 Serumların konulması



Fotoğraf 3.2 ELISA testinde kullanılan solüsyon ve malzemeler

Teste başlanmadan önce serumlar, test solüsyonları ve plate'ler (Antigen-Coated Plate) oda sıcaklığına çıkartılmıştır (Fotoğraf 3.2). Bu arada serumların protokol numaraları, daha önceden hazırlanmış veri kayıt formu üzerine yazılmıştır.

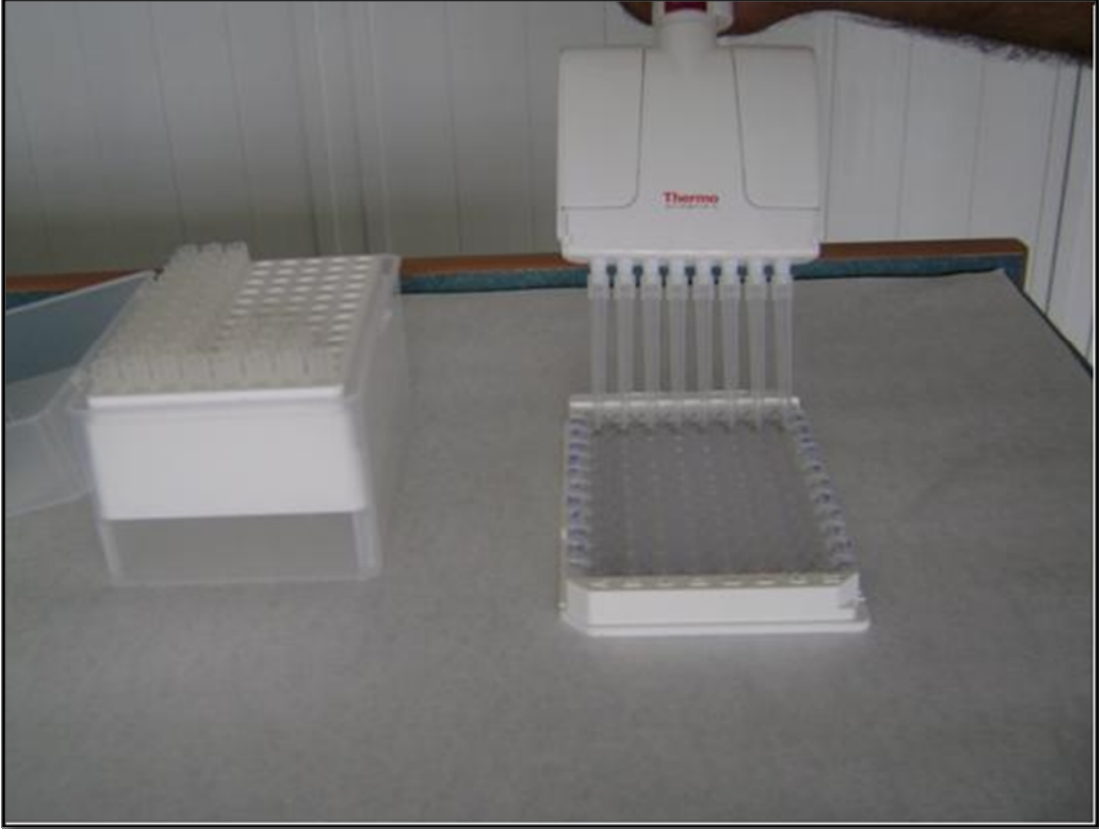
Daha sonra negatif ve pozitif kontrol serumları ile incelenecek serum örneklerinden mikro pipetlerle 50'şer ml alınarak veri kayıt formundaki numaralandırmaya göre *N.caninum* antijeni bulunan gözlere konulmuştur. Bu işlem tamamlandıktan sonra plate'ler üzeri açık bir şekilde oda sıcaklığında (21-25°C) 1 saat inkübasyona bırakılmıştır (Fotoğraf 3.3).



Fotoğraf 3.3 ELISA testinde kullanılan plate

3.3.1.2 Yıkama

Inkübasyondan sonra plate'lerin içerisindeki serum boşaltılıp kit prosedürüne uygun olarak, her kuyucuk için 1,5 ml olacak şekilde hazırlanan %10'luk yıkama solüsyonu (1x yıkama solüsyonu konsantrasyonu / 9x distile su) ile 3 kez yıkanmıştır (Fotoğraf 3.4). Her yıkama işlemi sonunda plate'ler kağıt havlulara sert bir şekilde vurularak içerisindeki yıkama solüsyonu boşaltılmıştır.



Fotoğraf 3.4 Plate'lerde yıkama işlemi

3.3.1.3 Konjugat

Daha sonra %1'lik konjugat (1x Antibody-Peroxidase / 99x Conjugate Diluting Buffer) hazırlanmış ve her kuyucuğa 50 µl olacak şekilde konularak 20 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır.

3.3.1.4 Yıkama

Yıkama işlemi daha önce kit prosedüründe belirtildiği gibi 3 kez tekrar yapılmıştır.

3.3.1.5 Substrat ve stop solüsyonların konulması

Bu işlemin hemen arkasından her kuyucuk içerisine 50 µl Substrate Solution eklenmiş ve 20 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra plateler dökülmeden her kuyucuk içerisine 50 µl stop solüsyonu konulmuştur. Test için kullanılan solüsyonlar tekrar kullanılmak üzere +4°C muhafazaya alınmıştır.

3.3.1.6 Okuma ve sonuçların hesaplanması

Stop solüsyonu konulduktan hemen sonra plate'ler dökülmeden 620 nm dalga boyunda bir ELISA mikropate okuyucusunda (MR-96A) okutularak elde edilen değerler kit prosedüründe belirtilen formülden yararlanılarak hesaplanmıştır (Fotoğraf 3.5).



Fotoğraf 3.5 ELISA mikropate okuyucusu

Formül;

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{100 - \text{Örneğin Optikal Yoğunluğu (O.D.)} \times 100}{\text{Ortalama Negatif Kontrol (O.D.)}} \text{ şeklindedir.}$$

Bu hesaplama sonucunda, test örneği % inhibisyon değeri, ≥ 30 ise sonuç pozitif, < 30 ise sonuç negatif olarak kabul edilmiştir.

3.4 İstatistiksel Değerlendirmeler

Çalışmada keçilerin yaş grupları, çalışma merkezleri ve abort yapıp yapmadıkları açısından seropozitiflik oranlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Ki-kare testi kullanılmıştır. Bu amaçla SPSS (Statistical Programme for Social Science) for Windows 17.0 İstatistik Paket Programından yararlanılmıştır [58].

BÖLÜM IV

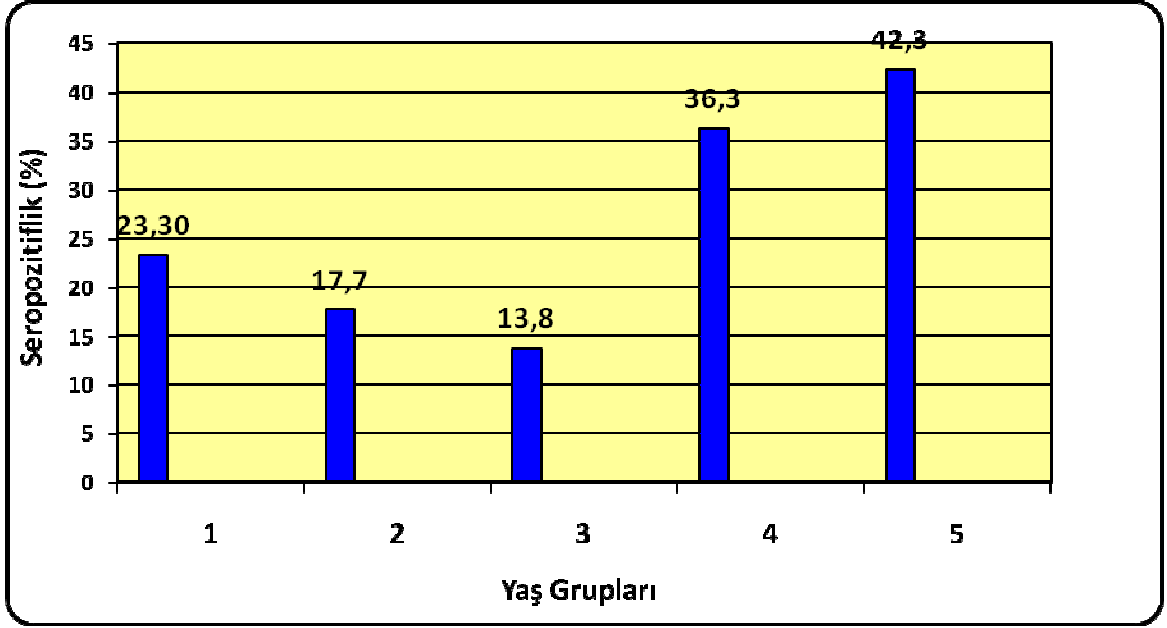
BULGULAR

Niğde yöresinde 1-5 yaş arasındaki toplam 181 dişi keçinin 47 (%25.9)'sinde ELISA testi ile *Neospora caninum* antikorları yönünden seropozitiflik tespit edilmiştir. Ayrıca muayenesi yapılan keçilerin ağıl, yemlik ve suluklarının yakınlarında *N. caninum*'un son konağı olan köpeklerin bulunduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.1'e göre yaş grupları açısından; 1 yaşta 30 keçinin 7 (%23.3)'sinde, 2 yaşta 45 keçinin 8 (%17.7)'inde, 3 yaşta 36 keçinin 5 (%13.8)'inde, 4 yaşta 44 keçinin 16 (%36.3)'sında ve 5 yaşta 26 keçinin 11 (%42.3)'inde seropozitiflik saptanmıştır.

Çizelge 4.1 Yaş gruplarına göre keçilerde ELISA testi ile *Neospora caninum*'un seropozitifliği

Yaş Grupları	Muayene Edilen Hayvan Sayısı	Seropozitif Hayvan Sayısı	Pozitiflik (%)
1 yaş	30	7	23.3
2 yaş	45	8	17.7
3 yaş	36	5	13.8
4 yaş	44	16	36.3
5 yaş	26	11	42.3
Toplam	181	47	25.9



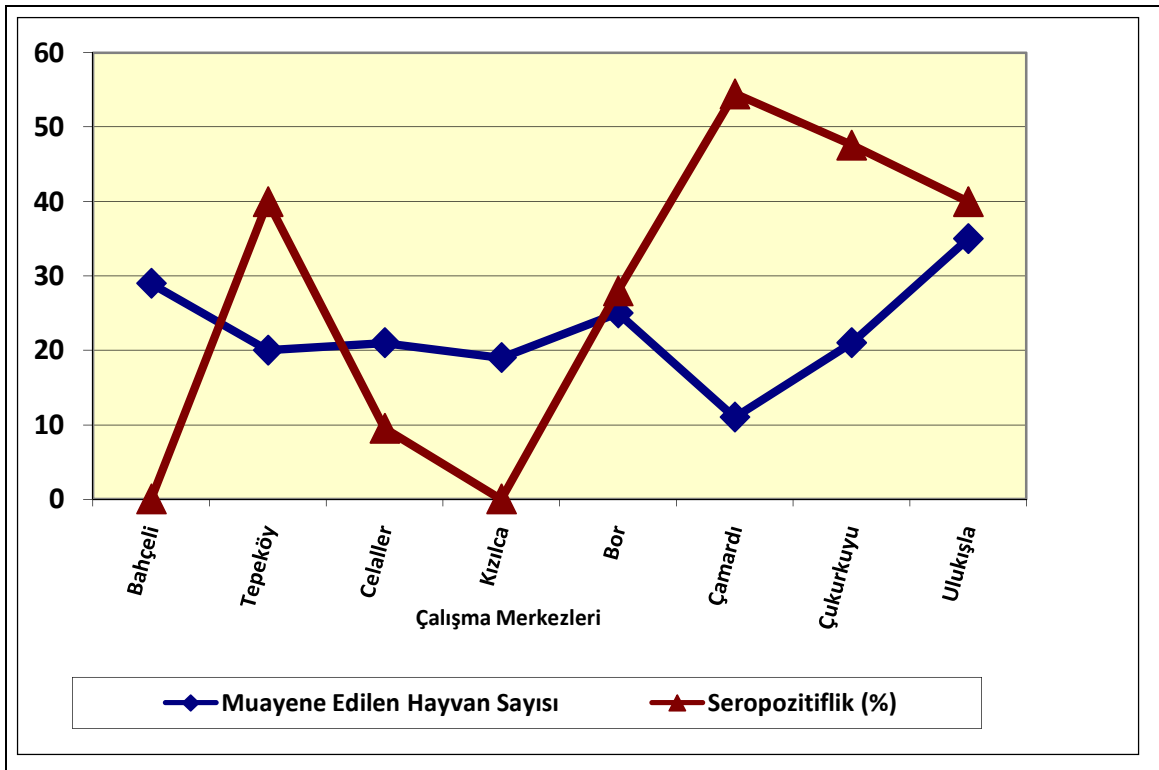
Şekil 4.1 Niğde yöresinde keçilerden elde edilen kan örneklerinin yaş gruplarına göre *Neospora caninum* antikorları yönünden pozitiflik oranları

Şekil 4.1'den anlaşılacağı gibi, en fazla seropozitiflik %42.3 oranı ile 5 yaşındaki keçilerde tespit edilirken en az seropozitiflik oranı ise %13.8 ile 3 yaşındaki keçilerde belirlenmiştir. Hayvan yaşlarına göre *N. caninum* bakımından seropozitiflik istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

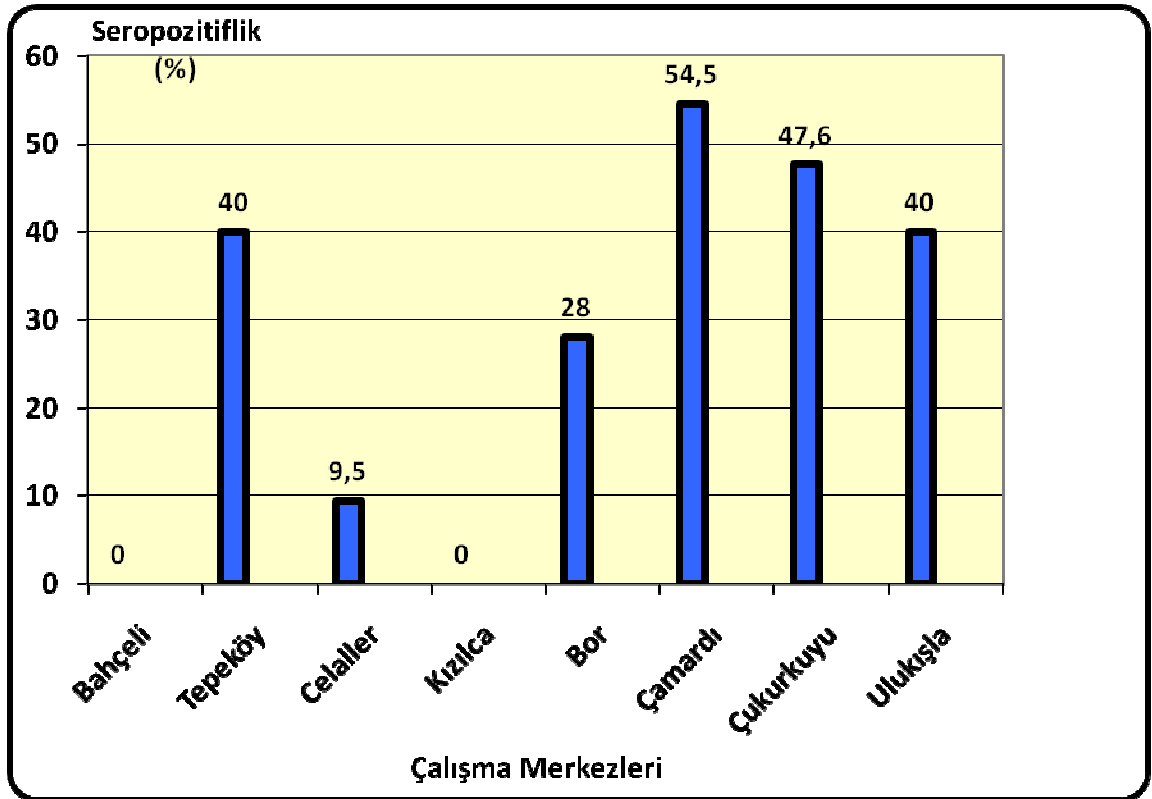
Çizelge 4.2 Çalışma merkezlerine göre *Neospora caninum*'un seropozitifliği

Çalışma Merkezi	Aylar	Muayene Edilen Hayvan Sayısı	Seropozitif Hayvan Sayısı	Pozitiflik (%)
Bahçeli	Şubat	29	-	-
Tepeköy	Şubat	20	8	40
Celaller	Mart	21	2	9.5
Kızılca	Mart	19	-	-
Bor	Nisan	25	7	28
Çamardı	Nisan	11	6	54.5
Çukurkuyu	Mayıs	21	10	47.6
Ulukışla	Mayıs	35	14	40
Toplam		181	47	25.9

Çizelge 4.2’de çalışma merkezleri açısından *Neospora caninum*’un seropozitifliği verilmiştir. Buna göre Bahçeli ve Kızılca yörelerinde muayene edilen keçilerin hiçbirinde *Neospora caninum*’un seropozitifliği tespit edilememişken, Tepeköy’de 20 keçinin 8 (%40)’inde, Celaller’de 21 keçinin 2 (%9.5)’sinde, Bor’da 25 keçinin 7 (%28)’sinde, Çamardı’da 11 keçinin 6 (%54.5)’sında, Çukurkuyu’da 21 keçinin 10 (%47.6)’unda ve Ulukışla’da 35 keçinin 14 (%40)’ünde *Neospora caninum* antikorları saptanmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Niğde yöresinde muayene edilen keçilerin çalışma merkezleri açısından *Neospora caninum* antikorlarının seropozitiflik oranları



Şekil 4.3 Niğde yöresinde keçilerden elde edilen kan örneklerinin çalışma merkezlerine göre *Neospora caninum* antikorları yönünden pozitiflik oranları

Şekil 4.3’de belirtildiği gibi çalışma merkezleri arasında en yüksek seropozitiflik %54.5 oranı ile Çamardı’da belirlenmiş, buna karşılık Bahçeli ve Kızılca’da ise muayene edilen keçilerde seropozitiflik saptanmamıştır. Çalışma merkezleri açısından *N. caninum*’un seropozitifliği istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.01$).

Çizelge 4.3 *Neospora caninum*’un yaşa göre abortlu hayvanlardaki seropozitifliği

Yaş Grupları	Muayene Edilen Hayvan Sayısı	Abortlu Hayvan Sayısı	Seropozitif Abortlu Hayvan Sayısı
1 yaş	30	-	-
2 yaş	45	9	2
3 yaş	36	3	1
4 yaş	44	1	1
5 yaş	26	3	2
Toplam	181	16	6

Kan örneklerinin toplanması esnasında muayene edilen keçilerden abort yapmış olanlar belirlenerek Çizelge 4.3’de verilmiştir. Buna göre 1 yaşındaki keçiler hariç olmak üzere 2 yaşında bulunan 9 abortlu keçinin 2’si, 3 yaşındaki 3 abortlu keçinin 1’i, 4 yaşındaki 1 abortlu keçinin 1’i ve 5 yaşındaki 3 abortlu keçinin 2’si olmak üzere toplam 16 abort yapmış keçinin 6’sı *Neospora caninum* antikorları yönünden seropozitif bulunmuştur.

Çizelge 4.4 Abort yapan ve yapmayan keçilerdeki seropozitiflik durumu

Gruplar	Hayvan Sayısı	Seropozitif Hayvan Sayısı	%
Abort Yapan	16	6	37.5
Abort Yapmayan	165	41	24.8
Toplam	181	47	25.9

Abort yapan ve yapmayan keçilerdeki seropozitiflik durumu Çizelge 4.4’de verilmiştir. Bu çizelgeden anlaşılacağı gibi abort yapan 16 keçinin 6 (%37.5)’sı, abort yapmayan 165 keçinin 41 (%24.8)’i seropozitif bulunmuştur. Gruplar arasındaki seropozitiflik oranı karşılaştırılmış ve ortaya çıkan farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğu saptanmıştır ($P>0.05$).

BÖLÜM V

TARTIŞMA VE SONUÇ

Ülkemizde keçilerde *Neospora caninum*'un oluşturduğu neosporosis enfeksiyonu keçi yetiştiriciliğinde ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Enfeksiyonun yol açtığı en büyük sorunu abortlar oluşturmaktadır. Bunun dışında yavrular enfekte olarak doğmakta ve bu nedenle enfeksiyon gençlerde de gözlenebilmektedir [30]. Enfeksiyonda abortla bağlantılı direk ekonomik kayıpların dışında, enfekte hayvanların tedavi giderleri, muhtemel süt kaybı ve abort yapmış hayvanların elden çıkarılarak yerlerine yenilerinin yetiştirilmesi gibi bazı indirekt kayıplar da önem arz etmektedir [47,56].

Neospora caninum'un teşhisinde serolojik testlerden ELISA, IFAT ve NAT gibi testler yaygın olarak tercih edilmekte iken son yıllarda PCR gibi moleküler yöntemler de kullanılmaya başlanmıştır [11,40,42,43]. Serolojik testlerden ELISA testi daha hızlı sonuç vermesi sebebiyle özellikle çok sayıda hayvanın serolojik analizinin yapılmasında daha fazla tercih edilmektedir [37,51,52].

Türkiye'de *Neospora caninum*'un varlığı yapılan çeşitli araştırmalarla ortaya konmuştur. Bu çalışmalar daha çok köpek ve sığırlarda *N. caninum*'un seroprevalansının saptanması amacıyla yapılmıştır [21-26]. Çoşkun ve ark. [21], köpeklerde %10 oranında *N. caninum* seropozitifliği belirlemişler, sığırlarda ELISA testi ile yapılan çalışmalarda ise *N. caninum* seropozitifliği İç Anadolu bölgesinde %5.1-32.7 [22] ve %13.96 [25], Trakya'da %8.02 [23], Kars yöresinde %2, [26], Şanlıurfa yöresinde %7.5 [24], Doğu Anadolu bölgesinde %7.01 [27], Sakarya yöresinde %9.2 [28], Kayseri yöresinde %7 [29] ve Ankara yöresinde IC testi ile % 10 [50] oranında bulunmuştur. Türkiye'de klinik neosporosis ise ilk kez Kul ve ark. [4] tarafından süt sığırlarında saptanmıştır.

Buna karşılık keçiler üzerinde yapılmış çalışma sayısı oldukça kısıtlı olup ülkemizde sadece bir çalışmada *Neospora caninum* antikorları araştırılmıştır [30]. Şanlıurfa yöresinde yapılmış olan bu çalışmada 85 kıl keçisinin 4 (%4.7)'ü, 95 Halep keçisinin ise 5 (%5.2) tanesi seropozitif olarak saptanmıştır [30]. Yapılan bu tez çalışmasında ise

Niğde yöresinde incelenen 181 keçinin 47 (%25.9)'si pozitif olarak belirlenmiştir. Bu seropozitiflik oranının Şanlıurfa yöresi keçilerinde bulunan pozitiflik oranından daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum çalışmaların farklı yörelerde yapılmış olmasına, incelenen keçi türlerine ve son konak köpeklerin sayısının bölgeler arasında farklılık göstermesine bağlanabilir.

Dünyada neosporosis üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmış ve bunlardan Amerika'da keçiler üzerinde yapılan araştırmaya göre yeni doğan keçilerdeki ölü doğumlar *N. caninum* ile ilişkilendirilmiştir [32]. Aynı şekilde Kostarika'da 77 keçiden 5 tanesinde *N. caninum* antikoruna bulunmuş ve sürülerdeki abortların *N. caninum*'dan kaynaklanabileceği üzerinde durulmuştur [33,34]. Brezilya'da keçi yavrularında parazitin varlığı saptanmış ve granulomatoz ensefalitis yaptığı belirlenmiştir [34]. Tayvan'da 24 keçi üzerinde yapılan bir araştırmaya göre keçilerin kanında *N. caninum* antikoruna rastlanmamıştır [35]. Brezilya'nın Sao Paulo şehrinde yapılan çalışmada 394 keçiden 25 (%6.4) tanesi seropozitif bulunmuştur. Bu çalışmada keçilerin yaşları ile pozitiflikleri arasında bir ilişki kurulamamıştır [36]. Sri Lanka'daki 486 keçinin kan serumları IFAT, ELISA ve Western Blot ile araştırılmış, sadece 3 (%0.7) tanesinde seropozitifliğe rastlanmıştır [37]. Brezilya'da IFAT ile yapılan bir başka çalışmada 306 keçiden 10 tanesi seropozitif bulunmuştur [38]. Aynı yıl içerisinde Brezilya'da Bahia Kentinde IFAT ile incelenen 384 keçiden 58 (%15) tanesi seropozitif olarak bulunmuştur [39]. Yine Brezilya'da PCR ile 102 keçi üzerinde yapılan çalışmada 2 adet (%1.96) seropozitiflik kaydedilmiştir [40]. Alınan bu sonuçlar Brezilya'da *N. caninum* enfeksiyonunun Bahia'da yaygın olarak bulunduğunu göstermektedir. Arjantin'de 1594 keçi üzerinde IFAT ile yapılan çalışmada 106 keçi (%6.6) seropozitif olarak bulunmuştur. Seropozitiflik oranı ile keçilerin yaşları arasında bir ilişki kurulamamıştır [41]. İtalya'da abort olmuş keçilerin beyin ve kalp dokusunun PCR ile yapılan incelemeleri sonucunda parazitik yapılara beyinde cerebral kortekste rastlanmış fakat kalp dokusunda rastlanamamıştır [42]. Jordan'da ELISA testi ile 302 keçinin 2'sinde seropozitiflik bulunmuştur [43]. Bu tez çalışmasında bulunan %25.9'luk seropozitiflik oranı dünyada yapılan diğer çalışma sonuçlarından daha yüksek bir oranda bulunmaktadır. Araştırmalar arasındaki bu farklı sonuçlar; çalışmaların farklı ülkelerde yapılmış olması, kullanılan serolojik testin tipi, incelenen keçi türleri ve sayısı

ayrıca son konak köpeklerin sayısı ve yoğunluğunun çalışma merkezleri arasında farklılık göstermesi ile ilişkili olabilir.

Figliuolo ve ark. [36] Brezilya'da ve Moore ve ark. [41] Arjantin'de seropozitiflik oranı ile keçilerin yaşları arasında bir ilişki kuramadıklarını belirtmişlerdir. Türkiye'de Şanlıurfa yöresi keçilerinde Sevgili ve ark. [30]'da 0-1 yaş arasındaki keçiler ile 1 yaşından büyük olanlar arasındaki seropozitiflik oranını istatistiki olarak önemsiz bulduklarını bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise Niğde yöresinde hayvan yaşlarına göre *N. caninum* bakımından seropozitiflik istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Abo-Shehada ve Abu-Halaweh [43] de yaşın artmasıyla birlikte horizontal bulaşmanın dolayısıyla sporlanmış ookistlerin alınma şansının artacağını ve bunun da yüksek seroprevalans oluşturacağını belirtmişlerdir.

Yapılan bu çalışma ile Niğde yöresindeki keçilerin seropozitiflik oranları arasındaki fark, çalışma merkezlerinde istatistiksel yönden anlamlı olarak bulunmuş olup ($P<0.01$) en yüksek seropozitiflik %54.5 oranı ile Çamardı'da belirlenmiş, buna karşılık Bahçeli ve Kızılcıca'da ise muayene edilen keçilerde seropozitiflik saptanmamıştır. Farklılığın nedeni yetiştirme koşulları, çalışma merkezlerinde bulunan son konak köpek popülasyonları ve bu köpeklerin keçi yem ve sulukları ile temasındaki farklılıklar sebebiyle olabilir. Buna karşılık seropozitiflik oranının abort yapan ve yapmayan keçiler arasında ise önemsiz olduğu saptanmıştır ($P>0.05$).

Bu sonuçla Niğde yöresinde keçilerde parazitin varlığı belirlenmiştir. Bu sebeple abort vakalarının muhtemel nedenleri arasında *Neospora caninum* da düşünülmeli ve buna bağlı olarak aborte fötüslerin kısa zamanda bozulmadan laboratuvara ulaştırılarak etkenin izolasyonu sağlanmalı ve enfekte hayvanların sürüden ayrılmasının uygun olacağı düşünülmelidir.

Enfeksiyonun yayılmasında köpekler önemli rol oynamaktadır. Bu amaçla son konak köpeklerin, keçilerin yem ve sularından uzak tutulması sağlanmalı ve böylece dışkı kontaminasyonlarının önüne geçilmelidir. Keçilerin otlatıldığı meralara köpekler girmemeli ve keçi ağılarına yaklaştırılmamalıdır. Ayrıca hastalığın bulaşmasını sağlayan ölü fötüs, plasenta ve uterus gibi kontamine atıklar uzaklaştırılarak köpekler

tarafından yenmesi engellenmeli ve arakonak hayvanların çiğ etleri köpeklerle yedirilmemelidir.

Sonuç olarak, Niğde yöresinde keçilerde *Neospora caninum*'un varlığı ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuş olup, yöredeki keçi yetiştiriciliğinde neosporosisin etkisinin ortaya çıkarılması ve klinik neosporosis sebebiyle oluşan kayıpları belirlemek için son konak köpekleri de içine alan daha geniş kapsamlı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Kaymakçı, M. ve Dellal, G., Türkiye ve Dünya Keçi Yetiştiriciliği, Eds. Kaymakçı, M., İzmir İli Damızlık Koyun-Keçi Yetiştiricileri Birliği Yayınları No.2, Bornova-İzmir, 3-15, 2006.
- [2] TÜİK, T.C Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu, Hayvansal üretim istatistikleri, www.tuik.gov.tr, 2010, (27.07.2010)
- [3] Karaer, Z. ve Nalbantoğlu, S., Gevişgetirenlerin Parazit Hastalıklarında Tedavi. Eds. Burgu A, Karaer Z. *Parazit Hastalıklarında Tedavi*, Meta Basım, İzmir, 6, 1-19, 2005.
- [4] Kul, O., Kabakçı, N., Kader, Y., Öcal, N., Kalender, H. ve İlkme, N.A., *Neospora caninum* associated with epidemic abortions in dairy cattle, The first clinical neosporosis report in Turkey, *Veterinary Parasitology* 159, 69–72, 2009.
- [5] Dubey, J.P., Recent advances in *Neospora* and neosporosis, *Vet. Parasitol.*, 84, 349-367, 1999.
- [6] Dubey, J.P., Carpenter, J.L., Speer, C.A., Topper, M.J. and Uggia, A., A newly recognized fatal protozoan disease of dogs, *JAVMA*, 192, 1269-1285, 1988.
- [7] Trees, A.J., Guy, F., Tennant, B.J., Balfour, A.H. and Dubey, J.P., Prevalences of antibodies to *Neospora caninum* in a population of urban dogs in England, *Vet. Rec.*, 132, 125-126, 1993
- [8] McAllister, M.M., Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Jolley, W.R., Wills, R.A. ve McGuire, A.M., Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, 28, 1473-1478, 1998.
- [9] Dubey, J.P. and Lindsay, D.S., A review of *Neospora caninum* and neosporosis, *Vet. Parasitol*, 67, 1-59, 1996.
- [10] Mehlhorn, H., *Encyclopedic Reference of Parasitology*, Second Edition, Biology, Structure, Function, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2001.
- [11] Dubey, J.P., Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals, *Korean J. Parasitol*, 41 (1), 1-16, 2003.

- [12] Dubey, J.P., Dorough, K.R., Jenkins, M.C., Liddell, S., Speer, C.A., Kwok, O.C.H. and Shen, S.K., Canine neosporosis clinical signs, diagnosis, treatment, treatment and isolation of *Neospora caninum* in mice and cell culture. Int. J. Parasitol., 28, 1293–1304, 1998.
- [13] Dubey, J.P., Buxton, D. and Wouda, W., Pathogenesis of bovine neosporosis. J. Comp. Path., 134, 267-289, 2006.
- [14] Dik, B. ve F. Sevinç. Veteriner Protozooloji, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi. Konya, 2002.
- [15] Bowman, D.D., Lynn, R.C. ve Eberhard, M.L., Georgis' Parasitology for Veterinarians, Elsevier Science, USA, 2003.
- [16] Lindsay, D.S., Dubey, J.P. ve Duncan, R.B., Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*, Veterinary Parasitology, 82, 327-333, 1999.
- [17] Dumanlı N, Veteriner Protozooloji Ders Notları. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Elazığ, 2002.
- [18] McAllister, M.M., Uncovering the biology and epidemiology of *Neospora caninum*, Parasitology Today, 15 (6), 216-217, 1999.
- [19] Lindsay, D.S., Rippey, N.S., Powe, T.A., Sartin, E.A., Dubey, J.P. and Blagburn, B.L., Abortions fetal death, and stillbirths in pregnant pygmy goats inoculated with tachzoites of *Neospora caninum*, Am. J. Vet. Res., 56, 1176-1180, 1995.
- [20] Jenkins, M.C., Parker, C., Hill, D., Pinckney, R.D., Dyer, R. and Dubey, J.P., *Neospora caninum* detected in feral rodents, Veterinary Parasitology, 143, 161-165, 2007.
- [21] Coşkun, Ş.Z., Aydın, L. and Bauer, C., Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dogs in Turkey, Vet. Rec., 146, 649, 2000.
- [22] Bıyıkoğlu, G., Aksoy, E., Bozkır, M., Küçükayan, U. ve Ertürk, A., İç Anadolu Bölgesi sığırlarında *Neospora caninum*'un varlığının araştırılması, XII. Ulusal Parazitoloji Kongresi Özet Kitabı, Elazığ, 78, 24-28 Eylül, 2001.
- [23] Bıyıkoğlu, G., Öncel, T. ve Bağcı, Ö., Trakya sığırlarında *Neospora caninum*'un seroprevelansı, XII. Ulusal Parazitoloji Kongresi Özet Kitabı, Konya, 246, 8-12 Eylül, 2003.

- [24] Sevgili, M., Altaş, M.G. ve Keskin, O., Seroprevalence of *Neospora caninum* in cattle in the province of Şanlıurfa, Turk. J. Vet. Anim. Sci, 29, 127-130, 2005.
- [25] Vural, G., Aksoy, E., Bozkır, M., Kuçukayan U. ve Ertürk, A., Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle herds in Central Anatolia, Turkey, Veterinarski Arhiv, 76(4), 343-349, 2006.
- [26] Akça. A., Gökçe. H.I., Guy, C.S., McGarry, J.W. and Williams, D.J.L., Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in local and imported cattle breeds in the Kars province of Turkey, Res.Vet. Sci., 78, 123-126, 2005.
- [27] Aktaş, M., Şaki, C.E., Altay, K., Şimşek, S., Ütük, A.E., Köroğlu, E. ve Dumanlı, N., Doğu Anadolu bölgesinin bazı illerinde bulunan sığırlarda *Neospora caninum*'un araştırılması, Türkiye Parazitoloji Dergisi, 29(1), 22-25, 2005.
- [28] Öncel, B. ve Bıyıkoglu, G., Sakarya yöresi süt sığırlarında *Neosporosis caninum*, Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med., 22 (1-2-3), 87-89, 2003.
- [29] İça A., Yıldırım, A., Düzlü, Ö. ve İnci, A., Kayseri yöresinde sığırlarda *Neospora caninum*'un seroprevalansı, Türkiye Parazitoloji Dergisi, 30(2), 92-94, 2006.,
- [30] Sevgili, M., Çımtay, İ. ve Keskin, O., Şanlıurfa yöresindeki keçilerde *Neospora caninum* enfeksiyonunun seroprevalansı, Türkiye Parazitoloji Dergisi, 27(4), 249-251, 2003.
- [31] Umur, Ş. ve Arslan, M.Ö. Evcil hayvanlarda neosporosis, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 3 (1), 115-121, 1996.
- [32] Dubey, J.P., Acland, H.M. and Hamir, A.N., *Neospora caninum* in a stillborn goat, J. Parasitol., 78, 532-534, 1992.
- [33] Dubey, J.P., Morales, J.A., Villalobos, P., Lindsay, D.S., Blagburn, B.L. and Topper, M.J., Neosporosis-associated abortion in a dairy goat, J. Am. Vet. Med. Assoc., 208, 263-265, 1996.
- [34] Corbellini, L.G., Colodel, E.M. and Driemeier, D., Granulomatous encephalitis in a neurologically impaired goat kid associated with degeneration of *Neospora caninum* tissue cysts, J. Vet. Diagn. Invest., 13, 416-419, 2001.
- [35] Ooi, H.K., Huang, C.C., Yang, C.H. and Lee, S.H., Serological survey and first finding of *Neospora caninum* in Taiwan, and the detection of its antibodies in various body fluids of cattle, Vet. Parasitol., 90, 47-55, 2000.

- [36] Figliuolo, L.P.C., Rodrigues A.A.R., Viana R.B., Aguiar, D.M., Kasai, N. and Gennari S.M., Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goat from São Paulo State, Brazil, *Small Ruminant Research*, 55, 29–32, 2004.
- [37] Naguleswaran, A., Hemphill, A., Rajapakse, R.P.V.J. and Sager, H., Elaboration of a crude antigen ELISA for serodiagnosis of caprine Neosporosis: validation of the test by detection of *Neospora caninum*-specific antibodies in goats from Sri Lanka, *Veterinary Parasitology*, 126, 257–262, 2004.
- [38] Faria, E.B., Gennari, S.M., Pena, H.F.J., Athayde, A.C.R., Silva, M.L.C.R. and Azevedo, S.S., Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State, Northeast region of Brazil, *Veterinary Parasitology*, 149, 126–129, 2007.
- [39] Uzeda, R.S., Pinheiro, A.M., Fernandez, S.Y., Ayres, M.C.C., Gondim, L.F.P. and Almeida, M.A.O., Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy goats from Bahia, Brazil, *Small Ruminant Research*, 70, 257–259, 2007.
- [40] Silva, M.S.A., Uzeda, R.S., Costa, K.S., Santos, S.L., Macedo, A.C.C., Abe-Sandes, K. and Gondim, L.F.P., Detection of *Hammondia heydorni* and related coccidia (*Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*) in goats slaughtered in Bahia, Brazil, *Veterinary Parasitology* 162, 156–159, 2009.
- [41] Moore, D.P., De Yaniz, M.G., Odeon, A.C., Cano, D., Leunda, M.R., Spath E.A.J. and Campero, C.M., Serological evidence of *Neospora caninum* infections in goats from La Rioja Province, Argentina, *Small Ruminant Research*, 73, 256–258, 2007.
- [42] Eleni, C., Crotti, S., Manuali, E., Costarelli, S., Filippini, G., Moscati, L. and Magnino, S., Detection of *Neospora caninum* in an aborted goat foetus, *Veterinary Parasitology*, 123, 271–274, 2004.
- [43] Abo-Shehada, M.N. and Abu-Halaweh, M.M., Flock-level seroprevalence of, and risk factors for, *Neospora caninum* among sheep and goats in northern Jordan, *Preventive Veterinary Medicine*, 93, 25-32, 2010.
- [44] Tüzer, E. ve Toparlak, M., *Veteriner Protozooloji*, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul, 1999.

- [45] Toolan, DP., *Neospora caninum* abortion in cattle a clinical perspective, Irish. Vet. J., 56, 404-410, 2003.
- [46] Sevgili, M. ve Altaş, M.G. Sığırlarda Neosporosis, Fırat Üniversitesi Sağlık Bimleri Dergisi, 20 (1), 79-83, 2006.
- [47] Dubey, J.P., Neosporosis in cattle biology and economic impact, J. Am. Vet. Med. Assoc., 214, 1160-1163, 1999.
- [48] Dubey, J.P., Kerber, C.E. and Granstrom, D.E., Serologic prevalence of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses in Brazil, J. Am. Vet. Med. Assoc., 215, 970-972, 1999.
- [49] Dubey, J.P., Knickman, E. and Greene, C.E., Neonatal *Neospora caninum* infections in dogs, Acta Parasitologica, 50 (2), 176-179, 2005.
- [50] Kurtdele, A., Küplülü, Ş., Ural, K., Cıngı, C.Ç., Güzel, M., Karakurum, M.Ç. ve Haydardedeoğlu, A.E., Serodiagnosis of bovine neosporosis with immunocomb assay in Ankara region, Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 53, 207-209, 2006.
- [51] Osawa, T., Wastling, J., Maley, S., Buxton, D. and Innes E.A., A multiple antigen ELISA to detect *Neospora*-specific antibodies in bovine sera, bovine foetal fluids, ovine and caprine sera, Veterinary Parasitology, 79, 19-34, 1998.
- [52] Björkman, C. and Ugglå, A., Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection International Journal for Parasitology, 29, 1497-1507, 1999.
- [53] Björkman, C., Holmdahl, O.J. and Ugglå, A., An indirect enzyme-linked immunoassay (ELISA) for demonstration of antibodies to *Neospora caninum* in serum and milk of cattle, Vet. Parasitol., 68(3), 251-260, 1997.
- [54] Innes, E.A., Andrianarivo, A.G., Björkman, C., Williams, D.J.L. and Conrad, P.A., Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination, Trends in Parasitology, 18 (11), 497-504, 2002.
- [55] Williams, D.J.L., Guy, C.S., McGarry, J.W., Guy, F., Tasker, L., Smith, R.F., MacEachern, K., Cripps, P.J., Kelly, D.F. and Trees, A.J., *N. caninum*-associated abortion in cattle the time of experimentally induced parasitaemia during gestation determines foetal survival. Parasitology, 121, 347-358, 2000.
- [56] Thurmond, M.C. and Hietala, S.K., Culling associated with *Neospora caninum* in dairy cows, Am. J. Vet. Res., 57, 1559-1562, 1996.
- [57] Buxton, D., McAllister, M.M. and Dubey, J.P., The comparative pathogenesis of neosporosis, Trends in Parasitology, 18 (12), 546-552, 2002.

[58] SPSS (Statistical Programme for Social Science) Windows 17.0 User's Guide
SPSS Inc., Chicago, IL, USA, 2008.